



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS BLUMENAU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA, PROCESSOS E MATERIAIS
AVANÇADOS

Greice Michele Zickuhr

**FILMES POLIMÉRICOS DE ETIL HIDROXIETIL CELULOSE (EHEC)
CONTENDO α -TOCOFEROL: EFEITOS NA ESTABILIDADE, NA LIBERAÇÃO *IN*
VITRO E PROPRIEDADES DO FILME**

Blumenau
2022

Greice Michele Zickuhr

**FILMES POLIMÉRICOS DE ETIL HIDROXIETIL CELULOSE (EHEC)
CONTENDO α -TOCOFEROL: EFEITOS NA ESTABILIDADE, NA LIBERAÇÃO *IN*
VITRO E PROPRIEDADES DO FILME**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação da
Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção
do título de mestre em Nanociência, Processos e
Materiais Avançados.

Orientador: Prof. Ismael Casagrande Bellettini, Dr.

Coorientadora: Prof^a. Larissa Nardini Carli, Dra.

Blumenau

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Zickuhr, Greice Michele

Filmes poliméricos de etil hidroxietil celulose (EHEC) contendo a-tocoferol: efeitos na estabilidade, na liberação in vitro e propriedades do filme. / Greice Michele Zickuhr ; orientador, Ismael Casagrande Bellettini, coorientadora, Larissa Nardini Carli, 2022.
106 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau, Programa de Pós-Graduação em Nanociência, Processos e Materiais Avançados, Blumenau, 2022.

Inclui referências.

1. Nanociência, Processos e Materiais Avançados. 2. Filmes poliméricos. 3. Nanopartículas. 4. a-tocoferol. 5. Propriedade antioxidante. I. Bellettini, Ismael Casagrande. II. Carli, Larissa Nardini. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nanociência, Processos e Materiais Avançados. IV. Título.

Greice Michele Zickuhr

FILMES POLIMÉRICOS DE EHEC CONTENDO α -TOCOFEROL: EFEITOS NA ESTABILIDADE, NA LIBERAÇÃO IN VITRO E PROPRIEDADES DO FILME

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Silvia Maria Martelli, Dr.(a)

Instituição Universidade Federal da Grande Dourados

Prof.(a) Claudia Merlini, Dr.(a)

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Patrícia Bulegon Brondani, Dr.(a)

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Nanociência, Processos e Materiais Avançados.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Ismael Casagrande Bellettini, Dr.

Orientador

Blumenau, 2022.

Dedico este trabalho aos meus pais Elfi e Odenar,
por seu amor, apoio e confiança.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Dr. Ismael Casagrande Bellettini, meu muito obrigada por sua orientação, todo o suporte e confiança. Sua positividade, alegria, parceria e empenho foram essenciais durante esta pesquisa de mestrado em meio a uma pandemia e uma grande mudança na minha vida. Obrigada por sua amizade e por ter incentivado, apoiado e compartilhado o meu entusiasmo ao seguir meu sonho.

À minha co-orientadora, Professora Dra. Larissa Nardini Carli, por todo o auxílio com os métodos, experimentos e contribuições para enriquecer esta pesquisa.

A todos que colaboraram para a realização desse trabalho. Ao Dr. Leandro Nandi pelas análises de ângulo de contato e ensaios mecânicos (Central de Análises do EQA–UFSC). Ao LCME–UFSC e a Dra. Juliana Dreyer pelas imagens de MEV. Ao Departamento de Química – UFSC pela análise de RMN. Ao Prof. Dr. André Fajardo pelas análises de TGA (UFPEL). À Profa. Dra. Lizandra Zimmermann (FURB) pela disponibilidade do equipamento de DLS. À Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Blumenau. A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Nanociência, Processos e Materiais Avançados, que fizeram o seu melhor para adaptar suas aulas durante a pandemia de Covid-19, garantindo o ensino e pesquisas de qualidade.

À minha família, que esteve sempre presente, me apoiando nos meus melhores e piores momentos. Aceitando minhas escolhas e contribuindo para que eu alcançasse os meus objetivos. Pelos churrascos de sábado à noite acompanhado de uma caipirinha, que era praticamente o único momento que vocês conseguiam me tirar da frente do computador. Obrigada por entenderem que tudo isso era importante para mim.

Às minhas amigas Raisa Krazewsky, Luana Veiga, Cássia Reinke, Ilene Crestani e Gabriela Gaspar por todas as trocas de ideia, suporte e por compartilharem meus momentos de desapontamento e empolgação. E obrigada por terem me auxiliado na escolha do Programa de Pós-Graduação em Nanociência, Processos e Materiais Avançados. Raisa, meu muito obrigada por me apresentar ao Professor Ismael, não poderia ter escolhido melhor orientador. Luana, foi um prazer compartilhar esse mestrado com você. Gostaria que tivéssemos tido mais tempo de aula presencial e pudéssemos ter dividido a bancada no laboratório mais uma vez.

À Morgana Aline Voigt, que provou que amizades podem se formar por meio de aulas online. Obrigada por todas as trocas de ideia, parceria nas aulas e trabalhos, pelas conversas

sobre a vida. O laboratório jamais será o mesmo para mim sin poder hablar de la mejor banda latina de todos los tiempos!

Ao Instituto SENAI de Tecnologia Ambiental – Blumenau, pela infraestrutura oferecida para que eu pudesse iniciar a parte experimental deste trabalho no início da pandemia, em 2020.

À Emma, por compartilhar as melhores histórias comigo e me manter animada. Por me ouvir diariamente falar sobre a minha pesquisa e discutir possibilidades e razões para os resultados. Thank you very much Emma, you have been a wonderful and very important person for me in the last part of this Master`s program!

Ao Thiago Vidotto, pelo melhor curso de leitura e escrita científica, pelas melhores mensagens de motivação e por incentivar e ensinar tantos universitários a desenvolverem o senso crítico e serem cientistas melhores. Não seremos pombos com asas que ficam pela rua pedindo para serem atropelados, seremos como baratas, que ninguém coloca fé, mas vai lá e voa! Você é o melhor!

Muito obrigada!

We should always make time for
the things we like. If we don't, we might
forget how to be happy.

The House in the Cerulean Sea

RESUMO

A utilização de compostos antioxidantes, como o α -tocoferol, na produção de embalagens ativas é uma das formas de minimizar ou retardar a oxidação lipídica, um dos principais fatores que levam à degradação precoce dos alimentos. Os éteres derivados de celulose, como a etil hidroxietil celulose (EHEC), podem ser uma alternativa para a produção de filmes poliméricos biodegradáveis para utilização em liberação controlada de ativos em alimentos. Assim, o objetivo deste trabalho foi a obtenção de filmes de EHEC com propriedade antioxidante obtida pela incorporação de α -tocoferol livre e encapsulado em nanopartículas (NP) de etil hidroxietil celulose/ácido dodecanóico (EHEC-C12). As NP foram preparadas por emulsificação do tipo óleo em água com α -tocoferol e EHEC-C12 nas proporções de 10 e 20% de ácido dodecanóico por reação de esterificação com dicitclohexilcarbodiimida (DCC) e 4-dimetilaminopiridina (DMAP). O α -tocoferol foi encapsulado nas concentrações de 5, 10 e 15 mg e as NP foram incorporadas a filmes de EHEC, bem como o α -tocoferol livre na concentração de 10 mg. A estrutura química dos materiais preparados foi avaliada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons (^1H RMN). Observaram-se por espalhamento de luz dinâmico (DLS) tamanhos de partícula de 722 ± 209 e 665 ± 213 nm para as NP modificadas com 10 e 20% de ácido dodecanóico, respectivamente, e índice de polidispersão menores que 0,30. A incorporação do α -tocoferol aos filmes não alterou as propriedades de barreira e térmicas da EHEC. Porém, a temperatura de degradação do α -tocoferol aumentou de 200 °C para 263 °C, quando nos filmes, e a nanoencapsulação favoreceu a dispersão mais homogênea do α -tocoferol na matriz polimérica influenciando levemente nas propriedades mecânicas. A incorporação do α -tocoferol aos filmes também aumentou sua estabilidade em condições ambiente por 72 dias e sob radiação UV no comprimento de onda de 254 nm. Observaram-se rápidos perfis de liberação do α -tocoferol a partir dos filmes quando imersos em etanol absoluto, sendo que 50% foram liberados nos primeiros 15 minutos de ensaio. Os filmes de EHEC puros não apresentaram propriedade antioxidante, mas com a incorporação das diferentes proporções de NP com α -tocoferol observou-se o aumento da capacidade antioxidante dos filmes, quando avaliados contra os radicais DPPH e ABTS.

Palavras-chave: Etil hidroxietil celulose, α -tocoferol, Nanopartículas poliméricas, Embalagens ativas, Propriedades antioxidantes.

ABSTRACT

The use of antioxidant compounds, such as α -tocopherol, in the production of active packaging is one of the ways to minimize or delay lipid oxidation, one of the main factors leading to early food degradation. Cellulose-derived ethers, such as ethyl hydroxyethyl cellulose (EHEC), may be an alternative for the production of biodegradable polymeric films to be used in the controlled release of active compounds in food products. Thus, the objective of this work was to obtain EHEC films with antioxidant properties obtained by the incorporation of nanoparticles (NP) of ethyl hydroxyethyl cellulose/dodecanoic acid (EHEC-C12) containing α -tocopherol. NPs were prepared by oil-in-water emulsification with α -tocopherol and EHEC-C12 in proportions of 10 and 20% dodecanoic acid by esterification reaction with dicyclohexylcarbodiimide (DCC) and 4-dimethylaminopyridine (DMAP). α -tocopherol was encapsulated at concentrations of 5, 10 and 15 mg, and the NPs were incorporated into EHEC films, as well as 10 mg of non-encapsulated α -tocopherol. The chemical structure of the prepared materials was evaluated by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and proton nuclear magnetic resonance spectroscopy (^1H NMR). Particle sizes of 722 ± 209 and 665 ± 213 nm were observed by dynamic light scattering (DLS) for NPs modified with 10 and 20% dodecanoic acid, respectively, and polydispersion index lower than 0.30. The incorporation of α -tocopherol into the films did not change the barrier or thermal properties of EHEC. However, the degradation temperature of α -tocopherol increased from 200 °C to 263 °C, when in the films. And the nanoencapsulation favored a more homogeneous dispersion of α -tocopherol in the polymeric matrix slightly influencing the mechanical properties. The incorporation of α -tocopherol into the films also increased its stability under ambient conditions for 72 days, and under UV radiation at a wavelength of 254 nm. Fast α -tocopherol release profiles were observed from the films when immersed in absolute ethanol, with 50% being released in the first 15 minutes of the assay. Pure EHEC films did not show antioxidant properties, but with the incorporation of different proportions of NP, an increase in the antioxidant capacity of the films was observed, when evaluated against DPPH and ABTS radicals.

Keywords: Ethyl hydroxyethyl cellulose, α -tocopherol, Polymeric nanoparticles, Active packages, Antioxidant properties.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas de celulose; a) ligações de hidrogênio intramolecular; b) ligações de hidrogênio intermoleculares e c) estrutura genérica de um éter de celulose em que R = H ou R = CH ₃ ; CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH; CH ₂ CH(OH)CH ₃ ; CH ₂ CH ₂ OH; ou C ₂ H ₅	29
Figura 2 - a) e b) Esquema de reações de hidroxialquil celuloses em meio alcalino c) representação da estrutura química da hidroxietil celulose.	30
Figura 3 - Estrutura química da EHEC.....	32
Figura 4 - Representação esquemática do mecanismo de esterificação de um álcool genérico com um ácido carboxílico.....	36
Figura 5 - Estrutura química do anel cromanol (a) e da molécula α -tocoferol (b). R ₁ = CH ₃ ou H; R ₂ = CH ₃ ou H; R ₃ = CH ₃	40
Figura 6 - Esquema de atuação do α -tocoferol em reações de oxidação lipídica. LH = Lipídio poli-insaturado; I = Iniciador; L• = Radical alquila; LO• = Radical alcoxila; LOOH = Hidroperóxido lipídico; LOO• = Radical peroxila.	41
Figura 7. Esquema representativo do ensaio de liberação de α -tocoferol dos filmes de EHEC em etanol absoluto.	54
Figura 8. Esquema representativo do ensaio de determinação da atividade antioxidante dos filmes de EHEC contendo α -tocoferol contra o radical DPPH.	56
Figura 9. Esquema representativo do ensaio de determinação da atividade antioxidante dos filmes de EHEC contendo α -tocoferol contra o radical ABTS.	57
Figura 10 - Reação de esterificação da EHEC utilizando DCC, DMAP e ácido dodecanóico para obtenção da EHEC-C12, a 25,0°C.....	58
Figura 11 – Espectros de FTIR-ATR dos filmes de EHEC sem modificação e modificados com ácido dodecanóico nas proporções de 10% e 20%.	59

