

DESENVOLVIMENTO DE BIOFILME À BASE DE AMIDO DE MILHO INCORPORANDO ÓLEO ESSENCIAL DE *LIPPIA ALBA* NANOENCAPSULADO

Sarah Cardoso de Oliveira Teixeira¹
Michael Ramos Nunes²

Resumo: A busca por materiais sustentáveis tem impulsionado o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis com propriedades funcionais capazes de substituir polímeros sintéticos. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar biofilmes biodegradáveis à base de amido de milho e glicerol incorporando óleo essencial de *Lippia alba* nanoencapsulado, visando sua aplicação em embalagens ativas. As nanopartículas foram produzidas pelo método de nanoprecipitação, utilizando zeína como matriz encapsulante e Pluronic F-68 como agente estabilizante. Os biofilmes foram obtidos pela técnica de casting em quatro formulações: controle e amostras contendo 200 µL, 500 µL e 1 mL da dispersão de nanopartículas. A dispersão foi caracterizada quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersividade, potencial zeta, atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos. Os biofilmes foram avaliados quanto à colorimetria, teor de umidade, solubilidade em água, espectroscopia FTIR e calorimetria exploratória diferencial (DSC). As nanopartículas apresentaram diâmetro médio de $257,3 \pm 6,4$ nm, Pdl de $0,132 \pm 0,022$ e potencial zeta de $+5,36 \pm 0,33$ mV, indicando boa estabilidade coloidal. As análises de FTIR confirmaram o encapsulamento do óleo essencial e sua incorporação aos biofilmes, enquanto os resultados de DSC evidenciaram modificações térmicas associadas à presença das nanopartículas. As formulações com 200 µL e 500 µL mantiveram características visuais semelhantes ao controle. Conclui-se que os biofilmes desenvolvidos apresentam potencial para aplicação em embalagens ativas biodegradáveis, associando sustentabilidade e funcionalidade por meio da incorporação de compostos bioativos nanoencapsulados.

Palavras-chave: Biofilmes. Amido de milho. *Lippia alba*. Nanoencapsulação. Embalagens ativas.

1 INTRODUÇÃO

A intensificação do uso de polímeros sintéticos derivados do petróleo em embalagens de alimentos tem gerado crescente preocupação ambiental, sobretudo em razão do baixo grau de degradação desses materiais e do acúmulo de resíduos plásticos em ecossistemas terrestres e aquáticos (Espitia *et al.*, 2014). Nesse contexto, o desenvolvimento de materiais biodegradáveis a partir de fontes

renováveis tornou-se uma estratégia central na busca por alternativas sustentáveis para o setor de embalagens, em consonância com a demanda crescente por sistemas que aliem desempenho funcional, segurança alimentar e menor impacto ambiental (Mali *et al.*, 2010).

Entre as alternativas estudadas, os biofilmes obtidos a partir de polissacarídeos naturais têm recebido destaque, em particular aqueles produzidos a partir do amido, em razão da sua ampla disponibilidade, baixo custo, biodegradabilidade integral e

¹Sarah Cardoso - Acadêmica do curso de Engenharia Química do Instituto Federal de Santa Catarina – Câmpus Lages; sarah2003.ame@gmail.com

²Michael Ramos Nunes - Orientador - Docente do curso de Engenharia Química do Instituto Federal de Santa Catarina – Câmpus Lages; michael.nunes@ifsc.edu.br

capacidade termoplástica quando processado na presença de plastificantes (Mali *et al.*, 2008). O amido de milho, especificamente, vem sendo investigado como matriz polimérica para o desenvolvimento de filmes destinados ao contato com alimentos, em decorrência de sua aptidão para formação de filmes contínuos por moldagem por *casting* e de sua compatibilidade com aditivos plastificantes como o glicerol (Mali *et al.*, 2010). No entanto, filmes baseados unicamente em amido apresentam limitações funcionais relevantes, como sensibilidade à umidade, propriedades mecânicas limitadas e elevada permeabilidade ao vapor d'água, o que justifica o emprego de estratégias de modificação capazes de ampliar seu desempenho como material de embalagem (Mali *et al.*, 2008; Espitia *et al.*, 2014).

Uma das estratégias mais promissoras para o aprimoramento dessas matrizes consiste na incorporação de compostos bioativos com função antioxidante, originando os denominados sistemas de embalagem ativa, nos quais o material da embalagem interage de forma controlada com o alimento ou com o ambiente que o circunda, contribuindo para a preservação de sua qualidade ao longo do tempo de prateleira (Espitia *et al.*, 2014). Nesse cenário, os óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas têm sido amplamente explorados, em virtude do seu conteúdo de compostos voláteis com reconhecida ação biológica (Tavares *et al.*, 2005).

O óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.), popularmente conhecida como erva-cidreira, apresenta-se como um candidato particularmente interessante para essa aplicação. Tavares *et al.* (2005) caracterizaram diferentes quimiotipos da espécie e identificaram, entre os compostos majoritários, o citral (mistura dos isômeros geranial e neral), o linalol e a carvona, monoterpenos cuja capacidade de doar átomos de hidrogênio está diretamente relacionada à sua atividade antioxidante (Brand-Williams *et al.*, 1995). Apesar dessas propriedades, a incorporação direta de óleos essenciais em matrizes poliméricas é frequentemente limitada pela elevada volatilidade desses compostos, por sua sensibilidade à oxidação, à luz e à temperatura, e pela baixa compatibilidade com matrizes hidrofílicas como o amido (Da Rosa *et al.*, 2019).

A nanoencapsulação surge como uma resposta tecnológica a essas limitações, ao promover o aprisionamento do composto bioativo no interior de estruturas nanométricas capazes de protegê-lo da degradação ambiental, modular sua liberação ao longo do tempo e melhorar sua dispersão em meios aquosos (Da Rosa *et al.*, 2019; Nunes *et al.*, 2025). Dentre as proteínas empregadas como matrizes encapsulantes, a zeína, proteína de reserva do endosperma do milho, tem se destacado por sua natureza predominantemente hidrofóbica, sua origem renovável e sua compatibilidade com técnicas de nanoprecipitação para a obtenção de partículas com diâmetro hidrodinâmico na escala de centenas de nanômetros (Da Rosa *et al.*, 2019). O método de nanoprecipitação, comumente associado ao uso de copolímeros não iônicos como o Pluronic na função de agente estabilizante, vem sendo aplicado com sucesso para o encapsulamento de óleos essenciais de espécies como *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris* (Da Rosa *et al.*, 2019), bem como de outros compostos bioativos como própolis e curcumina (Nunes *et al.*, 2025).

Estudos recentes têm demonstrado que a incorporação de nanopartículas de zeína contendo compostos bioativos em matrizes poliméricas confere atividade antioxidante mensurável aos biofilmes resultantes, além de modificar suas propriedades térmicas, ópticas e de interação com a água (Nunes *et al.*, 2025). Esses achados reforçam o potencial dessa abordagem para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis funcionais. Contudo, a aplicação específica do óleo essencial de *Lippia alba* em forma nanoencapsulada e incorporado a matrizes de

amido de milho ainda é pouco explorada na literatura, configurando uma lacuna que justifica a investigação proposta neste trabalho.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver e caracterizar biofilmes biodegradáveis à base de amido de milho, incorporando nanopartículas de zeína carregadoras do óleo essencial de *Lippia alba*, produzidas pelo método de nanoprecipitação e adicionadas à matriz polimérica em diferentes proporções (controle sem nanopartículas, 200 µL, 500 µL e 1 mL da dispersão). A dispersão foi caracterizada quanto ao diâmetro hidrodinâmico, ao índice de polidispersividade e ao potencial zeta por espalhamento dinâmico de luz (DLS), e avaliada quanto ao teor de compostos redutores pelo método de Folin–Ciocalteu (Swain *et al.*, 1959) e à atividade antioxidante pelo método DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995). Os biofilmes resultantes foram caracterizados quanto às propriedades colorimétricas no espaço CIELAB, espectroscópicas por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), térmicas por calorimetria exploratória diferencial (DSC), reológicas, à umidade e à solubilidade em água, com vistas a avaliar o potencial do sistema desenvolvido para aplicação como embalagem ativa biodegradável.

2 METODOLOGIA

2.1 Materiais

Foram utilizados reagentes e materiais de grau analítico adquiridos de fornecedores comerciais. A fécula de amido de milho (Alphatec) foi utilizada como polímero formador da matriz filmogênica. O glicerol (Quimidrol, Brasil) foi empregado como plastificante.

A zeína (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi utilizada como matriz encapsulante natural para a obtenção das nanopartículas por nanoprecipitação. O copolímero Pluronic® F68 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi empregado como agente estabilizante na concentração de 1,5% (m/v). O óleo essencial de *Lippia alba* foi adquirido comercialmente e utilizado como composto bioativo. Os solventes empregados na preparação das formulações foram etanol 85% (v/v) e acetona (Dinâmica, Brasil), ambos de grau analítico.

