

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO
GRANDE DO SUL

NAYARA TAÍNE BOHNENBERGER

**DESENVOLVIMENTO DE ESPUMAS ATIVAS DE AMIDO DE MANDIOCA,
ATRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS DE INCORPORAÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE TOMILHO**

Feliz
2024

NAYARA TAÍNE BOHNENBERGER

**DESENVOLVIMENTO DE ESPUMAS ATIVAS DE AMIDO DE MANDIOCA,
ATRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS DE INCORPORAÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE TOMILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Engenharia de Materiais para a obtenção do grau de Mestre Profissional em Tecnologia e Engenharia de Materiais.

Área de Concentração: Tecnologia e Engenharia de Materiais
Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de Materiais de Engenharia

Orientadora: Prof^a Dr^a. Daiane Romanzini

Coorientador: Prof. Dr. Edson Luiz Francisquetti

FELIZ

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

B677d Bohnenberger, Nayara Taíne

Desenvolvimento de espumas ativas de amido de mandioca, através de diferentes métodos de incorporação de óleo essencial de tomilho / Nayara Taíne Bohnenberger ; orientadora Daiane Romanzini ; coorientador Edson Luiz Francisquetti. – Feliz, 2024. 89 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – Campus Feliz. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Engenharia de Materiais. Mestrado Profissional em Tecnologia e Engenharia de Materiais. Feliz, 2024.

1. Ciência dos materiais. 2. Propriedades dos materiais. 3. Amido. 4. Óleos essenciais. 5. Embalagens de alimentos. I. Romanzini, Daiane. II. Francisquetti, Edson Luiz. III. Título.

CDU 620.1

NAYARA TAÍNE BOHNENBERGER

**DESENVOLVIMENTO DE ESPUMAS ATIVAS DE AMIDO DE MANDIOCA,
ATRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS DE INCORPORAÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE TOMILHO**

Trabalho Final apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Engenharia de Materiais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre Profissional em Tecnologia e Engenharia de Materiais.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr. Matheus Vinicius Gregory Zimmermann – UNESC

Prof^a. Dr^a. Cleide Borsoi - Univates

Prof^a. Dr^a. Janete Werle de Camargo Liberatori - IFRS

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daiane Romanzini – IFRS campus Feliz

Apresentado e aprovado em: 18 de março de 2024.

Local da defesa: Feliz (on-line)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação à memória do meu amado pai, Roque Nicolau Bohnenberger. Embora não esteja mais fisicamente ao meu lado, esta conquista é dedicada a você, como expressão eterna de minha gratidão e amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades maravilhosas que colocou no meu caminho.

À minha orientadora, a professora Dra. Daiane Romanzini e ao meu coorientador, o professor Dr. Edson Luiz Francisquetti, pelo acompanhamento, disponibilidade e orientação para a realização deste trabalho.

À minha família, pelo incentivo e apoio incondicional ao longo deste percurso.

Aos meus sobrinhos, por acreditarem que as minhas ideias transformarão o mundo.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação.

E a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho.

TRABALHOS REALIZADOS

TRABALHOS EM CONGRESSO

BOHNENBERGER, Nayara T.; POZZEBON, Gabriela; ANDRADE, Mara Z. de; BILCK, Ana P.; FRANCISQUETTI, Édson L.; ROMANZINI, Daiane. Morphology and mechanical properties of a composite foam based on cassava starch, clay and ramie fibers. **IN:** Congresso Brasileiro de Polímeros, 17., 2023, Joinville.

BOHNENBERGER, Nayara T.; POZZEBON, Gabriela; ANDRADE, Mara Z. de; BILCK, Ana P.; FRANCISQUETTI, Édson L.; ROMANZINI, Daiane. Chemical and thermal evaluation of a composite foam based on cassava starch, clay and ramie fibers. **IN:** Congresso Brasileiro de Polímeros, 17., 2023, Joinville.

POZZEBON, Gabriela; BOHNENBERGER, Nayara T.; FRANCISQUETTI, Édson L.; ROMANZINI, Daiane. Avaliação da capacidade de absorção de água de compósitos à base de diferentes amidos, reforçados com fibras de rami e argila montmorilonita. **IN:** Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 17., 2023, Salvador.

RESUMO

A indústria de embalagens de alimentos tem buscado atender às demandas crescentes de mercado por materiais sustentáveis e ativos. Nesse cenário, a utilização de amido se torna promissora, especialmente quando combinado a óleos essenciais, que podem apresentar propriedades antimicrobianas e antifúngicas. Entretanto, a volatilidade dessas substâncias se apresenta como um desafio. Sendo assim, este estudo objetivou avaliar duas metodologias de incorporação do óleo essencial de tomilho em espumas de amido de mandioca, através da caracterização quanto às propriedades físicas, química, morfológica, mecânica, térmicas e microbiológicas. Em um primeiro momento, o óleo essencial foi caracterizado quanto às concentrações inibitória mínima e bactericida mínima. Posteriormente, foi incorporado em argila montmorilonita sódica, através do método de emulsão. Então, as espumas de amido foram produzidas por termoformagem. A adição de óleo essencial ocorreu através da incorporação do híbrido de argila na formulação e da aplicação dessa substância na superfície das espumas. Foram verificadas concentrações inibitória e bactericida mínima de 12,5 e 25 % (v/v), respectivamente. A maior quantidade de óleo essencial incorporado (~18,88% (m/m)) foi reportado para a amostra de argila produzida com Tween 80. Através de análise termogravimétrica foi verificada a perda de parte do óleo essencial, quando simuladas às condições de processamento da espuma. Entretanto, a presença dessa substância foi detectada na espuma contendo o híbrido através de FTIR, após a termoformagem. Quando comparadas as técnicas de incorporação, a espuma contendo o híbrido apresentou maior estabilidade térmica. No entanto, a amostra na qual o óleo essencial foi aplicado na superfície (25% (m/m)) apresentou células de ar menores e mais fechadas, maior resistência ao impacto e menor taxa de absorção. Na análise microbiológica, essa amostra apresentou zonas de inibição de $2,82 \pm 0,22$; $2,85 \pm 0,15$ e $2,39 \pm 0,22$ cm contra *S. aureus* e *S. enterica* e *E. coli*. Os resultados obtidos nas análises mecânica, morfológica, térmica e físicas sugerem que, a presença de óleo essencial entre as lamelas da argila influenciou a interação entre o amido e a argila. Portanto, entre os métodos analisados, a aplicação na superfície foi o mais eficaz, sendo uma alternativa promissora para aplicação em embalagens para alimentos, especialmente para produtos contendo baixo teor de água.

Palavras-chave: Espumas de Amido, Óleo Essencial, Embalagens Ativas.

ABSTRACT

The packaging industry has been striving to meet the increasing market demands for sustainable and active materials. In this scenario, the use of starch becomes promising, especially when combined with essential oils, which have antimicrobials and antifungals properties. However, the volatility of these substances represents a challenge. Therefore, this study aimed to evaluate two methods of incorporation of thyme essential oil into cassava starch foams, focusing on the characterization of their physical, chemical, morphological, mechanical, thermal, and microbiological properties. Initially, the minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of the essential oil were determined. Then, this substance was incorporated into sodium montmorillonite clay, using the emulsion method. After that, the starch foams were produced by mixing with a magnetic stir, followed by the thermoforming. The addition of the essential oil occurred through the incorporation of the clay hybrid in the formulation and the application of this substance on the surface of the foams. Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of 12,5 e 25 % (v/v), respectively, were verified. The highest amount of incorporated essential oil (~18,88% (m/m)) was reported for the clay sample produced with Tween 80. The loss of part of the essential oil was verified through the thermogravimetric analysis, when simulate the starch foam processing conditions. However, the presence of this substance was detected in the foam containing the hybrid through FTIR, after thermoforming. When comparing the incorporation techniques, the foam containing the hybrid showed greater thermal stability. Nonetheless, the sample in which the essential oil was applied to the surface (25% (m/m)) presented smaller and more closed air cells, greater impact resistance, and lower water absorption rates. In the microbiological analysis, this sample presented inhibition zones of $2,82 \pm 0,22$; $2,85 \pm 0,15$, and $2,39 \pm 0,22$ cm against *S. aureus*, *S. enterica* and *E. coli*. The results obtained in the mechanical, morphological, thermal and physical analyzes suggest that the presence of essential oil between the clay lamellae influenced the interaction between starch and clay. Therefore, among the methods analyzed, surface application was the most effective, being a promising alternative for application in food packaging, especially for products containing low water content.

Keywords: Starch Foams, Essential Oil, Active Packaging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas da (a) amilose e (b) amilopectina.....	19
Figura 2 - Representação do mecanismo de gelatinização do amido.....	21
Figura 3 – (a) Unidades básicas na formação de silicatos de camada e sua combinação para a formação de minerais 1:1 e 2:1; (b) estruturas de silicatos 1:1 e (c) 2:1.....	23
Figura 4 – Interações entre polímeros e argilas: (a) quando há pouca interação; (b) intercalados; (c) esfoliada.....	26
Figura 5 - Mecanismos de ação dos óleos essencial.....	29
Figura 6 - Terpenos presentes no óleo essencial de tomilho.....	31
Figura 7 - Fases do estudo: caracterização do óleo essencial de tomilho, modificação de argilas, desenvolvimento e aprimoramento das espumas.....	35
Figura 8 – Microplacas com 96 poços empregadas na determinação da CIM e CBM.....	36
Figura 9 – Fluxograma do processo de modificação da argila NaMt com óleo essencial de tomilho e Tween 80.....	38
Figura 10 - Controles negativos do (a) OET e do (b) caldo Muller Hinton com 20% de Tween 20 e positivos das suspensões bacterianas (c) <i>Salmonella enterica</i> (d) <i>Staphylococcus aureus</i> e (e) <i>Escherichia coli</i> para CIM e CBM.....	46
Figura 11 - CIM, indicada pelos círculos vermelhos, e CBM, círculos verdes , após 24h, contra (a) <i>Salmonella enterica</i> , (b) <i>Staphylococcus aureus</i> e (c) <i>Escherichia coli</i>	47
Figura 12 – Espectros de FTIR para a NaMt, OET, Tween 80 e híbridos: HB_TWEEN, HB_OET e HB_OET_TWEEN.....	49

Figura 13 - Resultados de TGA e DTG do (A) óleo essencial de tomilho, (B) Tween 80, (C) NaMt, (D) HB_OET, (E) HB_TWEEN80 e (F) HB_OET_TWEEN.....	53
Figura 14 - Difrátogramas de raios-X da NaMt e de seus híbridos.....	55
Figura 15 - Quantidades de massa adicionadas no molde para a produção das espumas (a) E-CONTROLE e (b) E-NaMt	57
Figura 16 – Aspecto visual das espumas	58
Figura 17 - Espectros de FTIR das (a) matérias-primas, formulações e (b) espumas de amido	59
Figura 18 - Curvas de TGA e DTG do (a) OET, (b) NaMt, (c) HB_OET_TWEEM, (d) F-CONTROLE, (e) F-NaMt e (f) F-HB submetidas às condições de processamento das espumas	62
Figura 19 - Curvas de TGA e DTG: (a) E-CONTROLE, (b) E-NaMt, (c) E-HB, (d) E-SUP-CIM e (e) E-SUP25.....	63
Figura 20 - Microscopia eletrônica de varredura da seção transversal das amostras com aumento de 50 vezes: (a) E-CONTROLE; (b) E-NaMt; (c) E-HB; (d) E-SUP-CIM; (e) E-SUP-CBM.	66
Figura 21 - Micrografias da superfície das com aumento de 50 vezes: (a) E-CONTROLE; (b) E-NaMt; (c) E-HB; (d) E-SUP-CIM; (e) E-SUP-CBM.	67
Figura 22 – (a) Espessura e (b) densidade das espumas de amido	68
Figura 23 – Resistência ao impacto das espumas de amido	69
Figura 24 - Capacidade de absorção de água das espumas de amido	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química do óleo essencial de tomilho determinada através de GC-MS.....	34
Tabela 2 - Concentração de OET em cada poço para determinação de CIM e CBM.	36
Tabela 3 - Massa de NaMt, OET, Tween 80 e água utilizadas na modificação de argilas para a produção de HB_OET, HB_TWEEN e HB_OET_TWEEN.....	37
Tabela 4 - Espumas (E) produzidas a partir de cada formulação (F).....	40
Tabela 5 – Composição das formulações das espumas e massa adicionada no molde durante o processo de termoformagem.....	41
Tabela 6 - Concentração dos constituintes da formulação. Erro! Indicador não definido.1	
Tabela 7 – Massas de óleo essencial aplicada na superfície das amostras E-SUP-CIM e E-SUP-CBM.....	42
Tabela 8 – CIM e CBM do óleo essencial de tomilho contra (a) <i>Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Choleraesuis</i> , (b) <i>Escherichia coli</i> e (c) <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Tabela 9 - Velocidade máxima de degradação e perda de massa em baixa e alta temperatura dos híbridos e demais constituintes	52
Tabela 10 – Distância interlamelar (d_{001}) da NaMt e dos híbridos de argila.....	55
Tabela 11 – Massa de formulação perdida após a simulação das condições de processamento da espuma	61
Tabela 12 - Resumo dos resultados do TGA	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Tamanho, forma e teor de amilose alguns grânulos de amido.....	19
Quadro 2 – Atividade antimicrobiana das espumas E-CONTROLE, E-SUP-CIM e E-SUP-25 contra S. Aureus, Samolnella e E. coli.....	73

LISTA DE SIGLAS

CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standard Institute</i>
DRX	Difração de raios-X
EPS	Poliestireno expandido
F	Formulação
E	Espuma
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
GC-MS	Cromatografia gasosa – espectrometria de massa
HB	Técnica de incorporação do híbrido de argila, Tween 80 e óleo essencial
NaMt	Montmorilonita sódica
OE	Óleo essencial
OET	Óleo essencial de tomilho
OrgMt	Argila montmorilonita modificada organicamente
SUP	Técnica de aplicação de óleo essencial na superfície da espuma
TGA	Análise termogravimétrica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 JUSTIFICATIVA E PROBLEMA.....	17
1.2 OBJETIVOS.....	17
1.2.1 Objetivo geral.....	17
1.2.2 Objetivos específicos.....	17
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 AMIDO.....	18
2.2 ARGILAS.....	21
2.2.1 Argilominerais.....	22
2.2.2 Esmeclitas: montmorilonita	23
2.3 ESPUMAS DE AMIDO COMO UMA ALTERNATIVA AO USO DO POLIESTIRENO EXPANDIDO.....	25
2.4 EMBALAGENS ATIVAS.....	27
2.4.1 Utilização de óleos essenciais como agentes antimicrobianos	27
2.4.2 Técnicas de modificação de argila com óleos essenciais	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1 MATERIAIS	33
3.2 METODOLOGIA.....	34
3.2.1 Etapa 1: análise microbiológica do óleo essencial de tomilho: concentração mínima inibitória (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).....	35
3.2.1 Etapa 2: produção e caracterização dos híbridos de argila	37
3.2.3 Etapa 3: desenvolvimento e aprimoramento das espumas ativas de amido	40
4 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS	45
4.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO	45
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA NAMT, OET, TWEEN 80 E DOS HÍBRIDOS DE ARGILA,.....	49
4.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier.....	49
4.2.2 Análise termogravimétrica	51
4.2.3 Difração de raios-X.....	54

4.3 ESPUMAS DE AMIDO	56
4.3.1 Caracterização do amido.....	56
4.3.2 Aspecto das espumas	57
4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier: análise comparativa entre formulações e espumas	58
4.3.4 Análise termogravimétrica das formulações.....	60
4.3.5 Análise termogravimétrica das espumas.....	62
4.3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	65
4.3.7 Determinação da espessura e densidade	67
4.3.8 Impacto.....	69
4.3.9 Absorção de água	70
4.3.10 Análise microbiológica.....	72
5 CONCLUSÕES	75
5.1 CONTRIBUIÇÃO DO TRABALHO	76
5.2 POSSIBILIDADES DE TRABALHOS FUTUROS.....	76
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

A constante evolução das embalagens de alimentos está diretamente associada às necessidades de mercado (YILDIRIM *et al.*, 2017), que estão priorizando alimentos com maior vida útil, preservação das características sensoriais, redução de desperdícios, segurança alimentar e sustentabilidade (ABDOLLAHZADEH; NEMATOLLAHI; HOSSEINI, 2021; FLORÉZ *et al.*, 2022; YILDIRIM *et al.*, 2017). Sendo assim, para o cenário atual, o desenvolvimento de materiais ativos e sustentáveis se mostra promissor.

Devido a isso, o amido vem sendo estudado como uma alternativa na produção de embalagens para alimentos, principalmente diante dos desafios ambientais associados ao poliestireno expandido (EPS), material comumente utilizado na produção de bandejas (GIL-JASSO *et al.*, 2019; GIL-JASSO *et al.*, 2022). Entretanto, devido às limitações que as espumas de amido apresentam em relação às suas propriedades mecânicas e de absorção de água, a adição de outros aditivos e substâncias foram investigadas, incluindo partículas inorgânicas, como argila montmorilonita modificada organicamente (Cloisite® 30B e Cloisite®10^a) (MATSUDA *et al.*, 2013) e a argila montmorilonita sódica (Cloisite®Na⁺) (VERCELHEZE *et al.*, 2012).

Com o intuito de aliar a sustentabilidade à segurança alimentar, os óleos essenciais (OEs) vêm sendo estudados como componentes ativos, devido às suas propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antivirais e antioxidantes (BASSOLÉ; JULIANI, 2012). Já foi investigada a eficácia antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo (DEBIAGI *et al.*, 2014), orégano (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020; DEBIAGI *et al.*, 2014; TROUNGCHUEN *et al.*, 2017) e tomilho (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020) em espumas de amido. A adição dessas substâncias foi feita através de dois métodos: adição direta na formulação (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020; DEBIAGI *et al.*, 2014; KETKAEW *et al.*, 2018; TROUNGCHUEN *et al.*, 2017) e aplicação na superfície do material pronto (DEBIAGI *et al.*, 2014).

Entretanto, a utilização de óleos essenciais apresenta uma limitação, associada à volatilidade desses constituintes, especialmente quando submetidos às condições de processamento das espumas de amido. Debiagi e colaboradores (2014)

verificaram perdas na atividade antimicrobiana dos OEs, quando submetidos à essas condições (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020; KETKAEW *et al.*, 2018; TROUNGCHUEN *et al.*, 2017). Sendo assim, quando comparadas, a técnica de adição de OE na superfície da espuma se mostrou mais promissora em relação à adição direta na formulação (DEBIAGI *et al.*, 2014).

De forma a contornar os desafios associados à volatilidade dos óleos essenciais, foram estudadas estratégias para sua estabilização. Entre elas, a combinação dessas substâncias com minerais argilosos, como montmorilonita (AGOUGUI *et al.*, 2022; NAGY *et al.*, 2013) e haloisita (HENDESSI *et al.*, 2017; OLIVEIRA, 2022), visando reduzir a volatilização e controlar a liberação dos compostos ativos (OLIVEIRA *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2020; TORIN *et al.*, 2017). Entretanto, a adição desses híbridos foi avaliada apenas em filmes poliméricos e não em espumas de amido.

Tendo como base as informações já apresentadas, este estudo se propôs a aprimorar e comparar dois métodos para o desenvolvimento de espumas ativas à base de amido de mandioca e óleo essencial de tomilho (OET), com o intuito de superar os desafios técnicos observados em estudos anteriores e aumentar a eficácia antimicrobiana desses materiais, visando também atender as demandas atuais por embalagens mais sustentáveis. Para isso, foram produzidas espumas ativas através de duas técnicas: aplicação na superfície e incorporação de híbrido de argila montmorilonita sódica (NaMt), contendo OET.

Em um primeiro momento, o óleo essencial de tomilho foi caracterizado quanto às concentrações inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM). Em uma segunda etapa, foi feita a modificação da argila NaMt e foi avaliada a sua incorporação do OET, através de análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e difração de raios X (DRX). Na terceira etapa, foram desenvolvidas e analisadas as formulações das espumas de amido, com o intuito de investigar seu comportamento quando submetidas às condições de processamento. Por fim, as espumas de amido foram produzidas e caracterizadas quanto às propriedades físicas, química, morfológica, mecânica, térmicas e microbiológicas.

1.1 Justificativa e problema

Atualmente, a indústria de embalagens para alimentos vem priorizando o desenvolvimento de materiais sustentáveis e ativos. Nesse sentido, a combinação das espumas à base de amido de mandioca às propriedades ativas do óleo essencial de tomilho, mostra-se uma alternativa promissora.

No entanto, os óleos essenciais são substâncias voláteis e podem ter suas propriedades antimicrobianas comprometidas durante a etapa de termoformagem das espumas, que ocorre em temperaturas elevadas. Devido a isso, foi observada a necessidade de avaliar e comparar os efeitos de dois métodos de adição de óleo essencial nas propriedades físicas, química, morfológica, mecânica, térmicas e microbiológicas de espumas de amido. Entre eles, a adição de um híbrido de óleo essencial de tomilho, Tween 80 e argila montmorilonita sódica, cuja atividade antimicrobiana só foi avaliada previamente em filmes poliméricos; e a aplicação de óleo essencial na superfície das espumas, que se mostrou eficaz anteriormente, quando comparada à técnica de adição direta.

1.2 Objetivos

1.2.1 *Objetivo geral*

Avaliar e comparar duas metodologias para a produção de espumas ativas à base de amido de mandioca e óleo essencial de tomilho através da caracterização das propriedades físicas, química, morfológica, mecânica, térmicas e microbiológicas.

1.2.2 *Objetivos específicos*

- Determinar as capacidades inibitória e bactericida mínimas do óleo essencial de tomilho;
- Avaliar a incorporação de óleo essencial de tomilho em argila montmorilonita;
- Avaliar as propriedades das espumas de amido de mandioca desenvolvidas quanto a incorporação de óleo essencial de tomilho.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AMIDO

O amido é o carboidrato de reserva alimentar predominante nas plantas superiores (BEMILLER, 2019; PEREZ; AGAMA-AZEVEDO, 2017), estando presente nas folhas de todas as plantas verdes e na maioria das sementes, frutos, caules, raízes e tubérculos (ROBYT; FRASER-REID; TATSUDA, 2008). Considerado uma das principais fontes de energia para manter a vida (CARVALHO, 2013), esse biopolímero é produzido nos cloroplastos, durante a fotossíntese, e utilizado no processo metabólico da planta (PEREZ; AGAMA-AZEVEDO, 2017). Além de ser essencial para a dieta humana, fornecendo cerca de 70 a 80% das calorias que são consumidas pelos humanos do mundo inteiro (BEMILLER, 2019), o amido é empregado em inúmeras aplicações não-alimentícias, tais como: produção de cola para papel e madeira (CARVALHO, 2013).

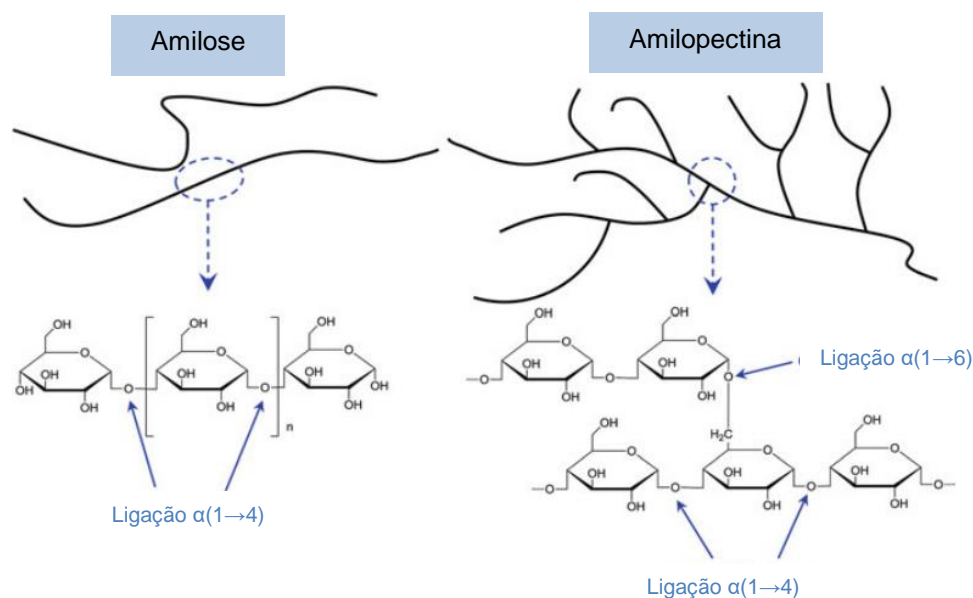
Entre as suas principais vantagens, estão a rápida biodegradação, baixo-custo, a não-toxicidade e a abundância (YU; CHEN; JIÃO, 2021). Em 2020, a produção mundial desse biopolímero foi estimada entre 88,1 e 97,7 milhões de toneladas, sendo: 75% do milho, 14% da mandioca, 7% do trigo e 4% da batata. A China e os Estados Unidos foram considerados os maiores produtores de amido de milho, enquanto a Tailândia foi considerada a maior produtora de amido de mandioca (VILPOUX; SILVEIRA JUNIOR, 2023). Em 2021, a Mordor Intelligence avaliou o mercado global de amidos industriais em US\$ 51,496,8 milhões, prevendo uma taxa de crescimento anual de 5,4% até 2027.