Figura 12 - Espectros de ¹ H RMN de EHEC pura (A), EHEC-C12-10% (B) e EHEC-C12-20% (C) em DMSO-d ₆ . Estão indicadas as integrais utilizadas para o cálculo do grau de substituição.	61
Figura 13 – Gráfico de variação da tensão superficial da EHEC e EHEC modificada em função da concentração em solução aquosa.	62
Figura 14 – Emulsão de NP de EHEC-C12 10%/α-tocoferol por um período de oito dias sob luz fluorescente (A) e sob luz UV com comprimento de onda de excitação de 365 nm (B). ..	63
Figura 15 – Filmes de EHEC com a incorporação de α-tocoferol livre e nanoencapsulado logo após o preparo (A) e após secos em estufa (B).....	66
Figura 16 – Espectro de absorvância de UV-Vis das emulsões de NP de EHEC-C12/α-tocoferol modificadas com 10 e 20%, dos filmes de EHEC puro e com a incorporação das NP: F1 com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e F4 com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 5 mg de α-tocoferol.	67
Figura 17 - Perfil de liberação de α-tocoferol em função do tempo de condução do ensaio para diferentes filmes. (A) Comparação entre amostra F1 com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e F4 com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 5 mg de α-tocoferol. (B) Comparação entre amostra F3 com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e F6 com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 15 mg de α-tocoferol. (C) Comparação entre amostra F2 com incorporação de NP de EHEC-C12 10%, F5 com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 10 mg de α-tocoferol e F7 com incorporação de 10 mg de α-tocoferol sem encapsulação.	73
Figura 18 – Mecanismo de reação de estabilização do radical DPPH, em etanol, pela ação do antioxidante α-tocoferol.....	74
Figura 19 – Mecanismo de geração do radical ABTS e estabilização pela ação do antioxidante α-tocoferol.	75
Figura 20 - Gráfico da atividade antioxidante das soluções de liberação de α-tocoferol de filmes de EHEC com incorporação de α-tocoferol com e sem encapsulação contra o radical DPPH e ABTS. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α-tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de	

EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol..... 76

Figura 21 - Espectros de comparação da estabilidade do α -tocoferol livre e incorporado em filmes de EHEC. F2 e F2-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e 10 mg de α -tocoferol; F5 e F5-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 10 mg de α -tocoferol; F7 e F7-UV – amostras com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. Amostras F2-UV, F5-UV, F7-UV e α -tocoferol degradado submetidas à radiação UV a 254 nm por 6h. 78

Figura 22 - Representação gráfica da variação de intensidade da banda de absorção do α -tocoferol no UV de amostras de EHEC, entre o primeiro e último dia, após mantidas em condição ambiente por 72 dias. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. .. 79

Figura 23 - Espectros de FTIR-ATR para avaliação da estabilidade do α -tocoferol incorporado ao filme de EHEC. F5 e F5-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 10 mg de α -tocoferol, antes e após 6 h sob radiação UV a 254 nm, respectivamente. F8 – Filme de EHEC pura..... 80

Figura 24 - Micrografias da superfície dos filmes de EHEC. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol. 87

Figura 25 - Micrografias da fratura criogênica dos filmes de EHEC. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol. 88

Figura 26 – Curvas de TGA (A) e DTG (B) para os filmes de EHEC e α -tocoferol em função da temperatura. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol. 90

Figura 27 - Resultados do ensaio de teste de resistência à tração (A), módulo de Young (B) e alongamento na ruptura (C) dos filmes de EHEC preparados. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol. 93

Figura 28 - Curva analítica de α -tocoferol por espectrofotometria de UV-Vis, a 25 °C..... 106

Figura 29 - Espectros de comparação da estabilidade do α -tocoferol livre e incorporado em filmes de EHEC. F1 e F1-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e 5 mg de α -tocoferol; F3 e F3-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e 15 mg de α -tocoferol; F4 e F4-UV – amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 5 mg de α -tocoferol. F6 e F6-UV – amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 15 mg de α -tocoferol. Amostras F1-UV, F3-UV, F4-UV e F6-UV e α -tocoferol degradado submetidas à radiação UV à 254 nm por 6h..... 107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição dos filmes de EHEC preparados.	49
Tabela 2 – Tamanho hidrodinâmico e índice de polidispersão de emulsões de NP de EHEC e EHEC-C12 com 10 mg de α -tocoferol.	65
Tabela 3 - Cinética de liberação de α -tocoferol dos filmes de EHEC em etanol absoluto por 225 minutos.	69
Tabela 4 - Ângulo de contato e energia de superfície total dos filmes de EHEC com e sem incorporação de α -tocoferol, livre e nanoencapsulado, para três diferentes líquidos.....	82
Tabela 5 - Ângulo de contato de filmes de EHEC com e sem incorporação de α -tocoferol....	83
Tabela 6 - Permeabilidade de vapor de água (WVP) dos filmes de EHEC com e sem incorporação de α -tocoferol.....	85
Tabela 7 – Resultados de perda de massa e massa residual em porcentagem para os filmes de EHEC preparados obtidos a partir das curvas de TGA.	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2'-Azino-bis-(ácido 3- etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
(A/O)/A	(água-em-óleo)-em-água
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
CA	Acetato de celulose
DCC	Diciclohexilcarbodiimida
D _H	Diâmetro médio
DHU	Diciclohexilureia
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
DMA _c	N,N-Dimetilacetamida
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetil sulfóxido
DPPH	2,2-Difenil-1-picril-hidrazil
DS	Grau de substituição
DTG	Derivada termogravimétrica
EHEC	Etil hidroxietil celulose
ETAC	Cloreto de ciclopropil trietil amônio
FDA	Food and Drug Administration
FTIR-ATR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier por reflectância total atenuada
HEC	Hidroxietil celulose
HECA	Acetato de hidroxietil celulose
HPC	Hidroxipropil celulose
I	Iniciador
L•	Radical alquila
LDPE	Polietileno de baixa densidade
LH	Lipídio poli-insaturado
LO•	Radical alcoxila
LOO•	Radical peroxila
LOQ	Limite de quantificação

MC	Metilcelulose
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MS	Substituição molar
NP	Nanopartículas
O/A	Óleo-em-água
OE	Óleos essenciais
OG	Galato de octila
PDI	Índice de polidispersão
PE	Polietileno
PET	Poli(tereftalato de etileno)
PG	Galato de propila
PHA	Polihidroxialcanoatos
PLA	Poli(ácido láctico)
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PVA	Álcool polivinílico
PVC	Poli(cloreto de vinila)
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de prótons
SDS	Dodecil sulfato de sódio
TBHQ	t-Butilhidroquinona
TGA	Análise termogravimétrica
THF	Tetrahidrofurano
UV	Ultravioleta
WVP	Permeabilidade ao vapor de água

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS	24
2.1	OBJETIVO GERAL	24
2.1.1	Objetivos específicos	24
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1	EVOLUÇÃO E PERSPECTIVAS NO MERCADO DE EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS.....	25
3.2	CELULOSE.....	28
3.2.1	Obtenção de hidroxialquil éteres de celulose	29
3.2.2	Etil hidroxietil celulose.....	31
3.2.3	Modificação hidrofóbica de éteres de celulose por esterificação.....	34
3.3	EMBALAGENS ATIVAS	36
3.3.1	Embalagens antioxidantes	37
3.3.2	α -tocoferol.....	39
3.3.3	Encapsulação de ativos antioxidantes em matriz polimérica	42
4	METODOLOGIA.....	46
4.1	MATERIAIS E REAGENTES.....	46
4.2	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	46
4.2.1	Modificação hidrofóbica da EHEC utilizando ácido dodecanóico	46
4.2.2	Preparação de nanopartículas de EHEC-C12/ α -tocoferol.....	47
4.2.3	Preparação de filmes de EHEC com incorporação de nanopartículas de EHEC contendo α -tocoferol.....	48
4.3	CARACTERIZAÇÕES	49
4.3.1	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier por reflectância total atenuada (FTIR-ATR).....	49
4.3.2	Ressonância magnética nuclear de prótons (^1H RMN).....	49

4.3.3	Tensão superficial	50
4.3.4	Espalhamento de luz dinâmico (DLS).....	50
4.3.5	Análise termogravimétrica (TGA)	50
4.3.6	Análise de estabilidade do α -tocoferol nos filmes	50
4.3.7	Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	51
4.3.8	Propriedades mecânicas dos filmes.....	51
4.3.9	Ângulo de contato e energia de superfície	52
4.3.10	Permeabilidade ao vapor de água	53
4.3.11	Liberação do α -tocoferol dos filmes	53
4.3.12	Determinação da atividade antioxidante	54
4.3.12.1	<i>Método DPPH</i>	55
4.3.12.2	<i>Método ABTS</i>	56
4.3.13	Análise estatística.....	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	58
5.1	OBTENÇÃO DA EHEC MODIFICADA HIDROFOBICAMENTE (EHEC-C12) 58	
5.1.1	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier – FTIR.....	58
5.1.2	Ressonância magnética nuclear de próton – ^1H RMN	59
5.1.3	Tensão superficial	62
5.2	OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE EHEC-C12/ α -TOCOFEROL	62
5.2.1	Espalhamento de luz dinâmico - DLS.....	64
5.3	INCORPORAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS NOS FILMES DE EHEC	66
5.4	AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO DE α -TOCOFEROL DOS FILMES	67
5.5	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	74
5.6	ESTABILIDADE DO α -TOCOFEROL NOS FILMES	77
5.6.1	Análise por espectrofotometria de UV-Vis.....	77
5.6.2	Análise de estabilidade por FTIR-ATR.....	79

5.7	ÂNGULO DE CONTATO E ENERGIA DE SUPERFÍCIE	80
5.8	PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA	84
5.9	MORFOLOGIA.....	85
5.10	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA	89
5.11	PROPRIEDADES MECÂNICAS	91
6	CONCLUSÃO.....	94
7	REFERÊNCIAS.....	96
APÊNDICE A – CURVA ANALÍTICA DE α-TOCOFEROL POR		
ESPECTROFOTOMETRIA DE UV-VIS		106
APÊNDICE B – ESPECTROS DE UV-VIS PARA AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE		
DO α-TOCOFEROL INCORPORADO A FILMES DE EHEC		107

1 INTRODUÇÃO

Em 2014 a Comissão Europeia apontou que cerca de 25% dos alimentos comprados pelos consumidores são descartados e aproximadamente 5% é desperdiçado na cadeia de distribuição (EUROPEAN COMMISSION, 2014). A oxidação lipídica é um dos principais fatores que favorecem a redução da vida de prateleira dos alimentos (AMARAL; SOLVA; LANNES, 2018). Esse processo pode alterar várias características como a textura, valor nutricional, gosto, aroma e também a aparência do alimento. Essas mudanças indesejadas acabam levando à uma rejeição desses produtos por parte dos consumidores visto que sua qualidade foi alterada. Estes alimentos acabam, frequentemente, sendo descartados, seja em casa ou pelos estabelecimentos comerciais, por serem considerados impróprios para o consumo (RAAK et al., 2017).

Alimentos produzidos e não consumidos são responsáveis por um aumento anual de cerca de 3,3 gigatoneladas em equivalentes de dióxido de carbono, impactando em mudanças climáticas e no aquecimento global, expondo o planeta a ameaças existenciais (HELLER; SELKE; KEOLEIAN, 2019; NGUYEN; HUYNH; NASIR, 2021). Entretanto, não são apenas os alimentos desperdiçados que causam impacto ambiental, as embalagens que também demandam gasto de energia e dinheiro para produção são descartadas. Apesar de a reciclagem ser um dos mecanismos para reduzir os problemas associados ao descarte de embalagens, principalmente plásticas, cerca de 30% destas não são elegíveis para o reuso, seja por descarte inadequado, tamanho muito pequeno ou contaminação com resíduos orgânicos e químicos (DILKES-HOFFMAN et al., 2018).

Embalagens ativas biodegradáveis têm sido consideradas promissoras para aumentar a vida de prateleira dos alimentos, tanto quanto para diminuir os efeitos adversos ao meio ambiente que as embalagens plásticas tradicionais causam. Substâncias como as presentes em óleos essenciais (OE) e também vitaminas podem atuar como antioxidantes e na prevenção do crescimento microbiano em alimentos (RIBEIRO-SANTOS et al., 2017). No entanto, há um obstáculo no uso de óleos essenciais devido à baixa reprodutibilidade de sua atividade, visto que a composição de um mesmo óleo pode variar pela influência de inúmeros fatores, como os ambientais, por exemplo. Além disso, os aromas exalados por esses óleos acabam restringindo sua aplicação. Com isto, vitaminas como a C e a E, que são substâncias isoladas, recebem destaque e sobressaem-se sobre os OE já que não apresentam estes problemas

(NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, 2021a, 2021b).

O uso de vitaminas em embalagens ativas biodegradáveis é um campo bastante promissor para a preservação de alimentos por períodos de tempo mais longos. O α -tocoferol é uma das vitaminas que é comumente utilizada na indústria alimentícia e cosmética, porém possui baixa estabilidade na presença de luz e oxigênio e também é pouco solúvel em água (DEY; NEOGI, 2019; LI et al., 2016). A encapsulação dessa classe de substâncias e incorporação em filmes poliméricos pode melhorar a estabilidade, pela diminuição dos fatores que levam à sua degradação e consequentemente aumentar sua atividade antioxidante, além de permitir um controle maior na velocidade de liberação (DEY; NEOGI, 2019).

A celulose é uma das matérias primas mais abundantes do planeta e tem sido utilizada como tal há milhares de anos (DOUGLASS et al., 2018). A etil hidroxietil celulose (EHEC) é um polímero derivado da celulose, formado a partir da modificação química da celulose pela incorporação de grupos laterais mais hidrofílicos, como grupos óxido de etileno (AGRAWAL et al., 2020). A presença desses grupos laterais confere maior solubilidade à EHEC aumentando a possibilidade de aplicações deste polímero. Geralmente associa-se a EHEC a surfactantes para a formação de geis termo-reversíveis, para aplicações na área biomédica ou para a formação de filmes por meio de ligações cruzadas no desenvolvimento de sensores e na engenharia de tecidos (CALEJO et al., 2013; HEDIN et al., 2009; WALI et al., 2018).

A grande maioria dos trabalhos, contudo, limita-se a aplicação da EHEC para a área biomédica ou no estudo de sua interação com diferentes surfactantes, mas não fornece informações de sua aplicação como filmes para liberação controlada de agentes antioxidantes ou antimicrobianos, para a utilização como embalagens, por exemplo. Já tendo sido estudada para a aplicação *in situ* em humanos, seja para a liberação controlada de fármacos ou na regeneração de tecidos, a EHEC mostra-se não tóxica e biocompatível e consequentemente apresenta potencial para aplicação em outras áreas, como a alimentícia (CALEJO et al., 2013; HEDIN et al., 2009; WALI et al., 2018).