Para as determinações espectrofotométricas, foram utilizados o reagente de Folin–Ciocalteu (0,25 N) e carbonato de sódio (Na_2CO_3 , 1 mol L⁻¹). Ácido gálico e Trolox (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foram empregados como padrões analíticos para a construção das curvas de calibração. O radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi utilizado nos ensaios de atividade antioxidante, enquanto o reagente de Folin–Ciocalteu foi empregado para a quantificação de compostos fenólicos totais.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparo das nanopartículas contendo óleo essencial de *Lippia alba*

As nanopartículas contendo o óleo essencial de *Lippia alba* foram preparadas segundo a metodologia descrita por Da Rosa *et al.* (2019), adaptada para este estudo, pelo método de nanoprecipitação, utilizando zeína como matriz polimérica natural. Inicialmente, foi preparada uma solução de zeína a 20 mg mL⁻¹ em etanol 85% (v/v), sob agitação magnética constante por 24 horas. Durante esse processo, foram

incorporados a solução de zeína, 200 µL de óleo essencial de *Lippia alba*. Em paralelo, foi preparada uma solução aquosa de Pluronic F-68 a 1,5% (m/v) como agente estabilizante.

A solução alcoólica de zeína foi adicionada lentamente à solução aquosa de Pluronic F-68 sob agitação em ultra-Turrax, mantida a 10000 rpm por 3 minutos, resultando na formação das nanopartículas. Após a agitação, o sistema foi mantido sob capela de exaustão por 24 horas para a evaporação completa do etanol e obtenção de dispersão estável.

2.2.2 Caracterização das nanopartículas (DLS e potencial zeta)

A dispersão de nanopartícula obtida foi caracterizada quanto ao diâmetro hidrodinâmico médio (Z-Average), à distribuição de tamanhos expressa pelo índice de polidispersividade (PDI) e ao potencial zeta, por meio da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), utilizando o equipamento NanoZetasizer Malvern. As medições foram realizadas a 25° C, em triplicata (n = 3) sobre a mesma amostra. Os resultados foram expressos como média e desvio-padrão amostral das leituras consecutivas. A condutividade da dispersão também foi registrada como parâmetro auxiliar de caracterização.

2.2.3 Preparo dos biofilmes biodegradáveis

Para a preparação dos biofilmes, foi utilizada fécula de amido de milho como polímero base. A fécula foi misturada ao glicerol, formando uma massa granulada homogênea. Em seguida, foi adicionada água destilada à mistura, que foi então submetida a banho-maria a 80° C, sob agitação mecânica constante, por 30 minutos, até a obtenção de uma pasta homogênea.

Após essa etapa, foram preparadas quatro formulações distintas, diferenciadas pela quantidade de dispersão de nanopartículas previamente sintetizadas incorporada à solução filmogênica: controle, sem adição de nanopartículas; formulação contendo 200 µL da dispersão; formulação contendo 500 µL da dispersão; e formulação contendo 1 mL da dispersão. As três proporções de nanopartículas foram selecionadas com o intuito de avaliar o efeito dose-dependente das nanoestruturas sobre as propriedades dos biofilmes resultantes, possibilitando identificar a faixa de incorporação que melhor concilia funcionalidade e preservação das características originais do filme.

Para cada formulação, aproximadamente 35 g da solução filmogênica foram vertidos em placas de Petri previamente untadas com glicerol e mantidas em estufa a 35 °C por 24 horas para secagem e formação dos filmes.

2.2.4 Análise colorimétrica

A análise colorimétrica dos biofilmes foi realizada em colorímetro digital, com leituras no espaço de cor CIELAB, sob iluminante D65 e ângulo de observador 2°. Foram registrados os parâmetros L* (luminosidade), a* (coordenada vermelho-verde) e b* (coordenada amarelo-azul) para cada formulação, incluindo um branco padrão de referência. A partir desses parâmetros foram calculados a diferença total de cor pela métrica (ΔE), tanto em relação ao branco padrão quanto em relação ao biofilme controle, e os índices derivados de brancura (WI) e de amarelamento (YI), conforme

as equações usualmente adotadas em estudos colorimétricos de filmes alimentícios (Mokrzycki *et al.*, 2011).

2.2.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro FTIR, Shimadzu IRSpirit, operando no modo de refletância total atenuada (ATR), na faixa de número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras por espectro. Foram analisadas seis amostras: o óleo essencial puro de *Lippia alba*, a dispersão de nanopartículas, o biofilme controle e os biofilmes contendo 200 μL , 500 μL e 1 mL da dispersão de nanopartículas, com o objetivo de identificar os grupos funcionais característicos de cada componente e verificar a efetiva incorporação das nanopartículas na matriz polimérica.

2.2.6 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises de DSC foram conduzidas em equipamento Shimadzu DSC-60. Aproximadamente 20 mg de cada amostra foram acondicionados em cadinhos de alumínio selados, utilizando-se um cadinho vazio como referência. As varreduras foram realizadas em atmosfera inerte de nitrogênio, com fluxo de 50 mL min^{-1} , em faixa de temperatura de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ e taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Adotou-se a convenção endo-down, na qual eventos endotérmicos são representados por picos voltados para baixo. As temperaturas de pico e as entalpias (ΔH) dos eventos térmicos foram determinadas a partir dos termogramas, alinhados em $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ para facilitar a comparação visual entre as quatro formulações.

2.2.7 Atividade antioxidante por DPPH

A atividade antioxidante das nanopartículas foi determinada pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), conforme Brand-Williams *et al.*, (1995). Alíquotas de 150 μL da dispersão foram adicionadas a 2850 μL de solução de DPPH (0,1 mM), sendo incubadas por 24 h ao abrigo da luz, com leitura espectrofotométrica a 515 nm. A atividade antioxidante percentual (AA %) foi calculada a partir da diferença entre a absorbância do branco e a absorbância da amostra, dividida pela absorbância do branco e multiplicada por cem. As leituras foram realizadas em triplicata ($n = 3$) e os resultados expressos como média $\pm$ desvio-padrão.

2.2.8 Teor de compostos fenólicos totais (Folin–Ciocalteu)

O teor de compostos redutores totais da dispersão de nanopartículas foi determinado pelo método de Folin–Ciocalteu, conforme Swain e Hillis (1959), com adaptações. A mistura reacional foi composta por 104 μL da amostra, 1667 μL de água deionizada, 104 μL de reagente de Folin–Ciocalteu (0,25 N) e 208 μL de carbonato de sódio ($1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Após 2 horas de reação ao abrigo da luz, a leitura foi realizada a 725 nm. Quando a absorbância da amostra não diluída ultrapassou o limite de linearidade do método ($\text{Abs} > 0,6$), foi realizada diluição 1:1 (v/v) em água deionizada antes da releitura, com posterior correção pelo fator de diluição. As leituras foram realizadas em triplicata ($n = 3$) e os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalente, média $\pm$ desvio-padrão.

2.2.9 Caracterização reológica das soluções filmogênicas

A caracterização reológica das soluções filmogênicas foi realizada em reômetro Thermo Scientific HAAKE modelo MARS IQ Air. Foram analisadas quatro formulações: a solução filmogênica controle, contendo apenas amido de milho e glicerol, e três soluções incorporadas com diferentes volumes da dispersão coloidal de nanopartículas de zeína estabilizadas com Pluronic F-68 contendo óleo essencial de Lippia alba (200 μ L, 500 μ L e 1 mL).

O ensaio foi conduzido em três etapas consecutivas: rampa ascendente de taxa de cisalhamento de 0 a 100 s^{-1} em 50 pontos (~ 120 s); patamar a $\dot{\gamma} = 100 s^{-1}$ por 60 s; rampa descendente de 100 a 0 s^{-1} em 50 pontos. Temperatura controlada a 25 °C. As variáveis registradas foram tensão de cisalhamento (τ , em Pa), viscosidade aparente (η , em mPa·s) e taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$, em s^{-1}).

Os dados foram tratados com o seguinte protocolo: descarte de pontos com $\dot{\gamma} < 1 s^{-1}$ por instabilidade numérica do quociente $\tau/\dot{\gamma}$; cálculo da viscosidade aparente em três taxas de cisalhamento de referência (10, 50 e 100 s^{-1}) por interpolação linear.

2.2.10 Umidade e solubilidade em água

A umidade e a solubilidade em água dos biofilmes foram determinadas conforme a metodologia descrita por Colla, Sobral e Menegalli (2006), com adaptações. As análises foram realizadas em triplicata para cada formulação (controle, 200 μ L, 500 μ L e 1 mL de dispersão de nanopartículas), totalizando três seções de filme distribuídas em três béqueres distintos.

Inicialmente, béqueres de vidro foram previamente secos em estufa a 105 °C por 24 horas e pesados em balança analítica para a obtenção da massa do recipiente vazio. Em seguida, seções de 2 $\times$ 2 cm de cada biofilme foram cortadas e pesadas no interior de cada béquer, registrando-se a massa inicial (M1). Os conjuntos béquer/filme foram então conduzidos novamente à estufa a 105° C por 24 h, sendo posteriormente pesados para a determinação da massa após secagem (M2). Para a etapa de solubilidade, adicionaram-se 50 mL de água destilada a cada béquer, e o sistema foi submetido à agitação em mesa agitadora por 24 h a 25° C. Após esse período, os béqueres retornaram à estufa a 105° C por 24 h para evaporação total da água, obtendo-se a massa final (M3). Entre cada pesagem, os béqueres permaneceram em dessecador por 30 minutos para estabilização térmica.