O amido se trata de um homopolissacarídeo, cuja unidade básica é a glicose (PEREZ; AGAMA-AZEVEDO, 2017), e que ocorre naturalmente na forma de grânulos (BEMILLER, 2019). Esse biopolímero é formado por dois componentes principais: a amilose e a amilopectina (Fig. 1) (BOBBIO; BOBBIO, 1995; PEREZ; AGAMA-AZEVEDO, 2017).

A amilose, uma molécula polimérica linear com poucas ramificações, é constituída por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, que formam

unidades de maltose (BEMILLER, 2019; BOBBIO; BOBBIO, 1995; PEREZ; AGAMA-AZEVEDO, 2017).

Figura 1 - Estruturas da (a) amilose e (b) amilopectina.



Fonte: adaptado de Xie e colaboradores (2014, p. 5).

Já a amilopectina, altamente ramificada, é formada por unidades de glicose ligadas em α -1,4 na seção linear, com cadeias de glicose ligadas em α -1,6, formando unidades de maltose e de isomaltose nos pontos de ramificação (BOBBIO; BOBBIO, 2001; PEREZ; AGAMA-AZEVEDO, 2017). A proporção de ligações 1,6 e 1,4 é de 1:20 e o tamanho das cadeias laterais é variável (BOBBIO; BOBBIO, 2001).

A morfologia dos grânulos, o grau de polimerização da amilose e da amilopectina e o teor dos constituintes variam de acordo com a espécie vegetal e a parte da planta da qual são extraídos (BEMILLER, 2019; CARVALHO, 2013). De acordo com Perez e Agama-Azevedo (2017), o teor de amilose varia de 25 a 30%, nos amidos normais, enquanto o conteúdo de amilopectina varia de 70 a 75%. Já para os amidos cerosos, o teor de amilopectina é mais elevado (98-99%). No Quadro 1 são apresentados o tamanho, forma e teor de amilose de alguns amidos de diferentes espécies botânicas.

Os rearranjos da amilose e da amilopectina são responsáveis pela formação das zonas amorfas e cristalinas dos grânulos de amido (DONMEZ *et al.*, 2021). A zona

amorfa é menos ordenada e formada através da interação entre cadeias de amilose e amilopectina (DONMEZ *et al.*, 2021). Já a região cristalina é mais compacta, devido às duplas hélices formadas pelas cadeias de amilose (BULÉON *et al.*, 1998; DONMEZ *et al.*, 2021; PEREZ; AGAMA-AZEVEDO, 2017), correspondendo a 30-45% do grânulo (ELIASSON, 2010).

Quadro 1 - Tamanho, forma e teor de amilose de grânulos de amido de acordo com a espécie vegetal.

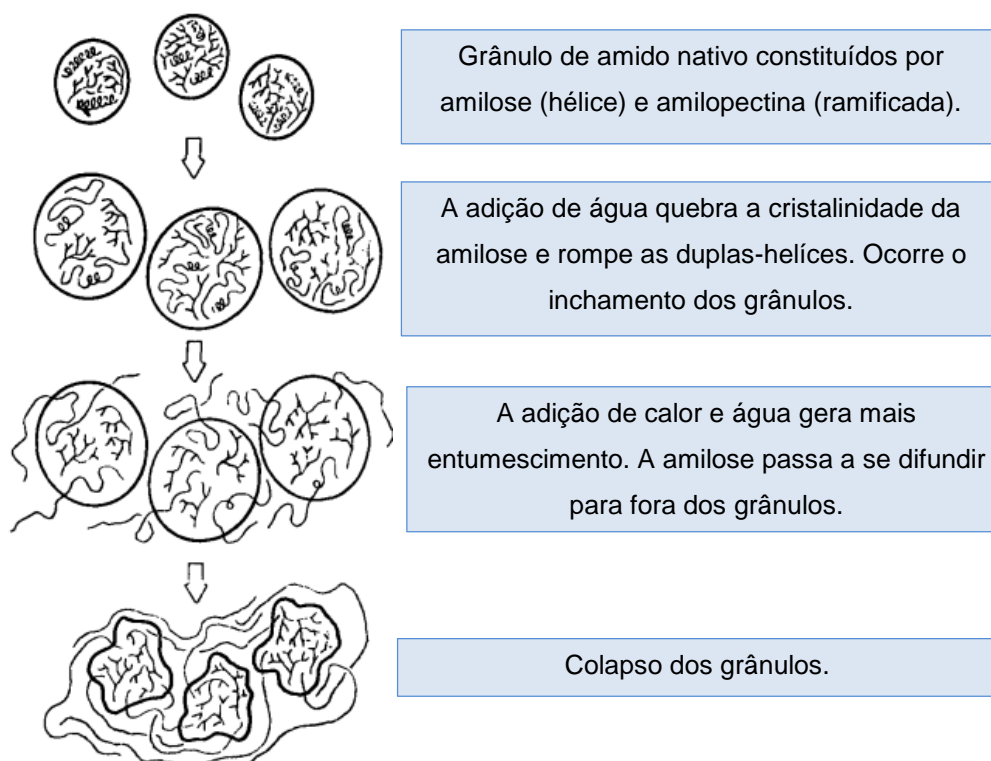
Fonte botânica	Diâmetro (mm)	Conteúdo de amilose (% em massa)	Forma
Milho	5-25	28	Poliédrica
Milho ceroso	5-25	~ 0	Poliédrica
Mandioca	5-35	16	Semiesférica
Batata	15-100	20	Elipsoidal

Fonte: adaptado de Carvalho (2013, p. 131).

Embora seja praticamente insolúvel em água fria, absorvendo até 30% da sua massa (BOBBIO; BOBBIO, 2001), quando os grânulos de amido são aquecidos com excesso de água ou outro solvente que forme pontes de hidrogênio (CARVALHO, 2013), absorvem volumes muito superiores (BOBBIO; BOBBIO, 1995).

Em uma faixa de temperatura específica para cada amido ocorre o intumescimento irreversível dos grânulos, devido ao rompimento das ligações de hidrogênio em regiões amorfas e à absorção da água (BEMILLER, 2019). Enquanto isso, ocorre a dissolução e lixiviação de uma parte da amilose com menor massa molecular (BOBBIO; BOBBIO, 1995; CARVALHO, 2013). Toda a água presente no sistema ou se liga às cadeias de amilose e amilopectina ou permanece presa nos espaços intergranulares, formando uma solução com a amilose, o que leva ao aumento da viscosidade da mistura (BOBBIO; BOBBIO, 1995). Os cristais de amido se fundem (CARVALHO, 2013) e, nesta etapa, as cadeias laterais hélice-hélice se dissociam e, em seguida, se desenrolam (LI, 2022, p. 2). Na Fig. 2 é apresentada uma representação esquemática deste processo.

Figura 2 - Representação do mecanismo de gelatinização do amido.



Fonte: adaptado de Remsem e Clark (1978, p. 43).

O processo de gelatinização, que ocorre acima da temperatura inicial de gelatinização, transforma a estrutura semicristalina do amido em uma estrutura desordenada (BEMILLER, 2019; XIE *et al.*, 2014). Já a retrogradação se trata da reorganização da estrutura para um estado mais ordenado e estável (CHANG *et al.*, 2021). Este processo é afetado por inúmeros fatores, tais como: o teor dos constituintes do grânulo, incluindo amilose e amilopectina, além de água, lipídios, proteínas, carboidratos e íons de sais; parâmetros empregados no processo, incluindo temperatura e tempo (CHANG *et al.*, 2021).

2.2 ARGILAS

Consideradas elementos importantes em processos geológicos (MORENO-MAROTO; ALONSO-AZCÁRATE, 2018), as argilas também são amplamente

utilizadas em indústrias de cerâmica, papel, embalagens, plásticos e no controle de inúmeros processos ambientais (WORASITH; GOODMAN, 2023).

De ocorrência natural, podem ser constituídas por um ou mais minerais argilosos, denominados argilominerais (BERGAYA; JABER; LAMBERT, 2011), além de matéria orgânica e de minerais associados, como carbonatos, feldspatos e quartzo, juntamente com os (hidro)óxidos de ferro e alumínio (BERGAYA; LAGALY, 2006; GUGGENHEIM; MARTIN, 1995). Em relação ao tamanho de partícula das argilas, os sedimentologistas o consideram como inferior à 4 μm , já os geólogos adotam um valor <2 μm e as ciências coloidais <1 μm (GUGGENHEIM; MARTIN, 1995; MORENO-MAROTO; ALONSO-AZCÁRATE, 2018).

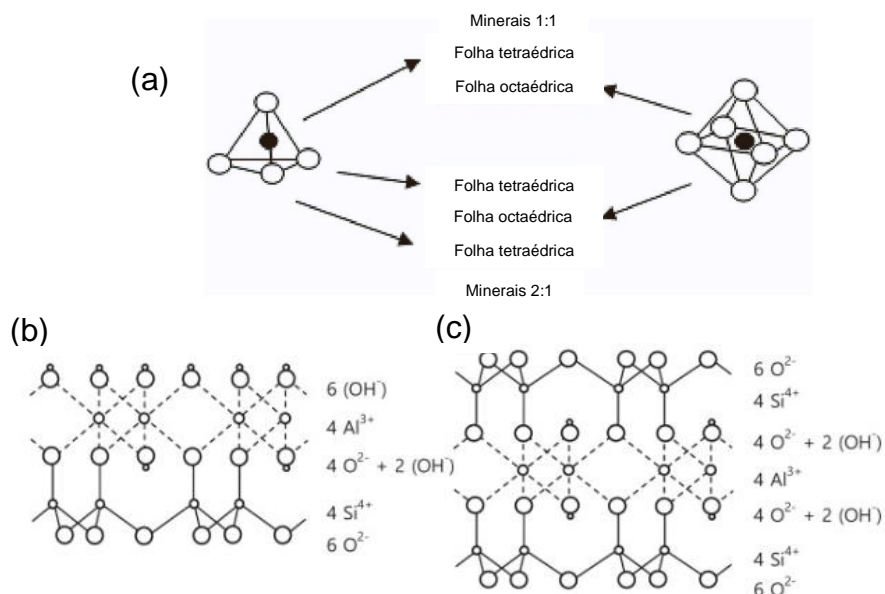
Com a adição de um teor adequado de água muitas argilas apresentam comportamento plástico, mas quando secas ou queimadas ficam rígidas (GUGGENHEIM; MARTIN, 1995). A plasticidade é influenciada por inúmeros fatores, como a composição química e a forma como as partículas estão agregadas (BERGAYA; LAGALY, 2006). Nas indústrias de cerâmica, essa propriedade é mensurada através da água de plasticidade, enquanto na engenharia é adotado o índice de plasticidade (BERGAYA; LAGALY, 2006).

De acordo com critérios geológicos, tecnológicos e comerciais, os tipos de argilas existentes são: residual, sedimentar, expansível, plástica, absorvente, refratária, nanoargila, comercial especial e comercial comum (RAUTUREAU *et al.*, 2017). Industrialmente, podem ser classificadas como: bentonitas, caulins, sepiolitas e comuns (BERGAYA; LAGALY, 2006).

2.2.1 Argilominerais

Os argilominerais são silicatos de alumínio hidratados, que contém outros elementos, como alumínio, ferro, magnésio, potássio e sódio (PEREIRA, 2003), e pertencem à classe dos filossilicatos (BERGAYA; LAGALY, 2006). Ou seja, suas camadas são constituídas por folhas, que podem ser tetraedros (SiO_4) ou octaedros (AlO_6 ou MgO_6) para formar as estruturas apresentadas na Fig. 3 (PEREIRA, 2003; WORASITH; GOODMAN, 2023).

Figura 3 – (a) Unidades básicas na formação de silicatos de camada e sua combinação para a formação de minerais 1:1 e 2:1; (b) estruturas de silicatos 1:1 e (c) 2:1.



Fonte: adaptado de Worasith e Goodman (2023, p. 2).

Os silicatos que possuem estrutura cristalina lamelar são classificados em difórmicos (1:1) ou trifórmicos (2:1), conforme a Fig. 3 – b; c (PEREIRA, 2003). Os silicatos difórmicos são constituídos pela sobreposição contínua de folhas tetraédricas de e octaédricas (PEREIRA, 2003), que são unidas por ligações de hidrogênio (WORASITH; GOODMAN, 2023). Em geral, as folhas octaédricas apresentam superfície protonada (WORASITH; GOODMAN, 2023). Já os silicatos trifórmicos são constituídos pela sobreposição contínua de duas folhas tetraédricas para cada camada octaédrica, que são ligadas por cátions interlamelares (WORASITH; GOODMAN, 2023).

Pereira (2003) classifica os argilominerais quanto à composição e estrutura cristalina nos seguintes grupos: caulinitas, serpentinas, talco-pirofilita, das micas, esmectitas, vermiculitas, cloritas, paligorsquitas, mistas e mineralóides.

2.2.2 Esmectitas: montmorilonita

As esmectitas são um grupo de alumino-silicatos que são associados a íons de sódio, cálcio, magnésio, ferro, potássio e lítio e são amplamente utilizadas na indústria

(PEREIRA, 2003). Grande parte das aplicações desses argilominerais está associada à possibilidade de variação do espaçamento basal, que ocorre pela incorporação de água ou de outras moléculas (COELHO; SANTOS, 2007; WORASITH; GOODMAN, 2023).

As esmectitas ocorrem como partículas muito pequenas, com diâmetros de cerca de 0,5 μm (MURRAY, 2006) e são dominantes na rocha denominada bentonita (PEREIRA, 2003). Esses argilominerais apresentam elevada capacidade de troca catiônica (BERGAYA; LAGALI, 2001), devido aos cátions presentes no espaço interlamelar e associados às moléculas de água (MURRAY, 2006). Por exemplo, a capacidade de troca iônica da montmorilonita sódica é de cerca de 80 a 110 miliequivalentes por 100 gramas (MURRAY, 2006).

As esmectitas englobam a montmorilonita, nontronita, saponita, hectorita, sauconita, beidelita e volconscoita (PEREIRA, 2003). Entre esses argilominerais, a montmorilonita (MMT) é o mais abundante e apresenta fórmula química $M_x(\text{Al}_{4-x}\text{Mg}_x)\text{Si}_8\text{O}_{20}(\text{OH})_4$ (PAIVA; MORALEZ; DIAZ, 2008).

A montmorilonita se trata de um filossilicato 2:1, que é constituído por duas folhas tetraédricas de sílica e uma folha de alumina intercalada entre elas, unidas por ligações de Van der Waals e por forças eletrostáticas (ELMAHDY; YASSIN, 2024; PAIVA; MORALEZ; DIAZ, 2008; VERCELHEZE *et al.*, 2012). Suas lamelas são carregadas negativamente e essa carga é contrabalanceada por cátions interlamelares alcalinos, tais como Na^+ , Li^+ ou Ca^{2+} (AGOUGUI *et al.*, 2022; VERCELHEZE *et al.*, 2012). A MMT apresenta partículas com dimensões de 2 μm a 0,1 μm (PAIVA; MORALEZ; DIAZ, 2008), é biocompatível e apresenta baixo custo (ELMAHDY; YASSIN, 2024).

A argila monitmorilonita sódica (NaMt) é caracterizada pela sua afinidade pela água e apresenta elevada área superficial (AGOUGUI *et al.*, 2022; VERCELHEZE *et al.*, 2012). Sendo assim, é considerada um excelente adsorvente para cátions e outras moléculas entre suas lamelas e em sua área superficial (AGOUGUI *et al.*, 2022).

2.3 ESPUMAS DE AMIDO COMO UMA ALTERNATIVA AO USO DO POLIESTIRENO EXPANDIDO

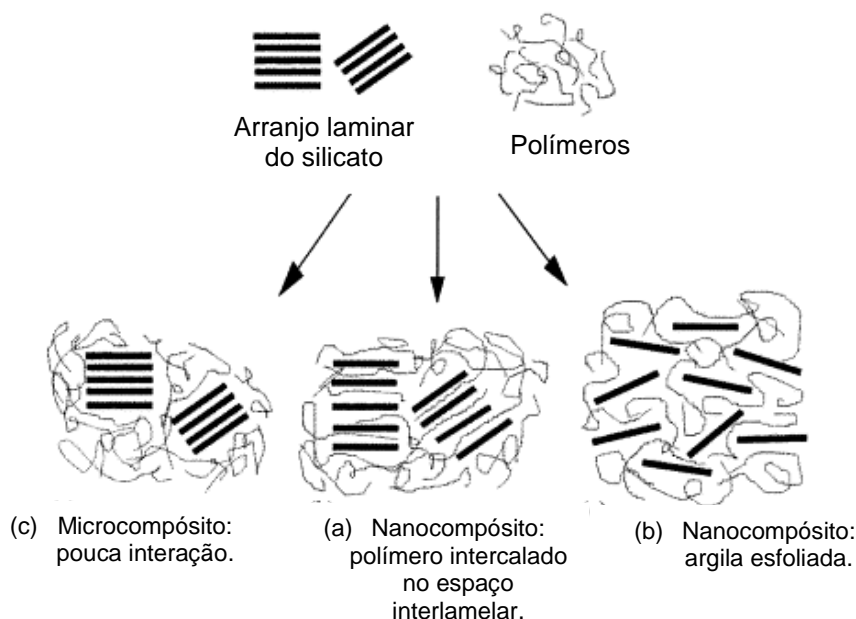
O poliestireno expandido (EPS), material bastante utilizado na confecção de embalagens e em aplicações de isolamento, contribui significativamente para os impactos socioambientais do microplástico. Embora existam técnicas para promover a reciclagem deste polímero, estas costumam apresentar elevado custo e danos ambientais, fazendo com que o EPS seja enviado a aterros ou tratados por incineração, reciclagem química e processos mecânicos (GIL-JASSO *et al.*, 2019; GIL-JASSO *et al.*, 2022). Torna-se fundamental, portanto, o desenvolvimento de materiais biodegradáveis a partir de recursos provenientes de fontes renováveis, como é o caso do amido, que tem sido investigado para a produção de embalagens para alimentos (ZHAO *et al.*, 2018; TABASUM *et al.*, 2019).

Diferentemente do EPS, para que uma espuma à base de amido adquira características estruturais, mecânicas e de resistência à absorção de água adequadas, é necessário incorporar ao sistema outros aditivos/substâncias. A presença do plastificante auxilia no aumento de mobilidade das macromoléculas de amilose e amilopectina, por enfraquecer as ligações de hidrogênio intermoleculares (LIM *et al.*, 2020). Já o aumento das propriedades mecânicas da espuma de amido, em geral, pode ser alcançado por meio da incorporação de fibras naturais e resíduos da agroindústria, que são abundantes e biodegradáveis (ENGEL *et al.*, 2019; CABANILLAS *et al.*, 2019; KAEWTATIP; CHIARATHANAKRIT; RIYAJAN, 2021).

Entretanto, a aplicação destas espumas ficou limitada a armazenar alimentos com baixos teores de água (ENGEL *et al.*, 2019). Isso porque o amido é predominantemente hidrofílico, tornando-se quebradiço e sensível quando mantido em contato direto com água (VERCELHEZE *et al.*, 2013). Sendo assim, diferentes formas de reduzir a hidrofiliabilidade das espumas de amido vêm sendo investigadas, estando entre elas: a incorporação de partículas inorgânicas (VERCELHEZE *et al.*, 2012; MATSUDA *et al.*, 2013), a modificação do amido (MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2020), o revestimento das espumas (MACHADO, 2020) e a adição de agentes de reticulação à mistura (HASSAN. FOWLER, 2022).

Entre as nanopartículas inorgânicas utilizadas estão as argilas montmorilonitas Cloisite® 30B e Cloisite®10A, que foram adicionadas à matriz de amido de mandioca (MATSUDA *et al.*, 2013), e a argila montmorilonita sódica (Cloisite®Na⁺), que foi incorporada em espumas à base de amido de mandioca reforçadas com bagaço de cana-de-açúcar (VERCELHEZE *et al.*, 2012). Em ambos os estudos foi observada a redução na capacidade de absorção de água com a adição da argila. De acordo com Zoveidavianpoor (2008), as nanopartículas de argila podem ser intercaladas ou esfoliadas em matrizes poliméricas, formando nanocompósitos. Quando estão intercaladas, as cadeias poliméricas estão presentes no espaço interlamelar, aumentando a distância basal. Já quando estão esfoliadas, as lamelas são separadas e estão dispersas de forma isotrópica na matriz (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000; E *et al.*, 2012; ZOVEIDAVIANPOOR, 2018). Ainda, segundo Alexandra e Dubois (2000), quando há pouca interação, o polímero não penetra as lamelas de argila, formando um microcompósito. Esses tipos de interação entre polímeros são apresentados na Fig. 4.

Figura 4 – Interações entre polímeros e argilas: (a) quando há pouca interação; (b) intercalados; (c) esfoliada.



Fonte: adaptado de Alexandre e Dubois (2000, p. 5)

Outros aditivos com funcionalidades específicas também foram incorporados às espumas de amido, tais como goma guar (para evitar a sedimentação dos sólidos) (ENGEL *et al.*, 2019; SANHAWONG *et al.*, 2017) e estearato de magnésio (agente desmoldante) (CABANILLAS *et al.*, 2019).

2.4 EMBALAGENS ATIVAS

Para atenderem às necessidades de mercado, as embalagens para alimentos estão em constante evolução (YILDIRIM *et al.*, 2017). Atualmente, as demandas são por alimentos com maior vida útil, preservação das características sensoriais, redução de desperdícios, segurança alimentar e sustentabilidade, fazendo com que embalagens ativas e inteligentes venham ganhando espaço (ABDOLLAHZADEH; NEMATOLLAHI; HOSSEINI, 2021; FLORÉZ *et al.*, 2022; YILDIRIM *et al.*, 2017).

Enquanto as embalagens inteligentes têm como principal função monitorar a qualidade dos produtos nelas armazenados, as embalagens ativas são responsáveis pela preservação dos alimentos (FLORÉZ *et al.*, 2022), através da liberação de substâncias com função antimicrobiana, antioxidante (FLORÉZ *et al.*, 2022; YIN *et al.*, 2023) e da absorção de umidade, oxigênio e radicais livres (ABDOLLAHZADEH; NEMATOLLAHI; HOSSEINI, 2021). Sendo assim, podem ser classificadas em sistemas de liberação ativas, que são emissores, e sistemas de eliminação ativa, que são absorventes (FLORÉZ *et al.*, 2022).

Como uma alternativa aos aditivos sintéticos, os óleos essenciais vêm sendo amplamente estudados no desenvolvimento de embalagens ativas (RIBEIRO-SANTOS *et al.*, 2018).

2.4.1 Utilização de óleos essenciais como agentes antimicrobianos

Os óleos essenciais (OEs), também conhecidos como óleos etéreos (KONFO *et al.* 2023), tratam-se de substâncias voláteis que são sintetizadas em estruturas glandulares das células vegetais de plantas aromáticas e medicinais. Estes

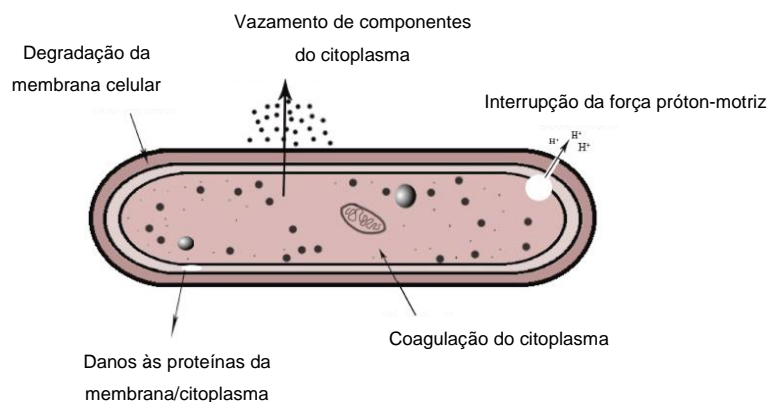
metabólitos secundários correspondem a menos de 5% da matéria seca vegetal (BAJPAI; BAEK; KANG, 2012; KONFO *et al.* 2023).