Desta forma, este trabalho teve como proposta principal a incorporação de α -tocoferol de maneira livre e encapsulado em filmes de EHEC. Para tal, realizou-se a modificação hidrofóbica da EHEC com ácido dodecanóico para favorecer a interação polímero/ α -tocoferol e com isso encapsular a vitamina. Essa modificação foi realizada em porcentagens distintas para avaliar o comportamento do α -tocoferol quando submetido a aquecimento, luz UV ou

condições ambientes como temperatura e presença de oxigênio. Esse sistema de cápsulas foi então incorporado em EHEC para preparação de filmes com diferentes concentrações de α -tocoferol. Estes filmes foram caracterizados a fim de avaliar a influência do α -tocoferol encapsulado ou livre sobre as propriedades térmicas e mecânicas, e também a capacidade antioxidante do filme e o perfil de liberação da vitamina em sistema similar ao de alimentos ricos em lipídios.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Incorporar α -tocoferol de maneira livre e nanoencapsulado em etil hidroxietil celulose (EHEC) hidrofobicamente modificada com ácido dodecanóico em filmes poliméricos de EHEC, visando obter materiais para embalagens de alimentos com propriedades antioxidantes.

2.1.1 Objetivos específicos

- Modificar hidrofobicamente a EHEC utilizando ácido dodecanóico para favorecer a interação EHEC/ α -tocoferol;
- Avaliar a modificação hidrofóbica da EHEC por ressonância magnética nuclear de próton (^1H RMN) e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR);
- Obter e caracterizar as nanopartículas de EHEC-ácido dodecanóico (EHEC-C12) contendo α -tocoferol quanto ao seu tamanho e índice de polidispersão utilizando a técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS);
- Avaliar a estabilidade do α -tocoferol quando incorporado aos filmes de EHEC de maneira livre e encapsulado em NP de EHEC modificada (EHEC-C12 nas proporções de 10 e 20%) por espectrofotometria UV-Vis e por termogravimetria (TGA);
- Caracterizar a morfologia dos filmes de EHEC com nanopartículas por microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Avaliar a cinética de liberação de α -tocoferol dos filmes de EHEC em etanol absoluto;
- Avaliar a propriedade antioxidante dos filmes de EHEC contra os radicais DPPH e ABTS.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 EVOLUÇÃO E PERSPECTIVAS NO MERCADO DE EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS

As embalagens alimentícias têm como função principal proteger os alimentos de contaminações provenientes do ambiente como odores e poeiras e também de danos físicos, da luz, umidade, temperatura e microrganismos (HAN et al., 2018). Isso permite a garantia da qualidade e segurança dos alimentos, além de minimizar as perdas nas cadeias produtivas, de transporte e distribuição aos consumidores finais. Com o passar dos anos, as embalagens têm adquirido novas funcionalidades. Além do acondicionamento seguro dos alimentos, permitem facilitar o transporte e armazenamento de produtos, e apresentam *design* atrativo e informativo aos consumidores (BERGER, 2002; HAN et al., 2018). De forma objetiva uma embalagem alimentícia deve armazenar os alimentos de maneira econômica, satisfazendo tanto os requisitos da indústria quanto os desejos do consumidor, mantendo a segurança do alimento sem causar grandes danos ambientais (MARSH, 2007).

O mercado de embalagens alimentícias no ano de 2019 atingiu um valor de mercado de 304,98 bilhões de dólares e projeta-se um crescimento anual de 5,9% até o ano de 2027 em que estima-se atingir os 463,65 bilhões de dólares, segundo dados apresentados pela revista *Market Research Report* (2020). Segundo a *World Packaging Organization* (WPO) este setor apresenta uma receita anual de mais de 500 bilhões de dólares e este valor também deve aumentar com a maior procura dos consumidores por embalagens de fácil uso, de alta performance e sustentáveis (MARKET ANALYSIS REPORT, 2020; MARKET RESEARCH REPORT, 2020).

O crescimento deste mercado ampara-se também no aumento das inovações em embalagens que incluem embalagens inteligentes, ativas e biodegradáveis, nanocompósitos e diferentes *designs* (MARKET RESEARCH REPORT, 2020). Dentre os vários tipos de embalagens, as sustentáveis e os filmes poliméricos são os que têm moldado o mercado. Para conseguir atender as demandas de aumentar a vida útil de prateleira dos alimentos e consequentemente reduzir o desperdício, a nanotecnologia têm sido uma das abordagens adotadas. Nanocompósitos poliméricos e bio-nanocompósitos são exemplos desta tecnologia que visa melhorar a performance do material e aumentar o tempo de prateleira dos produtos;

além de fornecer outras características especiais como ação antimicrobiana e permeabilidade controlada (ALOJALY; BENYOUNIS, 2020).

No decorrer da história muitos materiais têm sido utilizados para proteção e cobertura de bens alimentícios, principalmente papel e vidro (TAJEDDIN; ARABKHEDRI, 2020). Contudo, estes materiais possuem suas limitações assim como qualquer outro material. Com o progresso da ciência novos materiais começaram então a serem estudados, como os polímeros sintéticos. Estes têm sido utilizados em larga escala desde então devido à sua abundância, excelentes propriedades de barreira ao oxigênio e propriedades ópticas e mecânicas. Dentre os polímeros de origem petroquímica (fonte não renovável) o polietileno (PE) é um dos mais utilizados, pois além de apresentar as características já citadas anteriormente este pode ser facilmente moldado em diferentes formatos, o que o torna uma excelente opção para inúmeras aplicações. Juntamente com o polipropileno (PP), poli(tereftalato de etileno) (PET), poli(cloreto de vinila) (PVC) e poliestireno (PS), compõe mais de 90% do volume total de plásticos utilizados em embalagens (ALOJALY; BENYOUNIS, 2020).

Entretanto, o uso de polímeros de origem petroquímica também tem suas desvantagens, sendo sua contribuição, de grande impacto, ao aquecimento global e poluição ambiental as maiores delas (TAJEDDIN; ARABKHEDRI, 2020). Com isto, associado ao aumento no consumo de produtos industrializados, surgiu a preocupação com o uso e o descarte desenfreado de embalagens poliméricas (DESSBESELL et al., 2020).

Porém, com o sucessivo aumento da população mundial, atingindo agora quase 8 bilhões de pessoas, a substituição de embalagens poliméricas por outros materiais é irrealística do ponto de vista social, em que isto afetaria os mais vulneráveis economicamente, e também do ponto de vista ambiental (PEREIRA, 2022). Estudos realizados para o *American Chemistry Council* mostraram que para substituir completamente as embalagens plásticas nos Estados Unidos haveria um impacto de alto nível no consumo de energia, água, acidificação e eutrofização, aumento potencial do aquecimento global e destruição da camada de ozônio, além de um aumento em massa e volume dos resíduos sólidos produzidos (FRANKLIN ASSOCIATES, 2018).

Assim, hoje a reciclagem ainda é vista como o principal mecanismo para reduzir os impactos ambientais causados pelo descarte de embalagens, entretanto, boa parte destas não são elegíveis (DILKES-HOFFMAN et al., 2018). Além dos problemas como contaminação e

tamanho destes materiais, há também o custo de processamento e a tecnologia necessária para separar e transformar a matéria (DILKES-HOFFMAN et al., 2018; GEUEKE; GROH; MUNCKE, 2018). Outro fator a ser considerado é que alguns materiais não podem ser repetidamente reciclados ou reutilizados (GEUEKE; GROH; MUNCKE, 2018). Com isso, existe a necessidade de utilização de materiais alternativos, que permitam uma degradação mais rápida e diminuam os impactos ambientais causados pelo seu descarte (DILKES-HOFFMAN et al., 2018).

Neste sentido, novos materiais vêm sendo estudados, testados, e implementados como substitutos aos derivados de petróleo, como é o caso dos biopolímeros (BROCKHAUS; PETERSEN; KERSTEN, 2016; GARRISON; MURAWSKI; QUIRINO, 2016). Os biopolímeros são polímeros provenientes de plantas ou animais sendo em sua maioria biocompatíveis, biodegradáveis e considerados seguros (ROSTAMI et al., 2019). Apesar de grande parte dos polímeros sintéticos também serem produzidos a partir de fontes naturais, esses materiais não são, em sua maioria, biodegradáveis, nem, portanto, considerados sustentáveis (TAJEDDIN; ARABKHEDRI, 2020). E por isso, há alguns anos, polímeros compostáveis e biodegradáveis têm ganhado notoriedade como uma alternativa aos plásticos convencionais (RYDZ et al., 2018).

Atualmente, os bioplásticos ainda representam menos de 1% dos mais de 367 milhões de toneladas de plástico produzidos anualmente (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2021). Mesmo com o crescimento do mercado de embalagens a produção global de plástico apresentou queda; mas na contramão disto o mercado de bioplásticos têm apresentado contínuo crescimento. Segundo dados da *European Bioplastics* estima-se atingir os 7,59 milhões de toneladas de bioplásticos produzidos no ano de 2026, um crescimento de cerca de 315% em comparação a produção de 2021, de 2,41 milhões de toneladas. Destes 7,59 milhões cerca de 70% serão bioplásticos biodegradáveis. Essa estimativa indica que pela primeira vez na história a produção de biopolímeros irá ultrapassar a marca de 2%.

É interessante observar que hoje a capacidade de produção do mercado de bioplásticos é na verdade governada majoritariamente por bioplásticos biodegradáveis, cerca de 64%, compostos por poliácido láctico (PLA), polihidroxialcanoatos (PHA), blendas de amido e outros (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2021). Dentre este grupo têm-se ainda em destaque a celulose, utilizada principalmente na produção de filmes e embalagens flexíveis, se apresentando como uma das maiores candidatas a substituir o petróleo como fonte de matéria prima para a produção

de embalagens (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2021; GHADERI et al., 2014). Inúmeros compósitos vêm sendo preparados utilizando compostos modificados de celulose, devido as suas excelentes propriedades mecânicas e de reforço, por sua grande biodisponibilidade e biodegradabilidade (SHAGHALEH; XU; WANG, 2018).

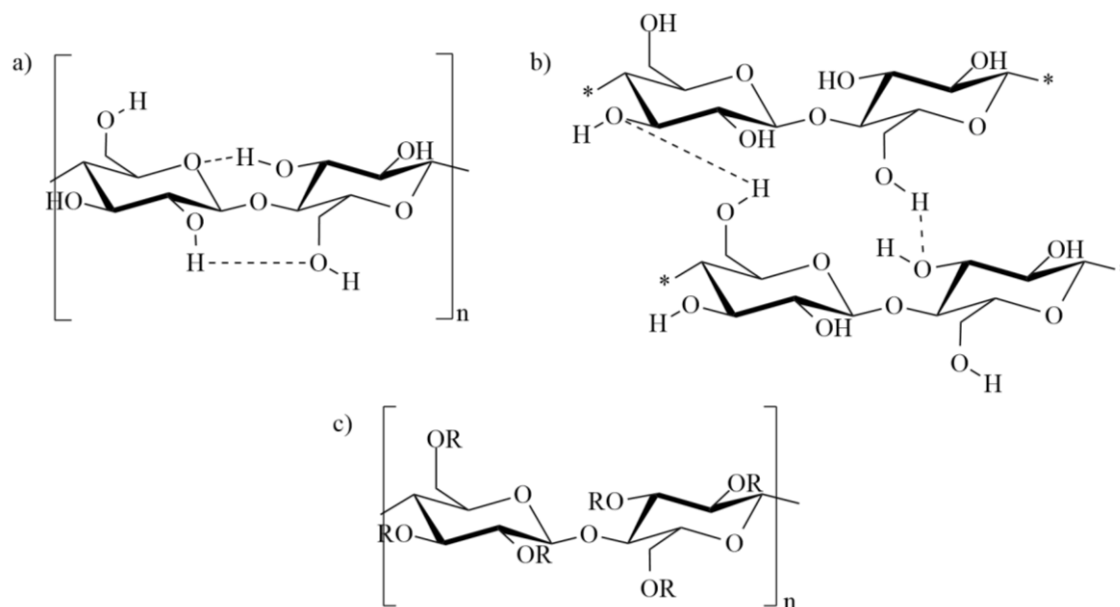
3.2 CELULOSE

A celulose é o biopolímero mais abundante e de fácil obtenção entre as biomassas disponíveis (GHADERI et al., 2014). Além de poder ser obtida diretamente da madeira, a celulose e seus derivados podem ser obtidos de resíduos da agricultura, como os bagaços de cana de açúcar, que não possuem valor de mercado, mas contém uma porcentagem considerável de celulose (40-50%).

A celulose é um homopolímero linear e bastante rígido formado por ligações β -1,4-glicosídicas entre os carbonos de unidades D-anidroglicopiranosose (JAIN et al., 2013). A presença de grupos OH em sua estrutura é responsável, não apenas por reações típicas de álcoois primários e secundários, mas têm também papel importante em sua solubilidade (GRANSTRÖM, 2009). A celulose é insolúvel em água e em solventes orgânicos mais comuns, devido às ligações de hidrogênio intra (Figura 1a) e intermoleculares (Figura 1b) que se formam em sua estrutura, sendo que para dissolvê-la é necessário a quebra das ligações intermoleculares. A rigidez na estrutura também é conferida, em parte, pelas ligações de hidrogênio levando à alta viscosidade em solução e alta tendência a cristalizar, associada à conformação piranosose do anel (GRANSTRÖM, 2009). Estas propriedades entretanto acabam dificultando sua utilização como embalagem (RYDZ et al., 2018). Portanto, pesquisas recentes têm se concentrado na utilização de derivados da celulose para a produção de embalagens alimentícias.