Os percentuais de umidade e de solubilidade em água foram calculados conforme as Equações 1 e 2, respectivamente:

$$\begin{aligned}\text{Umidade (\%)} &= [(M1 - M2) / M1] \times 100(1) \\ \text{Solubilidade (\%)} &= [(M2 - M3) / M2] \times 100(2)\end{aligned}$$

Onde M1, M2 e M3 correspondem às massas líquidas do filme (subtraída a massa do béquer) antes da secagem, após a primeira secagem e após a etapa de dissolução em água com nova secagem, respectivamente. Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão da triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das nanopartículas de zeína contendo óleo essencial de *Lippia alba*

A dispersão obtida pelo método de nanoprecipitação foi caracterizada quanto ao diâmetro hidrodinâmico, ao índice de polidispersividade (PDI) e ao potencial zeta. Os valores médios estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Características físico-químicas das nanopartículas de zeína contendo óleo essencial de *Lippia alba*.

Parâmetro	Resultado (média $\pm$ DP)
Diâmetro hidrodinâmico (Z-Average, nm)	257,3 $\pm$ 6,4
Índice de polidispersividade (PDI)	0,132 $\pm$ 0,022
Pico principal de intensidade (nm)	297,8 $\pm$ 13,9
Potencial zeta (mV)	+5,36 $\pm$ 0,33
Condutividade da dispersão (mS/cm)	0,2274

Fonte: Autores (2026). Nota: Valores expressos como média $\pm$ desvio-padrão de três leituras instrumentais consecutivas da mesma amostra (n = 3).

As nanopartículas apresentaram diâmetro hidrodinâmico médio de 257,3 $\pm$ 6,4 nm e PDI de 0,132 $\pm$ 0,022. O valor de PDI inferior a 0,2 indica distribuição de tamanhos estreita e monomodal, evidenciando boa uniformidade do sistema obtido após a nanoprecipitação. Esse comportamento foi confirmado pelo correlograma das medições, que apresentou decaimento exponencial único, sem ombros ou platôs intermediários que indicariam a coexistência de populações de tamanhos distintos ou a presença de agregados grosseiros.

Os tamanhos obtidos estão em concordância com os reportados na literatura para sistemas análogos de nanopartículas de zeína estabilizadas com Pluronic. Da Rosa *et al.* (2019) obtiveram nanopartículas de zeína incorporando óleos essenciais pelo mesmo método de nanoprecipitação, com diâmetros na faixa de 100 a 300 nm, enquanto Nunes *et al.* (2025) reportaram diâmetros similares para nanopartículas de zeína contendo própolis e curcumina. A obtenção de partículas em escala nanométrica é desejável para os objetivos deste trabalho, pois favorece a dispersão homogênea do óleo essencial na matriz polimérica do biofilme e amplia a área superficial de contato, o que pode potencializar tanto a liberação controlada dos compostos bioativos quanto a interação destes com possíveis micro-organismos contaminantes durante a aplicação como embalagem ativa.

O potencial zeta das nanopartículas apresentou valor de +5,36 $\pm$ 0,33 mV. Na literatura clássica de sistemas coloidais, valores absolutos de potencial zeta superiores a 30 mV são associados a dispersões eletrostaticamente estáveis, enquanto valores inferiores costumam ser interpretados como indicativo de tendência à agregação. No entanto, é necessário considerar o mecanismo de estabilização que efetivamente atua no sistema desenvolvido neste trabalho. O Pluronic, utilizado como agente estabilizante, é um copolímero tribloco do tipo polietilenoglicol-polipropilenoglicol-polietilenoglicol (PEO-PPO-PEO), de caráter não iônico, que

estabiliza nanopartículas predominantemente por mecanismo estérico, e não eletrostático.

Durante a formação das nanopartículas, o bloco hidrofóbico PPO adsorve-se à superfície da zeína, ao passo que as cadeias hidrofílicas de PEO permanecem projetadas para o meio aquoso, formando uma camada que impede a aproximação direta entre as partículas. Esse mesmo mecanismo justifica o valor reduzido de potencial zeta medido, uma vez que a cobertura superficial pelo copolímero blinda parcialmente as cargas residuais da zeína, proteína cujo ponto isoelétrico encontra-se em torno de pH 5 a 6,2, e desloca o plano de cisalhamento para uma região mais distante da superfície da partícula, o que naturalmente reduz a magnitude do potencial zeta aparente. Resultados de tendência semelhante foram observados por Da Rosa *et al.* (2019) e por Nunes *et al.* (2025), que reportaram nanopartículas de zeína com valores de potencial zeta próximos à neutralidade sem comprometimento da estabilidade da dispersão.

Dessa forma, os resultados de caracterização indicam que o sistema desenvolvido apresentou as propriedades desejadas para a incorporação na matriz do biofilme: partículas em escala nanométrica, distribuição estreita e uniforme de tamanhos e estabilização adequada para o processamento subsequente. Esses dados validam a etapa de nanoprecipitação como rota apropriada para a obtenção das nanopartículas carreadoras do óleo essencial de *Lippia alba* destinadas ao desenvolvimento do biofilme ativo proposto.

3.2 Caracterização bioativa das nanopartículas de óleo essencial de *Lippia alba*.

A confirmação da atividade biológica das nanopartículas produzidas por nanoprecipitação foi realizada por meio de dois ensaios complementares: a quantificação dos compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu (Swain; Hillis, 1959) e a determinação da capacidade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995). Ambos os ensaios foram conduzidos em triplicata sobre a dispersão coloidal das nanopartículas, com os resultados expressos como média e respectivo desvio padrão.

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada com base em curva padrão de ácido gálico (GAE), construída com seis pontos na faixa de 0,01 a 0,75 mg mL⁻¹. A regressão linear forneceu a equação $y = 1,7935x + 0,0403$, com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9946$, indicando excelente linearidade do método dentro do intervalo de trabalho.

A leitura inicial da dispersão de nanopartículas excedeu o limite de 0,6 estabelecido pelo protocolo para garantir resposta linear do espectrofotômetro (Swain; Hillis, 1959); a amostra foi então diluída na proporção 1:1 (v/v) com água deionizada e a releitura forneceu absorbância média de $0,432 \pm 0,021$ ($n = 3$). Aplicando-se a equação da curva padrão à absorbância da amostra diluída e multiplicando-se o resultado pelo fator de diluição ($FD = 2$), obteve-se o teor de compostos fenólicos totais da dispersão original. A dispersão apresentou teor de compostos fenólicos totais de $0,437 \pm 0,024$ mg GAE mL⁻¹. O reduzido desvio padrão entre as triplicatas reflete boa repetibilidade do processo de nanoprecipitação, sugerindo que a encapsulação manteve concentração homogênea de bioativos entre os lotes produzidos.

O método de Folin-Ciocalteu, embora denominado ensaio de "fenólicos totais", responde de modo não específico a compostos com capacidade de doar elétrons em meio alcalino para o complexo fosfomolibdico-fosfotúngstico (Swain; Hillis, 1959). Dessa maneira, a intensidade do sinal observado reflete a contribuição conjunta dos

diversos constituintes redutores presentes no óleo essencial de *L. alba*, entre eles citral, linalol e carvona, descritos como compostos majoritários da espécie (Tavares *et al.*, 2005). A magnitude do teor obtido, suficiente para exigir diluição prévia da amostra para se manter dentro da faixa linear do espectrofotômetro, sugere que a nanoencapsulação preservou a integridade química do óleo essencial, condição essencial para a manutenção de sua bioatividade durante a posterior incorporação nos biofilmes.

A capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) pela dispersão de nanopartículas foi calculada a partir da diferença entre a absorbância do branco (etanol + DPPH 0,1 mM, Abs = 0,956) e a das amostras, segundo a equação

$$AA(\%) = \frac{Abs\ branco - Abs\ amostra}{Abs\ branco} \times 100$$

conforme proposto por Brand-Williams *et al.*, (1995). Os resultados das triplicatas, juntamente com os teores de compostos fenólicos previamente determinados, estão consolidados na Tabela 2.

Tabela 2 — Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (DPPH) da dispersão de nanopartículas contendo óleo essencial de *Lippia alba*.

Replicata	Conc. GAE na dispersão original (mg mL ⁻¹)	AA (%)
R1	0,426	6,9
R2	0,421	8,16
R3	0,465	6,8
Média ± DP	0,437 ± 0,024	7,29 ± 0,76

Fonte: autores (2026). Nota: Curva padrão de ácido gálico: $y = 1,7935x + 0,0403$; $R^2 = 0,9946$. Branco do ensaio DPPH (etanol + DPPH 0,1 mM): Abs = 0,956.