Geralmente líquidos à temperatura ambiente (KONFO *et al.*, 2023), são extraídos através de técnicas convencionais, como: destilação à vapor, hidrodestilação, hidrodifusão e extração por solvente; ou por técnicas avançadas, que incluem as extrações por micro-ondas sem solvente, subcrítica líquida e supercrítica com fluido. De um modo geral, as técnicas avançadas são mais eficientes, rápidas, ambientalmente corretas e apresentam custo inferior (KANT; KUMAR, 2022). O rendimento dessa substância é influenciado pelas condições de crescimento da planta, composição química da espécie vegetal, métodos de secagem e de extração (CALO *et al.*, 2014).

Os óleos essenciais são constituídos por 20 a 60 compostos, provenientes de diferentes partes das plantas. (VARGHESE; SIENGCHIN; PARAMESWARANPILLAI, 2020). Destes, 85 a 99% são voláteis (VARGHESE; SIENGCHIN; PARAMESWARANPILLAI, 2020), incluindo terpenos, compostos aromáticos (aldeído, álcool, fenol, etc.) e alifáticos (BASSOLÉ; JULIANI, 2012; KONFO *et al.*, 2023). Os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno, estando entre eles: hemiterpenos, monoterpenos e sesquiterpenos (SHARMA *et al.*, 2021). Também são classificados como acíclicos, monocíclicos e bicíclicos (SHARMA *et al.*, 2021). O odor característico é atribuído aos compostos oxigenados (RIBEIRO-SANTOS *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais apresentam propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, inseticidas e antioxidantes (BASSOLÉ; JULIANI, 2012), que podem estar associadas à degradação/penetração da membrana celular dos micro-organismos, danos às proteínas da membrana celular, vazamento dos constituintes da célula, coagulação do citoplasma e interrupção da força próton-motriz, conforme a Fig. 5 (CALO *et al.*, 2015; VARGHESE; SIENGCHIN; PARAMESWARANPILLAI, 2020).

Figura 5 - Mecanismos de ação dos óleos essenciais.



Fonte: adaptado de Varghese, Siengchin e Parameswaranpillai (2020, p.1).

Devido a essas propriedades, os OEs vêm sendo amplamente estudados como agentes antimicrobianos e antioxidantes em embalagens para alimentos. Por exemplo, vários estudos abordaram a utilização de óleos essenciais em filmes de amido, incluindo: óleo essencial de orégano (HERNANDEZ; LUDUEÑA; FLORES, 2023; SHEN *et al.*, 2022; YAN *et al.*, 2022), tomilho (ARDJOURM *et al.*, 2023; CAI *et al.*, 2020), laranja (EVANGELHO *et al.*, 2019), capim-limão (MENDES *et al.*, 2020; PERDANA *et al.*, 2021), gengibre (CHEN *et al.*, 2023) e canela (WU *et al.*, 2023; ZHOU; CHEN; HE, 2021).

Também foram desenvolvidas espumas de amido contendo óleos essenciais de cravo (DEBIAGI *et al.*, 2014), orégano (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020; DEBIAGI *et al.*, 2014; TROUNGCHUEN *et al.*, 2017) e tomilho (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020). Para esses materiais, a adição de OE se deu de duas maneiras: aplicação na superfície da espuma, após a termoformagem (DEBIAGI *et al.*, 2014), e adição direta na formulação, antes da termoformagem (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020; DEBIAGI *et al.*, 2014; KETKAEW *et al.*, 2018; TROUNGCHUEN *et al.*, 2017).

Entretanto, os óleos essenciais são substâncias muito voláteis (GIANNANKAS *et al.*, 2017) e as espumas produzidas a partir de adição direta foram processadas entre 150 °C (DEBIAGI *et al.*, 2014) e 230 °C (KAETKAEW *et al.*, 2018), de 4 MPa (KAETKAEW *et al.*, 2018) a 10 MPa (DEBIAGI *et al.*, 2014) e em tempos que variaram de 5 min (KAETKAEW *et al.*, 2018) a 10 min (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020). Debiagi e

colaboradores (2014), que compararam os dois métodos, verificaram que a adição direta levou à perda da atividade antimicrobiana do OE, possivelmente devido às condições de processamento. Já as espumas produzidas a partir do segundo método apresentaram zonas de inibição, quando submetidas à análise microbiológica.

Entretanto, outros estudos que adotaram a técnica de adição direta observaram atividade antimicrobiana após a etapa de termoformagem (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020; KETKAEW *et al.*, 2018; TROUNGCHUEN *et al.*, 2017). Troungchuen e colaboradores (2017) e Ketkaew e colaboradores (2018) verificaram que a adição de 8% de óleo essencial de orégano atingiu a concentração inibitória mínima contra *E-coli* e *S. aureus*. Cruz-Tirado e colaboradores (2020), que compararam a influência da adição de óleo essencial de orégano e de tomilho, verificaram que as amostras contendo óleo essencial de orégano (7,5 e 10%) apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *Salmonella*, *E. coli* e *L. monocitogenes*, sendo que o teor de 10% inibiu totalmente a *Salmonella*. O OET apresentou zonas de inibição contra a *S. aureus*, quando adotado o teor de 7,5%, e contra as demais, quando adotado 10% deste constituinte (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020).

No entanto, nenhum dos estudos citados avaliou a concentração final de óleo essencial nas espumas, após o processamento. Cruz-Tirado e colaboradores (2020) associaram a preservação da atividade antimicrobiana à retenção de gotas de óleo essencial nas primeiras camadas da espuma, através da formação de ligações de hidrogênio entre amido, OE e glicerol durante a termoformagem.

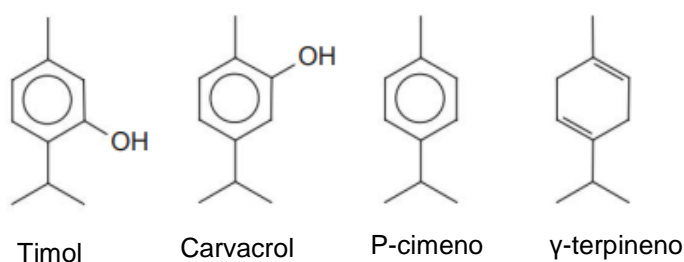
2.4.1.1 Óleo essencial de tomilho

Utilizado há séculos como agente aromatizante, erva culinária e fitoterápico (STAHL-BISKUP; VENSKUTONIS, 2012), o tomilho (*Thymus vulgaris L.*) é um subarbusto perene, pertencente à família *Lamiaceae* (MANDAL; DEBMANDAL, 2016). Nativo da região do Mediterrâneo (STAHL-BISKUP; VENSKUTONIS, 2012), possui uma vida útil de cerca de 10 a 15 anos (MANDAL; DEBMANDAL, 2016).

Sua matéria vegetal seca contém de 1 a 2,5% de óleo essencial (STAHL-BISKUP; VENSKUTONIS, 2012), que é constituído principalmente por timol (30 –

55%), p-cimeno (15 – 20%), carvacrol (1- 5%) e γ -terpineno (5 – 10%) (MANDAL; DEBMANDAL, 2016; STAHL-BISKUP; VENSKUTONIS, 2012). O teor desses componentes, cujas estruturas químicas são apresentadas na Fig. 6, varia de acordo com as condições de crescimento da planta, épocas de colheita e com as técnicas de extração do OE (BOSKOVIC *et al.*, 2017; REAZEI; KHAVARI; SAMI, 2021).

Figura 6 - Terpenos presentes no óleo essencial de tomilho.



Fonte: adaptado de Stahl-Biskup e Venskutonis (2012, p. 501).

A organização funcional de cada molécula influencia diretamente a sua atividade antimicrobiana (SNOUSSI *et al.*, 2022). O timol, por exemplo, é apontado como um eficaz agente antimicrobiano, em decorrência da presença do grupo hidroxila em seu anel benzênico (SNOUSSI *et al.*, 2022). Devido às suas propriedades antimicrobianas, o óleo essencial de tomilho já foi empregado na produção de filmes para conservar carne refrigerada (ZHANG *et al.*, 2020), tomates cereja (LIU *et al.*, 2024) e no armazenamento de grãos de milho (BARROS *et al.*, 2022).

2.4.2 Técnicas de modificação de argila com óleos essenciais

Apesar das inúmeras vantagens apresentadas pelos óleos essenciais, a volatilidade acaba limitando a sua utilização, visto que a sua evaporação leva à perda da atividade antimicrobiana (GIANNANKAS *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2022). Diante disso, os OEs vêm sendo combinados com minerais argilosos (OLIVEIRA *et al.*, 2022), como a argila montmorilonita e a haloisita, que atuam como uma barreira térmica, reduzindo a volatilização (SOUZA *et al.*, 2020) e controlando a liberação do princípio ativo (OLIVEIRA *et al.*, 2022; TORIN *et al.*, 2017). A montmorilonita pode

participar de reações de troca catiônica e permitir a entrada destes compostos entre suas lamelas (OLIVEIRA *et al.*, 2022). Essa interação se dá através de diferentes sítios, nos quais os grupos hidroxila da superfície e próximos às extremidades podem formar pontes de hidrogênio com grupos funcionais das moléculas de terpeno (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

A eficiência da utilização de híbridos de argila e óleo essencial, em relação à adição do óleo essencial de carvacrol puro, foi investigada Souza e colaboradores (2020), que produziram filmes de amido. Os autores constataram que as amostras contendo óleo essencial puro não apresentaram zonas de inibição contra a atividade antimicrobiana, possivelmente, devido à evaporação do OE durante a produção e armazenamento dos filmes. Já os filmes contendo os híbridos de argila montmorilonita (Cloisite® 20A) e OE apresentaram zonas de inibição de atividade antimicrobiana.

Diferentes métodos de modificação de argilas foram adotados. Souza e colaboradores (2020) adicionaram o óleo essencial e a argila em solução contendo Tween 80, que se trata de um agente compatibilizante, e água, seguida pelas etapas de agitação e secagem. Uma metodologia similar foi adotada por Torin e colaboradores (2017), que ainda submeteram a mistura de argila montmorilonita (Cloisite® 20A), carvacrol / eugenol e água à etapa ultrasonicação. Já Gianankas e colaboradores (2017) desenvolveram um método para incorporar óleo essencial de orégano, tomilho e manjerição em argila montmorilonita sódica (NaMt) e modificada organicamente (OrgMt), através de evaporação do óleo essencial e da sua adsorção na argila. Isto porque esses minerais argilosos apresentam elevadas áreas de superfície, capacidade de intumescimento e de troca iônica.

A argila montmorilonita sódica (NaMt) foi utilizada para a adsorção de limoneno, (AGOUGUI *et al.*, 2022; NAGY *et al.*, 2013), carvona (AGOUGUI *et al.*, 2022) óleos essenciais de cravo, coentro, manjerona, canela (ALBOOFETILEH *et al.*, 2015) orégano, tomilho e manjerição (GIANANKAS *et al.*, 2017). Para que ocorresse o intumescimento da argila antes da modificação, Nagy e colaboradores (2013) e Alboofetileh e colaboradores (2015) a mantiveram em água destilada, sob agitação, por 24 h. Agougui e colaboradores (2022), que estudaram a cinética de adsorção do

limoneno e carvona nesse mineral argiloso, verificaram que a maior taxa de absorção ocorreu nas primeiras horas e que o equilíbrio foi alcançado após 5-6 h.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Para o desenvolvimento das espumas foi empregado amido de mandioca da marca Pilão Amidos Ltda (Guaíra – PR). De acordo com o boletim técnico do produto, possuía umidade máxima de 14%, pH entre 4,5 – 6,5 e não apresentava sujidades.

Como agentes plastificantes, foram utilizados glicerol P. A. da marca Êxodo Científica (Diadema - SP) e água destilada. Além disso, foram adicionados os seguintes aditivos: goma guar da marca Adicel Indústria e Comércio LTDA (Belo Horizonte – MG), para evitar a sedimentação, e estearato de magnésio da marca Bianquímica Comercial (Franca – SP), como agente desmoldante.

Foi utilizada a argila montmorilonita sódica (NaMt) de nome comercial Cloisite® Na⁺, da empresa *Southern Clay Products (EUA)*, que se trata de uma bentonita natural. De acordo com o boletim técnico, possui massa específica de 2,86 g/cm³, tamanho de partícula seca (d₅₀) <25 µm e distância basal (d₀₀₁) de 11,7 Å.

Para a preparação dos híbridos de argila, foi utilizado óleo essencial de tomilho (OET) da marca *By Samia* (Vila Romana – SP), extraído das folhas da planta, através da técnica de arraste à vapor. Os principais constituintes do OET foram analisados pelo fornecedor através de cromatografia gasosa – espectrometria de massa (GC-MS) e são apresentados na Tabela 1. Também foi utilizado o tensoativo não iônico polissorbato 80 (Tween 80) da marca ACS Científica (Sumaré – SP).

Tabela 1 – Composição química do óleo essencial de tomilho determinada através de GC-MS.

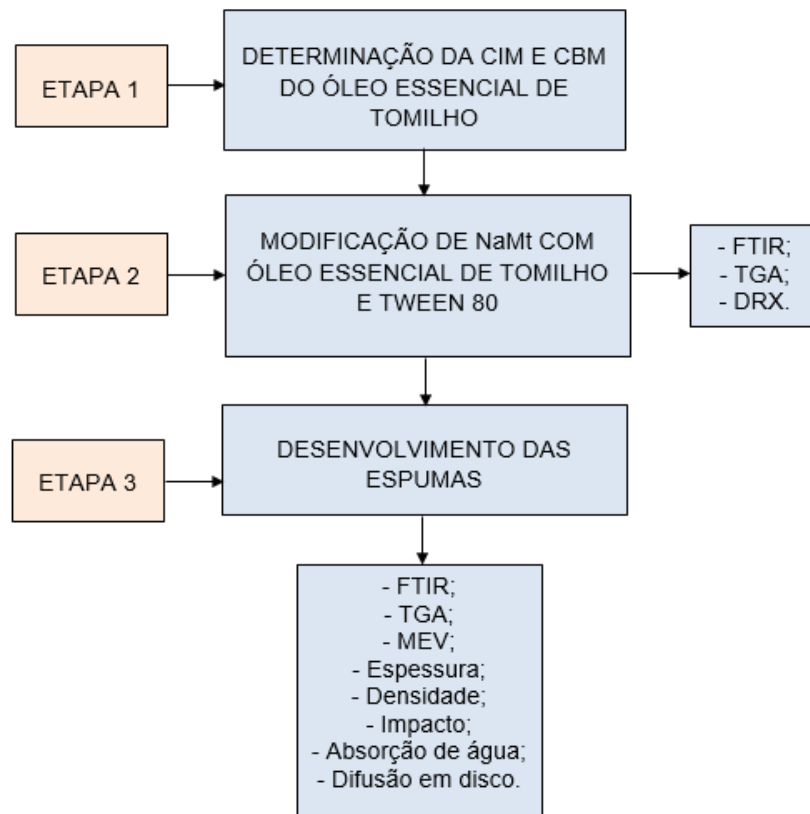
Constituinte	Concentração (% m/m)
α-terpineno	2,0
p-cimeno	47,8
Linalol	1,2
α-terpineol	4,5
Timol	25,1
Carvacrol	14,4
Outros	5,1

Fonte: By Samia Aromaterapia Ltda. (2020).

3.2 METODOLOGIA

A metodologia desenvolvida neste estudo foi dividida em três etapas, conforme mostrado na Fig. 7. Em um primeiro momento, foi caracterizado o óleo essencial, cujas propriedades precisavam ser conhecidas para dar continuidade ao estudo. Na segunda fase, híbridos de argila e óleo essencial de tomilho foram produzidos e caracterizados. Na terceira etapa, ocorreu o desenvolvimento, aprimoramento e caracterização das formulações contendo híbrido e argila. Por fim, foram produzidas as espumas, que foram caracterizadas quanto às suas propriedades química, térmicas, físicas, mecânica e microbiológicas.

Figura 7 - Fases do estudo: caracterização do óleo essencial de tomilho, modificação de argilas, desenvolvimento e aprimoramento das espumas



3.2.1 Etapa 1: análise microbiológica do óleo essencial de tomilho: concentração mínima inibitória (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

Estes ensaios foram conduzidos pelo Centro de Laboratório Regional IAL Santo André (Santo André – SP). Os isolados foram avaliados em relação à suscetibilidade por diluição em caldo modificado, atendendo às diretrizes estabelecidas no documento do *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) M07-M10* de 2022. A análise atendeu aos padrões de desempenho para testes de suscetibilidade antimicrobiana, conforme descrito na 32ª edição do M100 do Instituto de padrões clínicos e laboratoriais, Wayne, PA.

Os testes de concentração mínima inibitória (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) foram conduzidos em microplacas com 96 poços de fundo plano, conforme é apresentado na Fig. 8, utilizando a técnica de diluição seriada. Em cada

poço foram adicionados 100 μL de Caldo Mueller Hinton (KASVI) com 20% de surfactante polissorbato (Tween® 20, da Sigma Aldrich). Foram utilizadas suspensões bacterianas de isolada *Salmonella enterica* (ATCC 10708), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 11229).

Figura 8 – Microplacas com 96 poços empregadas na determinação da CIM e CBM.



No primeiro poço foram adicionados 200 μL de OET (100%). Em seguida, 100 μL (50%) deste volume foram transferidos para o 2º poço, e assim sucessivamente até o 12º poço. As concentrações de OET adicionadas em cada poço são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Concentração de OET em cada poço para determinação de CIM e CBM.

Número do poço	Concentração de OET (% v/v)
1	100
2	50
3	25
4	12,5
5	6,25
6	3,125
7	1,56
8	0,78
9	0,39
10	0,195
11	0,097
12	0,0488

Posteriormente, 100 μ L da suspensão de cada bactéria foram distribuídos em cada poço. As soluções de óleo essencial, em diferentes concentrações, foram adicionadas em placas de Petri contendo os microrganismos., que foram incubadas a 37 °C por 24 h. O primeiro poço com a menor concentração que não apresenta o crescimento visível da bactéria é a Concentração Mínima de Inibição (CIM). A Concentração Bactericida Mínima (CBM) é o próximo poço em que não há crescimento bacteriano presente (SILVA *et al.*, 2021). Este ensaio foi realizado em duplicata em três dias diferentes.

3.2.2 Etapa 2: produção e caracterização dos híbridos de argila

3.2.2.1 Modificação das argilas

Os híbridos de argila e óleo essencial foram produzidos através da técnica de emulsão, adotando as proporções de OET, Tween 80 e NaMt, que são apresentadas na Tabela 3. A metodologia desenvolvida por Souza e colaboradores (2017) foi adaptada para que não houvesse excesso de óleo essencial ao final do processo.

Tabela 3 - Massa de NaMt, OET, Tween 80 e água utilizadas na modificação de argilas para a produção de HB_OET, HB_TWEEN e HB_OET_TWEEN

Código	NaMt (g)	OET (g)	Tween 80 (g)	Água (mL)
HB_OET_TWEEN	2	2,52	0,8	190
HB_OET	2	2,52	0	190
HB_TWEEN	2	0	0,8	190

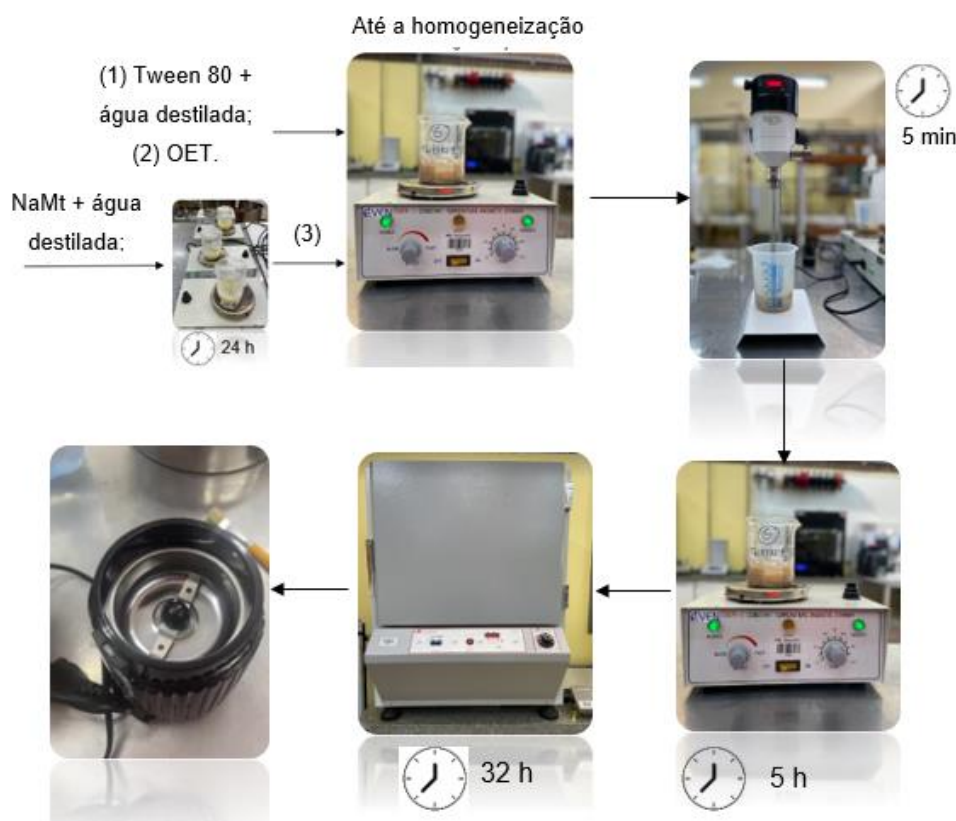
Inicialmente, 5 g de NaMt e 175 mL de água destilada foram adicionados em um béquer e agitados em agitador magnético (Even, EUA) por 24 h, para que ocorresse o intumescimento da argila (NAGY *et al.*, 2013; LBOOFETILEH *et al.*, 2015).

Para o preparo da amostra HB_OET_TWEEN, Tween 80 e 15 mL de água destilada foram adicionados em um béquer e submetidos à agitação em agitador magnético até a homogeneização. À essa emulsão foi adicionado o OET e, em seguida, a mistura de NaMt e água. Então, foi feita a agitação mecânica à 3000

rpm/min em agitador mecânico (Fisatom 713D) por 5 min. Em seguida, essa emulsão foi mantida sob agitação magnética por mais 5 h, levando em consideração o tempo que o óleo essencial estudado por Agougui e colaboradores (2022) levou para alcançar o equilíbrio. Para o preparo das amostras HB_TWEEN e HB_OET foi seguida a mesma metodologia, mas sem a adição de OET e Tween 80, respectivamente. Na amostra HB_OET, o óleo essencial foi apenas agitado em água antes da adição da argila intumescida, não havendo a formação de emulsão.

Por fim, as amostras foram secas em estufa (Lucadem, SP) por 32 h a 60 °C; moídas, utilizando um moedor de café (Cadense, EUA) e peneiradas (100 *mesh*). O fluxograma do processo é apresentado na Fig. 9.

Figura 9 – Fluxograma do processo de modificação da argila NaMt com óleo essencial de tomilho e Tween 80



3.2.2.2 Caracterização das matérias-primas e dos híbridos

3.2.2.2.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Com o intuito de verificar as interações entre o óleo essencial de tomilho, Tween 80 e a NaMT, os híbridos e as matérias-primas foram caracterizados através de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR). O ensaio foi realizado em espectrofotômetro (Perkin Elmer FTIR, EUA), empregando a técnica de refletância total atenuada (ATR). Os espectros foram registrados na faixa de região entre 4000 e 500 cm^{-1} com uma resolução de 4 cm^{-1} e 16 varreduras.

3.2.2.2.2 Análise termogravimétrica

Para avaliar a incorporação do OET e do Tween 80 na Cloisite® Na⁺, a análise termogravimétrica (TGA) foi realizada em analisador térmico (Perkin Elmer TGA, EUA), a uma taxa de 10 °C/min em atmosfera de nitrogênio (50 mL/min), na faixa de 25 a 800 °C.

3.2.2.2.3 Difração de raios-X (DRX)

A análise de difração de raios-X (DRX) foi realizada pela Central de Análises – UTFPR campus Pato Branco, utilizando um difratômetro (modelo Miniflex 600, Rigaku) operando a uma tensão de 40 kV e a uma corrente de feixe de 30 mA (modo *step*). O radiador CuK α foi operado em 1-D, empregando comprimento de onda (λ) de 0,154 nm. Os parâmetros de varredura foram definidos com um intervalo de 2θ entre 1,5 e 12°, adotando um aumento de 0,05, bem como um tempo constante de varredura de 0,05° a cada 5 s. Foram feitos ajustes nas amostras para que a superfície delas se mantivesse nivelada com o plano de referência do instrumento.