A modificação dos grupos OH das unidades anidroglicose da celulose (Figura 1c) por reações de formação de éteres permite a produção de derivados solúveis em água como a metil celulose (MC), hidroxipropil celulose (HPC), hidroxietil celulose (HEC) e etil hidroxietil celulose (EHEC) (JAIN et al., 2013).

Figura 1 - Estruturas de celulose; a) ligações de hidrogênio intramoleculares; b) ligações de hidrogênio intermoleculares e c) estrutura genérica de um éter de celulose em que R = H ou R = CH₃; CH₂CH₂CH₂OH; CH₂CH(OH)CH₃; CH₂CH₂OH; ou C₂H₅.



Fonte: Adaptado de GRANSTRÖM, 2009 e JAIN et al., 2013.

Entre as várias rotas de síntese dos éteres de celulose, duas são as que possuem maior relevância comercial: a reação dos grupos hidroxila da celulose com um cloreto de alquila na presença de um forte hidróxido metálico e a reação dos grupos hidroxila com um óxido de alquilenos pela abertura de anel (KLEMM et al., 1998).

3.2.1 Obtenção de hidroxialquil éteres de celulose

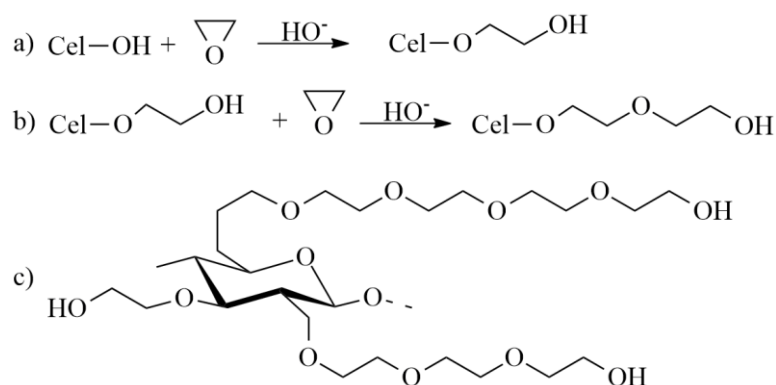
A alquilação da celulose leva à formação de éteres de celulose, muitos destes comercialmente importantes por sua solubilidade em água, o que favorece sua utilização em formulações à base desta (MAJEWICZ; PODLAS, 2000). Dentre as principais propriedades que estes fornecem às formulações têm-se o controle reológico (controle da espessura e escoamento da formulação), capacidade de absorção e retenção de água, estabilização de coloides e suspensões e formação de filmes. Estas propriedades permitem sua aplicação em inúmeras áreas da indústria, como coberturas, impressão, cerâmica e materiais de construção, papel, agricultura, cosmética, farmacêutica e alimentícia (ARCA et al., 2018; GAWADE;

CHINKE; ALEGAONKAR, 2020; MAJEWICZ; PODLAS, 2000; PATURAL et al., 2011).

A hidroxietil celulose (HEC) e a hidroxipropil celulose (HPC) são os éteres derivados de celulose de maior relevância comercial e podem ser obtidos por meio da reação da celulose com óxido de etileno e óxido de propileno, respectivamente (KLEMM et al., 1998). A Figura 2a apresenta a reação para o preparo da hidroxietil celulose em que se utiliza um epóxido (neste caso óxido de etileno) com a adição de um catalisador alcalino, que fornece os íons HO^- necessários para a clivagem do anel epóxi e a formação da ligação C-O do óxido adicionado e do álcool proveniente da celulose (KLEMM et al., 1998). A base, juntamente com a água, leva à ruptura das ligações de hidrogênio nos domínios cristalinos da celulose, o que permite maior acessibilidade ao reagente alquil (MAJEWICZ; PODLAS, 2000).

Um fator importante a ser considerado nos éteres de celulose é a extensão da substituição, isto porque uma unidade anidroglicose apresenta três grupos hidroxila, sendo estes os centros ativos de formação das ligações éter (MAJEWICZ; PODLAS, 2000). A reação com os grupos hidroxila, contudo, não é limitada aos presentes inicialmente na estrutura da celulose (KLEMM et al., 1998). As novas hidroxilas terminais podem seguir reagindo de modo a aumentar o tamanho dos grupos laterais, conforme Figura 2c. No caso desta estrutura apresentada a molécula possui um grau de substituição (DS) igual a 3, pois todos os grupos hidroxilas disponíveis originalmente na unidade anidroglicose, proveniente da celulose, foram substituídos por grupos hidroxietil (KLEMM et al., 1998; MAJEWICZ; PODLAS, 2000).

Figura 2 - a) e b) Esquema de reações de hidroxialquil celulosas em meio alcalino c) representação da estrutura química da hidroxietil celulose.



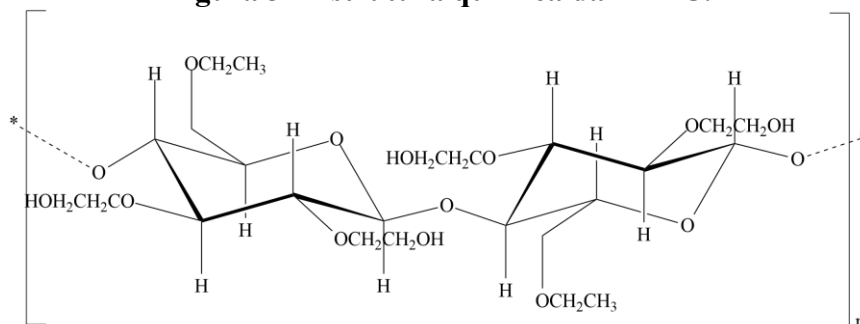
Fonte: Adaptado de KLEMM et al., 1998.

A sequência de reações de alquilação em uma cadeia é caracterizada por substituição molar (MS), ou seja, o número de mol de reagente combinado por mol de unidades anidroglicose (MAJEWICZ; PODLAS, 2000). A substituição molar e o grau de substituição, contudo, não informam a distribuição dos substituintes ao longo da cadeia polimérica. Fator este de extrema importância para a reologia da solução e nas propriedades de relevância ao uso do produto final. A hidroxietil celulose com MS variando entre 0,05 e 0,5, por exemplo, é solúvel apenas em solução aquosa alcalina (MAJEWICZ; PODLAS, 2000). Com o aumento das substituições ($MS \geq 1,5$) a HEC torna-se solúvel em água, e esta é a sua forma comercial mais comum.

3.2.2 Etil hidroxietil celulose

A etil hidroxietil celulose (EHEC) é um polissacarídeo anfifílico não-iônico, derivado da celulose, modificada pela adição de unidades hidrofóbicas e hidrofílicas à cadeia polimérica, por grupos etil e cadeias de óxido de etileno, sendo que este último proporciona maior solubilidade em água (AGRAWAL et al., 2020; DJUVE et al., 2002; MALMSTEN et al., 1990). Estas unidades estão distribuídas normalmente de maneira irregular ou na forma de blocos, o que leva a um arranjo estrutural complexo em que surgem microdomínios hidrofóbicos (KJØNIKSEN; KNUDSEN; NYSTRÖM, 2005).

O grau de substituição da EHEC tem uma influência significativa na sua solubilidade. Na Figura 3 é possível observar a estrutura química da EHEC. As moléculas de água interagem mais fortemente com os grupos hidrofílicos ligados à cadeia principal do polímero e o aumento da quantidade de grupos óxido de etileno aumenta o grau de hidratação do polímero, segundo um estudo realizado por Carlsson e colaboradores (1986). Este mesmo estudo mostrou que estes grupos óxido de etileno, sejam eles grupos etil ou hidroxietil, geram uma certa repulsão entre si pelo favorecimento da interação com água. Isto leva à uma dificuldade de interação entre diferentes cadeias de EHEC favorecendo a formação de estruturas pouco rígidas e com isso há o favorecimento da interação com água e aumento da solubilidade do polímero.

Figura 3 - Estrutura química da EHEC.

Fonte: A autora.

A formação dos microdomínios hidrofóbicos favorece a interação da cadeia polimérica com surfactantes permitindo a formação de aglomerados tipo micelas, que acabam por envolver substituintes de uma ou mais partes da cadeia da própria EHEC, resultando em um estado de transição do tipo sol-gel (AGRAWAL et al., 2020; KJØNIKSEN; KNUDSEN; NYSTRÖM, 2005).

Essa característica de formação de micro domínios da EHEC levou a inúmeros estudos de sua associação com surfactantes iônicos que permitem que a molécula, que possui característica não iônica, passe a se comportar como um polieletrólito (AGRAWAL et al., 2020). As interações formadas nesse sistema geram um aumento na temperatura do ponto de nuvem, o que favorece a formação de emulsões e do estado sol-gel (KJØNIKSEN; KNUDSEN; NYSTRÖM, 2005). O ponto de nuvem da EHEC depende também, necessariamente, da massa molar e do grau de substituição da molécula, mas quando interage com um surfactante iônico essa propriedade é alterada, pois formam-se novos pontos de conexão e há um fortalecimento das interações já existentes na própria cadeia do polímero. O comportamento de polieletrólito gera uma repulsão de cargas na estrutura, permitindo que haja um inchamento na matriz e a formação de géis termo reversíveis (CALEJO et al., 2012a; MALMSTEN et al., 1990). Esta característica de formação de géis permite que a EHEC seja utilizada no desenvolvimento de hidrogéis, sistemas de grande interesse para as áreas biomédica e farmacêutica, pois podem ser utilizados em aplicações de engenharia de tecidos e liberação controlada de fármacos. Contudo, a biocompatibilidade desses sistemas é um fator de extrema importância.

A interação EHEC e surfactante iônico já foi bastante estudada entre os anos de 1990 e 2000, sendo a associação com o dodecil sulfato de sódio (SDS) uma das que apresentam a

maior quantidade de resultados e que permitiu o entendimento de inúmeras propriedades e características da EHEC (NILSSON; HOLMBERG; SUNDELÖF, 1994; OSTROVSKII et al., 1999; WANG; OLOFSSON, 1995). Atualmente, entretanto, buscam-se associações com compostos mais biocompatíveis e menos prejudiciais ao meio ambiente, o que tem atraído a atenção para a utilização de surfactantes de base natural, como é o caso dos surfactantes derivados de aminoácidos (CALEJO et al., 2012b, 2013). Calejo e colaboradores estudaram surfactantes à base de arginina e lisina e observaram a manutenção da propriedade de gelificação termo reversível mostrando que a associação com diferentes moléculas permite o uso desses sistemas em aplicações biomédicas.

Modificações na estrutura da EHEC e ligações cruzadas com outras moléculas também permitem a formação de filmes (HEDIN et al., 2009). A interação entre a EHEC e o alcaloide imidazol permitiu o desenvolvimento de um filme bi-camada para o estudo da interação imidazol-Cu²⁺ por meio do aprisionamento dos íons Cu na estrutura formada, em um estudo realizado por Hedin e colaboradores. Já a modificação da EHEC com a merocianina de Brooker permitiu o desenvolvimento de um sensor óptico para a detecção de cianeto em água (NANDI et al., 2014).

Wali e colaboradores (2018) mostraram que pela associação de EHEC com álcool polivinílico (PVA) foi possível preparar nanofibras e filmes através da técnica de eletrofiação, evidenciando mais uma potencial combinação para o uso na liberação controlada de fármacos e na engenharia de tecidos. Um estudo posterior para avaliação de viabilidade celular, crescimento e proliferação evidenciou que estas nanofibras de EHEC/PVA, contendo nanotubos de haloisita e o fármaco sulfato de gentamicina, não apresentam toxicidade (WALI et al., 2019). Ao contrário, elas favorecem o crescimento, fixação e disseminação celular ao longo das fibras, sugerindo boa citocompatibilidade. Além disso, testes *in vivo* foram realizados em que os filmes foram aplicados sobre ferimentos e mostraram resultados favoráveis para cicatrização, evidenciando mais um potencial uso como material curativo.

Além destas aplicações voltadas às áreas da saúde e ambiental, a EHEC é utilizada como espessante e agente dispersante em tintas, devido à sua ótima solubilidade em água e é também adicionada a argamassas à base de cimento, aumentando a capacidade de aderência e de retenção de água da argamassa (CARLSSON et al., 1986). A presença dos grupos etil diminui a tensão superficial e interfacial, e também modifica as propriedades de adsorção do polímero aos particulados encontrados nestas formulações como argilas, pigmentos e látex

(MAJEWICZ; PODLAS, 2000).

Diante de toda essa gama distinta de aplicações a EHEC mostra-se versátil e multifuncional, apresentando diferentes propriedades e funções de acordo com a aplicação.

3.2.3 Modificação hidrofóbica de éteres de celulose por esterificação

Os éteres de celulose, por possuírem os grupos laterais que conferem maior solubilidade em água, são amplamente utilizados em soluções aquosas como as presentes em tintas látex, na recuperação de óleo e também em produtos de cuidado para a pele (THURESSON; LINDMAN, 1997). Para estas aplicações, frequentemente, utilizam-se éteres de celulose modificados pela inserção de cadeias laterais mais hidrofóbicas (HM-Polímeros), que possuem maior massa molar e uma maior viscosidade em solução, associados a surfactantes. Essa característica mais hidrofóbica que o polímero passa a ter aumenta a habilidade de associação hidrofóbica com outras moléculas e conseqüentemente permite uma nova gama de aplicações (THURESSON; LINDMAN, 1997).

A modificação hidrofóbica da hidroxipropil metil celulose pela adição de cloreto de ciclopropil trietil amônio (ETAC) em diferentes proporções, realizada por Wang e colaboradores (2020), traz grande potencialidade para sua aplicação na exploração de petróleo, cuidados com o cabelo e tinturas, por exemplo. Os polímeros catiônicos obtidos apresentaram característica de sensibilidade à temperatura, e observou-se que com um aumento da proporção de agente esterificante a capacidade de retenção de água do polímero diminui. Neste caso, o aumento de ETAC na estrutura leva a um aumento da extensão dos grupos laterais e a estrutura do polímero se compacta. Há ainda um momento em que os pontos ativos da celulose atingem saturação, diminuindo as interações com água.