A dispersão apresentou atividade antioxidante de $7,29 \pm 0,76$ %. O reduzido desvio padrão observado nas absorbâncias das triplicatas ($\pm 0,007$) evidencia alta precisão analítica do ensaio. A AA% positiva confirma a ação das nanopartículas como sequestradoras de radicais livres e mostra-se coerente com a resposta obtida no ensaio de Folin-Ciocalteu, no qual também se detectou teor expressivo de compostos redutores.

A atividade antioxidante observada é atribuída principalmente aos constituintes oxigenados do óleo essencial de *L. alba*, sobretudo monoterpenos como citral, linalol e carvona, capazes de doar átomos de hidrogênio para estabilizar o radical DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995; Tavares *et al.*, 2005). A magnitude do valor de AA% obtido ($7,29 \pm 0,76\%$) deve ser interpretada a partir de três aspectos complementares. O primeiro é a diluição inerente ao próprio ensaio: a alíquota de 150 µL de dispersão é misturada a 2850 µL de solução de DPPH 0,1 mM, correspondendo a uma diluição efetiva de 1:20 (v/v), o que reduz substancialmente a concentração de bioativo em contato com o radical. O segundo é a natureza nanoencapsulada do composto bioativo: o óleo essencial encontra-se aprisionado em uma matriz proteica de zeína, impondo uma barreira física à sua difusão para o meio reacional, comportamento desejado em sistemas de liberação controlada para embalagens ativas, nos quais a

cessão lenta do agente antioxidante prolonga o efeito protetor sobre o alimento embalado (Da Rosa et al., 2019; Nunes et al., 2025). O terceiro, e fundamental para contextualizar os dois anteriores, é que o próprio óleo essencial livre de *L. alba* apresenta capacidade de sequestro do radical DPPH intrinsecamente baixa: estudos com diferentes quimiotipos da espécie reportam valores inferiores a 8,6% para o óleo livre nas condições do ensaio (Stashenko et al., 2022), resultado atribuído à composição majoritária em monoterpenos como o citral, cujo mecanismo antioxidante pelo DPPH é menos eficiente do que o de compostos fenólicos ou de quimiotipos ricos em timol (Da Rosa et al., 2019). Nesse contexto, a AA% de 7,29% observada para a dispersão de nanopartículas é consistente com o intervalo esperado para o óleo livre da espécie, indicando que a nanoencapsulação em zeína preservou a atividade antioxidante do óleo essencial de *L. alba* sem promover perdas expressivas de sua bioatividade durante o processamento.

Resultados semelhantes foram reportados por da Rosa *et al.* (2019) ao desenvolverem nanopartículas de zeína contendo óleos essenciais de *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris*, nas quais a atividade antioxidante imediata foi inferior à observada para os óleos livres, porém com manutenção da capacidade antioxidante ao longo do tempo devido à liberação gradual do bioativo. Comportamento semelhante foi descrito por Nunes *et al.* (2025) em bionanocompósitos de metilcelulose contendo nanopartículas de zeína com curcumina e própolis, reforçando que a nanoencapsulação em zeína atua simultaneamente como mecanismo de proteção e de modulação da liberação de compostos bioativos. A correlação positiva entre o sinal expressivo no ensaio de Folin-Ciocalteu e a AA% positiva no DPPH é coerente com o esperado, uma vez que ambos os métodos respondem ao mesmo grupo de compostos doadores de elétrons ou hidrogênio (Benzie; Strain, 1996). Em conjunto, esses resultados validam o sistema de nanoencapsulação proposto e respaldam sua aplicação subsequente como agente bioativo em biofilmes de amido de milho e metilcelulose destinados a embalagens funcionais.

3.3 Análise colorimétrica dos biofilmes

A análise colorimétrica foi realizada para avaliar o impacto da incorporação das nanopartículas de zeína contendo óleo essencial de *Lippia alba* sobre a aparência dos biofilmes, parâmetro relevante para sua aplicação em embalagens ativas, uma vez que a coloração interfere diretamente na visualização do produto embalado e na aceitação do consumidor (Espitia *et al.*, 2014). Os parâmetros do espaço de cor CIELAB, L*, a* e b*, foram registrados para cada formulação, juntamente com a diferença total de cor (ΔE_{00}), calculada em relação ao branco padrão de referência e em relação ao biofilme controle, e os índices derivados de brancura (WI) e de amarelamento (YI). Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros colorimétricos dos biofilmes de amido de milho incorporando diferentes volumes de óleo essencial nanoencapsulado de *Lippia alba*.

Amostra	L*	a*	b*	WI	YI	ΔE_{00} (vs branco)	ΔE_{00} (vs controle)
Branco padrão	97,49	-1,23	-0,28	97,19	-0,41	—	—

Controle	88,31	+0,20	-1,91	88,15	-3,09	6,17	—
200 µL	88,86	-0,21	-1,92	88,69	-3,09	5,68	0,70
500 µL	87,72	+0,33	-1,16	87,66	-1,89	6,44	0,83
1 mL	91,80	-0,77	+1,89	91,55	+2,94	4,05	4,51

Fonte: Autores (2026). Nota: WI = índice de brancura; YI = índice de amarelamento; ΔE_{00} = diferença total de cor pela métrica CIEDE2000.

Conforme apresentado na Tabela 3, todos os biofilmes exibiram elevada luminosidade, com valores de L^* entre 87,72 e 91,80, indicando filmes claros e de alta transparência, ainda que ligeiramente inferiores ao branco padrão de referência ($L^* = 97,49$). O biofilme controle apresentou L^* de 88,31, enquanto as formulações contendo 200 µL e 500 µL de óleo essencial nanoencapsulado exibiram valores muito próximos (88,86 e 87,72, respectivamente), evidenciando que a incorporação das nanopartículas nesses volumes não alterou significativamente a luminosidade da matriz. A formulação com 1 mL apresentou L^* de 91,80, valor superior ao do controle, comportamento que pode estar relacionado a alterações na morfologia superficial do filme decorrentes da maior densidade de nanopartículas dispersas na matriz.

Os parâmetros a^* e b^* permitem caracterizar a tonalidade dos filmes no plano cromático. Os valores de a^* mantiveram-se próximos de zero em todas as formulações (variando de -0,77 a +0,33), indicando ausência de tonalidade marcante no eixo verde-vermelho. Já a coordenada b^* revelou o achado mais expressivo da análise: o biofilme controle apresentou $b^* = -1,91$, característico de uma leve tonalidade azulada, e as formulações com 200 µL e 500 µL exibiram valores praticamente idênticos ($b^* = -1,92$ e $-1,16$, respectivamente), permanecendo na mesma região cromática do controle. Entretanto, o biofilme contendo 1 mL de óleo essencial nanoencapsulado apresentou $b^* = +1,89$, com inversão completa de sinal, deslocando-se do quadrante azulado para o quadrante amarelo. Esse comportamento é confirmado pelo ângulo de tonalidade (h°), calculado a partir das coordenadas a^* e b^* , que passou de aproximadamente 276° (região azul) no controle para $112,2^\circ$ (região amarelo-verde) na formulação com 1 mL.

A diferença total de cor entre as amostras, calculada pela métrica CIEDE2000 (ΔE_{00}), foi avaliada sob duas perspectivas: em relação ao branco padrão e em relação ao biofilme controle. Quando comparados ao branco padrão, todos os biofilmes apresentaram diferenças cromáticas detectáveis (ΔE_{00} entre 4,05 e 6,44), o que era esperado, considerando que mesmo a matriz controle, isenta de nanopartículas, não reproduz a brancura absoluta da referência. No entanto, a comparação cientificamente mais relevante é aquela realizada entre os biofilmes incorporados e o controle, pois permite isolar o efeito específico da adição das nanopartículas sobre a coloração. Nessa comparação, observou-se $\Delta E_{00} = 0,70$ para a formulação com 200 µL, $\Delta E_{00} = 0,83$ para a formulação com 500 µL e $\Delta E_{00} = 4,51$ para a formulação com 1 mL. De acordo com a classificação proposta por Mokrzycki e Tatol (2011), valores de ΔE inferiores a 1,0 correspondem a diferenças cromáticas não perceptíveis pelo olho humano, enquanto valores entre 3,5 e 5,0 indicam diferenças claras e marcantes. Conclui-se, portanto, que as formulações com 200 µL e 500 µL apresentam coloração visualmente indistinguível do biofilme controle, ao passo que a formulação com 1 mL exibe alteração de cor claramente perceptível a olho nu.