Por meio da análise de DRX foi possível calcular o espaçamento basal (d_{001}), atendendo a Lei de Bragg, através da Eq. 1:

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \text{sen}(\theta) \quad (\text{Eq. 1})$$

Na qual: n é um inteiro, que se trata da ordem de difração; λ é o comprimento de onda dos raios X (nm), d é o espaçamento interplanar e θ é o ângulo de difração de raios X (OLIVEIRA, 2022; ROMANZINI, 2014).

3.2.3 Etapa 3: desenvolvimento e produção das espumas ativas de amido

3.2.3.1 Metodologia

Neste estudo, foram produzidas espumas de amido de mandioca ativas, nas quais a adição de óleo essencial de tomilho se deu de duas maneiras distintas:

- a) Encapsulado no híbrido de argila (HB), apenas o HB_OET_TWEEN, previamente caracterizado;
- b) Através da aplicação na superfície (SUP), após a termoformagem, com o auxílio de um pincel.

Para isso, foram produzidas três formulações diferentes, identificadas pela letra F: F-CONTROLE, F-NaMt e F-HB. As siglas NaMt e HB correspondem à adição de argila montmorilonita sódica pura e de seu híbrido (HB_OET_TWEEN), respectivamente. A partir delas, foram desenvolvidos cinco tipos de espumas, identificadas pela letra E, conforme é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Espumas (E) produzidas a partir de cada formulação (F).

Código da formulação	Espumas produzidas
F-CONTROLE	E-CONTROLE; E SUP-CIM E-SUP-CBM
F-NaMt	E-NaMt
F-HB	E-HB

A sigla SUP indica a aplicação de óleo essencial na superfície da espuma (após a etapa de termoformagem) e as siglas CIM e CBM indicam a quantidade de OET aplicada: de acordo com as concentrações inibitória e bactericida mínimas, respectivamente.

As formulações das espumas foram desenvolvidas através de uma adaptação da metodologia de Vercelheze e colaboradores (2012), conforme é apresentado na Tabela 5. Em todas as amostras foram adicionados 10 g de glicerol (100 g de sólidos), 1 g de estearato de magnésio (100 g de sólidos) e 2 g de goma guar (100 g de sólidos).

Tabela 5 - Composição das formulações das espumas e massa adicionada no molde durante o processo de termoformagem.

Código	Amido (g)	NaMt (g)	HB (g)	Água (mL)	Massa no molde (g)
F-Controle	85	0	0	115	30
F-NaMt	80	5	0	155	48
F-HB	80	0	5	115	32

As massas dos constituintes correspondem às concentrações apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Concentração dos constituintes da formulação

Amostra	Amido (%)	NaMt (%)	HB (%)	Água (%)	Glicerol (%)	Aditivos (%)
F-CONTROLE	39,91	0,00	0,00	53,99	4,69	1,41
F-NaMt	31,62	1,98	0,00	61,26	3,95	1,19
F-HB	37,56	0,00	2,35	53,99	4,69	1,41

Para a formulação F-CONTROLE, amido de mandioca, água destilada, goma guar e estearato de magnésio foram agitados durante 5 min em um agitador mecânico (Fisatom 713, Brasil) à 4000 rpm. Então, foi adicionado glicerol à mistura e a agitação foi mantida por mais 5 min.

Nas amostras F-NaMt e F-HB, amido, água, goma guar e estearato de magnésio foram agitados por 3 min. Então, foi adicionada NaMt ou HB_OET_TWEEN e a mistura foi agitada por mais 2 min. Em seguida, o glicerol foi acrescentado e a agitação foi retomada por mais 5 min. Como a Cloisite[®] Na⁺ é a argila mais hidrofílica produzida pela *Southern Clay Products* (CHIOU *et. al*, 2005), foi necessário adicionar mais 40 mL de água para que ela se expandisse de forma satisfatória. A massa de

água foi definida após a argila ser deixada em repouso por 24 h com diferentes massas de água.

O material foi vertido em um molde revestido com Teflon com dimensões de 11,5 x 11,5 x 0,5 cm. A quantidade de massa por formulação foi definida através de testes preliminares, que objetivaram preencher o molde e obter um material homogêneo. Então, a mistura foi submetida à técnica de moldagem a 130 °C e 2 t em prensa hidráulica pré-aquecida (Riosul Tools, Brasil) durante 20 min.

Nas espumas E-SUP-CIM e E-SUP-CBM a quantidade de OET aplicado na superfície (OET_{E-SUP}) foi determinada com base na média da massa (M_E) de 6 espumas após a termoformagem. Para a E-SUP-CIM a massa de OET foi determinada de acordo com CIM (Eq. 2), enquanto para a E-SUP-CBM foi determinada de acordo com a CBM (Eq. 3).

$$OET_{E-SUP-CIM (g)} = \frac{M_E \times CIM}{(100 - CIM)} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$OET_{E-SUP-CBM (g)} = \frac{M_E \times CBM}{(100 - CBM)} \quad (\text{Eq. 3})$$

Sendo assim, as massas de óleo essencial de tomilho aplicadas nessas amostras são apresentadas na Tabela 7. No caso da E-SUP-CBM, foi necessário fazer a aplicação do OET em etapas, com intervalos de 15 min entre elas.

Tabela 4 – Massas de óleo essencial aplicada na superfície das amostras E-SUP-CIM e E-SUP-CBM

Amostra	Massa de OET aplicada na superfície (g)
E-SUP-CIM	2,03
E-SUP-CBM	4,75

Todas as espumas foram armazenadas a 25 °C a 40% de umidade relativa durante 14 dias antes da realização das análises.

3.2.3.2 Análise das formulações e espumas

3.2.3.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Para avaliar compreender as interações existentes entre o óleo essencial de tomilho e os demais constituintes, as formulações e espumas foram caracterizadas através de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), adotando os mesmos parâmetros descritos na seção 3.2.2.2.1.

3.2.3.2.2 Análise termogravimétrica

Com o intuito de avaliar o comportamento das formulações, quando submetidas às condições de processamento das espumas, a análise termogravimétrica (TGA) foi realizada em analisador térmico (Perkin Elmer TGA, EUA) em atmosfera de nitrogênio (50 mL/min), em duas etapas:

- Aquecimento de 25 a 130 °C a uma taxa de 65 °C.min⁻¹, adotando que a amostra levaria 2 min para atingir a temperatura do molde de teflon;
- 18 min a 130 °C.

Já as espumas foram analisadas através de TGA, com o intuito de avaliar a estabilidade térmica, seguindo os parâmetros definidos na seção 3.2.2.2.2.

3.2.3.2.3 Determinação da densidade e espessura das espumas

Para a determinação da densidade, seguiu-se a metodologia adotada por Figueiró (2021), atendendo à norma ASTM D 3575 (2001). Foram utilizados 5 corpos de prova com dimensões de 2 cm x 2 cm, previamente secos, durante 24 h a 60 °C. A massa foi determinada em balança analítica e as dimensões foram medidas com o auxílio de um micrômetro manual. Para a determinação da densidade, foi utilizada a Eq. 4 e foi feita a média aritmética das 5 amostras.

$$d \left(\frac{g}{cm^3} \right) = \frac{m}{v} \quad (\text{Eq. 4})$$

3.2.3.2.4 Microscopia eletrônica de varredura das espumas

A morfologia do material foi analisada através de Microscopia Eletrônica de Varredura, na Universidade de Caxias do Sul (UCS), utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura por Emissão de Campo (FEG-SEM) (Tescan Orsay Holding MIRA 3 - LMU, República Tcheca). Obtiveram-se imagens da superfície e da seção transversal de cada uma das formulações. As amostras foram secas em estufa a 105 °C por 24 h, cortadas e armazenadas em um dessecador durante uma semana. Então, foram recobertas por uma fina camada de ouro. Empregou-se aceleração de 10 kV e foram feitas aproximações de 25, 50, 75 e 100 x.

3.2.2.3.6 Impacto

O ensaio de impacto foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – *campus* Farroupilha, atendendo à norma ASTM D256-10 (2018). A análise foi conduzida utilizando um pêndulo de 0,5 J. Os corpos de prova, previamente condicionados em um teor de umidade de 40%, foram cortados com dimensões de 63,5 x 12,5 mm com espessuras variadas e sem entalhe, assim como foi feito por Figueiró (2021), por serem frágeis.

3.2.2.3.7 Absorção de água

Os ensaios de absorção de água atenderam a norma ABNT NBR ISSO 535 (1999). Os corpos de provas de 25 x 50 mm foram pesados e imersos em 100 mL de água destilada, durante os tempos de 1, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min. Posteriormente, foram secos em papel toalha e pesados, para a determinação da variação da massa. Para isso, foram utilizados cinco corpos de prova de cada formulação. A capacidade de absorção de água foi calculada conforme a Eq. 5, na qual m_i se refere à massa inicial e m_f à massa final.

$$\text{Capacidade de absorção de água} = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

3.2.2.3.8 Análise microbiológica

A atividade antimicrobiana das espumas contra *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* também foi determinada pelo Centro de Laboratório Regional IAL Santo André (Santo André – SP), através do teste de difusão em disco. A suspensão das cepas padrão bacterianas isoladas foi preparada com turbidez padrão de 0,5 de *McFarland*, correspondendo a uma concentração padrão de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (unidades formadoras de colônia por mililitro). Essas cepas foram utilizadas para contaminar placas com ágar Mueller-Hinton (KASVI). As amostras das espumas E-CONTROLE, E-SUP-CIM e E-SUP-CBM, que apresentavam diâmetros de 10 mm, foram adicionadas nas placas, inoculadas e incubadas em estufa a 37 °C por 24 h.

A zona de inibição dos microrganismos ao redor do material foi determinada em centímetros.

3.2.2.3.9 Análise estatística

Os resultados obtidos na análise de densidade e nos ensaios mecânicos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com significância de 95%, e Teste de Tukey, empregando o software Origin 8.1. Os dados que não apresentam diferença significativa entre si foram identificados com o mesmo sobrescrito.

4 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

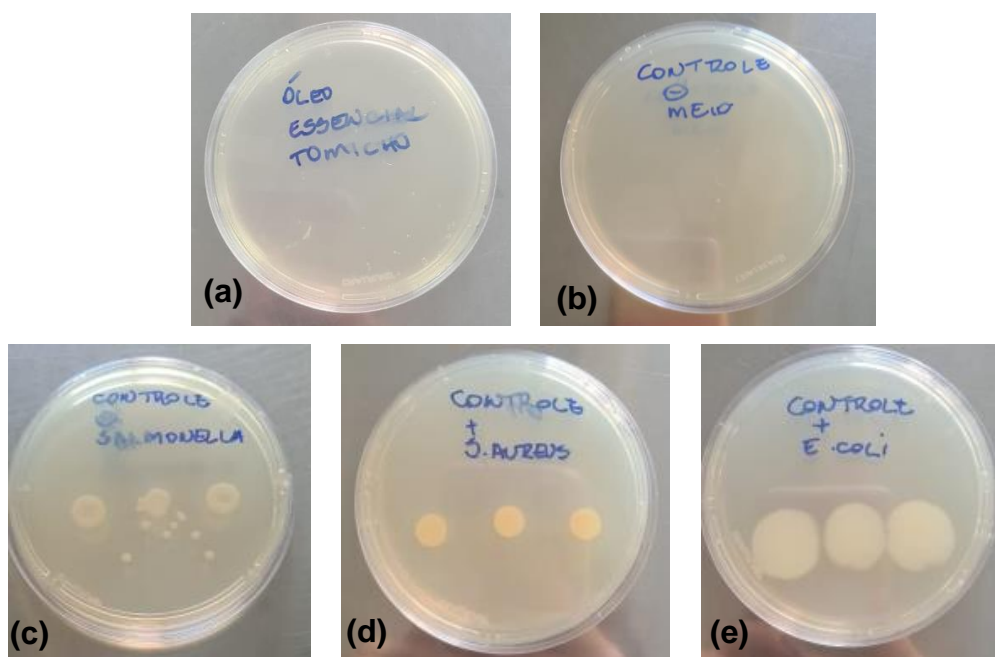
4.1 Análise microbiológica do óleo essencial de tomilho

A CIM e CBM do óleo essencial de tomilho foram determinadas com o intuito de definir a concentração apropriada deste líquido a ser adicionada nas espumas de amido. A avaliação do crescimento das bactérias ocorreu através da detecção de

turbidez das soluções (SILVA *et al.*, 2021). Os controles negativos do OET e do caldo Muller Hinton com 20% de Tween 20, bem como os controles positivos das suspensões bacterianas são apresentados na Fig. 10.

A ausência de turbidez na placa de Petri contendo óleo essencial e no caldo Muller Hinton com Tween 20 sugere que não houve contaminação cruzada nas amostras submetidas à análise (Fig. 10 – a; b). Já nas suspensões bacterianas (Fig. 10 – c; d; e) a turbidez é facilmente detectada.

Figura 10 - Controles negativos do (a) OET e do (b) caldo Muller Hinton com 20% de Tween 20 e positivos das suspensões bacterianas (c) *Salmonella enterica* (d) *Staphylococcus aureus* e (e) *Escherichia coli* para CIM e CBM

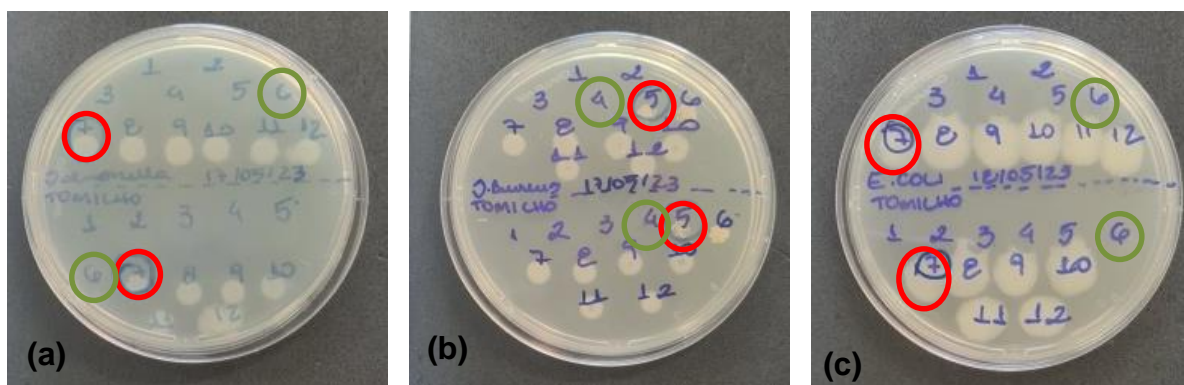


Os resultados dos ensaios em duplicata são apresentados na Fig. 11 e na Tabela 8. A CIM se trata do primeiro poço em que houve crescimento bacteriano e foi indicada por círculos vermelhos. Já a CBM é o último poço no qual não houve crescimento bacteriano e foi indicada por círculos vermelhos.

Conforme observado na Fig. 11, o óleo essencial de tomilho foi eficaz contra os três tipos de microrganismos testados neste estudo. Essa eficácia antimicrobiana já havia sido verificada em estudos anteriores (BOSKOVIC *et al.*, 2017; MUKURUMBIRA *et al.*, 2023; SILVA *et al.*, 2021) e está associada à composição química desse líquido,

à sinergia dos diferentes compostos, bem como ao grupo funcional de seus principais componentes (MUKURUMBIRA *et al.*, 2023; VOLIC *et al.*, 2022).

Figura 11 - CIM, indicada pelos círculos vermelhos, e CBM, círculos verdes, após 24h, contra (a) *Salmonella enterica*, (b) *Staphylococcus aureus* e (c) *Escherichia coli*



A CIM do OET puro variou de 3,125 a 12,5% (v/v), enquanto a CBM ficou entre 6,25 a 25% (v/v) para os microrganismos testados. Esses resultados foram superiores aos verificados por Rezaei e Sami (2021), que avaliaram a CIM e CBM do OET em relação à *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenese*, *Shigella flexneri* e *E. coli* e obtiveram CIM e CBM de 1,56% (v/v) para os microrganismos testados, com exceção da *E. coli*, que foi de 3,125% (v/v). Uma justificativa para as disparidades existentes em relação à literatura é a concentração dos componentes do óleo essencial. Conforme informado pelo fornecedor, o OET utilizado era constituído por 47,8% de p-cimeno, 25,1% de timol e 14,4% de carvacrol, enquanto o OET adotado por Rezaei e Sami (2021) continha 35,20% de timol, 27,68% de carvacrol e apenas 8,01% de p-cimeno. Boskovic e colaboradores (2017), que analisaram a atividade antimicrobiana do OET e de seus componentes contra quatro cepas de *Salmonella*, verificaram que o timol e o carvacrol foram os compostos mais eficazes contra esses microrganismos. Já o p-cimeno, principal constituinte do OET utilizado neste estudo, não exibiu atividade antimicrobiana contra as cepas analisadas.

Como pode ser observado, a bactéria gram-positiva (*S. aureus*) apresentou maior resistência ao OET em relação às gram-negativas (*E. coli* e *S. enterica*). O mesmo comportamento foi observado por Silva e colaboradores (2021), que avaliaram

o desempenho dos óleos essenciais de eugenol e linalol contra os mesmos microrganismos testados neste estudo. Essa discrepância pode ser justificada pelas diferenças existentes nas paredes celulares das gram-positivas e gram-negativas. Enquanto as bactérias gram-positivas possuem apenas uma camada de peptidoglicano, as gram-negativas possuem ainda uma camada lipídica (SILVA *et al.*, 2021)

Tabela 5 – CIM e CBM do óleo essencial de tomilho contra (a) *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Choleraesuis*, (b) *Escherichia coli* e (c) *Staphylococcus aureus*

Bactéria	CIM (%)	CBM (%)
<i>Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Choleraesuis</i> ATCC 10708	3,125	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	12,5	25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	3,125	6,25

Já Mukurumbira e colaboradores (2023), que avaliaram a atividade antimicrobiana de diferentes óleos essenciais nas fases líquida e vapor contra diferentes tipos de microrganismos, verificaram o oposto. Os autores verificaram que o OET apresentava CIM e CBM de 0,78 a 1,652 % (v/v), para bactérias gram-negativas. Já para as bactérias-gram negativas, foi verificado de CIM 0,097 a 6,250% (v/v) e CBM de 0,024 a 50% (v/v).

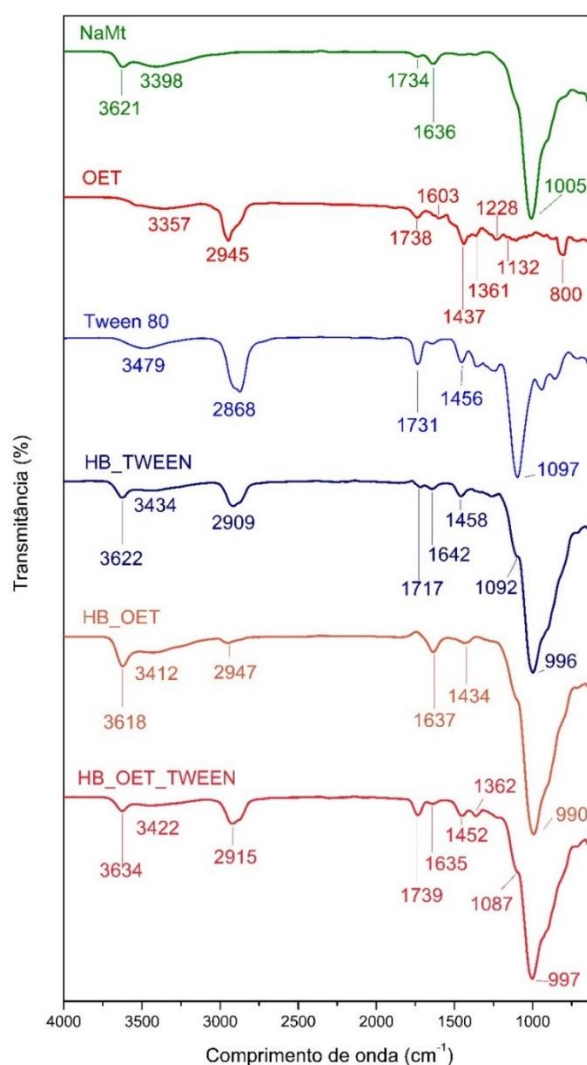
Com base nos resultados acima descritos, este estudo objetivou produzir espumas com teores de OET entre 12,5 e 25% (v/v), o equivalente à 11,7 e 23,4% (m/m), respectivamente, para que fossem eficazes contra as bactérias analisadas.

4.2 Caracterização da NaMt, OET, Tween 80 e dos híbridos de argila

4.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Os espectros obtidos para a NaMt, OET, Tween 80 e híbridos são apresentados na Fig. 12.

Figura 12 – Espectros de FTIR para a NaMt, OET, Tween 80 e híbridos: HB_TWEEN, HB_OET e HB_OET_TWEEN



Para a NaMt, a banda observada em $\sim 3621 \text{ cm}^{-1}$ foi associada a grupos hidroxila ligados ao alumínio (Al^{3+}) nas folhas octaédricas da argila (GIANNANKAS *et*

al., 2017). Essa banda foi claramente identificada para os híbridos de argila em 3618, 3622 e 3634 cm^{-1} para HB_OET, HB_TWEEN80 e HB_OET_TWEEN, respectivamente. Já as bandas da NaMt identificadas em 3398 e 1636 cm^{-1} foram relacionadas às vibrações de estiramento e flexão de moléculas de água (GIANNANKAS *et al.*, 2017; VALERA-ZARAGOZA *et al.*, 2021). Para os híbridos de argila, a primeira banda apresentou menor intensidade, enquanto a segunda, foi mais visível para o HB_OET. Por fim, as bandas em 1018 e 1005 cm^{-1} foram atribuídas ao alongamento da ligação Si-O (GIANNANKAS *et al.*, 2017; KATTI; THAPA; KATTI, 2018). Essa última, foi a banda mais intensa observada no espectro da NaMt e dos híbridos.

Para o Tween 80 foi observada uma banda de baixa intensidade em 3479 cm^{-1} , relacionada aos grupos hidroxila (-OH) (BIDE; FASHAPOYEH; SHOKROLLAHZADEH; 2021), além da banda 2868 cm^{-1} , que é característica do estiramento do metileno (-CH₂) em cadeias alifáticas (LI *et al.*, 2012). Essa banda também é visível nos espectros do HB_TWEEN, em 2909 cm^{-1} , e do HB_OET_TWEEN, em 2915 cm^{-1} , confirmando a presença deste constituinte nos híbridos. Já as bandas do Tween 80 observadas em 1731 e 1097 cm^{-1} podem estar relacionadas ao grupo éster (C=O) (LI *et al.*, 2012) e às vibrações assimétricas de C-O, respectivamente (BIDE; FASHAPOYEH; SHOKROLLAHZADEH; 2021). Ambas as bandas também foram identificadas nos espectros do HB_TWEEN, em 1717 e 1092 cm^{-1} , e do HB_OET_TWEEN, em 1739 e 1087 cm^{-1} .

Para o óleo essencial de tomilho, foram observadas bandas na faixa de ~3346 cm^{-1} características do estiramento dos grupos hidroxila (-OH) (GIANNANKAS *et al.*, 2017; MIRSHARIFI *et al.*, 2023). Já a banda intensa em 2945 cm^{-1} pode estar relacionada a estiramentos simétricos e assimétricos de ligações C-H presentes no timol, para-cimeno, linalol, gama-terpineno e carvacrol (GIANNANKAS *et al.*, 2017; PEIXOTO *et al.*, 2023). Para o híbrido HB_OET, uma banda de baixa intensidade foi observada em ~2947 cm^{-1} , enquanto para o HB_OET_TWEEN, esta característica foi localizada em 2915 cm^{-1} , apresentando maior intensidade. Entretanto, essa banda também está associada ao Tween 80, sendo claramente visível no espectro da HB_TWEEN.

Também é possível verificar no espectro do OET a presença da banda em 1603 cm^{-1} , que pode estar relacionada às vibrações C=C dos anéis benzênicos do timol, carvacrol e para-cimeno (LIN; ZHU; CUI, 2018; PEIXOTO *et al.*, 2023). Já a banda em 1437 cm^{-1} pode indicar o grupo fenil do timol (PEIXOTO *et al.*, 2023), assim como CH_2 (MIRSHARIFI *et al.*, 2023). Para o HB_OET, foi verificada uma banda de baixa intensidade em 1434 cm^{-1} , enquanto para o HB_OET_TWEEN foi identificada uma banda de intensidade um pouco superior em 1452 cm^{-1} , que pode estar associada à presença do Tween 80.