Entre os ésteres de celulose amplamente utilizados na indústria em geral, o acetato de celulose (CA) é o derivado com maior área de aplicação (EL IDRISSEI et al., 2012). Uma das principais formas de síntese deste polímero é pela utilização de N,N-dimetilacetamida/cloreto de lítio (DMAc/LiCl) em meio ácido ou alcalino, mas problemas com solubilidade são observados. Uma metodologia diferente utilizando tetrahidrofurano e trietilamina (THF/Trietilamina) foi então adotada por Idrissi e colaboradores (2012) para conduzir as reações de esterificação. Estes prepararam quatro diferentes filmes poliméricos a partir de acetato de celulose e hidroxietil celulose com diferentes cloretos, obtendo então o éster acetato

de hidroxietil celulose (HECA) livre de precursores cloreto não reagidos e de grupos ácido carboxílico, que podem se formar por saponificação neste tipo de reação.

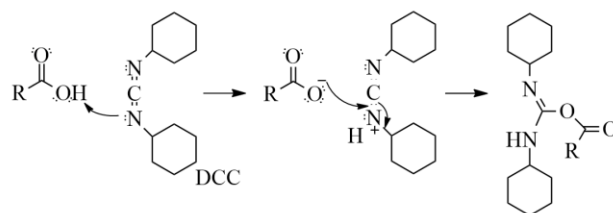
Por serem solúveis em água, polímeros como a EHEC e HEC podem ser utilizados para preparar filmes em sistemas aquosos. Ao serem modificados hidrofobicamente, estes polímeros passam a ter maior resistência à umidade e ao vapor de água, porém ainda há poucas pesquisas referentes à influência da temperatura na formação de filmes e na liberação de água durante o processo de desidratação, quando grupos hidrofóbicos são introduzidos na estrutura do polímero (LYYTIKÄINEN et al., 2021).

Uma das formas de incorporação de grupos hidrofóbicos na cadeia desses éteres de celulose que possuem grupos OH é por meio de reações de esterificação com ácidos carboxílicos de cadeia longa (NANDI, 2011; ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, [s.d.]). Os ácidos carboxílicos, entretanto, possuem baixa reatividade sem um catalisador, mas a utilização de um ácido forte auxilia na reação (JIANG; NGAI, 2022). Contudo, catálises ácidas em derivados celulósicos levam geralmente à degradação das ligações glicosídicas da estrutura do polímero. Como alternativa pode-se utilizar um cloreto de acila ou um anidrido, na presença de uma base terciária. Utiliza-se, geralmente, para este tipo de reação diciclohexilcarbodiimida (DCC) e 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (Figura 4) (NANDI, 2011; ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, [s.d.]).

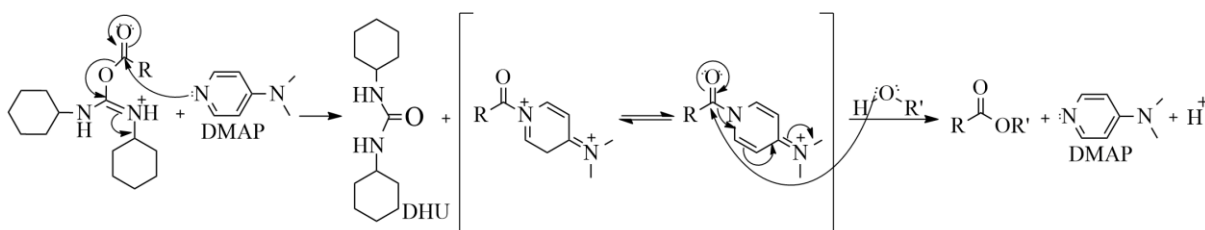
Na Figura 4 está representado o mecanismo da reação de esterificação de um álcool e um ácido carboxílico. Em uma primeira etapa reacional o ácido carboxílico reage com o DCC formando um intermediário *O*-acilisoureia bastante reativo (NANDI, 2011; ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, [s.d.]). Em uma segunda etapa, o DMAP, que atua como um catalisador, por ser um nucleófilo mais forte que o álcool do éter de celulose reage com o intermediário *O*-acilisoureia eliminando diciclohexilureia (DHU), levando à formação de um novo intermediário que reage rapidamente com álcoois sem que haja a formação de subprodutos na reação. Neste caso, o DMAP atua como um reagente de transferência de um grupo acila que leva então à formação do éster.

Figura 4 - Representação esquemática do mecanismo de esterificação de um álcool genérico com um ácido carboxílico.

Etapa 01



Etapa 02



Fonte: Adaptado de Nandi (2011) e Organic Chemistry Portal ([s.d.]).

3.3 EMBALAGENS ATIVAS

O mercado de embalagens alimentícias têm apresentado desenvolvimento exponencial tanto científico quanto industrialmente, sendo um dos principais fatores responsáveis as atualizações requeridas para satisfazer novas regulamentações de segurança alimentar (FIROUZ; MOHI-ALDEN; OMID, 2021). As embalagens, em sua grande maioria, fornecem uma barreira de proteção entre o alimento e a atmosfera que o envolve, e o ambiente externo. Entretanto, existem algumas limitações nessas embalagens em prolongar a chamada vida de prateleira desses alimentos (OZDEMIR; FLOROS, 2004; YILDIRIM et al., 2018).

Duas vertentes tecnológicas que vêm sendo muito estudadas, visando melhorar a vida útil de alimentos, são as embalagens inteligentes e embalagens ativas, apesar de ainda não serem amplamente empregadas comercialmente (FIROUZ; MOHI-ALDEN; OMID, 2021). Os sistemas inteligentes visam aumentar a segurança e exibir avisos sobre potenciais problemas presentes no alimento embalado (FIROUZ; MOHI-ALDEN; OMID, 2021). Estes são desenvolvidos de modo a detectar as condições de acondicionamento, data de validade, qualidade e segurança, além de monitorar crescimento bacteriano no alimento. Já as embalagens ativas têm o intuito de prolongar a integridade, qualidade nutricional, propriedades sensoriais e segurança dos produtos, mantendo-os como se frescos (DOMÍNGUEZ et al., 2018; FIROUZ; MOHI-ALDEN; OMID, 2021; YILDIRIM et al.,

2018). Para isto inúmeras moléculas vêm sendo incorporadas às embalagens alimentícias de modo a funcionalizá-las.

As embalagens ativas podem ser divididas em dois grandes grupos: as de emissão, em que a embalagem fornece uma substância ao alimento, e as de absorção, onde a embalagem retira alguma substância do alimento ou da atmosfera que o envolve (DOMÍNGUEZ et al., 2018; YILDIRIM et al., 2018). Dentre estes sistemas têm-se os de remoção de oxigênio, absorção de etileno, absorção e emissão de dióxido de carbono, liberação e absorção de sabor, controladores de umidade, antimicrobianas e antioxidantes (FIROUZ; MOHI-ALDEN; OMID, 2021).

A adição de substâncias ativas às embalagens apresenta uma grande vantagem em relação à adição da substância diretamente sobre o alimento, pois a quantidade necessária para um mesmo efeito é muito menor. Isto porque há interação entre a substância adicionada e os componentes do alimento quando a aplicação é feita diretamente em sua superfície, o que acaba diminuindo ou inibindo sua atuação (YILDIRIM et al., 2018). Além disso, a liberação do ativo para o alimento ocorre de maneira controlada quando na embalagem (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014).

Entre as tecnologias mais estudadas para a preservação dos alimentos estão as embalagens antioxidantes, que atuam na inibição ou eliminação de oxigênio, já que este é responsável pela oxidação de compostos lipídicos, proliferação de microrganismos, mudanças de textura e sabor, além de favorecer a perda de propriedades nutricionais do alimento (AHMED et al., 2017).

3.3.1 Embalagens antioxidantes

Os antioxidantes possuem função vital nas plantas e em organismos humanos, pois reduzem os processos de oxidação e os efeitos adversos causados por espécies oxigenadas reativas (GULCIN, 2020). São chamadas antioxidantes, as moléculas capazes de impedir a oxidação de outras moléculas pela eliminação direta de espécies oxigenadas reativas ou que atuam indiretamente na inibição de sua formação.

Desta forma, a incorporação de substâncias antioxidantes às embalagens permite o aumento da estabilidade oxidativa em alimentos, principalmente em carnes e outros derivados de origem animal que estão mais suscetíveis à degradação por serem ricos em lipídios

(AHMED et al., 2017; DOMÍNGUEZ et al., 2018; GÓMEZ-ESTACA et al., 2014). O controle da quantidade de O₂ na atmosfera que envolve o alimento é importante para minimizar as reações de deterioração. Isto porque o oxigênio molecular reage com os ácidos graxos presentes no alimento por meio de um mecanismo autocatalítico em que há a formação de produtos como álcoois, cetonas e aldeídos que conferem odor e gosto desagradável (CARVALHO, 2013).

Os processos de oxidação iniciam-se na superfície dos alimentos, por isso a utilização de embalagens ativas antioxidantes mostra-se promissora para a proteção contra a rancidez, uma vez que o mecanismo de atuação antioxidante envolve as etapas de difusão do ativo da embalagem, sua evaporação e subsequente sorção na superfície do alimento (JONGJAREONRAK et al., 2008; LEE et al., 2004).

A incorporação destas substâncias às embalagens pode ser realizada tanto física como quimicamente, e como todo método cada um possui suas vantagens e desvantagens (LAI, 2021). Por meios físicos os antioxidantes podem ser misturados diretamente à solução de formação dos filmes poliméricos, em um processo simples de uma única etapa. Entretanto, o antioxidante pode acabar preso na matriz polimérica e ter dificuldade em participar das reações de eliminação de radicais. Além disso, este processo geralmente leva a perdas excessivas do ativo durante a aplicação e diminui as propriedades físico-químicas do material polimérico. O processo químico, por outro lado, envolve a ligação covalente destes antioxidantes aos agentes de formação do filme. Este processo também pode ser utilizado para realizar a imobilização do antioxidante no filme, o que não altera as propriedades físico-químicas do material polimérico, mas por outro lado acaba diminuindo a capacidade de liberação do antioxidante da embalagem.

No ano de 2010, o mercado de antioxidantes utilizados em alimentos e bebidas já movimentava 500 bilhões de dólares, seguindo um crescimento de 5-7% ao ano (BERDAHL; NAHAS; BARREN, 2010). Grande parte destes são antioxidantes sintéticos como polifenóis, organofosfatos e tioésteres que têm sido incorporados em embalagens ativas (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014). Os mais populares são os compostos fenólicos como o butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), *t*-butilhidroquinona (TBHQ), galato de propila (PG) e octila (OG) (GULCIN, 2020).

A escolha pelo uso de antioxidantes sintéticos ao invés dos naturais dá-se principalmente por sua maior estabilidade e conseqüentemente melhor performance, baixo

custo e grande disponibilidade (LOURENÇO; MOLDÃO-MARTINS; ALVES, 2019). Contudo, junto ao seu uso, surgiram também questionamentos quanto à segurança em sua utilização por apresentarem potencial tóxico e carcinogênico, estarem associados a alergias de pele e problemas no trato gastrointestinal (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014; GULCIN, 2020; LOURENÇO; MOLDÃO-MARTINS; ALVES, 2019). Devido a isso, compostos naturais considerados seguros como aqueles presentes em extratos de plantas, ácido ascórbico e tocoferóis têm recebido destaque para esta utilização (AHMED et al., 2017).

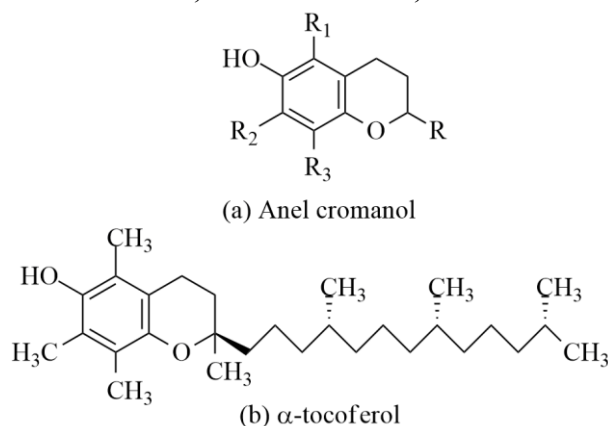
As plantas produzem uma vasta quantidade de metabólitos secundários como flavonóides, óleos essenciais, alcalóides, terpenos, ácidos fenólicos, tocoferóis e outros compostos (GULCIN, 2020). Os antioxidantes são, em grande maioria, compostos fenólicos que estão presentes nas frutas, vegetais, sementes, nozes, folhas, raízes e nas cascas das plantas. Dentre esses compostos fenólicos destacam-se com sua propriedade antioxidante os grupos dos flavonoides, ácidos fenólicos e os tocoferóis.

3.3.2 α -tocoferol

Os tocoferóis são moléculas formadas por dois anéis, chamado de anel cromanol, (Figura 5a) ligados à uma cadeia carbônica chamada de *phytyl* (AZZI, 2018; ENGIN, 2009). Vitamina E é o nome genérico adotado para essa classe de moléculas naturais. As vitaminas E são conhecidas como α , β , γ e δ de acordo com a posição do próton ou do grupo metil ligado ao anel aromático. Apesar de receberem essa denominação, apenas o α -tocoferol é realmente considerado uma vitamina pois é essencial para o funcionamento fisiológico normal dos organismos humanos (AZZI, 2018).