Os índices de brancura (WI) e de amarelamento (YI) corroboram o padrão observado nas coordenadas individuais. O índice de amarelamento manteve-se

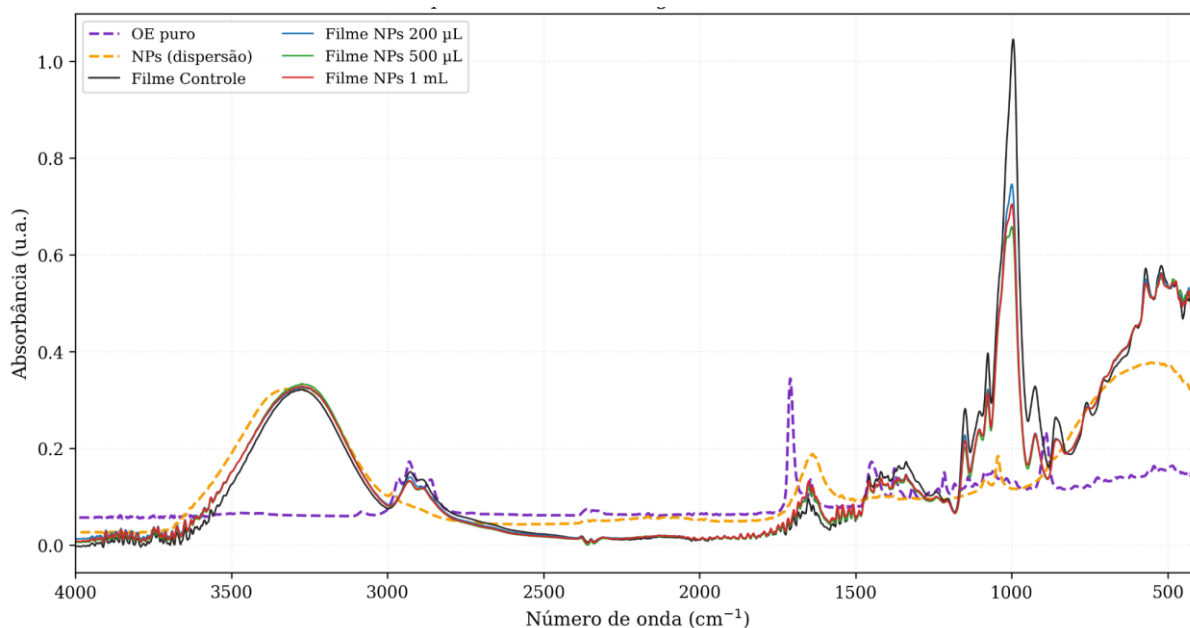
negativo e praticamente constante nas formulações controle (YI = -3,09), 200 µL (YI = -3,09) e 500 µL (YI = -1,89), refletindo o discreto tom azulado da matriz polimérica. Já na formulação com 1 mL, o YI tornou-se positivo (YI = +2,94), confirmando quantitativamente a transição perceptível para a tonalidade amarela. O índice de brancura, por sua vez, variou pouco entre as três primeiras formulações (87,66 a 88,69) e apresentou leve aumento na amostra com 1 mL (WI = 91,55), consistente com sua maior luminosidade, ainda que com tonalidade mais amarelada.

O surgimento da tonalidade amarela na formulação com maior volume de óleo essencial nanoencapsulado é coerente com a natureza intrínseca da zeína, proteína de milho que apresenta coloração amarelada característica decorrente da presença de pigmentos carotenóides ligados à sua estrutura (Da Rosa *et al.*, 2019). À medida que a quantidade de nanopartículas dispersas na matriz polimérica aumenta, esse pigmento natural torna-se progressivamente perceptível, alterando a aparência macroscópica do filme. Comportamento análogo foi reportado por Nunes *et al.* (2025), que observaram acentuação da coloração amarela em filmes incorporando nanopartículas de zeína conforme se elevou a concentração de nanopartículas. A ausência desse efeito nas formulações com 200 µL e 500 µL indica que a quantidade de nanopartículas presentes nesses biofilmes ainda é insuficiente para produzir uma mudança visualmente detectável de cor, característica desejável em embalagens ativas destinadas a aplicações em que a transparência e a manutenção da aparência original do produto são requisitos críticos.

3.4 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise por FTIR foi conduzida com o objetivo de identificar os principais grupos funcionais presentes nos componentes do sistema e de verificar a incorporação das nanopartículas de zeína contendo óleo essencial de *Lippia alba* nos biofilmes de amido de milho. Foram analisadas, na faixa de 400 a 4000 cm⁻¹, seis amostras: o óleo essencial puro (OE), a dispersão de nanopartículas (NP), o filme controle e os três filmes contendo, respectivamente, 200 µL, 500 µL e 1 mL da dispersão de nanopartículas. Os espectros obtidos estão apresentados de forma comparativa na Figura 1.

Figura 1 – Espectro FTIR, das seis amostras.



Fonte: Autores (2026).

O espectro do óleo essencial puro apresentou, como banda mais intensa, o estiramento C=O em 1710 cm^{-1} (Abs = 0,344), característico do citral, principal componente do óleo essencial de *Lippia alba* (Tavares *et al.*, 2005). Foram observadas, ainda, bandas em 2925 e 2870 cm^{-1} , atribuídas aos estiramentos C–H de grupos CH_2 e CH_3 das cadeias terpênicas, em 1644 cm^{-1} (estiramento C=C), em 1449 e 1375 cm^{-1} (deformações angulares de C–H) e em 891 cm^{-1} (estiramento =C–H de alceno terminal). Esse conjunto de bandas é consistente com a composição majoritária do óleo em terpenos voláteis.

Na dispersão de nanopartículas, observaram-se duas bandas de elevada intensidade na região de 1500 a 1700 cm^{-1} : a banda Amida I em 1650 cm^{-1} (Abs = 0,189), atribuída ao estiramento C=O da ligação peptídica, e a banda Amida II em 1545 cm^{-1} (Abs = 0,105), originada do acoplamento entre a deformação angular do N–H e o estiramento C–N da mesma ligação. Estas duas bandas constituem a assinatura espectroscópica característica das proteínas (Nunes *et al.*, 2025) e confirmam a presença da zeína como matriz encapsulante. Adicionalmente, foi identificada a banda do citral em 1710 cm^{-1} , atenuada em relação ao óleo puro (Abs = 0,104, redução de aproximadamente 70%), o que sugere o encapsulamento: o óleo essencial encontra-se aprisionado no interior das nanopartículas, com seu sinal espectroscópico parcialmente blindado pelo ambiente molecular da matriz proteica e diluído pela presença do meio aquoso (Da Rosa *et al.*, 2019).

Os quatro biofilmes apresentaram o conjunto de bandas característico da matriz de amido. A banda larga em aproximadamente 3280 cm^{-1} corresponde ao estiramento de grupos O–H, com contribuições do polissacarídeo, do glicerol e de moléculas de água adsorvidas. As bandas em 2925 e 2880 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos C–H das cadeias polissacarídicas. Na região fingerprint, destacaram-se a banda C–O–C do anel piranosídico em 1080 cm^{-1} , a banda principal do amido em 1020 cm^{-1} (atribuída ao estiramento C–O do anel anidroglicose), a banda da ligação α -1,4 glicosídica em 930 cm^{-1} e a vibração do esqueleto piranosídico em 760 cm^{-1} , em concordância com o reportado por Mali, Grossmann e Yamashita (2010) para filmes à base de amido.

A análise comparativa entre as seis amostras permitiu rastrear, de modo experimental, a origem química das bandas observadas nos biofilmes nanoestruturados. As bandas Amida I e Amida II, identificadas em 1650 e 1545 cm^{-1} na dispersão de nanopartículas, encontram-se ausentes no espectro do óleo essencial puro, o que demonstra que a sua presença nos filmes pode ser atribuída exclusivamente à incorporação da zeína. De forma análoga, a presença da banda em 1710 cm^{-1} nos filmes contendo nanopartículas, em níveis superiores aos do controle, indica a manutenção do óleo essencial encapsulado após o processo de obtenção das películas por casting.