A banda do OET observada em 1361 cm^{-1} pode indicar grupos metileno (CH_2) e a flexão de C-O-H (GIANNANKAS *et al.*, 2017; MIRSHARIFI *et al.*, 2023). Já as bandas em 1228 e 1132 cm^{-1} podem estar associadas à flexão de grupos éster (C-O) (LIN; ZHU; CUI, 2018).

Sendo assim, através da análise de FTIR, detectou-se a presença de óleo essencial de tomilho nas amostras HB_OET e HB_OET_TWEEN, mesmo após a etapa de secagem. Entretanto, também foram identificadas bandas características do Tween 80 na HB_TWEEN e HB_OET_TWEEN, visto que não foi viável realizar a lavagem das amostras devido à formação de emulsão.

4.2.2 Análise termogravimétrica

Através de termogravimetria (TGA) e da derivada destes valores (DTG) foi possível determinar a eficiência de incorporação do óleo essencial de tomilho na argila montmorilonita sódica, através da análise da perda de massa e da temperatura de degradação. A Fig. 13 apresenta os gráficos de TGA e DTG de cada constituinte, bem como dos híbridos de NaMt contendo Tween 80 (HB_TWEEN), OET (HB_OET) e HB_OET_TWEEN. Na Tabela 9 são exibidas as velocidades máximas de degradação, bem como as perdas de massa de cada amostra em diferentes intervalos de temperatura.

Na curva do óleo essencial de tomilho (Fig. 13 – a) foi observado apenas um evento de perda de massa, entre 25 e $160\text{ }^\circ\text{C}$, com velocidade máxima de degradação na temperatura de $120\text{ }^\circ\text{C}$. Esse evento está associado à completa volatilização de seus diferentes constituintes (OLIVEIRA, 2022). Já para o Tween 80 (Fig. 13 - B), a

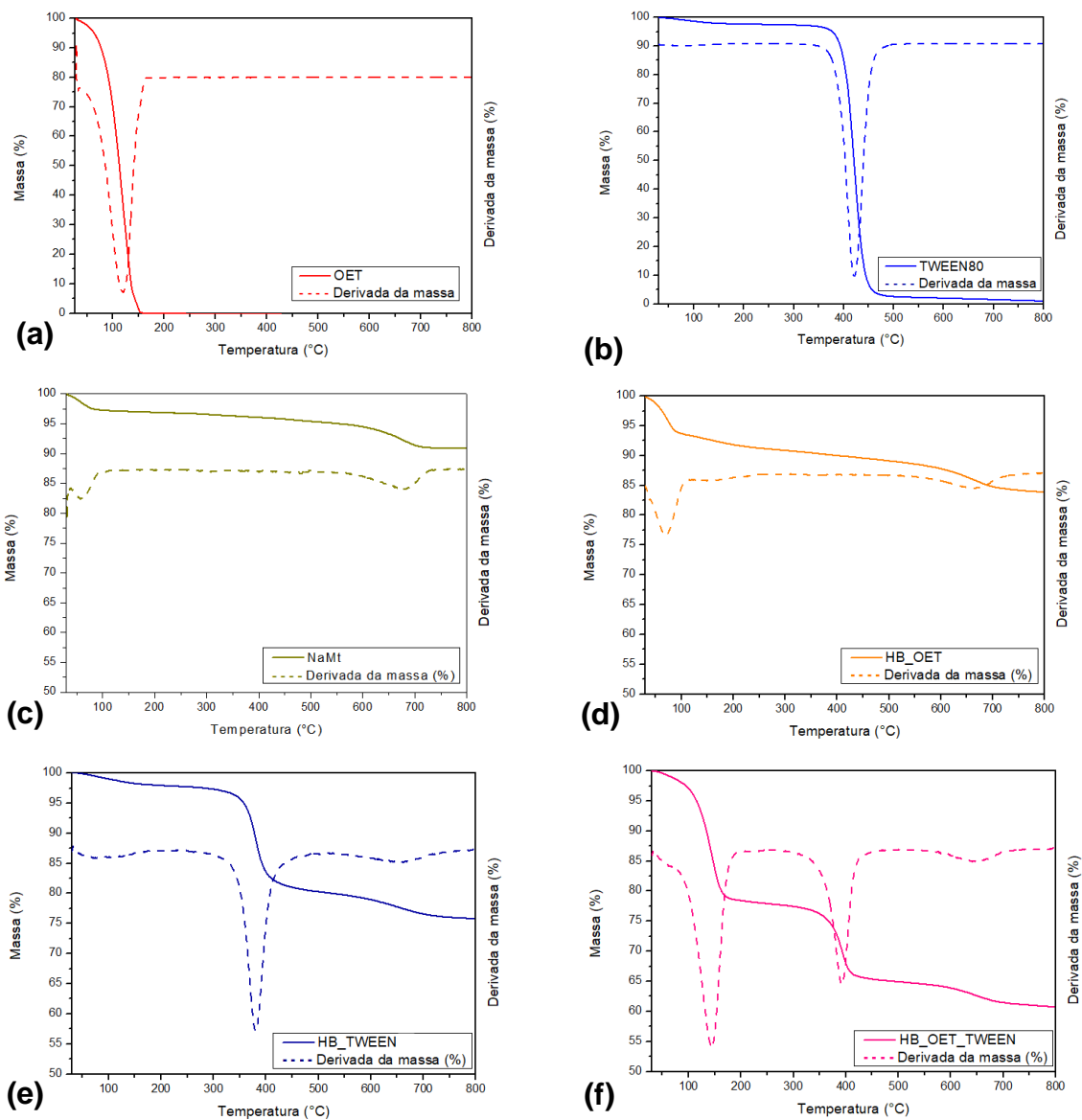
perda de massa ocorreu entre 353 e 479 °C e com máxima velocidade de degradação em 421 °C (Tabela 9).

Tabela 6 - Velocidade máxima de degradação e perda de massa em baixa e alta temperatura dos híbridos e demais constituintes

Amostra	T _{pico} (°C)	Perda de massa (%)		
		< 100 °C	100 – 220 °C	220 – 500 °C
OET	120	30,59	69,41	0,00
TWEEN80	421	1,37	1,02	95,04
NaMt	61; 670	2,70	0,42	1,46
HB_OET	71; 679	6,29	2,12	2,46
HB_TWEEN80	381	0,96	1,18	17,56
HB_OET_TWEEN	143; 393	2,91	18,88	13,28

No termograma da NaMt foram identificados dois eventos de perda de massa: o primeiro ocorreu até 104 °C, enquanto o segundo se deu entre 583 e 732 °C, com as máximas velocidades de degradação ocorrendo a 61 e 670 °C, respectivamente. O primeiro episódio estava associado à evaporação da água adsorvida na superfície da argila e entre suas camadas (SHE *et al.*, 2023). Importante notar que, a partir de 500 °C, inicia-se o processo de desidroxilação da NaMt (GIANNAKAS *et al.*, 2017), o que sugere que o segundo evento está relacionado à eliminação dos grupos hidroxila estruturais dos lamelados da argila (SHE *et al.*, 2023).

Figura 13 - Resultados de TGA e DTG do (A) óleo essencial de tomilho, (B) Tween 80, (C) NaMt, (D) HB_OET, (E) HB_TWEEN80 e (F) HB_OET_TWEEN



Conforme apontado por Giannakas e colaboradores (2017), a perda de massa dos híbridos de argila contendo Tween 80 e OET se manifesta em duas etapas distintas: a baixa temperatura (100 a 220 °C) e a alta temperatura (220 a 500 °C). Isso está de acordo com os resultados apresentados, visto que 69,41% da massa de OET

puro é perdida entre 100 e 220 °C, enquanto 95,04% da massa do Tween 80 puro é perdida entre 220 e 500 °C (Tabela 9).

Para a amostra HB_OET se observa perda de massa de 2,12% em baixa temperatura, que está associada à presença de água e de OET. Isso indica que não houve incorporação efetiva do OET na NaMt sem a utilização do Tween 80.

Já para a amostra HB_TWEEN80, observa-se a perda de 17,56% de massa em alta temperatura. Visto que, não foi possível realizar etapa de lavagem da amostra, o Tween 80 adicionado à formulação ainda estava presente no híbrido. Essas informações estão de acordo com a análise de FTIR, na qual foram verificadas bandas características deste constituinte nos espectros do híbrido.

Para a amostra HB_OET_TWEEN, em baixa temperatura, foi identificada uma perda de 18,88% da massa do híbrido. Visto que, a evaporação da água adsorvida na NaMt ocorreu até 104 °C, e que a perda de massa da HB_TWEEN80 em baixa temperatura foi de apenas 1,18%, o teor indicado se trata, predominantemente, de óleo essencial de tomilho. Esse valor foi superior ao encontrado por Oliveira e colaboradores (2021), que obtiveram 10% de incorporação de OET na argila ao utilizarem a técnica de agitação magnética. Já a perda de massa em alta temperatura se trata, em sua maioria, de Tween 80. Sendo assim, não foi possível determinar a concentração exata de OET perdida nessa faixa de temperatura. Essas informações corroboram com o FTIR, na qual foram identificadas bandas características do OET e do Tween 80 no híbrido.

4.2.3 Difração de raios-X

A análise de difração de raios X foi empregada para avaliar a interação entre a o Tween 80 e o OET com a argila. A Fig. 14 exibe os difratogramas para a argila NaMt e seus híbridos, que contêm óleo essencial (HB_OET), Tween 80 (HB_TWEEN) e ambos os constituintes (HB_OET_TWEEN). A partir desses dados, foi calculado o espaçamento basal (d_{001}) das amostras (Tabela 10).

A argila NaMt apresentou distância interlamelar (d_{001}) de 12,47 Å, valor próximo ao informado no boletim técnico da fornecedora *Southern Clay Products Inc.* (EUA), o

qual reportou 11,7 Å. A discrepância pode estar associada à presença de água no espaço interlamelar, conforme verificado nas análises termogravimétrica e de FTIR.

Figura 14 - Difratogramas de raios-X da NaMt e de seus híbridos

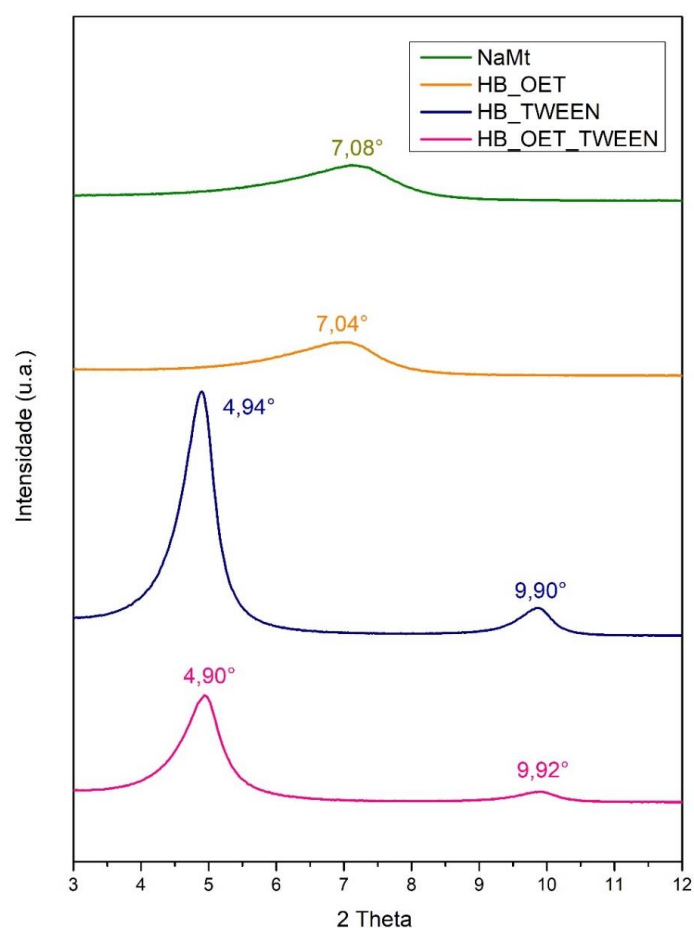


Tabela 7 – Distância interlamelar (d_{001}) da NaMt e dos híbridos de argila

Amostra	d_{001} (Å)
NaMt	12,47
HB_OET	12,54
HB_TWEEN	17,87
HB_OET_TWEEN	18,01

O híbrido HB_OET apresentou um pico único em $\sim 7,04^\circ$ e espaçamento basal de 12,54 Å, medidas que se aproximam da NaMt pura. Esses resultados sugerem baixa incorporação deste constituinte no espaço interlamelar, estando em

consonância com a análise termogravimétrica, na qual foi verificado um teor de ~2,12% de OET no híbrido.

Já o híbrido HB_TWEEN exibiu dois picos: o primeiro em ~4,94°, que se refere a d_{001} ; e o segundo em ~9,90°, associado ao plano cristalino d_{002} , que é múltiplo do espaçamento basal de d_{001} e paralelo a ele (AMORIM, 2007; BARBOSA *et al.*, 2006). Para d_{001} , o híbrido apresentou distância interlamelar de 17,87 Å. A diferença em relação à argila pura, sugere a incorporação de Tween 80 no espaço interlamelar, o que corrobora com os dados da análise termogravimétrica, na qual foi verificado um teor aproximado de 17,56% deste componente.

Um comportamento similar foi observado pelo híbrido HB_OET_TWEEN, que apresentou picos em ~4,90° e ~9,92°, associados à d_{001} e d_{002} , respectivamente. Para essa amostra, o deslocamento para menores valores, em relação à argila pura, pode estar associado tanto à presença de OET como de Tween 80 entre as lamelas, conforme verificado nas análises de TGA e FTIR.

Além disso, as amostras de argila NaMt e do híbrido HB_OET exibiram picos largos com intensidade inferior em relação aos híbridos HB_TWEEN e HB_OET_TWEEN. De acordo com Morelli de Filho (2010), essa característica se trata de mais um indício da incorporação do Tween 80 e do OET no espaço interlamelar.

Sendo assim, com base nos resultados de FTIR, TGA e DRX, a combinação de Tween 80 e de OET se faz necessária para obter uma incorporação mais efetiva do óleo essencial na argila, através do método de emulsão. Portanto, para dar continuidade ao estudo, foi utilizada apenas a HB_OET_TWEEN, contendo cerca de ~18,88% de OET.

4.3 Espumas de amido

4.3.1 Caracterização do amido

O teor de umidade do amido foi $15,19 \pm 1,22\%$, valor próximo ao indicado no boletim técnico do produto (<14%). Este valor também está em conformidade com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 711 de 1º de julho de 2022, que permite um teor de umidade de 18% para o amido de mandioca.

4.3.2 Aspecto das espumas

Conforme foi observado por Vercelheze e colaboradores (2012), a quantidade de massa de formulação adicionada no molde influenciou a qualidade do material produzido. Logo, foram realizados testes com diferentes quantidades de cada formulação, garantindo que o molde fosse preenchido, sem haver perda de massa pelas suas laterais.

Por exemplo, enquanto a amostra E-CONTROLE preencheu o molde de forma homogênea com 30 g de formulação, para E-NaMt foram necessários 48 g de formulação (Fig. 15). Possivelmente, a argila sódica, que é muito hidrofílica, limitou a expansão deste material. Este comportamento não foi observado para a E-HB, que preencheu o molde com 33 g de formulação.

Figura 15 - Quantidades de massa adicionadas no molde para a produção das espumas (a) E-CONTROLE e (b) E-NaMt

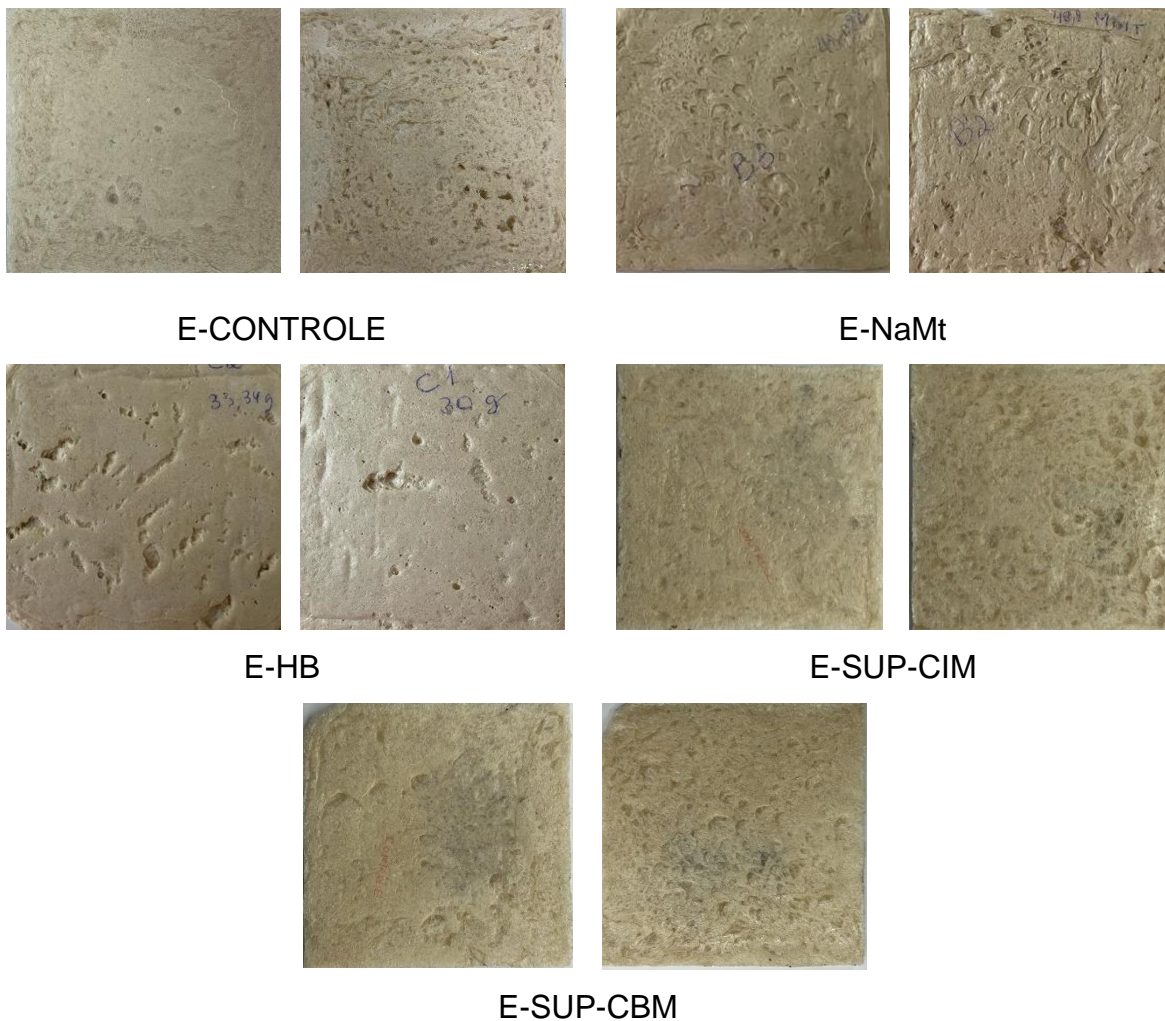


Além disso, as espumas E-NaMt e E-HB apresentaram diferentes aspectos visuais, como pode ser observado na Fig. 16. Enquanto a E-NaMt parecia ter se retraído durante a etapa de termoformagem, sendo difícil inclusive cortá-la, a E-HB apresentou inúmeros vazios em sua superfície.

Visto que, as espumas E-CONTROLE com dimensões de 11,5 x 11,5 cm apresentaram massa média de $14,2451 \pm 0,3038$ g, as espumas E-SUP-CIM e E-SUP-CBM, tiveram 2,03 e 4,75 g de OET aplicados na superfície, respectivamente. Enquanto a E-SUP-CIM secou em 1h, o tempo de secagem foi significativamente

superior para a E-SUP-CBM. Mesmo com pausas de 15 min entre cada aplicação, o excesso de óleo essencial era visível na superfície da amostra.

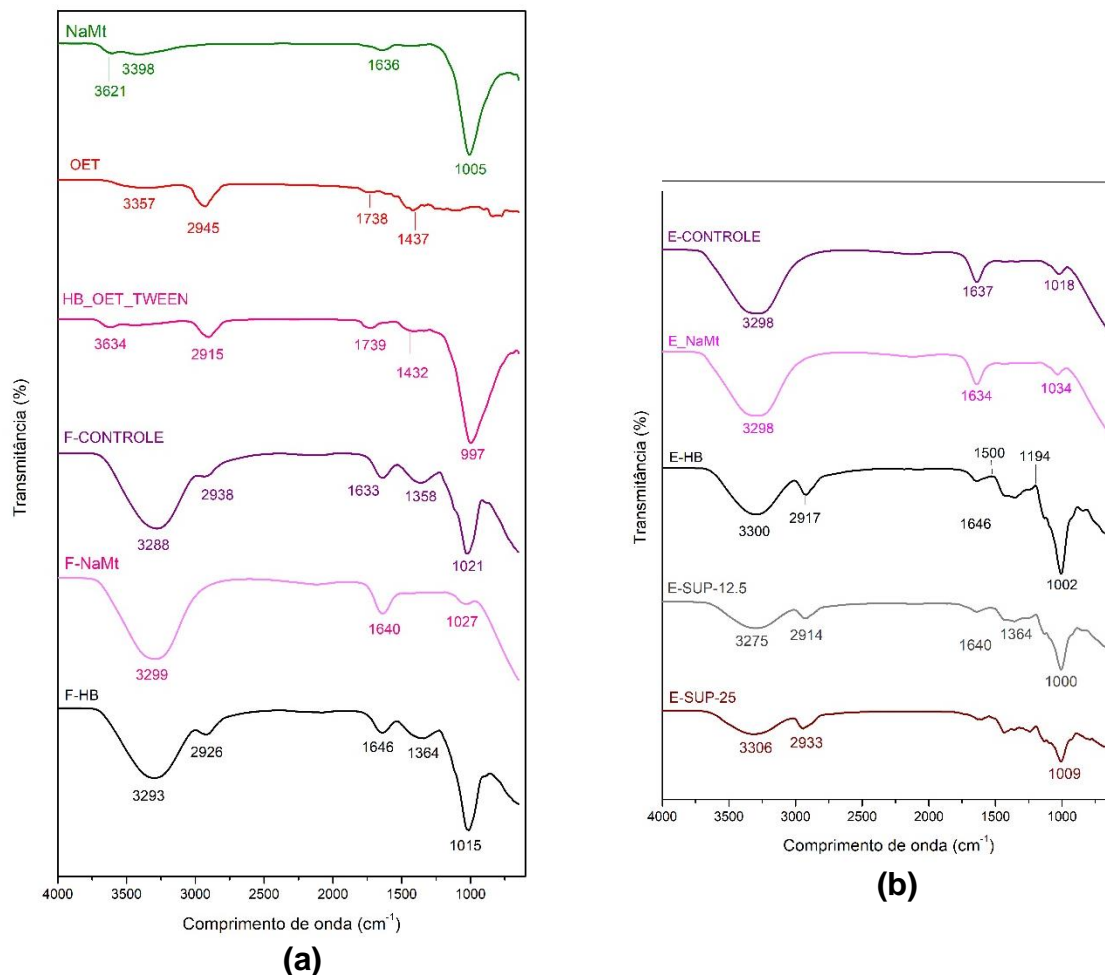
Figura 16 – Aspecto visual das espumas



4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier: análise comparativa entre formulações e espumas

As interações entre o óleo essencial de tomilho e os demais constituintes das formulações e espumas foram avaliadas através de FTIR. Os espectros são apresentados na Fig. 17. As bandas do OET, NaMt e HB_OET_TWEEN foram previamente analisadas e discutidas na seção 4.2.1.

Figura 17 - Espectros de FTIR das (a) matérias-primas, formulações e (b) espumas de amido



Todas as formulações e espumas apresentaram bandas na faixa de $\sim 3300\text{ cm}^{-1}$, sugerindo a presença de ligações de hidrogênio entre os constituintes (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020; ENGEL; AMBROSI; TESSARO, 2019; MATSUDA *et al.*, 2013). Essas bandas também podem estar associadas à grupos acetal (C—O—C) e OH⁻ do amido (ENGEL; AMBROSI; TESSARO, 2019; MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2020), bem como à flexão angular de moléculas de água (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020). Essas bandas apresentaram menor intensidade para a E-SUP-CIM e E-SUP-CBM em relação às demais amostras.