O α -tocoferol é o mais comum e biologicamente ativo entre os oito isômeros da vitamina E, sendo muito conhecido por sua propriedade de inibição de processos de oxidação lipídica (ENGIN, 2009). A atividade antioxidante desse grupo de compostos, em especial do α -tocoferol, é proveniente de sua capacidade de doar o hidrogênio fenólico de sua estrutura (Figura 5b) para radicais livres, interrompendo as reações em cadeia (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

Figura 5 - Estrutura química do anel cromanol (a) e da molécula α -tocoferol (b). $R_1 = \text{CH}_3$ ou H; $R_2 = \text{CH}_3$ ou H; $R_3 = \text{CH}_3$.

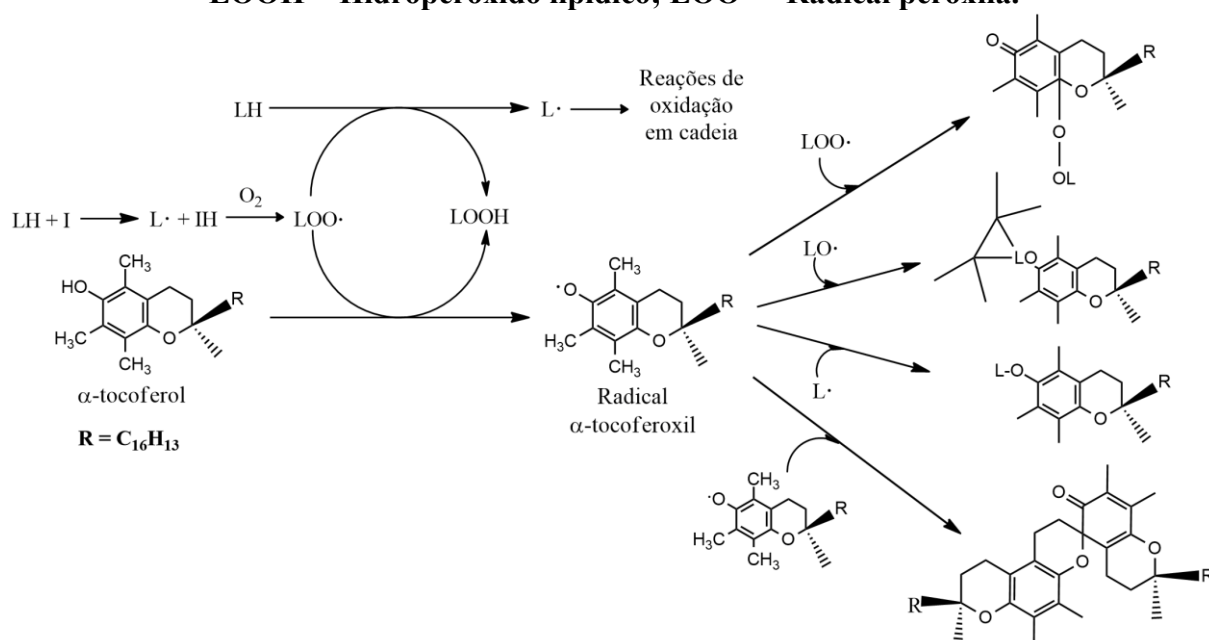


Fonte: A autora.

A oxidação de ácidos graxos poli-insaturados ocorre por meio de uma sequência de reações: a iniciação, propagação e terminação (WOLF, 2005). A reação de iniciação ocorre pela abstração de um hidrogênio de um carbono da cadeia do ácido graxo pela ação de um iniciador que pode ser calor, luz ou metais e é considerada uma etapa lenta. Forma-se então um radical alquila, que na presença de oxigênio molecular dá sequência em reações de propagação, formando novos radicais que atacam outras cadeias lipídicas. Se as reações continuarem, em certo momento irão formar-se produtos estáveis responsáveis pelo gosto, odor e aparência indesejável nos alimentos, a chamada reação de terminação.

Contudo, na presença de α -tocoferol, essas reações de propagação são impedidas pela interrupção deste processo (WOLF, 2005; YAMAUCHI, 1997). O hidrogênio fenólico do α -tocoferol é doado para o radical alquila previamente formado e obtém-se um hidroperóxido orgânico. Forma-se então um radical tocoferoxil muito mais estável do que os radicais alquila, provenientes da oxidação lipídica. Esta estabilidade provém do efeito de ressonância entre os elétrons do anel aromático e o elétron radicalar. O radical tocoferoxil é então removido do ciclo pela reação com outros radicais peroxila, formando produtos não radicalares e inativos ou pela reação com outra molécula dele próprio formando dímeros. A Figura 6 apresenta este esquema de reação.

Figura 6 - Esquema de atuação do α -tocoferol em reações de oxidação lipídica. LH = Lipídio poli-insaturado; I = Iniciador; $L\cdot$ = Radical alquila; $LO\cdot$ = Radical alcóxila; $LOOH$ = Hidroperóxido lipídico; $LOO\cdot$ = Radical peróxila.



Fonte: Adaptado de Yamauchi (1997) e Wolf (2005).

Em um extenso trabalho de revisão, Azzi (2018) mostra que há inúmeras pesquisas evidenciando a função do α -tocoferol, como um antioxidante para eliminação de radicais peróxila e inibidor da peroxidação lipídica em testes *in vitro*, porém os testes *in vivo* foram restritos a evidenciar a proteção em ratos intoxicados com tetracloreto de carbono. Este trabalho ressalta ainda o fato de que os estudos se concentram, basicamente, na propriedade antioxidante dessa molécula e acabam por excluir sua ação por mecanismos adicionais ou mesmo diferentes.

Uma situação em que se observa a atuação do α -tocoferol, não apenas eliminando radicais, mas impedindo sua formação, é no processo de inibição da proteína quinase C, o que acaba impedindo a produção e atuação da oxidase de NADPH, consequentemente, evitando as reações radicalares (AZZI, 2018). Quando o α -tocoferol se encontra na forma fosforilada, este atua na regulação da atividade de inúmeras enzimas, além de ter mostrado resultados de prevenção à aterosclerose em coelhos (GALLI; AZZI, 2010). Também já se evidenciou a efetividade do α -tocoferol no tratamento e prevenção de doenças oculares (ENGIN, 2009).

Os tocoferóis em geral estão presentes no óleo de sementes, folhas e partes verdes das plantas. O α -tocoferol apresenta-se como um óleo viscoso de cor amarela e é insolúvel em

água, porém solúvel em solventes orgânicos, óleos e gorduras (MOTTA, 2012). Por ser uma molécula sintetizada apenas nos vegetais, a ingestão desse tipo de alimento pelos humanos e animais é de extrema importância (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

Considerado pela *US Food and Drug Administration* como seguro, a incorporação de α -tocoferol em embalagens alimentícias no controle da peroxidação lipídica vem sendo extensivamente estudada (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION, 2020). A impregnação de α -tocoferol com CO₂ supercrítico em filmes de PET e PP permitiu a liberação de 100% da concentração do antioxidante adicionada em um período de 24 h, apresentando um pico de liberação de cerca de 50% nas duas primeiras horas em um trabalho realizado por Franco e colaboradores (2019). Em um trabalho utilizando nanopartículas lipídicas para incorporar α -tocoferol em filmes de PVA, um perfil de liberação parecido foi observado, onde houve a liberação de quase 100% em um período de 24 h (DE CARVALHO et al., 2019). Essa liberação rápida, permite a formação de uma camada protetora sobre o alimento dentro da embalagem, que pode prevenir a oxidação nos primeiros dias de armazenamento. O perfil de liberação, no entanto, deve corresponder à cinética de deterioração do alimento (CHEN et al., 2018). Deve-se, portanto, buscar um perfil de liberação condizente com o sistema ao qual será aplicado, uma vez que uma taxa de liberação muito lenta pode liberar uma quantidade insuficiente de ativo para retardar a deterioração, e uma taxa muito rápida pode resultar em um excesso de ativo levando à sua perda por degradação.

3.3.3 Encapsulação de ativos antioxidantes em matriz polimérica

Parte dos antioxidantes naturais são altamente voláteis e apresentam baixa solubilidade em água, além de serem instáveis quando expostos ao ar, luz, diferentes pH, altas temperaturas e umidade (WU; RICHARDS; UNDELAND, 2022). Dentre as possibilidades de melhora na eficiência de embalagens ativas têm-se o processo de encapsulação, que permite a proteção e liberação controlada de antioxidantes aos alimentos. Esta técnica pode ser descrita como um método de aprisionamento de um ingrediente ativo dentro de outra substância imiscível, seja ela sólida ou líquida, levando à formação de cápsulas que podem variar entre poucos nanômetros de diâmetro até alguns milímetros (ĐORDEVIC et al., 2015; FROIIO et al., 2019; WU; RICHARDS; UNDELAND, 2022).

Visando a melhoria de embalagens poliméricas com propriedades antimicrobianas

vêm-se utilizando há algum tempo nanopartículas metálicas, de óxidos metálicos e nanotubos de carbono (SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011). Com esse mesmo intuito, desenvolveram-se nanocápsulas poliméricas que permitem encapsulamento de compostos ativos para liberação controlada em embalagens. Nanocápsulas poliméricas são nanopartículas vesiculares com tamanho inferior à 1 µm, compostas por óleo em um centro envolto por uma fina parede polimérica (BECK; GUTERRES; POHLMANN, 2011). A nanoencapsulação tem apresentado resultados mais efetivos em relação à microencapsulação por apresentar maior estabilidade e compatibilidade com os alimentos, além de as nanocápsulas apresentarem maior área de superfície (BECK; GUTERRES; POHLMANN, 2011; FROIIO et al., 2019). Isto permite melhor distribuição pelo alimento e também aumenta os mecanismos passivos de absorção celular, apresentando maior atividade antimicrobiana. Entretanto, os sistemas microencapsulados ainda apresentam bons resultados de proteção aos ativos.

A presença de uma parede polimérica ao redor de um ativo tem função importante nas propriedades físico-químicas e biológicas de uma nanocápsula, pois atua como uma barreira para a difusão (BECK; GUTERRES; POHLMANN, 2011). A cristalinidade do polímero utilizado para esta função influencia na permeabilidade do ativo, intervindo na interação que o ativo terá com o meio em que é liberado e, conseqüentemente, alterando a velocidade de liberação deste. Uma das características mais importantes na encapsulação de ativos antioxidantes em nanocápsulas poliméricas semi-cristalinas ou amorfas é a capacidade que estas têm de protegê-lo da fotodegradação induzida por radiação UV (BECK; GUTERRES; POHLMANN, 2011).

Nanocápsulas de característica iônica geralmente são as mais utilizadas, porque a presença de cargas em sua superfície permite uma maior estabilidade em solução pela repulsão gerada entre as partículas (BECK; GUTERRES; POHLMANN, 2011). Contudo, nanocápsulas não-iônicas também podem ser utilizadas e estas são constituídas por polímeros hidrofóbicos. Utiliza-se, na maioria dos casos, um surfactante solúvel em água para conferir estabilidade ao sistema, ou copolímeros em bloco que conferem maior hidroflicidade à superfície da nanocápsula para evitar a utilização de surfactantes (BECK; GUTERRES; POHLMANN, 2011).

Para a utilização em sistemas de encapsulação que serão aplicados em alimentos estes polímeros precisam, contudo, satisfazer alguns critérios (FROIIO et al., 2019). É necessário que sejam seguros, biodegradáveis e biocompatíveis, uma vez que serão consumidos.

Precisam ainda proteger o ativo, garantir uma liberação controlada, serem solúveis em água e de baixo custo. Estas características, mantendo as propriedades nutricionais e sensoriais dos alimentos, permitem que este polímero seja comestível e portanto elegível para a encapsulação e aplicação em alimentos. Estes polímeros são geralmente provenientes de polissacarídeos, lipídeos e proteínas, pois são atóxicos, podem ser ingeridos e possuem propriedades que os permitem aprisionar diferentes tipos de compostos ativos (CORTÉS-MORALES; MENDEZ-MONTEALVO; VELAZQUEZ, 2021; FROIIO et al., 2019).

Existem hoje inúmeras técnicas utilizadas para encapsular ativos nas mais diversas áreas da ciência (REIS; AMBROSI; LUCCIO, 2022). Estas técnicas são divididas em dois grandes grupos, métodos de encapsulação químico e físico, cada um apresentando suas vantagens e limitações dependendo da aplicação. O preparo de nano e micropartículas poliméricas pode ser feito tanto a partir de polímeros pré-formados quanto por polimerização dos monômeros, sendo esta a principal diferença entre os métodos físico e químicos (RAO; GECKELER, 2011; REIS; AMBROSI; LUCCIO, 2022).

Por meio dos métodos químicos (como coacervação, gelificação iônica, lipossomas, polimerização por miniemulsão) obtém-se microcápsulas por reações de polimerização utilizando-se os monômeros, pré-polímeros ou interações químicas (REIS; AMBROSI; LUCCIO, 2022). Já os métodos físicos (extrusão, fluidização, liofilização, remoção de solvente, spray a seco e fluido supercrítico) não envolvem reações de polimerização, neste caso a encapsulação ocorre de maneira mecânica.

Outro método de encapsulação é o processo de emulsificação, apesar de ser considerado por alguns pesquisadores apenas como um método de pré-encapsulação; pois requer uma segunda etapa para estabilização das cápsulas formadas (REIS; AMBROSI; LUCCIO, 2022). Isto porque neste caso a parede polimérica que encapsula o ativo não é sólida, o que pode permitir a entrada de pequenas moléculas quando em contato com o alimento ou o ambiente que o envolve. Apesar desta definição, vista de maneira diferente por diferentes autores, esta técnica é uma das que podem ser adotadas para a obtenção de nano e micropartículas. A maioria dos processos utilizados nesta técnica são processos mecânicos e com a presença de duas fases imiscíveis (RAO; GECKELER, 2011; VAUTHIER; BOUCHEMAL, 2009). O primeiro método de preparação de nanopartículas por emulsão desenvolvido e ainda bastante utilizado é o método de evaporação de solvente, em que pode-se trabalhar tanto com emulsões simples, do tipo óleo-em-água (O/A), quanto dupla, do tipo

(água-em-óleo)-em-água ((A/O)/A). Neste método a formação da emulsão dá-se pela homogeneização, em alta velocidade, de um sistema composto pelo polímero, uma fase oleosa, água e um solvente orgânico, ou por ultrassonicação (BECK; GUTERRES; POHLMANN, 2011; RAO; GECKELER, 2011). A evaporação dos solventes, ao final, permite a obtenção das nanopartículas solidificadas.