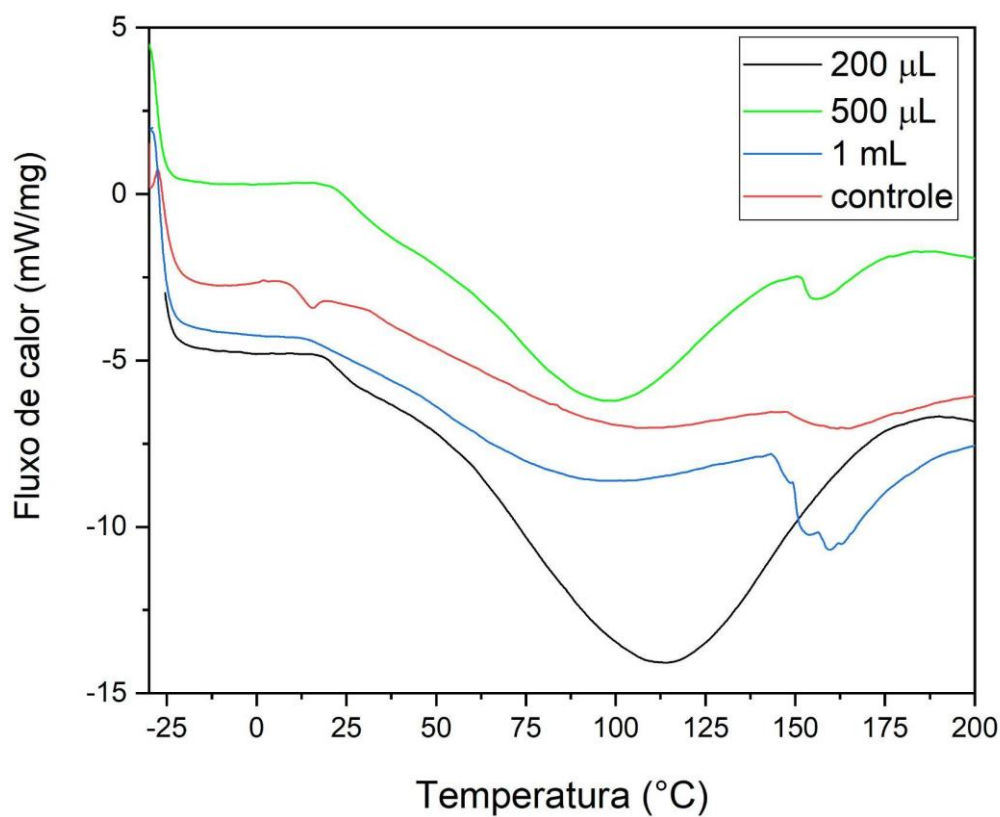
A incorporação das nanopartículas nos biofilmes foi confirmada pela intensificação dose-dependente das bandas amida. A banda Amida I aumentou progressivamente de 0,096 u.a. (filme controle) para 0,121 u.a. (filme com 200 μL), 0,119 u.a. (filme com 500 μL) e 0,132 u.a. (filme com 1 mL), o que corresponde a um acréscimo de até 38% em relação ao controle. A banda Amida II, mais específica da zeína por não sofrer interferência da água adsorvida, apresentou aumento de 14% no filme com maior carga de nanopartículas (de 0,073 para 0,083 u.a.). A banda do citral em 1710 cm^{-1} também apresentou aumento médio de aproximadamente 22% nas amostras contendo nanopartículas, indicando que o óleo essencial encapsulado foi preservado após o processamento. Comportamento semelhante foi reportado por Nunes *et al.* (2025) para bionanocompósitos contendo nanopartículas de zeína com própolis e curcumina.

Observou-se ainda que as bandas características do amido (1020, 1080 e 1150 cm^{-1}) apresentaram menor absorbância nos filmes contendo nanopartículas em comparação ao controle. Esse comportamento não indica degradação da matriz polimérica, mas pode ser atribuído a três fatores combinados: à diluição relativa da fração mássica de amido decorrente da adição de até 1 mL de dispersão aquosa à formulação; à formação de pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxila do amido e os grupos C=O e N-H da zeína, que podem atenuar ou deslocar levemente as vibrações características do polissacarídeo; e a possíveis alterações na organização cristalina do amido, hipótese a ser avaliada por análise complementar de difração de raios X.

3.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise por calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi conduzida para investigar as transições térmicas dos biofilmes desenvolvidos e avaliar o efeito da incorporação das nanopartículas de zeína contendo óleo essencial de *Lippia alba* sobre o comportamento térmico da matriz polimérica. Os termogramas das quatro formulações controle (sem nanopartículas) e biofilmes contendo 200 μL , 500 μL e 1 mL de óleo essencial nanoencapsulado estão apresentados na Figura 2, com as linhas de base alinhadas em $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ para permitir comparação direta dos eventos térmicos observados.

Figura 2 – Termogramas DSC dos biofilmes de amido de milho incorporando diferentes volumes de óleo essencial nanoencapsulado de *Lippia alba*.



Fonte: Autores (2026).

Em todas as amostras observa-se uma linha de base estável entre $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e aproximadamente $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, sem transição vítrea (T_g) nítida nesse intervalo, indicando que a T_g do sistema amido plastificado com glicerol encontra-se fora da faixa analisada ou ocorre de forma muito tênue, sobreposta à inclinação inicial da curva. Esse comportamento é coerente com o reportado por Mali *et al.* (2008) para filmes de amido plastificados, em que a T_g situa-se em temperaturas inferiores a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ quando há teor adequado de glicerol e umidade residual.

A partir de aproximadamente $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, todos os biofilmes apresentam um pico endotérmico amplo, com temperatura de pico entre $86,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $104,7\text{ }^{\circ}\text{C}$, atribuído à evaporação de água ligada à matriz polimérica. Esse comportamento é típico de biopolímeros higroscópicos como o amido, que retêm água por meio de ligações de hidrogênio com seus grupos hidroxila (Espitia *et al.*, 2014). O biofilme controle apresentou pico em $90,7\text{ }^{\circ}\text{C}$, com entalpia de vaporização (ΔH) de $28,9\text{ J/g}$, enquanto os biofilmes contendo nanopartículas exibiram valores de ΔH consideravelmente maiores: $71,3\text{ J/g}$ para a formulação com $200\text{ }\mu\text{L}$ ($T_{\text{Pico}} = 104,7\text{ }^{\circ}\text{C}$), $93,2\text{ J/g}$ para $500\text{ }\mu\text{L}$ ($T_{\text{Pico}} = 93,3\text{ }^{\circ}\text{C}$) e $38,5\text{ J/g}$ para 1 mL ($T_{\text{Pico}} = 86,7\text{ }^{\circ}\text{C}$). O aumento da entalpia associado à incorporação das nanopartículas, em especial na formulação de $500\text{ }\mu\text{L}$, cuja energia para evaporação da água é aproximadamente três vezes superior à do controle, sugere maior afinidade do biofilme com a água após a incorporação das nanopartículas. Esse comportamento pode ser atribuído à presença do agente estabilizante Pluronic, hidrofílico, na superfície das nanopartículas de zeína (Da Rosa *et al.*, 2019). Resultado semelhante foi observado por Nunes *et al.* (2025) em filmes incorporando nanopartículas de zeína contendo própolis e curcumina, nos quais a

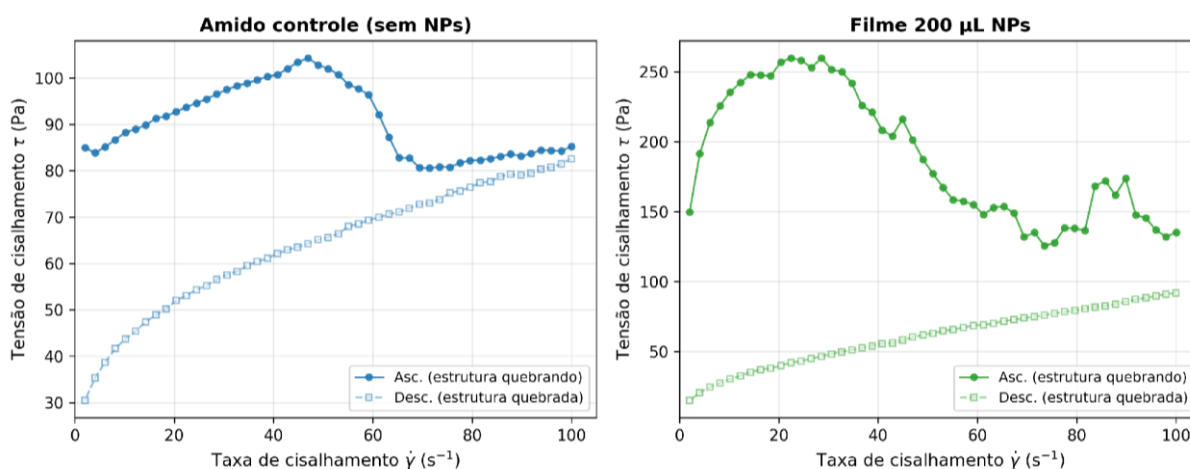
higroscopicidade do filme foi modulada pela densidade de nanoestruturas dispersas na matriz.

Um segundo evento endotérmico, mais estreito, foi identificado na faixa de 140–175 °C nos biofilmes controle, 500 µL e 1 mL. No controle, esse evento ocorreu em 158,1 °C, com ΔH de apenas 4,0 J/g, podendo estar associado a transições residuais da fração amilose do amido. Na formulação com 500 µL, observou-se pico em 154,0 °C ($\Delta H = 5,0$ J/g), e na formulação com 1 mL o pico apresentou-se intenso, em 156,2 °C, com ΔH de 20,9 J/g valor cerca de cinco vezes superior ao observado nas demais amostras. A intensificação desse evento com o aumento do volume de óleo essencial nanoencapsulado sugere uma relação direta entre o pico e a presença das nanopartículas no filme. Atribui-se essa transição ao comportamento térmico das nanopartículas de zeína, possivelmente associada à sua transição vítrea ou ao rearranjo estrutural da proteína, fenômeno cuja temperatura, em zeína pura, é reportada em torno de 165 °C (Nunes *et al.*, 2025). A leve antecipação observada nos biofilmes (154–156 °C) pode ser decorrente da plastificação da zeína pelo glicerol e pela água residual da matriz, bem como pela interação com os componentes voláteis do óleo essencial encapsulado, como o citral e o linalol (Tavares *et al.*, 2005). A ausência desse evento na formulação com 200 µL pode indicar que essa concentração de óleo essencial é insuficiente para promover a quantidade de nanopartículas necessária à geração de um sinal térmico detectável nas condições experimentais empregadas.