Com exceção da F-NaMT, as demais formulações apresentaram uma banda na região de $\sim 2900\text{ cm}^{-1}$, que pode estar associada às vibrações de C-H, H-C-H e C-O-H (VERCELHEZE *et al.*, 2012). A banda nessa região também é característica do

OET e foi observada para as espumas que continham essa substância (E-HB, E-SUP-CIM e E-SUP-CBM). De acordo com Cruz-Tirado e colaboradores (2020), as bandas nessa região podem indicar a formação de ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila do OET com os grupos –NH e –OH do amido de mandioca. Sendo assim, essa banda sugere a presença de OET na espuma E-HB mesmo após a etapa de termoformagem.

As bandas identificadas na região de $\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ podem indicar interação entre a água e os demais constituintes (MATSUDA *et al.*, 2013; KETKAEW *et al.*, 2018; MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2020) e foram observadas nos espectros das formulações e espumas. Além disso, as bandas presentes entre 1600 e 1400 cm^{-1} são características das vibrações do carvacrol (SOUZA *et al.*, 2020) e podem ser observadas nas três espumas contendo OET.

Já as bandas identificadas entre 900 e 1100 cm^{-1} estão associadas às ligações glicosídicas do amido (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020). Nessa região, $\sim 1005 \text{ cm}^{-1}$, também foi identificada a banda característica do estiramento Si-O na NaMt (MATSUDA *et al.*, 2013). Para a F-NaMt e E-NaMt esta banda apresentou baixa intensidade, sugerindo a incorporação da argila à matriz polimérica (MATSUDA *et al.*, 2013). Este comportamento não foi observado para E-HB, que apresentou bandas intensas nessa região do espectro.

4.3.4 Análise termogravimétrica das formulações

Através da análise termogravimétrica, simularam-se as condições de processamento das espumas de amido. As curvas de TGA e DTG são exibidas na Fig. 18. Essa análise objetivou analisar a perda de massa ao longo do tempo em que as espumas foram submetidas à termoformagem.

Após 20 min, a amostra F-CONTROLE perdeu 47,35% de sua massa, valor próximo ao teor de água adicionado na formulação, o qual foi de 46,95%. Também podem ter ocorrido perdas associadas à umidade do amido, que era de $15,19 \pm 1,22\%$ (Seção 4.3.1). O mesmo comportamento foi observado para a F-NaMt (Tabela 8), que possuía 55,34% de água em sua formulação e perdeu 56,75% de massa. Enquanto a E-CONTROLE apresentou dois eventos de perda de massa, o primeiro em 2 min e 18

s e o segundo em 5 min e 59 s, a E-NaMt apresentou um evento único aos 2 min e 53 s. De acordo com Soykeabkaew, Thanomsilp e Suwantong (2015), durante a etapa de termoformagem, ocorre a gelatinização do amido, resultando na formação de uma pasta viscosa. Simultaneamente, ocorre a rápida evaporação da água presente na formulação, fazendo com que a pasta se expanda até preencher o molde. Depois disso, a água residual continua a evaporar e ocorre secagem gradativa da espuma.

O óleo essencial de tomilho, que apresentou um evento único de perda de massa entre 25 e 160 °C (Fig. 13 – A, seção 4.2.2), perdeu 95,06% de sua massa, quando submetido às condições de processamento da espuma. A máxima velocidade de degradação foi registrada aos 2 min e 26 s. Já a NaMt perdeu 10,05% de sua massa, com máxima velocidade de degradação aos 2 min.

O HB_OET_TWEEN, que possuía cerca de 18,88% de OET em sua composição, perdeu 14,31% de massa. Essa perda pode estar associada à umidade da argila e ao óleo essencial, sugerindo que, mesmo incorporada na argila, parte dessa substância é perdida quando submetida às condições de processamento da espuma. Foram identificados dois eventos de perda de massa: em 2 min e 22 s e 6 min e 5 s. Este segundo evento pode estar associado ao OET incorporado na argila, que demorou mais tempo para volatilizar em relação ao óleo essencial puro.

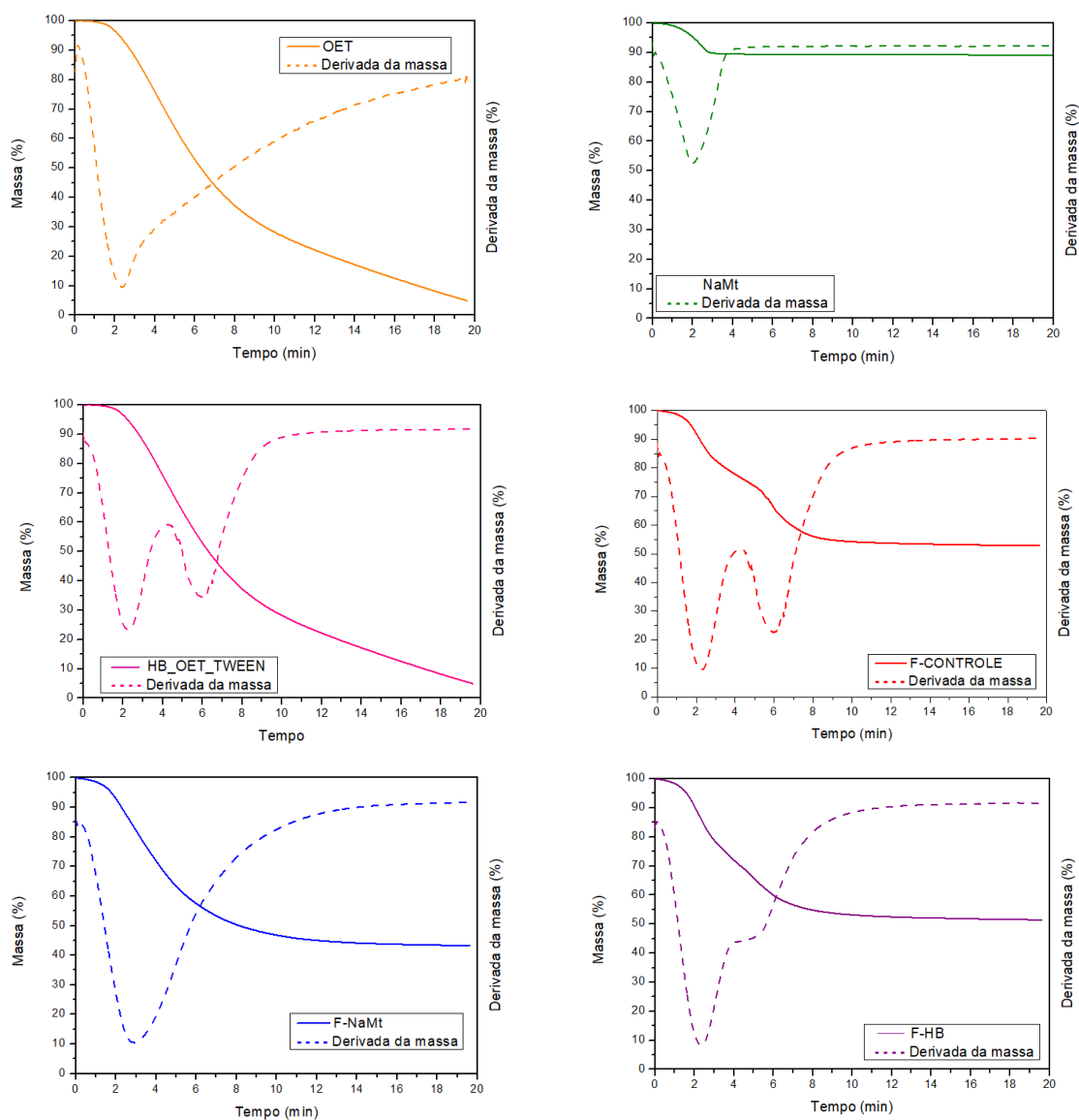
Tabela 8 – Massa de formulação perdida após a simulação das condições de processamento da espuma

Amostra	Massa da formulação perdida (%)
OET	95,06
NaMt	10,05
HB_OET_TWEEN	14,31
F-CONTROLE	47,35
F-NaMt	56,75
F-HB	48,54

A F-HB possuía 2,29% de híbrido em sua composição, o que equivale a ~ 0,43% de OET. Composta por 48,17% de água, essa espuma perdeu 48,54% de sua massa durante a análise. A velocidade de máxima degradação ocorreu em 2 min e 19

min. Também houve a formação de um ombro em 4 min e 14 s, que pode estar associado à presença de óleo essencial de tomilho.

Figura 18 - Curvas de TGA e DTG do (a) OET, (b) NaMt, (c) HB_OET_TWEEM, (d) F-CONTROLE, (e) F-NaMt e (f) F-HB submetidas às condições de processamento das espumas

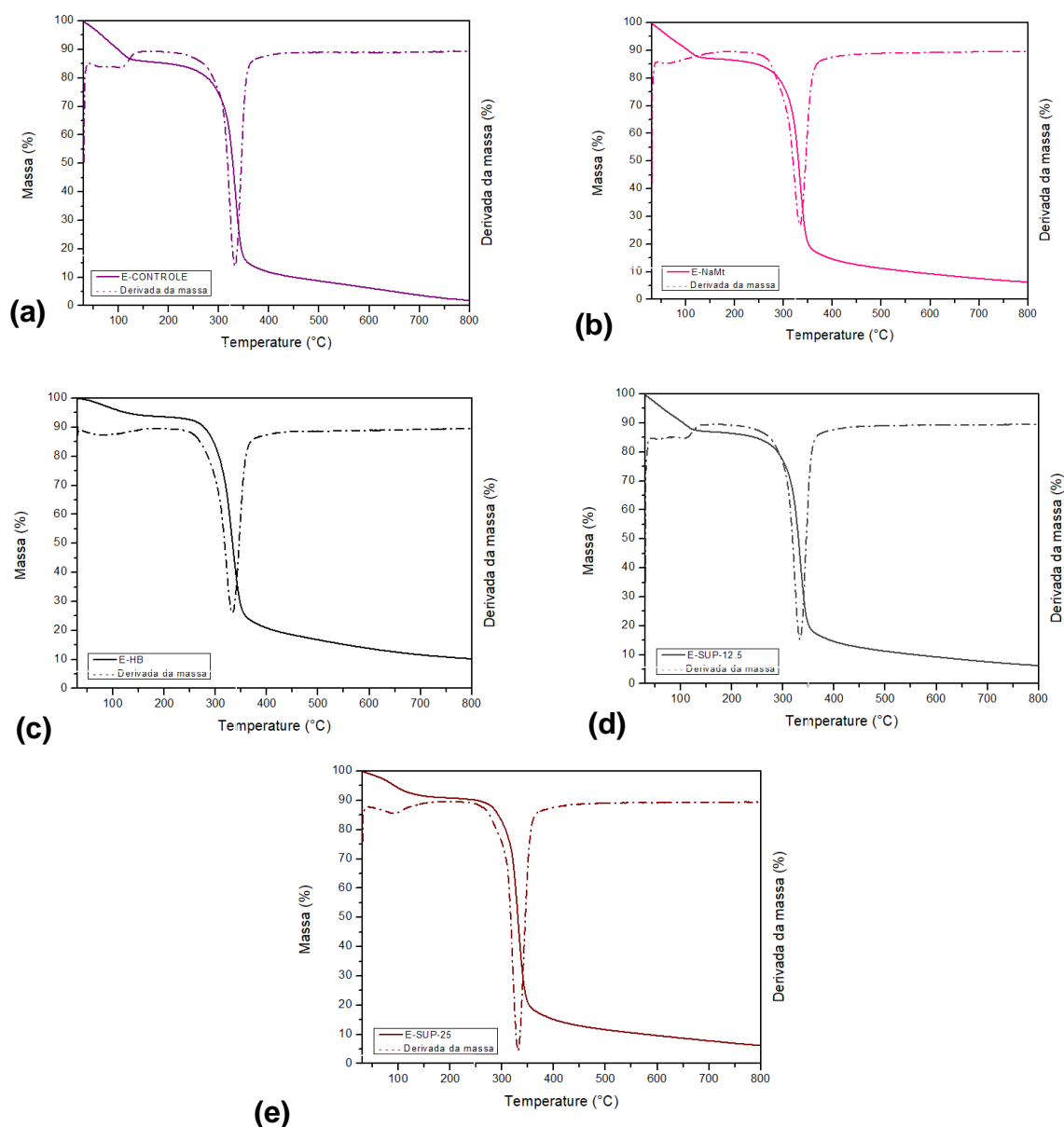


4.3.5 Análise termogravimétrica das espumas

A partir dos resultados da análise termogravimétrica (TGA) e de sua derivada (DTG), foram analisadas a estabilidade térmica e a temperatura de degradação das espumas de amido. Esse ensaio é essencial, uma vez que uma boa estabilidade

térmica é importante para que uma embalagem preserve a integridade dos alimentos e permita armazená-los e transportá-los sob diferentes condições ambientais (WANG *et al.*, 2024). Na Fig. 19 são apresentadas as curvas de TGA e DTG destes materiais.

Figura 19 - Curvas de TGA e DTG: (a) E-CONTROLE, (b) E-NaMt, (c) E-HB, (d) E-SUP-CIM e (e) E-SUP25.



Para todas as amostras foram observadas perdas de massa iniciais, associadas à volatilização da água adsorvida e superficial (SANHAWONG *et al.*, 2017; THOMASON; RUDEIROS- FERNÀNDEZ, 2021). Também foram verificadas perdas

ocorridas entre 220 e 250 °C, que podem estar associadas tanto ao glicerol, como ao óleo essencial (WANG *et al.*, 2024).

Conforme é exibido na Tabela 12, a amostra E-CONTROLE apresentou velocidade de máxima degradação em 330 °C, associada à degradação das unidades de anidroglicose da matriz. O amido, por estar presente em maior concentração na formulação, é o constituinte que mais afeta a estabilidade térmica das espumas (MACHADO, 2020).

Nas amostras E-NaMt, E-HB e E-SUP-CBM foi observado o deslocamento deste pico para temperaturas superiores. O aumento mais significativo foi observado para a amostra E-NaMt, que apresentou velocidade de máxima degradação em 341 °C. Possivelmente, esse comportamento estava associado à composição predominantemente inorgânica da argila, que retardou a decomposição do amido (SOUZA *et al.*, 2020). Adicionalmente, a formação de novas ligações de hidrogênio pode ter resultado em uma rede reticulada, melhorando a intercalação das cadeias poliméricas do amido entre as lamelas da argila (SOUZA *et al.*, 2020).

Tabela 9 - Resumo dos resultados do TGA

Amostra	T_{pico} (°C)	Massa residual (%)
E-CONTROLE	330	1,90
E-NaMt	341	11,62
E-HB	335	10,29
E-SUP-CIM	330	6,26
E-SUP-CBM	333	6,30

Para a amostra E-HB, o pico de máxima velocidade de degradação foi observado em 335 °C. A redução em relação à E-NaMt pode ser atribuída à presença deste constituinte no espaço interlamelar, conforme verificado na análise de difração de raios-X, que pode ter afetado a interação com o amido.

A amostra E-SUP-CBM apresentou velocidade de máxima degradação em 333 °C, sugerindo que a aplicação de um volume superior de óleo essencial na superfície da espuma também levou a um aumento na estabilidade térmica do material.

O mesmo comportamento foi verificado por Bathia e colaboradores (2024), que desenvolveram filmes comestíveis ativos à base de caseinato de sódio e quitosana, contendo óleo essencial de pimenta preta. Os autores verificaram que os filmes contendo diferentes teores dessa substância, apresentaram estabilidade térmica relativamente superior e atribuíram esse resultado às interações moleculares entre o óleo essencial e o polímero.

Ao final do experimento, as espumas de amido apresentaram massa residual na faixa 1,90 a 11,62%. O maior valor de massa residual foi apresentado pela E-NaMt, seguida pela E-HB.

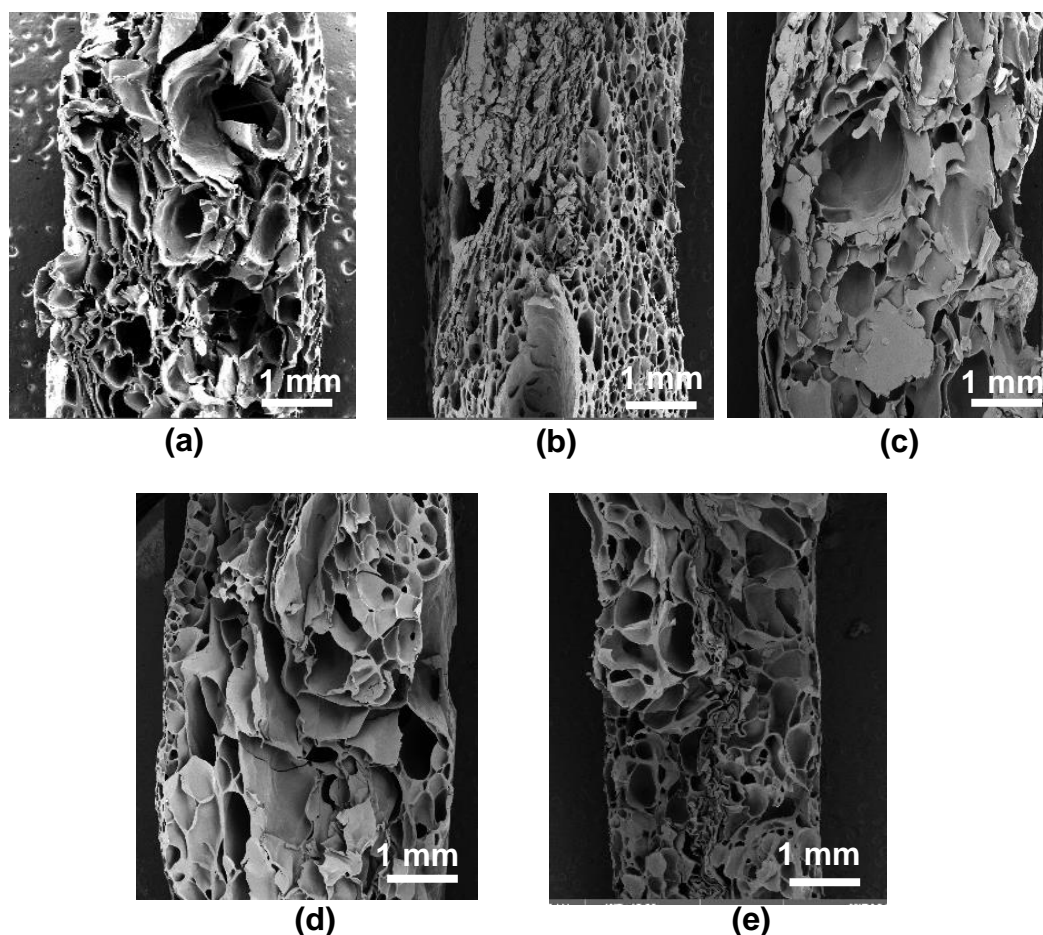
4.3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Fig. 20 exibe as micrografias da seção transversal das espumas com aumento de 50 vezes. Em todas as amostras foram observados vazios, resultantes da etapa de evaporação da água, comprovando que ocorreu a expansão do material.

Observa-se que, para todas as amostras, a camada externa era mais densa e constituída por pequenas células de ar, enquanto a camada interna era formada por células grandes. Essa estrutura, denominada sanduíche, é característica das espumas de amido obtidas através de termoformagem, tendo sido observada por Bergel, Araújo e Santana (2021), Trongchuen e colaboradores (2018) e Vercelheze e colaboradores (2012). Como a superfície estava em contato com o molde aquecido, secou rapidamente e não expandiu muito (SHOGREN *et al.*, 1998). Já as células de ar internas, que são maiores e abertas, formaram-se com a saída do vapor de água, o que levou à ruptura da estrutura (ENGEL *et al.*, 2019; SHOGREN *et al.*, 1998).

As amostras E-CONTROLE, E-SUP-CIM e E-SUP-CBM, apesar de terem sido produzidas com a mesma formulação (F-CONTROLE), apresentaram estruturas diferentes. A E-SUP-CIM apresentou células maiores e mais abertas, enquanto a E-SUP-CBM apresentou poros menores e mais fechados. Essa diferença pode estar associada à alguma variação nas condições de processamento, como a temperatura do molde, que variava quando este era retirado da prensa. Ambas as amostras exibiram superfícies relativamente homogêneas (Fig. 21).

Figura 20 - Microscopia eletrônica de varredura da seção transversal das amostras com aumento de 50 vezes: (a) E-CONTROLE; (b) E-NaMt; (c) E-HB; (d) E-SUP-CIM; (e) E-SUP-CBM.

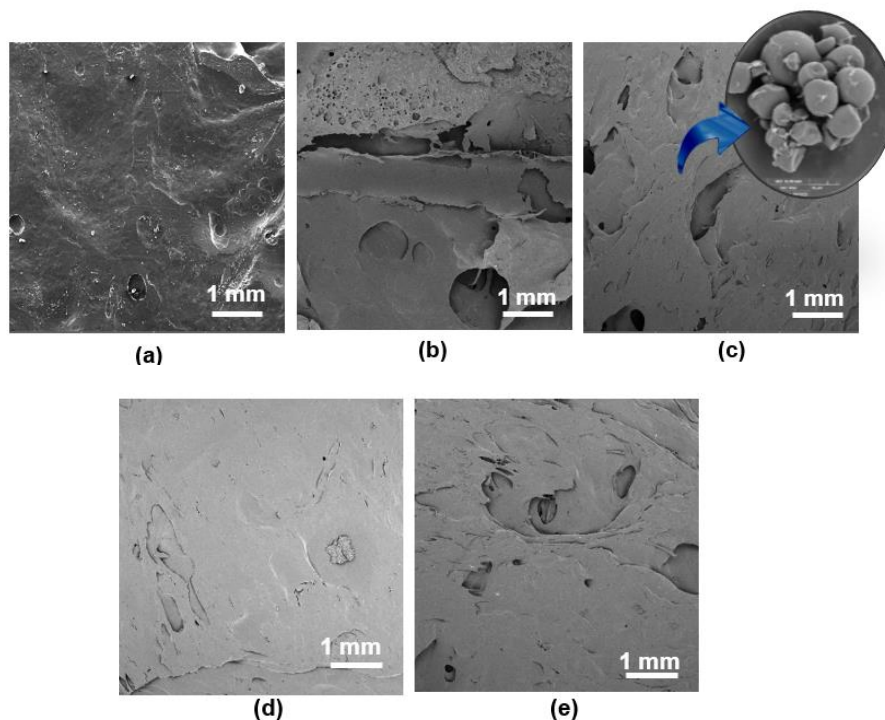


A espuma E-NaMt apresentou uma estrutura compacta e poros bem fechados, mesmo com a adição de um volume superior de água na formulação. Sua superfície era heterogênea e repleta de fissuras (Fig. 21). Em contrapartida, a E-HB era constituída por células de ar grandes e abertas. As diferenças existentes entre as duas amostras podem estar associadas à presença do óleo essencial de tomilho, que, por estar presente no espaço interlamelar da argila, afetou a interação entre o amido e a argila durante a etapa de expansão. O vapor de água pode ter levado ao deslocamento do OET para perto da superfície da espuma, enquanto ele ficou retido no interior do material, causando as deformações (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020).

Com ampliações superiores, é possível observar grânulos de amido que não gelatinizaram na E-HB, possivelmente, devido à rápida saída do vapor de água

(SHOGREN *et. al*, 1998). Na superfície desta amostra é possível observar a presença de poros.

Figura 21 - Micrografias da superfície das com aumento de 50 vezes: (a) E-CONTROLE; (b) E-NaMt; (c) E-HB; (d) E-SUP-CIM; (e) E-SUP-CBM.