Este tipo de encapsulação requer alta energia, neste caso fornecida pela homogeneização, para que haja a criação de uma interface entre as fases imiscíveis e criação de um sistema estável (GHAVIDEL; FATEHI, 2021). Para diminuir a tensão interfacial entre as duas fases utiliza-se então um agente emulsificante. Este adsorve entre a interface óleo-água, diminuindo a energia livre do sistema, trazendo conseqüentemente mais estabilidade à mistura e auxilia na formação de pequenas gotículas. A formação das gotículas ocorre quando o agente emulsificador, que pode ser um surfactante ou polímero, por exemplo, forma uma camada em volta de gotículas de óleo, e isto deve manter a estabilidade. Porém, para que o sistema não coaleça, forças de repulsão são necessárias entre as partículas formadas. No caso de emulsões estabilizadas por forças eletrostáticas, como é o caso das formadas por proteínas, fosfolipídios e surfactantes iônicos, mudanças de pH e de força iônica podem desestabilizar a emulsão e enfraquecer a floculação. Já as emulsões estáveis por repulsão estérica, que utilizam polissacarídeos anfifílicos, por exemplo, não são afetadas por estas condições (GHAVIDEL; FATEHI, 2021).

Neste sentido, Granata e colaboradores (2018) estudaram o efeito da liberação de óleos essenciais nanoencapsulados em poli(caprolactona). Os resultados mostraram maior eficiência no combate da atividade microbiana, quando comparado ao uso dos óleos essenciais de maneira livre. Nanopartículas de PVA permitiram o encapsulamento de α -tocoferol e sua liberação total em um período de 48 h, sendo que o pico de liberação foi observado nas duas primeiras horas (ZIGONEANU, 2006). Essa liberação muito rápida de aproximadamente 90% do α -tocoferol nanoencapsulado deve-se, possivelmente, à interação bastante favorável entre o α -tocoferol e o meio no qual este estava sendo liberado (SDS 0,1 mol L⁻¹/NaCl 0,1 mol L⁻¹) e também por uma maior concentração de α -tocoferol próxima da superfície das nanopartículas formadas.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS E REAGENTES

A etil hidroxietyl celulose (EHEC, grau de substituição de grupos etil de 0,9 – 1,0 e de 1,9 – 2,2 de grupos óxido de etileno por unidade de anidroglicose) utilizada foi proveniente da Bermocoll E 230FQ, doada pela Akzo Nobel, Surface Chemistry AB, Suécia. A EHEC foi purificada por diálise ($MWCO = 14.000 \text{ g mol}^{-1}$) em água destilada durante 7 dias. A N,N'-Diciclohexilcarbodiimida (DCC) ($\geq 99\%$), 4-Dimetilaminopiridina (DMAP) ($\geq 95\%$), α -tocoferol ($\geq 96\%$), ácido dodecanóico ($\geq 98\%$), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) ($\geq 97\%$), 2,2'-azino-bis-(ácido 3- etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS), sal diamônio ($\geq 98\%$), dimetil sulfóxido – d6 (99,9%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich e foram utilizados sem prévia purificação. Dimetil sulfóxido (DMSO) (P.A.) e álcool etílico absoluto 99,5% (P.A.) foram adquiridos da marca Anidrol. Para atmosfera inerte foi utilizado gás argônio.

4.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.2.1 Modificação hidrofóbica da EHEC utilizando ácido dodecanóico

A modificação hidrofóbica da EHEC foi realizada por uma reação de esterificação utilizando ácido dodecanóico, DCC e DMAP em DMSO baseando-se nos métodos utilizados por Guerra (2011), Hsieh (2008) e colaboradores. A substituição de grupos OH da EHEC por ácido dodecanóico foi realizada nas proporções de 10 e 20%. Essa modificação foi realizada com o intuito de aumentar e melhorar a interação da EHEC, polímero bastante polar, com o α -tocoferol, que possui característica bastante hidrofóbica.

Em um frasco reacional solubilizaram-se, aproximadamente, 500 mg ($1,77 \times 10^{-3}$ mol por monômero) de EHEC em 30 mL de DMSO sob agitação constante a 700 rpm por um período de 24 h à temperatura ambiente. Após, adicionou-se o ácido dodecanóico (35,4 mg; $1,77 \times 10^{-4}$ mol) correspondendo a 10% mol de monômero de EHEC. Em seguida, ainda sob agitação, adicionou-se DCC (7,3 mg; $3,54 \times 10^{-5}$ mol) e DMAP (4,3 mg; $3,54 \times 10^{-5}$ mol) correspondendo a 20% em mol do ácido dodecanóico previamente adicionado. A mistura reacional foi mantida em agitação sob atmosfera de nitrogênio por 5 min. Após, manteve-se o

sistema vedado e sob agitação constante a 700 rpm por 24 h. A mesma reação foi conduzida trabalhando-se com substituição de 20% de ácido dodecanóico em relação à EHEC.

Após finalizado o tempo de reação, a mistura foi dialisada em água deionizada por 5 dias em uma membrana de diálise ($MWCO = 14.000 \text{ g mol}^{-1}$). Em seguida dispôs-se a mistura em placas de Petri de polipropileno e esta foi seca em estufa à 40 °C. Após a secagem os filmes foram removidos das placas e estocados. Os polímeros modificados foram caracterizados por FTIR, RMN ^1H e tensão superficial.

4.2.2 Preparação de nanopartículas de EHEC-C12/ α -tocoferol

A encapsulação de α -tocoferol em EHEC-C12 foi realizada baseando-se nos métodos adotados por Yan (2019), Hsieh (2008) e colaboradores. Em um frasco reacional foram solubilizados 50 mg de EHEC-C12 em 4 mL de água. Esta suspensão foi mantida sob agitação magnética a 1000 rpm até seu uso. Em outro frasco reacional foram adicionados 5 mg de α -tocoferol e este foi solubilizado em 1 mL de álcool etílico absoluto 99,5%, sob agitação de 2500 rpm, à temperatura ambiente. Este frasco foi mantido vedado e ao abrigo de luz para evitar a degradação do α -tocoferol. Após a completa solubilização dos reagentes, a suspensão de EHEC-C12 foi gotejada sobre a solução alcoólica de α -tocoferol sob agitação de 2500 rpm. Manteve-se a agitação por 10 min, com o sistema fechado, para a formação da emulsão tipo óleo-em-água (O/A). Após obtida, a emulsão de nanopartículas (NP) de EHEC-C12/ α -tocoferol foi armazenada em ambiente ao abrigo de luz para posterior caracterização e/ou mantida sob a agitação de 2500 rpm para sequência dos experimentos. Este mesmo procedimento foi realizado utilizando-se a EHEC modificada com ácido dodecanóico nas proporções de 10 e 20% e variação da massa de α -tocoferol entre 5, 10 e 15 mg.

Em experimentos preliminares a EHEC sem modificação também foi utilizada para o preparo das NP e 10 mg de α -tocoferol foram encapsulados. Esta emulsão foi utilizada para comparação com uma emulsão de NP de EHEC-C12 10% com 10 mg de α -tocoferol. Ambas as emulsões foram preparadas com um volume final de 15 mL de solvente e avaliadas por espalhamento de luz dinâmico (DLS) logo após o preparo. Após, foram armazenadas vedadas e em local escuro pelo período de 1 ano e foram novamente analisadas para verificar sua estabilidade.

4.2.3 Preparação de filmes de EHEC com incorporação de nanopartículas de EHEC contendo α -tocoferol

A preparação dos filmes de EHEC e a incorporação das nanopartículas previamente preparadas foi realizada baseando-se nos métodos adotados por Quero (2011), Yan (2019), Zhang (2010) e colaboradores. Em um balão de fundo redondo solubilizaram-se, aproximadamente, 500 mg de EHEC em 10 mL de água deionizada. Após, à temperatura ambiente e sob agitação a 400 rpm, adicionou-se por gotejamento os 5 mL de emulsão de NP de EHEC-C12 contendo α -tocoferol previamente preparados conforme descrito no item 4.2.2. A coleta desta alíquota da emulsão foi realizada mantendo-a sob agitação de 2500 rpm. A mistura foi mantida sob agitação por 30 minutos a 400 rpm. Após, a solução resultante foi disposta sobre placas de Petri de polipropileno e distribuída de modo a obterem-se filmes de espessura regular e similar entre si. Em sequência, a amostra foi seca à temperatura de 40 °C por aproximadamente 6 dias para obtenção do filme seco. Este mesmo processo foi realizado utilizando-se as NP preparadas a partir de EHEC-C12 10% e 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg (1, 2 e 3% em relação à massa de polímero no filme).

Para efeitos de comparação com os sistemas nanoencapsulados, uma concentração fixa de α -tocoferol foi escolhida para a preparação de filmes em que este foi incorporado de forma livre à matriz polimérica. Neste caso, 10 mg de α -tocoferol foram solubilizados com 1 mL de etanol 99,5% (mesma proporção utilizada no preparo das NP) sob agitação de 2500 rpm e cuidadosamente gotejado sobre a EHEC solubilizada. Em seguida os mesmos passos adotados para os filmes com NP incorporadas foram adotados para a obtenção dos filmes secos. Procedimento similar foi adotado preparando-se um filme contendo apenas EHEC para comparação com os filmes contendo α -tocoferol.

Ao total, oito diferentes filmes foram preparados e estudados. De modo a facilitar sua identificação ao longo da interpretação e discussão de resultados adiante adotou-se uma nomenclatura simplificada (F1 a F8). A Tabela 1, a seguir, sumariza a composição de cada filme e seu código de identificação.

Tabela 1 – Composição dos filmes de EHEC preparados.

Identificação	Composição filme de EHEC		
	EHEC (mg)	Nanopartícula (NP)	Massa de α -tocoferol (mg)
F1	500	EHEC-C12 10%	5
F2	500	EHEC-C12 10%	10
F3	500	EHEC-C12 10%	15
F4	500	EHEC-C12 20%	5
F5	500	EHEC-C12 20%	10
F6	500	EHEC-C12 20%	15
F7	500	-	10
F8	500	-	-

Fonte: A autora.

4.3 CARACTERIZAÇÕES

4.3.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier por reflectância total atenuada (FTIR-ATR)

As análises das amostras preparadas foram realizadas no espectrômetro FTIR Perkin Elmer Frontier na UFSC câmpus Blumenau. A EHEC pura e as modificadas, assim como os filmes preparados, foram avaliados por Refletância Total Atenuada (ATR). Os espectros foram obtidos na faixa de número de onda de 4000 a 450 cm^{-1} , com resolução 2 cm^{-1} e com média de 16 varreduras.

4.3.2 Ressonância magnética nuclear de prótons (^1H RMN)

Para caracterização estrutural das amostras de EHEC e EHEC modificadas hidrofobicamente, ensaios de espectrometria de ressonância magnética nuclear de prótons foram realizados em um espectrômetro de ressonância magnética nuclear de 400MHz da Varian, modelo NMR AS 400, na Central de Análises do Departamento de Química (UFSC-Florianópolis). As amostras de polímero foram dispersas em DMSO- d_6 , em tubos de 5 mm, na concentração de 30 mg mL^{-1} . Obtiveram-se os espectros de ^1H com 256 *scans*.

4.3.3 Tensão superficial

As medidas de tensão superficial foram feitas utilizando um tensiômetro da Surface Electro Optics (SEO), modelo DST30, equipado com um anel de Pt-Ir-20, na UFSC câmpus Blumenau. O anel foi lavado com uma solução de ácido clorídrico ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e enxaguado com água deionizada várias vezes antes de cada medição. Para as medições, soluções estoques de cada polímero ($2,0 \text{ mg mL}^{-1}$) foram preparadas em água deionizada e foram utilizadas para preparar 10,0 mL de cada solução mais diluída.

4.3.4 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

A determinação do diâmetro médio (D_H) e o índice de polidispersão (PDI) das nanopartículas foram realizadas por espalhamento de luz dinâmico (DLS) utilizando um equipamento ZetaSizer Nano S, da Malvern, em uma célula de poliestireno (modelo clear disposable zeta cell) no Departamento de Química da Fundação Universidade Regional de Blumenau - FURB (Blumenau-SC). O instrumento é equipado com um laser He-Ne e opera em comprimento de onda de 633 nm e com ângulo de detecção de 173° . As soluções foram diluídas em 10 vezes. As medidas foram realizadas com temperatura de equilíbrio de 25°C .

4.3.5 Análise termogravimétrica (TGA)

O comportamento térmico dos filmes de EHEC foi avaliado por meio de análise termogravimétrica, onde submeteram-se as amostras a aquecimento progressivo de 25 a 700°C , a uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ sob um fluxo de nitrogênio de 50 mL min^{-1} em um analisador termogravimétrico Shimadzu DTG60-Analyzer. As medidas foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL).

4.3.6 Análise de estabilidade do α -tocoferol nos filmes

Dois experimentos foram conduzidos para avaliar a estabilidade do α -tocoferol incorporado aos filmes. Amostras dos filmes foram dispostas sobre placas de Petri, à condição ambiente, e submetidas a radiação UV no comprimento de onda de 254 nm por um período de

6 h. α -tocoferol puro foi utilizado como controle e mantido nas mesmas condições. As amostras foram analisadas utilizando o espectrofotômetro de UV-visível Shimadzu, modelo 1800, na UFSC câmpus Blumenau, antes e depois da exposição à luz UV para acompanhamento do decaimento da banda de absorção do α -tocoferol em 292 nm.