3.6 Caracterização reológica das soluções filmogênicas

A Figura 3 apresenta as curvas individuais de tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento para as quatro amostras, incluindo as rampas ascendente (estrutura sendo quebrada) e descendente (estrutura já quebrada). A Figura 4 reúne as quatro amostras em escala linear e log-log, evidenciando o comportamento pseudoplástico.

Figura 3 — Curvas de fluxo (τ vs. $\dot{\gamma}$) das quatro formulações: rampas ascendente (linha cheia) e descendente (linha tracejada).



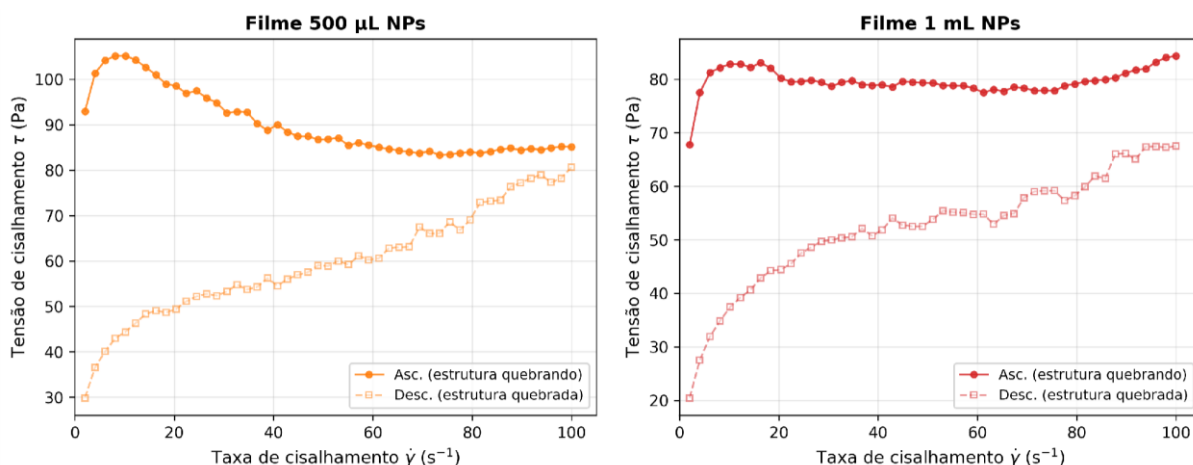
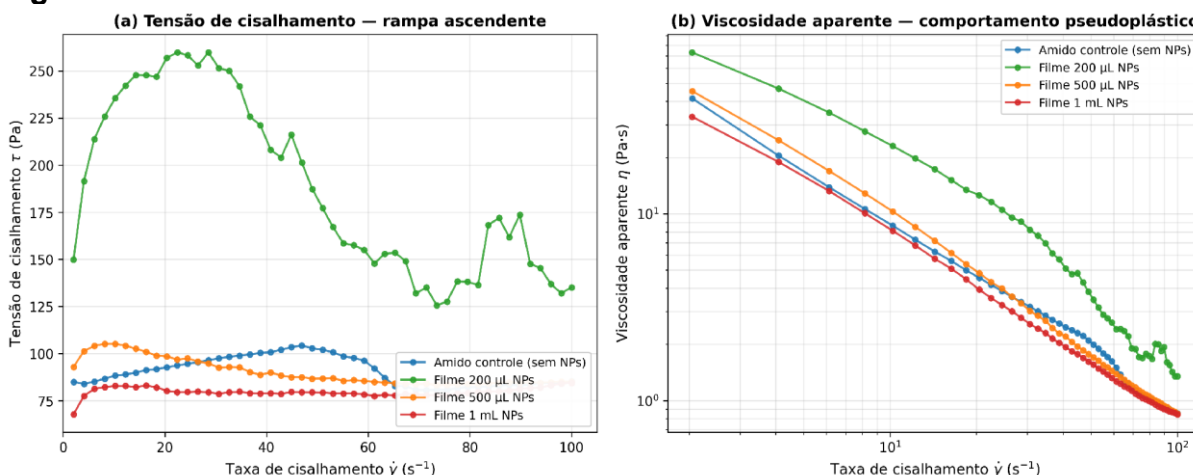


Figura 4 — Comparação direta das rampas ascendentes: (a) tensão de cisalhamento em escala linear e (b) viscosidade aparente em escala logarítmica.



A análise das curvas revela três achados centrais. Primeiro, a formulação com 200 µL de dispersão de nanopartículas apresentou nitidamente a maior viscosidade entre todas as amostras, com um pico de tensão de cisalhamento próximo a 260 Pa na rampa ascendente em $\dot{\gamma} \approx 25 \text{ s}^{-1}$ cerca de 2,5 vezes superior ao controle e às formulações de 500 µL e 1 mL, que apresentaram picos próximos de 100 Pa. Este resultado é importante porque revela um comportamento não-monotônico em função do volume de dispersão incorporado: o aumento do volume de 200 µL para 500 µL e 1 mL não aumentou a viscosidade da solução pelo contrário, fez com que ela retornasse a valores próximos ao do controle. Uma hipótese plausível é que, em baixa concentração, as nanopartículas de zeína atuam como pontos de reforço da rede polimérica formada por amido, aumentando a viscosidade da solução; em concentrações maiores, as partículas tendem a se agregar e perdem essa interação efetiva com a matriz, retornando a um nível de viscosidade próximo ao do polímero puro. Esse padrão é reportado em outros sistemas nanocompósitos (Espitia *et al.*, 2014).

Segundo, todas as formulações apresentam comportamento pseudoplástico (shear-thinning), o que é claramente visualizado na Figura 2: a viscosidade aparente diminui em pelo menos uma ordem de grandeza quando $\dot{\gamma}$ vai de 2 a 100 s^{-1} . Essa é

uma característica desejável para soluções filmogênicas, pois facilita o espalhamento na placa de Petri sob baixo cisalhamento e mantém a uniformidade durante a secagem (Mali *et al.*, 2008).

Terceiro, as curvas ascendentes apresentam um máximo de tensão seguido de queda comportamento que é especialmente pronunciado no filme 200 μL , mas também presente, em menor intensidade, no controle e no filme 500 μL . Isso indica destruição estrutural progressiva durante a própria rampa de subida, característica de géis fracos com pontos de contato físico entre cadeias poliméricas que se rompem com o cisalhamento contínuo. Para o filme 200 μL , a tensão cai de ~ 260 Pa para ~ 135 Pa entre $\dot{\gamma} = 25$ e 100 s^{-1} , o que representa cerca de 50 % de perda estrutural durante o ensaio de subida, um indicativo de rede densa porém frágil ao cisalhamento.

Os resultados da caracterização reológica permitem traçar um perfil consistente das soluções filmogênicas. Todas as formulações apresentam comportamento pseudoplástico, característica desejável para processamento por casting. A incorporação das nanopartículas de zeína afetou as propriedades reológicas de forma não-monotônica: a formulação com menor volume de dispersão incorporado (200 μL) apresentou a maior viscosidade e a maior tixotropia, enquanto as formulações com maior volume (500 μL e 1 mL) retornaram a valores próximos ao do controle. Esse comportamento sugere a existência de uma concentração ótima de nanopartículas para reforço da matriz polimérica, abaixo da qual o efeito é progressivo e acima da qual ocorre agregação das partículas com consequente perda de efetividade da interação polímero-partícula. A varredura de amplitude de deformação validou esse panorama, indicando que as nanopartículas reduzem a faixa de linearidade viscoelástica sem afetar significativamente a rigidez elástica em pequenas deformações.

3.7 Umidade e solubilidade em água

Os resultados dos ensaios de umidade e de solubilidade em água para o biofilme controle e para os biofilmes incorporados com diferentes volumes de dispersão de nanopartículas estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 — Umidade e solubilidade em água dos biofilmes de amido de milho e glicerol incorporados com diferentes volumes de dispersão de nanopartículas de zeína contendo óleo essencial de *Lippia alba*.

Formulação	Umidade (%)	Solubilidade em água (%)
Controle	$10,04 \pm 2,64$	$4,05 \pm 2,36$
200 μL	$23,07 \pm 4,21$	$12,84 \pm 4,20$
500 μL	$16,40 \pm 8,59$	$18,79 \pm 4,13$
1 mL	$18,31 \pm 1,54$	$15,05 \pm 6,18$

Fonte: Autores (2026).

Os teores de umidade situam-se entre 10 e 23%, faixa compatível com a relatada na literatura para biofilmes à base de amido plastificados com glicerol (Mali *et al.*, 2008; Espitia *et al.*, 2014). Observou-se uma tendência de aumento da umidade nos biofilmes contendo nanopartículas (16–23%) em comparação ao controle ($10,04 \pm 2,64\%$). Esse comportamento sugere que a incorporação da dispersão de

nanopartículas compostas por zeína e Pluronic F-68, contribuiu para o aumento da higroscopicidade da matriz polimérica. O copolímero F-68 apresenta cadeias hidrofílicas de poli(óxido de etileno) (PEO) capazes de reter moléculas de água por meio de ligações de hidrogênio (Da Rosa *et al.*, 2019). Adicionalmente, a presença de grupos polares expostos na superfície das nanopartículas de zeína pode ter favorecido a absorção de umidade ambiente durante o armazenamento e o manuseio dos filmes.