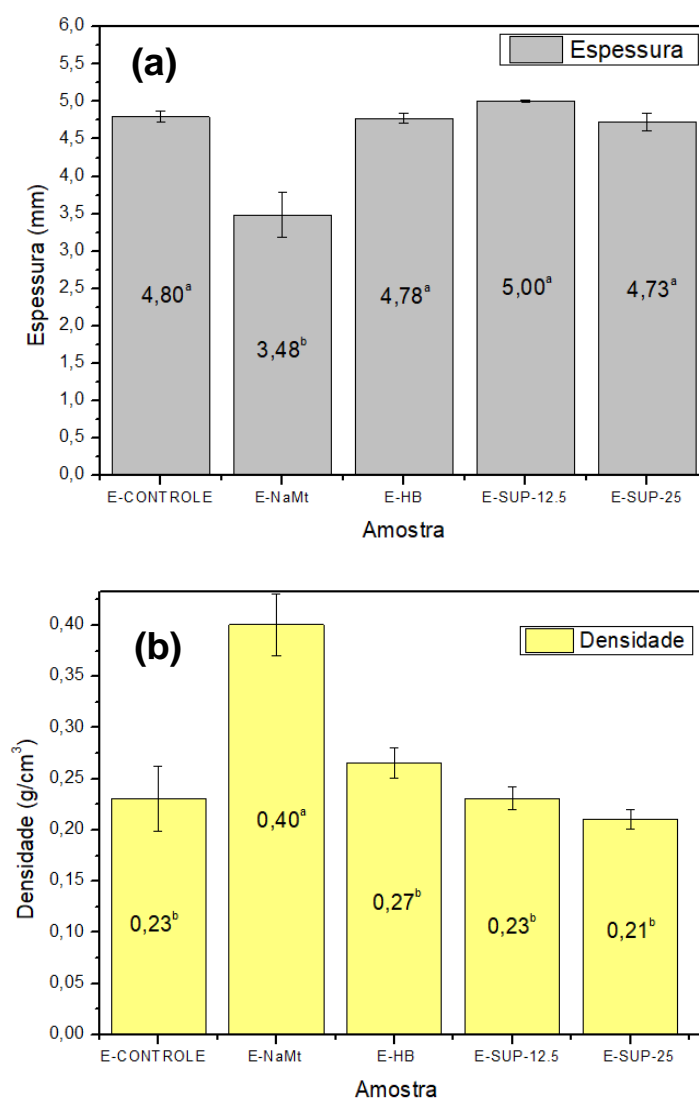


4.3.7 Determinação da espessura e densidade

A determinação da espessura é importante para a avaliação da uniformidade e da homogeneidade (VERCELHEZE *et. al*, 2012). Os resultados da análise de espessura e densidade são apresentados na Fig. 22.

As espessuras das amostras E-CONTROLE, E-HB, E-SUP-12,5 e E-SUP-CBM variaram de 4,73 a 5 mm, não havendo diferença significativa entre elas (teste de Tukey, $p < 0,05$). Entretanto, a amostra E-NaMt apresentou espessura inferior e, conseqüentemente, diferença significativa em relação às demais.

Figura 22 – (a) Espessura e (b) densidade das espumas de amido



*Amostras com as mesmas letras não apresentam diferença significativa entre si (Fator anova, $p < 0,05$).

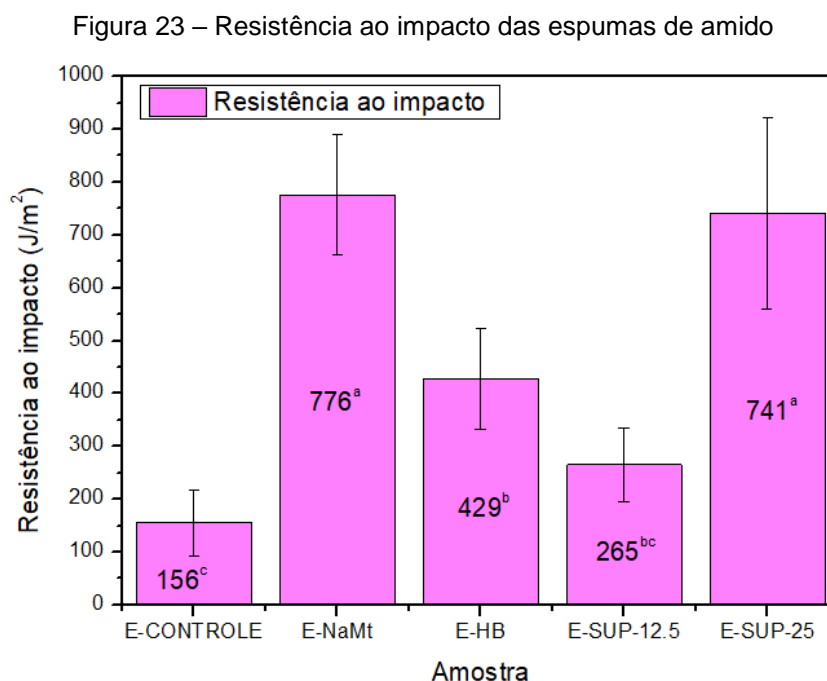
No caso da espuma E-NaMt, que foi produzida com a maior quantidade de massa no molde, a incorporação da argila montmorilonita sódica reduziu a expansão do material. Essa informação corrobora com a micrografia da seção transversal dessa espuma, na qual é observada uma estrutura compacta e com tamanho de célula inferior às demais.

Com exceção da amostra E-NaMt, as densidades das espumas de amido variaram entre 0,21 e 0,27 g/cm³, sem diferença significativa entre elas. Esses dados

estão de acordo com os valores reportados na literatura (CRUZ-TIRADO *et al.*, 2020; VERCELHEZE *et al.*, 2012). A alta densidade apresentada pela E-NaMt (0,40 g/cm³) é justificada pela quantidade superior de massa adicionada no molde e pela expansão reduzida do material.

4.3.8 Impacto

Além da absorção de água, a fragilidade é outro problema apresentado pelas espumas de amido. Isso, porque acabam quebrando durante o manuseio, limitando a utilização desse material como embalagem (BERGEL; ARAÚJO; SANTANA, 2021). Sendo assim, foi investigado o efeito das diferentes formas de adição do OET na resistência ao impacto destes materiais (Fig. 23).



*Amostras com as mesmas letras não apresentam diferença significativa entre si (Fator anova, $p < 0,05$).

Conforme apresentado pela Fig. 23, as amostras E-NaMt e E-SUP-CBM exibiram as maiores resistências ao impacto, quando comparadas às demais espumas. Assim como foi observado nas micrografias da seção transversal, estas

amostras apresentaram os menores tamanho de célula, o que justifica a diferença em relação às demais. Souza e colaboradores (2018), que desenvolveram um bionanocompósito à base de quitosana, também observaram a melhora nas propriedades mecânicas com a adição de NaMt.

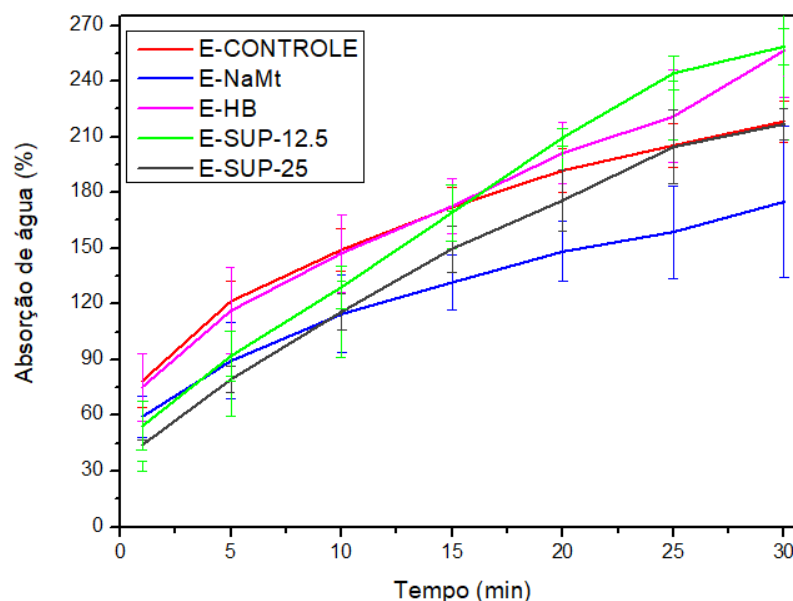
Já a espuma E-HB apresentou resistência ao impacto significativamente inferior à amostra contendo a NaMt pura. Essa informação corrobora com as análises anteriores, nas quais foi verificada a presença de óleo essencial de tomilho no espaço interlamelar, que, possivelmente, interfere na interação entre o amido e a argila. Mesmo assim, essa amostra apresentou resistência ao impacto significativamente superior à amostra E-CONTROLE. Esses resultados estão de acordo com Giannankas e colaboradores (2019), que desenvolveram nanocompósitos de quitosana, óleo de tomilho e NaMt, através de diferentes métodos.

4.3.9 Absorção de água

A absorção de água pelas espumas de amido ocorre de duas formas: pelo amido em si, por ser um biopolímero altamente hidrofílico e pelos poros, não sendo possível diferenciar, através dessa análise, qual tipo de absorção ocorreu (MACHADO; BENELLI; TESSARO, 2020; VERCELHEZE *et. al*, 2012). Na Fig. 24 são apresentadas as curvas da capacidade de absorção de água das amostras.

As capacidades de absorção de água das espumas de amido variaram de $44,12 \pm 2,30$ % a $75,26 \pm 18,25$ %, no primeiro min de imersão, à $174,97 \pm 40,45$ % a $258,59 \pm 9,80$ %, após 30 min. Todas as amostras absorveram elevados teores de água, o que é característico deste material. Após 30 min de imersão, todas as amostras começaram a se degradar em água, não sendo possível dar continuidade na análise até atingir a saturação. Mesmo assim, as espumas E-CONTROLE e E-NaMt apresentaram taxas de absorção inferiores às encontradas por Vercelheze e colaboradores (2012), que também produziram espumas de amido de mandioca com NaMt.

Figura 24 - Capacidade de absorção de água das espumas de amido



Até os 10 min de imersão em água, a E-SUP-CBM apresentou a menor taxa de absorção e, até os 25 min, apresentou capacidade de absorção de água inferior à E-CONTROLE. Depois disso, passaram a apresentar taxas de absorção próximas. Esse comportamento pode ser justificado pela presença do OET na superfície, bem como pela estrutura dessa amostra, observada nas micrografias.

Já a amostra E-SUP-CIM apresentou capacidade de absorção inferior à amostra E-CONTROLE apenas até os 15 min. Esses dados sugerem que a técnica de aplicação de OET na superfície se mostrou mais efetiva para inibir a absorção de água apenas nos primeiros minutos de imersão. Depois desse período, a capacidade de absorção de água da E-SUP-CIM foi superior à de todas as amostras. Uma justificativa para isso é a estrutura dessa amostra, que apresentava as células de ar maiores e mais abertas em relação às demais.

Após 10 min de imersão, a E-NaMt apresentou a menor capacidade de absorção. Conforme verificado anteriormente, esta amostra apresentava células de ar menores e mais fechadas. Além disso, estudos anteriores obtiveram resultados similares, nos quais as amostras contendo argila apresentaram capacidade de absorção de água inferior às amostras que não continham este material (MATSUDA *et al.*, 2013; VERCELHEZE *et al.*, 2012).

Em contrapartida, a amostra E-HB apresentou elevada taxa de absorção ao longo de toda a análise. Essa propriedade pode ser justificada pelas células de ar grandes e abertas apresentadas por esta amostra. Neste caso, o OET estava presente em uma concentração muito baixa, que não influenciou a capacidade de absorção de água do material.




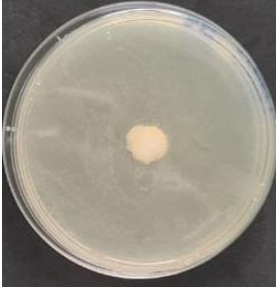





4.3.10 Análise microbiológica

A análise de difusão em disco foi essencial na avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho, quando aplicado nas espumas. Visto que o híbrido HB_OET_TWEEN continha cerca de 18,88% de OET e a F-HB era constituída por 2,35% de híbrido, havia cerca de 0,44% (m/m) de óleo essencial nessa formulação. Sendo assim, como E-HB não continha a CIM do OET, optou-se em submeter à análise microbiológica apenas as amostras E-CONTROLE, E-SUP-CIM e E-SUP-CBM.

No Quadro 2 são apresentados os halos de inibição obtidos para as amostras E-CONTROLE, E-SUP-CIM e E-SUP-CBM, contra as bactérias gram-negativas (*Salmonella enterica* e *E. coli*) e gram-positiva (*S. aureus*), proporcionando uma comparação da capacidade de inibição de acordo com a quantidade de OET empregada.

A amostra E-CONTROLE não apresentou zonas de inibição para nenhum dos microrganismos testados, comprovando que não houve contaminação cruzada dos corpos de prova. Já a amostra E-SUP-CIM apresentou halos de inibição contra a *S. aureus* ($1,82 \pm 0,03$ cm) e a *Salmonella enterica* ($1,75 \pm 0,15$ cm). Esses resultados estão de acordo com os dados de CIM, que previam um teor mínimo de 12,5% (v/v) de OET para inibir o crescimento visível da *S. aureus* e de 3,125% para a *Salmonella enterica*. Esses valores foram superiores aos dados obtidos por Cruz-Tirado e colaboradores (2020), que obtiveram halos de inibição de 1,18 e 1,37 cm contra *S. aureus* e *Salmonella*, respectivamente, ao adicionarem 10% de OET diretamente na formulação.

Quadro 2 – Atividade antimicrobiana das espumas E-CONTROLE, E-SUP-CIM e E-SUP-CBM contra *S. Aureus*, *Samolnella* e *E. coli*

Microrganismos	Diâmetro da zona inibitória (cm)		
	Amostra		
	E-CONTROLE	E-SUP-CIM	E-SUP-CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>			
	0 ± 0^a	$1,82 \pm 0,03^b$	$2,82 \pm 0,22^c$
<i>Salmonella enterica</i>			
	0 ± 0^a	$1,75 \pm 0,15^b$	$2,85 \pm 0,15^c$
<i>Escherichia coli</i>			
	0 ± 0^a	0 ± 0^a	$2,39 \pm 0,22^b$

*Amostras da mesma linha com as mesmas letras não apresentam diferença significativa entre si (Fator anova, $p < 0,05$).

Entretanto, não foram observadas zonas de inibição para a *E. coli*, cuja CIM era de 3,125% de OET. De acordo com Debiagi e colaboradores (2014), a atividade inibitória do OET puro pode ser superior à do óleo incorporado no material. Em seu estudo, Qin e colaboradores (2024) verificaram que os filmes compósitos contendo

OET foram mais eficazes contra *S. aureus* do *E. coli*. Os autores atribuíram esse comportamento às diferentes composições das camadas lipídicas das bactérias gram-positivas e negativas.

Por fim, a amostra E-SUP-CBM apresentou zonas de inibição contra os três microrganismos, tendo observado o maior halo de inibição para a *Salmonella enterica* ($2,85 \pm 0,15$ cm). Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os dados reportados na literatura, nos quais foi verificada a eficácia do OET contra *S.aureus* (GHOSHAL; SHIVANI, 2022; LIU *et al.*, 2024; ZHANG; YANG, 2021, *E. coli* (GHOSHAL; SHIVANI, 2022; LIU *et al.*, 2024; REZAEI; KHAVARI; SAMI, 2021; ZHANG; YANG, 2021) e diferentes cepas de *Salmonella* (BOSKOVIC *et al.*, 2017).

Entretanto, o teor de 25%, que foi determinado através de CBM, não foi suficiente para eliminar totalmente as bactérias. Pode-se supor que as perdas ocorridas no processo de aplicação, bem como no armazenamento, influenciaram a concentração de OET existente na amostra. Bem como, as diferenças na atividade antimicrobiana do OET puro e incorporado na amostra.

5 CONCLUSÕES

O presente estudo objetivou a avaliação e comparação de duas técnicas para produzir espumas ativas à base de amido de mandioca e óleo essencial de tomilho: aplicação na superfície e incorporação de híbrido de argila NaMt, produzido através da técnica de emulsão com óleo essencial de tomilho e polissorbato 80.

Através da determinação da CIM, verificou-se que seria necessário adotar um teor superior a 12,5% (v/v) de OET para obter halos de inibição contra os três microrganismos testados. Além disso, de acordo com os dados de CBM, esse teor deveria ser superior a 25% (v/v).

Após a avaliação dos híbridos de argila montmorilonita sódica, concluiu-se que a combinação de Tween 80 e OET é necessária para a obtenção de híbridos com aproximadamente 18,88% de óleo essencial.

Quando comparadas as amostras E-NaMt e E-HB, concluiu-se que o OET, presente entre as lamelas, influenciou diretamente na interação entre o amido e a argila durante a expansão do material. Isso, porque a E-NaMt apresentou maior estabilidade térmica, células de ar menores e mais fechadas, maior resistência ao impacto e menor capacidade de absorção de água em relação à E-HB.

Comparando os métodos de adição de OET, a espuma E-SUP-CBM apresentou células menores e mais fechadas, maior resistência ao impacto e menor capacidade de absorção de água do que a E-HB. No entanto, a E-HB apresentou maior estabilidade térmica. Na análise microbiológica, a E-SUP-CIM inibiu a *S. aureus* e a *Salmonella enterica*, apresentando halos de 1,82 ± 0,03 cm e 1,75 ± 0,15 cm, respectivamente. Já a amostra E-SUP-CBM apresentou halos de inibição contra todos os microrganismos analisados, sendo mais efetiva contra a *Salmonella enterica* (2,85 ± 0,15 cm).

Sendo assim, a amostra E-SUP-CBM se mostra como uma alternativa promissora para produzir embalagens para alimentos ativas e sustentáveis, especialmente para produtos contendo baixo teor de água. De um modo geral, os resultados alcançados neste estudo contribuem para o desenvolvimento de embalagens ativas e sustentáveis, atendendo às demandas atuais em aprimorar técnicas e materiais já existentes.

5.1 Contribuição do trabalho

O presente estudo contribuiu significativamente para a área de embalagens ativas à base de amido, por avaliar e comparar duas metodologias para incorporação de óleo essencial. Enquanto a aplicação de OE na superfície de espumas já havia sido comparada com a técnica de adição direta em estudos anteriores, a incorporação de híbridos de argila e OE só havia sido avaliada em filmes poliméricos.

Por meio das diferentes análises realizadas, foi possível compreender a influência de ambas as técnicas nas propriedades físicas, química, morfológica, mecânica, térmicas e microbiológicas. Os resultados obtidos sugerem que, principalmente a amostra E-SUP-CBM se trata de uma alternativa promissora a ser empregada no desenvolvimento de embalagens sustentáveis e ativas, para alimentos que apresentem baixos teores de água.

5.2 Possibilidades de trabalhos futuros

Em trabalhos futuros, sugere-se a realização de análise termogravimétrica das formulações e das espumas, logo após a etapa de termoformagem, até 800 °C, com o intuito de determinar o teor de óleo essencial presente nas amostras.

Além disso, foi observada a necessidade de avaliar todas as espumas através de difração de raios-X, para observar as interações entre amido, óleo essencial e argila. Por fim, sugere-se que seja feita a análise microbiológica das demais espumas desenvolvidas neste estudo.

REFERÊNCIAS

ABDOLLAHZADEH, E.; NEMATOLLAHI, A.; HOSSEINI, H. Composition of antimicrobial edible films and methods for assessing their antimicrobial activity: a review. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 110, p. 291-303, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.084>.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR NM ISO 535. Papel e Cartão. Determinação da capacidade de absorção de água. Método de Cobb**, 1999.

ALBOOFETILEH, M.; REZAEI, M.; HOSSEINI, H.; ABDOLLAHI, M. Efficacy of activated alginate-based nanocomposite films to control *Listeria monocytogenes* and spoilage flora in rainbow trout slice. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 521-530, 12 set. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-015-2015-9>.

AGOUGUI, C.; CECILIA, J. A.; SAAD, H.; FRANCO-DURO, F.; ESSID, R.; KHABBOUCHI, M.; FRINI-SRASRA, N. Adsorption of Carvone and Limonene from Caraway essential oil onto Tunisian montmorillonite clay for pharmaceutical application. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-49, 17 nov. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-24268-5>.

ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science And Engineering: R**, [S.L.], v. 28, n. 1-2, p. 1-63, jun. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0927-796x\(00\)00012-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0927-796x(00)00012-7).

AMORIM, C. L. G. **Estudo do efeito das interações água-argila no inchamento de argilominerais através da difração de raios X**. Tese – Departamento de Engenharia Nuclear, UFRJ, Rio de Janeiro, 2007.

ARDJOUR, N.; CHIBANI, N.; SHANKAR, S.; SALMIERI, S.; DJIDJELLI, H.; LACROIX, M. Incorporation of *Thymus vulgaris* essential oil and ethanolic extract of propolis improved the antibacterial, barrier and mechanical properties of corn starch-based films. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 224, p. 578-583, jan. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.146>.

ASTM - American Society for Testing and Materials, **ASTM D 3575 (2001) Standard Test Methods for Flexible Cellular Materials Made from Olefin Polymers**. In: Annual Book of ASTM Standards, 2001.

ASTM - American Society for Testing and Materials, **ASTM D256-10 (2018) Standard Test Methods for Determining the Izod Pendulum Impact Resistance of Plastics**. In: Annual Book of ASTM Standards, 2018.

ASTM - American Society for Testing and Materials, **ASTM D5630 (2013) Standard Test Method for Ash Content in Plastics**. In: Annual Book of ASTM Standards, 2013.

BAJPAI, V. K.; BAEK, K-H.; KANG, S. C. Control of Salmonella in foods by using essential oils: a review. **Food Research International**, [S.L.], v. 45, n. 2, p. 722-734, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.052>.

BARROS, F. A. P.; RADÜNZ, M.; SCARIOT, M. A.; CAMARGO, T. M.; NUNES, C. F.P.; SOUZA, R. R. de; GILSON, I. K.; HACKBART, H. C. S.; RADÜNZ, L. L.; OLIVEIRA, J. Vladimir. Efficacy of encapsulated and non-encapsulated thyme essential oil (*Thymus vulgaris* L.) in the control of *Sitophilus zeamais* and its effects on the quality of corn grains throughout storage. **Crop Protection**, [S.L.], v. 153, p. 105885, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105885>.

BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. R. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. **Molecules**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 3989-4006, 2 abr. 2012. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules17043989>.

BHATIA, S.; SHAH, Y. A.; AL-HARRASI, A.; JAWAD, M.; KOCA, E.; AYDEMIR, L. Y. Novel applications of black pepper essential oil as an antioxidant agent in sodium caseinate and chitosan based active edible films. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 254, p. 128045, jan. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128045>.

BEMILLER, J. N. Starches. **Carbohydrate Chemistry For Food Scientists**, [S.L.], p. 159-189, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-812069-9.00006-6>.

BERGAYA, F.; JABER, M.; LAMBERT, J-F. Clays and Clay Minerals. **Rubber-Clay Nanocomposites**, [S.L.], p. 1-44, 31 ago. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118092866.ch1>.

BERGAYA, F.; LAGALY, G.. Chapter 1 General Introduction: clays, clay minerals, and clay science. **Developments In Clay Science**, [S.L.], p. 1-18, 2006. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s1572-4352\(05\)01001-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1572-4352(05)01001-9).

BERGEL, B. F.; ARAUJO, L. L.; SANTANA, R. M. C.. Effects of the addition of cotton fibers and cotton microfibers on the structure and mechanical properties of starch foams made from potato starch. **Carbohydrate Polymer Technologies And Applications**, [S.L.], v. 2, p. 100167, dez. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100167>.

BIDE, Y.; FASHAPOYEH, M. A.; SHOKROLLAHZADEH, S.. Structural investigation and application of Tween 80-choline chloride self-assemblies as osmotic agent for water desalination. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-11, 23 ago. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-96199-6>.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O.. Química do Processamento de Alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, 2001. 143 p.

BOSKOVIC, M.; DJORDJEVIC, J.; IVANOVIC, J.; JANJIC, J.; ZDRAVKOVIC, N.; GLISIC, M.; GLAMOCLIJA, N.; BALTIC, B.; DJORDJEVIC, V.; BALTIC, M.. Inhibition of Salmonella by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere. **International Journal Of Food Microbiology**, [S.L.], v. 258, p. 58-67, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.011>.

CABANILLAS, A.; NUÑEZ, J.; CRUZ-TIRADO, J.; VEJARANO, R; TAPIA-BLÁCIDO, D. R; ARTEAGA, Hubert; SICHE, Raúl. Pineapple shell fiber as reinforcement in cassava starch foam trays. **Polymers And Polymer Composites**, [S.L.], v. 27, n. 8, p. 496-506, 22 maio 2019. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0967391119848187>.

CAI, C.; MA, R.; DUAN, M.; DENG, Y.; LIU, T.; LU, D.. Effect of starch film containing thyme essential oil microcapsules on physicochemical activity of mango. **Lwt**, [S.L.], v. 131, p. 109700, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109700>.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C.. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, [S.L.], v. 54, p. 111-119, ago. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>.

CARVALHO, A. J.F.. Starch. **Handbook Of Biopolymers And Biodegradable Plastics**, [S.L.], p. 129-152, 2013. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-1-4557-2834-3.00007-0>

CHANG, Q.; ZHENG, B.; ZHANG, Y.; ZENG, H.. A comprehensive review of the factors influencing the formation of retrograded starch. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 186, p. 163-173, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.050>.

CHEN, Q.; YOU, N.; LIANG, C.; XU, Y.; WANG, F.; ZHANG, B.; ZHANG, P.. Effect of cellulose nanocrystals-loaded ginger essential oil emulsions on the physicochemical properties of mung bean starch composite film. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 191, p. 116003, jan. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.116003>.

CHIOU, B.; YEE, E.; GLENN, G. M.; ORTS, W. J.. Rheology of starch– clay nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, [S.L.], v. 59, n. 4, p. 467-475, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.11.001>.

COELHO, A. C. V.; SANTOS, P. S.; SANTOS, H. S.. Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas - uma revisão. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 5, p. 1282-

1294, out. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422007000500042>.

CRUZ-TIRADO, J.P.; FERREIRA, R. S. B.; LIZÁRRAGA, E.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; SILVA, N.C.C.; ANGELATS-SILVA, L.; SICHE, R.. Bioactive Andean sweet potato starch-based foam incorporated with oregano or thyme essential oil. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 23, p. 100457, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100457>.

DEBIAGI, F.; KOBAYASHI, R. K.T.; NAKAZATO, G.; PANAGIO, L. A.; MALI, S.. Biodegradable active packaging based on cassava bagasse, polyvinyl alcohol and essential oils. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 52, p. 664-670, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.032>.

DONMEZ, D.; PINHO, L.; PATEL, B.; DESAM, P.; CAMPANELLA, O. H. Characterization of starch–water interactions and their effects on two key functional properties: starch gelatinization and retrogradation. *Current Opinion In Food Science*, [S.L.], v. 39, p. 103-109, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.018>.

ELMAHDY, M. M.; YASSIN, M. A.. Linear and nonlinear optical parameters of biodegradable chitosan/polyvinyl alcohol/sodium montmorillonite nanocomposite films for potential optoelectronic applications. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 258, p. 128914, fev. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128914>.

ELIASSON, A.-C.. Gelatinization and retrogradation of starch in foods and its implications for food quality. **Chemical Deterioration And Physical Instability Of Food And Beverages**, [S.L.], p. 296-323, 2010. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1533/9781845699260.2.296>.

ENGEL, J. B.; AMBROSI, A.; TESSARO, I. C.. Development of biodegradable starch-based foams incorporated with grape stalks for food packaging. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 225, p. 115234, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115234>.

EVANGELHO, J. A.; DANNENBERG, G. S.; BIDUSKI, B.; HALAL, S. L. M. El; KRINGEL, D. H.; GULARTE, M. A.; FIORENTINI, A. M.; ZAVAREZE, E. R.. Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 222, p. 114981, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114981>.

FIGUEIRÓ, C. S.. **ESPUMAS PRODUZIDAS A PARTIR DE FÉCULA DE MANDIOCA**. 2021. 129 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Departamento de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

FLÓREZ, M.; GUERRA-RODRÍGUEZ, E.; CAZÓN, P.; VÁZQUEZ, M.. Chitosan for food packaging: recent advances in active and intelligent films. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 124, p. 107328, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107328>.

GHOSHAL, G.; SHIVANI. Thyme essential oil nano-emulsion/Tamarind starch/Whey protein concentrate novel edible films for tomato packaging. **Food Control**, [S.L.], v. 138, p. 108990, ago. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108990>.

GIANNAKAS, A.; TSAGKALIAS, I.; ACHILIAS, D. S.; LADAVOS, A.. A novel method for the preparation of inorganic and organo-modified montmorillonite essential oil hybrids. **Applied Clay Science**, [S.L.], v. 146, p. 362-370, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2017.06.018>.

GIANNAKAS, A.; STATHOPOULOU, P.; TSIAMIS, G.; SALMAS, C.. The effect of different preparation methods on the development of chitosan/thyme oil/montmorillonite nanocomposite active packaging films. **Journal Of Food Processing And Preservation**, [S.L.], v. 44, n. 2, p. 1-15, 26 nov. 2019. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.14327>.

GIL-JASSO, N. D.; SEGURA-GONZÁLEZ, M. A.; SORIANO-GILES, G.; NERI-HIPOLITO, J.; LÓPEZ, N.; MAS-HERNÁNDEZ, E.; BARRERA-DÍAZ, C. E.; VARELA-GUERRERO, V.; BALLESTEROS-RIVAS, M. F.. Dissolution and recovery of waste expanded polystyrene using alternative essential oils. **Fuel**, [S.L.], v. 239, p. 611-616, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2018.11.055>.

GIL-JASSO, N. D.; GILES-MAZÓN, E. A.; SORIANO-GILES, G.; REINHEIMER, E. W.; VARELA-GUERRERO, V.; BALLESTEROS-RIVAS, M. F.. A methodology for recycling waste expanded polystyrene using flower essential oils. **Fuel**, [S.L.], v. 307, p. 121835, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121835>.

GUGGENHEIM, S.. Definition of Clay and Clay Mineral: joint report of the aipea nomenclature and cms nomenclature committees. **Clays And Clay Minerals**, [S.L.], v. 43, n. 2, p. 255-256, 1995. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1346/ccmn.1995.0430213>.

HASSAN, M. M.; FOWLER, I. J.. Thermal, mechanical, and rheological properties of micro-fibrillated cellulose-reinforced starch foams crosslinked with polysiloxane-based cross-linking agents. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 205, p. 55-65, abr. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.017>.

HENDESSI, S.; SEVINIS, E. B.; UNAL, S.; CEBECI, F. C.; MENCELOGLU, Y. Z.; UNAL, Hayriye. Antibacterial sustained-release coatings from halloysite nanotubes/waterborne polyurethanes. **Progress In Organic Coatings**, [S.L.], v. 101, p. 253-261, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.porgcoat.2016.09.005>.

HERNÁNDEZ, M. S.; LUDUEÑA, L. N.; FLORES, S. K.. Citric acid, chitosan and oregano essential oil impact on physical and antimicrobial properties of cassava starch films. **Carbohydrate Polymer Technologies And Applications**, [S.L.], v. 5, p. 100307, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100307>.

KETKAEW, S.; KASEMSIRI, P.; HIZIROGLU, S.; MONGKOLTHANARUK, W.; WANNASUTTA, R.; PONGSA, U.; CHINDAPRASIRT, P.. Effect of Oregano Essential Oil Content on Properties of Green Biocomposites Based on Cassava Starch and Sugarcane Bagasse for Bioactive Packaging. **Journal Of Polymers And The Environment**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 311-318, 6 fev. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-017-0957-x>.

KATTI, D. R.; THAPA, K. B.; KATTI, K. S.. The role of fluid polarity in the swelling of sodium-montmorillonite clay: a molecular dynamics and fourier transform infrared spectroscopy study. **Journal Of Rock Mechanics And Geotechnical Engineering**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 1133-1144, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jrmge.2018.07.001>.

KONFO, T. R. C.; DJOUHOU, F. M. C.; KOUDORO, Y. A.; DAHOUENON-AHOUSI, E.; AVLESSI, F.; SOHOUNHLOUE, C. K. D.; SIMAL-GANDARA, J.. Essential oils as natural antioxidants for the control of food preservation. **Food Chemistry Advances**, [S.L.], v. 2, p. 100312, out. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.focha.2023.100312>.

LI, C.. Recent progress in understanding starch gelatinization - An important property determining food quality. *Carbohydrate Polymers*, [S.L.], v. 293, p. 119735, out. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119735>

LI, H., ZHANG, A., HU, Y., SUI, L., QIAN, D., CHEN, M. **Large-scale synthesis and self-organization of silver nanoparticles with Tween 80 as a reductant and stabilizer**. *Nanoscale Research Letters*, 7:612, 2012.

LIN, L.; ZHU, Y.; CUI, H.. Electrospun thyme essential oil/gelatin nanofibers for active packaging against *Campylobacter jejuni* in chicken. **Lwt**, [S.L.], v. 97, p. 711-718, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.015>.

LIU, Q.; HAN, R.; YU, D.; WANG, Z.; ZHUANSUN, X.; LI, Y.. Characterization of thyme essential oil composite film based on soy protein isolate and its application in the preservation of cherry tomatoes. **Lwt**, [S.L.], v. 191, p. 115686, jan. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115686>.

MACHADO, C. M.; BENELLI, P.; TESSARO, I. C.. Sesame cake incorporation on cassava starch foams for packaging use. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 102, p. 115-121, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.007>

MACHADO, C. M.. **Alternativas para a redução da hidrofiliabilidade de espumas à base de amido: adição de película de amendoim, modificação química e aplicação de revestimento.** 2020. 211 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química., Departamento de Engenharia Química Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.

MANDAL, S.; DEBMANDAL, M.. Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Oils. **Essential Oils In Food Preservation, Flavor And Safety**, [S.L.], p. 825-834, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-416641-7.00094-8>.

MATSUDA, D. K.M.; VERCEHEZE, A. E.; CARVALHO, G. M.; YAMASHITA, F.; MALI, S.. Baked foams of cassava starch and organically modified nanoclays. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 44, p. 705-711, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.032>.

MENDES, J.F.; NORCINO, L.B.; MARTINS, H.H.A.; MANRICH, A.; OTONI, C.G.; CARVALHO, E.e.N.; PICCOLI, R.H.; OLIVEIRA, J.e.; PINHEIRO, A.C.M.; MATTOSO, L.H.C.. Correlating emulsion characteristics with the properties of active starch films loaded with lemongrass essential oil. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 100, p. 105428, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105428>.

MIRSHARIFI, S. M.; SAMI, M.; JAZAERI, M.; REZAEI, A.. Production, characterization, and antimicrobial activity of almond gum/polyvinyl alcohol/chitosan composite films containing thyme essential oil nanoemulsion for extending the shelf-life of chicken breast fillets. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 227, p. 405-415, fev. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.183>.

Mordor-Intelligence. (2023). Industrial starches market – Growth, trends and forecast (2020-2025). Hyderabad: Mordor-Intelligence.

MORENO-MAROTO, J. M.; ALONSO-AZCÁRATE, J.. What is clay? A new definition of “clay” based on plasticity and its impact on the most widespread soil classification systems. **Applied Clay Science**, [S.L.], v. 161, p. 57-63, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2018.04.011>.

MUKURUMBIRA, A.R.; SHELLIE, R.A.; KEAST, R.; PALOMBO, E.A.; MUIR, B.W.; JADHAV, S.R.. The antimicrobial efficacy of native Australian essential oils in liquid and vapour phase against foodborne pathogens and spoilage microorganisms. **Food Control**, [S.L.], v. 151, p. 109774, set. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109774>.

MURRAY, H. H.. Chapter 6 Bentonite Applications. **Developments In Clay Science**, [S.L.], p. 111-130, 2006. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s1572-4352\(06\)02006-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1572-4352(06)02006-x).

NAGY, K.; BÍRÓ, G.; BERKESI, O.; BENCZÉDI, D.; OUALI, L.; DÉKÁNY, I.. Intercalation of lecithins for preparation of layered nanohybrid materials and adsorption

of limonene. **Applied Clay Science**, [S.L.], v. 72, p. 155-162, fev. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2012.11.008>.

OLIVEIRA, P. R. R., MALVESSI, D. S., COSTA, R. C., CRESPO, J. S., TEIXEIRA, C. S, BELLETTINI, I. C., CARLI, L. N.. Kaolin nanoclays organically modified with orégano essential oil for active packaging applications. Anais eletrônicos. In: 16° Conferência Brasileira de Polímeros (CBPOL), Ouro Preto/MG, Outubro, 2021.

OLIVEIRA, P. R.. **Modificação de nanopartículas do grupo caulim com óleos essenciais e aplicação em embalagens ativas à base de poli(hidroxitirato-co-hidroxicitrate)**. 2022. 108 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nanociência, Processos e Materiais Avançados., Programa de Pós-Graduação em Nanociência, Processos e Materiais Avançados, Universidade Federal de Santa Catarina Campus Blumenau, Blumenau, 2022.

OLIVEIRA, L. H.; TRIGUEIRO, P.; SOUZA, J. S. N.; CARVALHO, M. S.; OSAJIMA, J. A.; SILVA-FILHO, E. C.; FONSECA, M. G.. Montmorillonite with essential oils as antimicrobial agents, packaging, repellents, and insecticides: an overview. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 209, p. 112186, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112186>.

PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DÍAZ, F. R. V.. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **Cerâmica**, [S.L.], v. 54, n. 330, p. 213-226, jun. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0366-69132008000200012>.

PEIXOTO, E. C.; FONSECA, L. M.; ZAVAREZE, E. R.; GANDRA, E. A.. Antimicrobial active packaging for meat using thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) encapsulated on zein ultrafine fibers membranes. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [S.L.], v. 51, p. 102778, ago. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102778>.

PERDANA, M. I.; RUAMCHAROEN, J.; PANPHON, S.; LEELAKRIANGSAK, M.. Antimicrobial activity and physical properties of starch/chitosan film incorporated with lemongrass essential oil and its application. **Lwt**, [S.L.], v. 141, p. 110934, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110934>.

PEREIRA, K. R. O.. **Ativagao acida e preparagao de argilas organofilicas partindo-se de argila esmectitica proveniente do Estado da Paraiba**. 2003. 116 f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Engenharia Quimica, Centro de Ciencias e Tecnologia Programa de Pos-Graduacao em Engenharia Quimica, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2003.

PEREZ, L. A. B.; AGAMA-ACEVEDO, E.. Starch. **Starch-Based Materials In Food Packaging**, [S.L.], p. 1-18, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-809439-6.00001-7>.

QIN, C.; LI, Z.; ZHANG, J.; MENG, H.; ZHU, C.. Preparation, physicochemical properties, antioxidant, and antibacterial activities of quaternized hawthorn pectin films incorporated with thyme essential oil. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 41, p. 101235, jan. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101235>.

RAUTUREAU, M.; GOMES, C. S. F.; LIEWIG, N.; KATOUZIAN-SAFADI, M.. Clay and Clay Mineral Definition. **Clays And Health**, [S.L.], p. 5-31, 2017. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-42884-0_2.

REZAEI, A.; KHAVARI, S.; SAMI, M.. Incorporation of thyme essential oil into the β -cyclodextrin nanosponges: preparation, characterization and antibacterial activity. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1241, p. 130610, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130610>.

Remsen CH, Clark JP (1978) A viscosity model for a cooking dough. *J Food Process Eng* 2(1):39–64.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADE, M.; SANCHES-SILVA, A.; MELO, N. R.. Essential Oils for Food Application: natural substances with established biological activities. **Food And Bioprocess Technology**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 43-71, 19 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-017-1948-6>.

ROBYT, J. F.. Starch: Structure, Properties, Chemistry, and Enzymology. **Glycoscience**, Ames, v. 1, n. 1, p. 1437-1472, 2008.

ROMANZINI, D.. Efeito da silanização e organomodificação de argilas montmorilonita (MMT) nas propriedades de nanocompósitos MMT/poliéster e MMT/poliéster/fibra de vidro. Tese – Departamento de Ciência dos Materiais. UFRS, Porto Alegre, 2014.

SANHAWONG, W.; BANHALEE, P.; BOONSANG, S.; KAEWPIROM, S.. Effect of concentrated natural rubber latex on the properties and degradation behavior of cotton-fiber-reinforced cassava starch biofoam. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 108, p. 756-766, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.046>.

SAUCEDO-ZUÑIGA, J.N.; SÁNCHEZ-VALDES, S.; RAMÍREZ-VARGAS, E.; GUILLEN, L.; RAMOS-DEVALLE, L.F.; GRACIANO-VERDUGO, A.; URIBE-CALDERÓN, J.A.; VALERA-ZARAGOZA, M.; LOZANO-RAMÍREZ, T.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, J.A.. Controlled release of essential oils using laminar nanoclay and porous halloysite / essential oil composites in a multilayer film reservoir. **Microporous And Mesoporous Materials**, [S.L.], v. 316, p. 110882, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2021.110882>.

SHARMA, S.; BARKAUSKAITE, S.; JAISWAL, A. K.; JAISWAL, S.. Essential oils as additives in active food packaging. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 343, p. 128403, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128403>.

SHE, Q.; QIU, M.; LI, K.; LIU, J.; ZHOU, C.. **Acidic and basic sites on the surface of sodium montmorillonite active for catalytic transesterification of glycerol to glycerol carbonate**. *Applied Clay Science*, [S.L.], v. 238, p. 106916, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2023.106916>.

SHEN, Y.; ZHOU, J.; YANG, C.; CHEN, Y.; YANG, Y.; ZHOU, C.; WANG, L.; XIA, G.; YU, X.; YANG, H.. Preparation and characterization of oregano essential oil-loaded *Dioscorea zingiberensis* starch film with antioxidant and antibacterial activity and its application in chicken preservation. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 212, p. 20-30, jul. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.114>.

SHOGREN, R. L.; LAWTON, J. W.; DOANE, W. M.; TIEFENBACHER, K. F.. Structure and morphology of baked starch foams. **Polymer**, Peoria, v. 39, n. 25, p. 6649-6655, 1998.

SILVA, C.G.; YUDICE, E.D.C.; CAMPINI, P.A.L.; ROSA, D.s.. The performance evaluation of Eugenol and Linalool microencapsulated by PLA on their activities against pathogenic bacteria. **Materials Today Chemistry**, [S.L.], v. 21, p. 100493, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mtchem.2021.100493>.

SNOUSSI, A.; CHOUAIBI, M.; KOUBAIER, H. B. H.; BOUZOUITA, N.. Encapsulation of Tunisian thyme essential oil in O/W nanoemulsions: application for meat preservation. **Meat Science**, [S.L.], v. 188, p. 108785, jun. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108785>.

SOUZA, V. G. L.; PIRES, J. R.A.; RODRIGUES, P. F.; LOPES, A. A.s.; FERNANDES, F. M.B.; DUARTE, M. P.; COELHO, I. M.; FERNANDO, A. L.. Bionanocomposites of chitosan/montmorillonite incorporated with *Rosmarinus officinalis* essential oil: development and physical characterization. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 16, p. 148-156, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.009>.

SOUZA, A. G.; SANTOS, N. M. A.; TORIN, R. F. S.; ROSA, D. S.. Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 164, p. 1737-1747, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.226>.

SOYKEABKAEW, N.; THANOMSILP, C.; SUWANTONG, O.. A review: starch-based composite foams. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, [S.L.], v. 78, p. 246-263, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.compositesa.2015.08.014>.

STAHL-BISKUP, E.; VENSKUTONIS, R. P.. Thyme. In: STAHL-BISKUP, E.. **Handbook of herbs and spices**. Hamburg: Woodhead Publishing Limited, 2012. Cap. 27. p. 499-525.

TABASUM, S.; YOUNAS, M.; ZAEEM, M. A.; MAJEED, I.; MAJEED, M.; NOREEN, A.; IQBAL, M. N.; ZIA, K. M.. A review on blending of corn starch with natural and synthetic polymers, and inorganic nanoparticles with mathematical modeling. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 122, p. 969-996, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.092>.

THOMASON, J. L.; RUDEIROS-FERNÁNDEZ, J. L.. Thermal degradation behaviour of natural fibres at thermoplastic composite processing temperatures. **Polymer Degradation And Stability**, [S.L.], v. 188, p. 109594, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2021.109594>.

TORIN, R. F. S.; CAMANI, P. H.; SILVA, L. N.; SATO, J. A. P.; FERREIRA, F. F.; ROSA, D. S.. Effect of Clay and Clay/Essential Oil in Packaging Films. **Polymer Composites**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2017.

TRONGCHUEN, K.; OUNKAEW, A.; KASEMSIRI, P.; HIZIROGLU, S.; MONGKOLTHANARUK, W.; WANNASUTTA, R.; PONGSA, U.; CHINDAPRASIRT, Prinya. Bioactive Starch Foam Composite Enriched With Natural Antioxidants from Spent Coffee Ground and Essential Oil. **Starch - Stärke**, [S.L.], v. 70, n. 7-8, p. 1-9, 5 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201700238>.

VALERA-ZARAGOZA, M.; AGÜERO-VALDEZ, D.; LOPEZ-MEDINA, M.; DEHESA-BLAS, S.; NAVARRO-MTZ, A. K.; AVALOS-BORJA, M.; JUAREZ-ARELLANO, E. A.. Controlled modification of sodium montmorillonite clay by a planetary ball-mill as a versatile tool to tune its properties. **Advanced Powder Technology**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 591-599, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apt.2021.01.004>.

VARGHESE, S. A.; SIENGCHIN, S.; PARAMESWARANPILLAI, J.. Essential oils as antimicrobial agents in biopolymer-based food packaging - A comprehensive review. **Food Bioscience**, [S.L.], v. 38, p. 100785, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100785>.

VERCELHEZE, A. E.; FAKHOURI, F. M.; DALL'ANTÔNIA, L. H.; URBANO, A.; YOUSSEF, E. Y.; YAMASHITA, F.; MALI, S.. Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse fibers and montmorillonite. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 87, n. 2, p. 1302-1310, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.016>.

VILPOUX, O. F.; SILVEIRA JUNIOR, J. F. S.. Global production and use of starch. **Starchy Crops Morphology, Extraction, Properties And Applications**, [S.L.], p. 43-66, 2023. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-90058-4.00014-1>.

VOLIĆ, M.; ĐUROVIĆ, S.; MICIĆ, D.; PEĆINAR, I.; PANTIĆ, M.; BUGARSKI, B.; OBRADOVIĆ, N.. Biopolymer-based powders with encapsulated thyme oil: characterization and comparison with free oil regarding thermal stability and antimicrobial activity. **Food Bioscience**, [S.L.], v. 50, p. 102100, dez. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102100>.

WANG, K.; WANG, Y.; CHENG, M.; WANG, Yi.; ZHAO, P.; XI, X.; LU, J.; WANG, X.; HAN, X.; WANG, J.. Preparation and characterization of active films based on oregano essential oil microcapsules/soybean protein isolate/sodium carboxymethyl cellulose. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 258, p. 128985, fev. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128985>.

WORASITH, N.; GOODMAN, B. A.. Clay mineral products for improving environmental quality. **Applied Clay Science**, [S.L.], v. 242, p. 106980, set. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2023.106980>.

WU, H.; WANG, J.; LI, T.; LEI, Y.; PENG, L.; CHANG, J.; LI, S.; YUAN, X.; ZHOU, M.; ZHANG, Z.. Effects of cinnamon essential oil-loaded Pickering emulsion on the structure, properties and application of chayote tuber starch-based composite films. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 240, p. 124444, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124444>.

XIE, F.; LI, F.; LI, J.; WANG, L.; LI, Y.; ZHANG, C.; XU, J.; CHEN, S.. Advanced Nanobiocomposites Based on Starch. In: K., R.; JM., M. (Eds.). Polysaccharides. Cham: Springer International Publishing, 2014. p. 1–75.

YAN, X.; CHENG, M.; ZHAO, P.; WANG, Y.; CHEN, M.; WANG, X.; WANG, J.. Fabrication and characterization of oxidized esterified tapioca starch films encapsulating oregano essential oil with mesoporous nanosilica. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 184, p. 115033, set. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115033>.

YILDIRIM, S.; RÖCKER, B.; PETTERSEN, M. K.; NILSEN-NYGAARD, J.; AYHAN, Z.; RUTKAITE, R.; RADUSIN, T.; SUMINSKA, P.; MARCOS, B.; COMA, V.. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 165-199, 28 nov. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12322>.

YU, X.; CHEN, L.; JIN, Z.; JIAO, A.. Research progress of starch-based biodegradable materials: a review. **Journal Of Materials Science**, [S.L.], v. 56, n. 19, p. 11187-11208, 5 abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10853-021-06063-1>.

ZOVEIDAVIANPOOR, M. Current Topics in the Utilization of Clay in Industrial and Medical Applications (2018).

ZHANG, Y.; ZHOU, L.; ZHANG, C.; SHOW, P. L.; DU, A.; FU, J.; ASHOKKUMAR, V.. Preparation and characterization of curdlan/polyvinyl alcohol/ thyme essential oil blending film and its application to chilled meat preservation. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 247, p. 116670, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116670>.

ZHAO, Y.; TEIXEIRA, J. S.; GÄNZLE, M. M.; SALDAÑA, M. D.A.. Development of antimicrobial films based on cassava starch, chitosan and gallic acid using subcritical water technology. *The Journal Of Supercritical Fluids*, [S.L.], v. 137, p. 101-110, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2018.03.010>.

ZHOU, Y.; WU, X.; CHEN, J.; HE, J.. Effects of cinnamon essential oil on the physical, mechanical, structural and thermal properties of cassava starch-based edible films. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 184, p. 574-583, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.067>.