Quanto à solubilidade em água, o biofilme controle apresentou o menor valor médio ($4,05 \pm 2,36\%$), resultado coerente com a faixa relatada para filmes de amido plastificados com glicerol em condições experimentais comparáveis (Mali *et al.*, 2008). A incorporação de nanopartículas elevou a solubilidade para $12,84\%$ (200 μL), $18,79\%$ (500 μL) e $15,05\%$ (1 mL), o que indica que a fase nanoestruturada comprometeu parcialmente a coesão da rede amilácea, possivelmente por interferir nas ligações de hidrogênio entre as cadeias de amilose e amilopectina responsáveis pela integridade estrutural do filme em meio aquoso.

Cabe destacar que o comportamento da solubilidade não seguiu uma relação dose-resposta linear: a formulação intermediária (500 μL) apresentou valor médio superior ao da formulação com maior volume de nanopartículas (1 mL). Esse padrão é coerente com o perfil observado nos ensaios de espectroscopia no infravermelho (FTIR) para a mesma formulação, reforçando a hipótese de que existe uma faixa de concentração crítica na qual a reorganização da matriz polimérica é mais sensível à incorporação das nanopartículas. Comportamentos análogos foram descritos por Nunes *et al.* (2025), ao incorporar nanopartículas de zeína contendo própolis e curcumina em filmes biopoliméricos, evidenciando que a interação entre nanopartículas e matriz polimérica é fortemente dependente da concentração da dispersão.

Sob o ponto de vista da aplicação como embalagem ativa, a baixa solubilidade do controle representa uma vantagem em termos de estabilidade em contato com alimentos úmidos, embora essa formulação não apresente o potencial antimicrobiano conferido pelo óleo essencial de *Lippia alba* nanoencapsulado. A formulação contendo 200 μL de dispersão de nanopartículas destaca-se como o melhor compromisso entre a incorporação do composto bioativo e a manutenção da integridade físico-química do biofilme, uma vez que apresentou valores intermediários para ambos os parâmetros avaliados, mais próximos aos do controle. Esse achado é particularmente relevante para a definição da formulação ótima a ser empregada em futuras aplicações em embalagens ativas voltadas à preservação de alimentos perecíveis.

4 CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou a viabilidade do desenvolvimento de biofilmes biodegradáveis à base de amido de milho incorporando nanopartículas de zeína carregadoras do óleo essencial de *Lippia alba*, produzidas pelo método de nanoprecipitação e estabilizadas com Pluronic F-68. A caracterização integrada das nanopartículas e dos biofilmes resultantes permitiu estabelecer um conjunto consistente de evidências sobre a obtenção, a incorporação e o efeito dose-dependente das nanoestruturas na matriz polimérica.

Em relação às nanopartículas, as análises de espalhamento dinâmico de luz indicaram a obtenção de uma dispersão com diâmetro hidrodinâmico médio de $257,3 \pm 6,4$ nm, índice de polidispersividade de $0,132 \pm 0,022$ e potencial zeta de $+5,36 \pm 0,33$ mV. O conjunto desses parâmetros, em particular o PDI inferior a 0,2, confirmou a

uniformidade do sistema, enquanto o valor moderado de potencial zeta foi interpretado como consequência direta do mecanismo de estabilização estérica conferido pelas cadeias de polietilenoglicol do Pluronic adsorvidas à superfície da zeína. Os ensaios de Folin–Ciocalteu e DPPH conduzidos sobre a dispersão evidenciaram a preservação da integridade química do óleo essencial e a manutenção de sua atividade antioxidante após o encapsulamento, com resposta moderada coerente com o comportamento esperado para sistemas de liberação controlada.

A incorporação das nanopartículas nos biofilmes foi confirmada de forma complementar pelas análises de FTIR, colorimetria e DSC. Os espectros de infravermelho evidenciaram intensificação dose-dependente das bandas Amida I e Amida II específicas da zeína e a manutenção da banda do citral em 1710 cm^{-1} , comprovando que o óleo essencial encapsulado permaneceu na matriz após o processo de casting. A análise colorimétrica demonstrou que as formulações com 200 μL e 500 μL preservaram a aparência clara e neutra do biofilme, com diferenças de cor (ΔE_{00}) em relação ao controle inferiores a 1,0 abaixo do limiar de percepção visual humana, segundo o critério de Mokrzycki e Tatol (2011), ao passo que a formulação com 1 mL apresentou alteração de cor claramente perceptível, com tonalidade amarelada atribuída aos pigmentos carotenóides da zeína. Os termogramas DSC, por sua vez, revelaram o surgimento de um evento endotérmico em $150\text{--}160\text{ }^{\circ}\text{C}$, associado à transição estrutural das nanopartículas de zeína, cuja intensidade cresceu proporcionalmente à quantidade de dispersão incorporada, comprovando termicamente o que foi observado de modo visual e espectroscópico.

A caracterização reológica das soluções filmogênicas evidenciou comportamento pseudoplástico (*shear-thinning*) em todas as formulações, característica desejável para o processamento por casting, e revelou efeito não-monotônico da incorporação das nanopartículas: a formulação com 200 μL apresentou viscosidade aparente cerca de 2,5 vezes superior à do controle, enquanto as formulações com 500 μL e 1 mL retornaram a valores próximos ao da matriz pura, padrão atribuído à transição de um regime de reforço da rede polimérica para um regime de agregação das nanoestruturas em concentrações mais elevadas. Os ensaios de umidade e de solubilidade em água, por sua vez, mostraram que a incorporação das nanopartículas elevou ambos os parâmetros em relação ao controle, comportamento associado à presença de cadeias hidrofílicas de polietilenoglicol do Pluronic F-68 na superfície das nanopartículas e à interferência das nanoestruturas nas ligações de hidrogênio responsáveis pela coesão da rede amilácea. Entre as formulações incorporadas, as contendo 200 μL e 500 μL apresentaram os valores mais próximos aos do controle, consolidando-se como as faixas de incorporação mais favoráveis à preservação da integridade físico-química do biofilme em meio aquoso.

A convergência entre os resultados colorimétricos, espectroscópicos e térmicos consolida o caráter dose-dependente da incorporação das nanopartículas e indica que as formulações com 200 μL e 500 μL representam o melhor compromisso entre incorporação efetiva do bioativo e manutenção das características visuais originais do biofilme atributo desejável em embalagens ativas destinadas a aplicações em que a transparência do material é um requisito de aceitação pelo consumidor. A formulação com 1 mL, por sua vez, embora apresente maior teor de nanoestruturas e potencial bioativo mais expressivo, implica uma alteração visual relevante que deve ser ponderada conforme a aplicação pretendida.

Conclui-se, portanto, que o sistema desenvolvido constitui uma alternativa promissora para embalagens ativas biodegradáveis, alinhada com a demanda por substitutos sustentáveis aos plásticos convencionais. Como perspectivas para

trabalhos futuros, recomenda-se a avaliação das propriedades mecânicas e de barreira dos biofilmes, a determinação da atividade antimicrobiana frente a microrganismos de interesse alimentício, a realização de ensaios de migração e liberação controlada do bioativo em simulantes de alimentos e a caracterização cristalográfica por difração de raios X, com vistas à validação completa do material para aplicação industrial.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece ao Instituto Federal de Santa Catarina Câmpus Lages pelo suporte institucional, à equipe dos laboratórios de Engenharia Química pelo apoio na execução do TCC, aos Laboratórios Multiusuários pelas análises e ao Prof. Michael Ramos Nunes pela orientação ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- DA ROSA, C. G. *et al.* Application in situ of zein nanocapsules loaded with *Origanum vulgare* Linneus and *Thymus vulgaris* as a preservative in bread. *Food Hydrocolloids*, v. 99, p. 105339, 2019.
- ESPITIA, P. J. P. *et al.* Edible films and coatings: fundamental concepts and applications. *Food and Bioprocess Technology*, v. 7, n. 1, p. 31-51, 2014.
- MALI, S. *et al.* Antiplasticizing effect of glycerol and sorbitol on the properties of cassava starch films. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 11, n. 3, p. 194-200, 2008.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.
- MOKRZYCKI, W. S.; TATOL, M. Color difference ΔE : a survey. *Machine Graphics & Vision*, v. 20, n. 4, p. 383-411, 2011.
- NUNES, M. R. *et al.* Methylcellulose bionanocomposite films incorporated with zein nanoparticles containing propolis and curcumin for functional packaging. *Polysaccharides*, v. 6, n. 4, p. 91, 2025.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I — The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.
- TAVARES, E. S.; JULIÃO, L. S.; LOPES, D.; BIZZO, H. R.; LAGE, C. L. S.; LEITÃO, S. G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2005.
- STEFFE, J. F. *Rheological methods in food process engineering*. 2. ed. East Lansing: Freeman Press, 1996.
- MEZGER, T. G. *The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers*. 4. ed. Hannover: Vincentz Network, 2014.