A estabilidade também foi avaliada por um período de 72 dias em que as amostras foram mantidas em condição ambiente, ao abrigo de luz. Medidas de absorbância no comprimento de onda de 292 nm foram realizadas nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 56 e 72 dias. Análises no espectrômetro FTIR Perkin Elmer Frontier também foram realizadas para acompanhar mudanças em bandas características do α -tocoferol no espectro.

4.3.7 Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As medidas de MEV para caracterização da morfologia dos filmes foram realizadas no Microscópio Eletrônico de Varredura da marca JEOL JSM- 6390LV, com aceleração de 0,5 a 30 kV, magnificação de 1.500 \times no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) na UFSC câmpus Florianópolis. Os ensaios morfológicos foram realizados fixando os filmes em suporte de cobre utilizando fita dupla-face e recobrando-os com uma camada de ouro de 30 nm. As observações foram realizadas na superfície dos filmes e também na seção transversal, sendo que para esta última os filmes foram previamente fraturados por imersão em nitrogênio líquido.

4.3.8 Propriedades mecânicas dos filmes

Os ensaios de determinação das propriedades mecânicas foram realizados por meio de testes de tração em ambiente climatizado (23 °C) utilizando-se um Texturômetro da marca Stable Micro Systems, modelo TA.HD Plus (equipado com o software Exponent) a uma velocidade de estiramento de 1 mm s⁻¹ e distância entre as garras de 50 mm e célula de carga de 50 kg, na UFSC câmpus Florianópolis.

Os corpos de prova das amostras foram preparados em tamanhos de 10 mm \times 60 mm. Aplicou-se fita adesiva nas extremidades de modo a evitarem-se erros de medida devido à ruptura causada pela pressão das garras do equipamento nos filmes poliméricos. A espessura dos filmes foi mensurada utilizando-se um paquímetro digital e os ensaios foram realizados

em triplicata.

4.3.9 Ângulo de contato e energia de superfície

Os ensaios para determinação do ângulo de contato e energia de superfície foram realizados utilizando-se três diferentes solventes. Água destilada foi utilizada como solvente polar, diiodometano como solvente apolar e formamida por apresentar polaridade intermediária entre os outros dois solventes. Três μL de solvente foram depositados diretamente sobre a superfície de uma amostra de filme seco e as medidas de ângulo de contato foram feitas utilizando um goniômetro ramé-Hart, modelo 250, equipado com câmera e o software Drop Image, na UFSC câmpus Florianópolis.

Com a obtenção do ângulo de contato dos diferentes filmes foi possível determinar também a energia total de superfície pela utilização do método Owens-Wendt. Método este usualmente empregado para sólidos que apresentam baixa energia de superfície como é o caso dos polímeros (JAMSHIDIAN et al., 2012). Este método baseia-se na teoria de que a energia de superfície se divide em dois diferentes componentes, um devido às interações dispersivas, como ligações de van der Waals, e outro associado a interações polares do material (JAMSHIDIAN et al., 2012; MOUTINHO; FIGUEIREDO; FERREIRA, 2007). Desta forma, a energia total de superfície de um sólido, γ_s , é calculada pela soma das contribuições dos componentes polar, γ_s^p , e dispersivo, γ_s^d , conforme Equação 1.

$$\text{Equação 1. } \gamma_s = \gamma_s^p + \gamma_s^d$$

Associando-se então o ângulo de contato de diferentes líquidos, θ , polares e apolares e plotando-se um gráfico de $(\gamma_L(1 + \cos\theta))/(2(\gamma_L^d)^{1/2})$ versus $(\gamma_L^p\gamma_L^d)^{1/2}$; sendo que γ_L é a tensão superficial de cada líquido; e obtendo-se a inclinação da reta e o intercepto, foi possível a obtenção dos componentes polar e dispersivo, respectivamente (JAMSHIDIAN et al., 2012). Assim, a equação final (Equação 2) para a obtenção da energia total de superfície de cada filme é:

$$\text{Equação 2. } (\gamma_L(1 + \cos\theta))/(2(\gamma_L^d)^{1/2}) = ((\gamma_L^p\gamma_L^d)^{1/2}) / (\gamma_L^d)^{1/2} + (\gamma_s^d)^{1/2}$$

Estes cálculos foram realizados diretamente pelo software Drop Image utilizando os seguintes valores para a água destilada ($\gamma = 72,8 \text{ mN m}^{-1}$, $\gamma^d = 21,8 \text{ mN m}^{-1}$, $\gamma^p = 51,0 \text{ mN m}^{-1}$); para o diiodometano ($\gamma = 50,8 \text{ mN m}^{-1}$, $\gamma^d = 50,8 \text{ mN m}^{-1}$, $\gamma^p = 0 \text{ mN m}^{-1}$); e para a formamida ($\gamma = 58,0 \text{ mN m}^{-1}$, $\gamma^d = 39,0 \text{ mN m}^{-1}$, $\gamma^p = 19,0 \text{ mN m}^{-1}$).

4.3.10 Permeabilidade ao vapor de água

O ensaio de permeabilidade foi realizado baseando-se no método descrito por Mali e colaboradores (2004). Para este ensaio, foram avaliadas as amostras F2, F5, F7 e F8 em triplicata. Cada filme foi disposto sobre uma abertura circular de $1,89 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ em uma célula de permeação contendo cloreto de cálcio anidro em seu interior, e armazenado em um dessecador a 25°C . Para manter a umidade relativa dentro do dessecador em 75% utilizou-se uma solução saturada de cloreto de sódio. Após, acompanhou-se o ganho de massa das células de permeação para a determinação da permeabilidade ao vapor de água. As medidas de massa foram realizadas em 24, 48, 72, 96 e 168 h e foram plotadas em função do tempo. O coeficiente angular de cada gráfico foi obtido pela regressão linear ($R^2 > 0,99$) da reta. A taxa de transmissão do vapor de água (WVTR) foi calculada a partir do coeficiente angular (g/s) dividido pela área de transferência (m^2). Após finalizado o ensaio de permeação mediu-se a espessura dos filmes e este valor foi utilizado para calcular a permeabilidade ao vapor de água (WVP) conforme Equação 3.

$$\text{Equação 3. WVP} = \frac{\text{WVTR} \times D}{S(R_1 - R_2)}$$

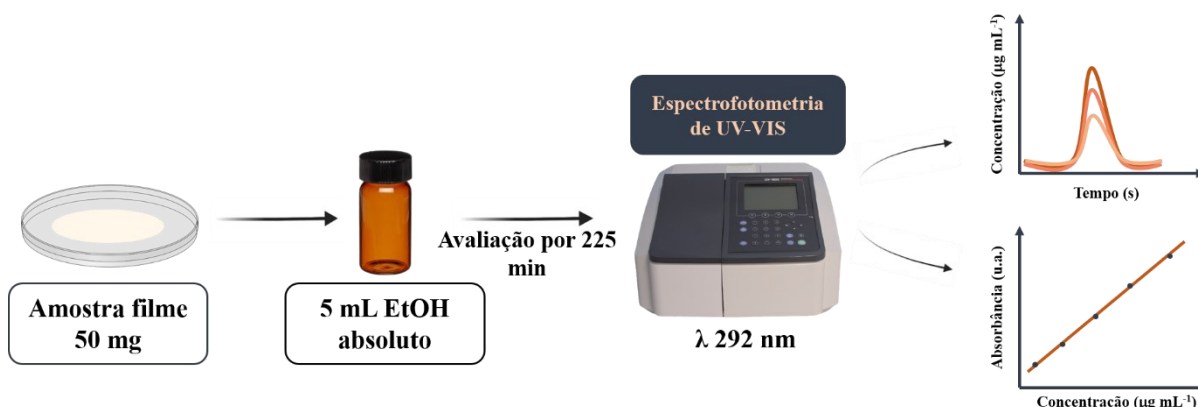
Em que S é a pressão de vapor de saturação da água (Pa) à 25°C . R_1 é a umidade relativa no dessecador, R_2 é a umidade relativa na célula de permeação e D é a espessura do filme (m).

4.3.11 Liberação do α -tocoferol dos filmes

A avaliação da liberação de α -tocoferol foi realizada baseando-se na norma diretiva 82/711/EEC (THE COUNCIL OF THE EUROPEAN COMUNITIES, 1982) que estabelece regras para a verificação de migração de constituintes de materiais poliméricos para os alimentos

e também pelo método adotado por Motta (2012). O ensaio foi realizado utilizando-se amostras de 50 mg dos filmes preparados e imergindo-os em 5 mL de etanol absoluto em frascos âmbar de 5 mL, conforme apresenta a Figura 7. As amostras foram armazenadas ao abrigo da luz e à temperatura ambiente e avaliadas por um período total de 225 minutos. Os ensaios foram realizados em triplicata. A determinação da concentração de α -tocoferol liberada foi realizada por espectroscopia na região do UV, no espectrofotômetro de UV-Vis 1800 da marca Shimadzu, na UFSC câmpus Blumenau, no comprimento de onda de 292 nm, com curva analítica preparada e validada utilizando α -tocoferol como padrão. Os resultados obtidos foram expressos como porcentagem de liberação em relação ao teor teórico em função do tempo e avaliados em diferentes modelos matemáticos para determinação da constante de velocidade de liberação.

Figura 7. Esquema representativo do ensaio de liberação de α -tocoferol dos filmes de EHEC em etanol absoluto.



Fonte: A autora.

4.3.12 Determinação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada baseando-se nos procedimentos descritos por Motta (2012) e De Carvalho e colaboradores (2019) em que a atividade antioxidante é determinada por método colorimétrico por reação do α -tocoferol com os radicais 2,2-difenilpicrilhidrazil (DPPH) e 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). A atividade é observada pelo decaimento na absorbância do radical em função do aumento da concentração do antioxidante em solução.

A mesma amostra utilizada para o ensaio de avaliação da liberação de α -tocoferol

foi utilizada para a determinação da atividade antioxidante e os ensaios foram realizados pelo mesmo período de tempo. Após, alíquotas da solução etanólica resultante foram utilizadas para reação com os radicais conforme descrito a seguir.

4.3.12.1 Método DPPH

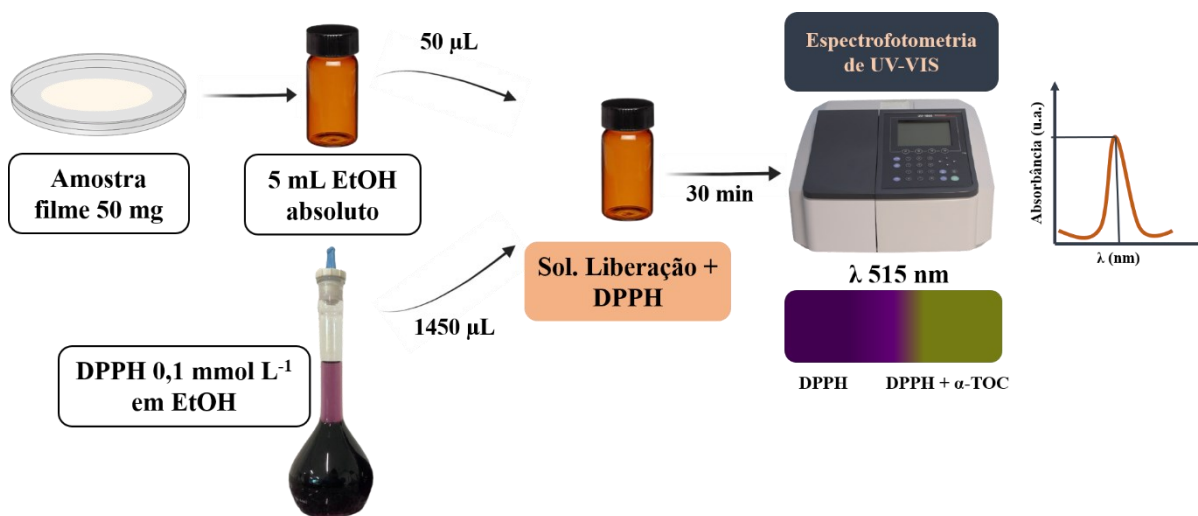
Para a avaliação da atividade antioxidante dos filmes com α -tocoferol contra o radical DPPH preparou-se uma solução de 1 mmol L^{-1} (19,5 mg de DPPH em 50 mL de etanol absoluto). Esta solução foi diluída na proporção de 1:10 em etanol absoluto resultando em uma solução de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ que foi então utilizada nas análises.

Uma alíquota de $50 \mu\text{L}$ da amostra de liberação foi adicionada à $1450 \mu\text{L}$ da solução de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de DPPH em um frasco âmbar de 5 mL. O frasco foi mantido vedado ao abrigo de luz e a amostra deixada reagir por 30 min. Após, esta foi analisada em um espectrofotômetro de UV-Vis no modo varredura do espectro em que o comprimento de onda de interesse foi 515 nm, conforme apresenta a Figura 8. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada amostra e a absorbância máxima obtida foi utilizada para calcular a atividade de inibição do radical utilizando a Equação 4 a seguir:

$$\text{Equação 4. \% de inibição do radical} = [(A_{DPPH} - A_{Amostra})/A_{DPPH}] \times 100$$

Onde A_{DPPH} representa a absorbância do radical DPPH e $A_{Amostra}$ representa a absorbância da amostra.

Figura 8. Esquema representativo do ensaio de determinação da atividade antioxidante dos filmes de EHEC contendo α -tocoferol contra o radical DPPH.



Fonte: A autora.

4.3.12.2 Método ABTS

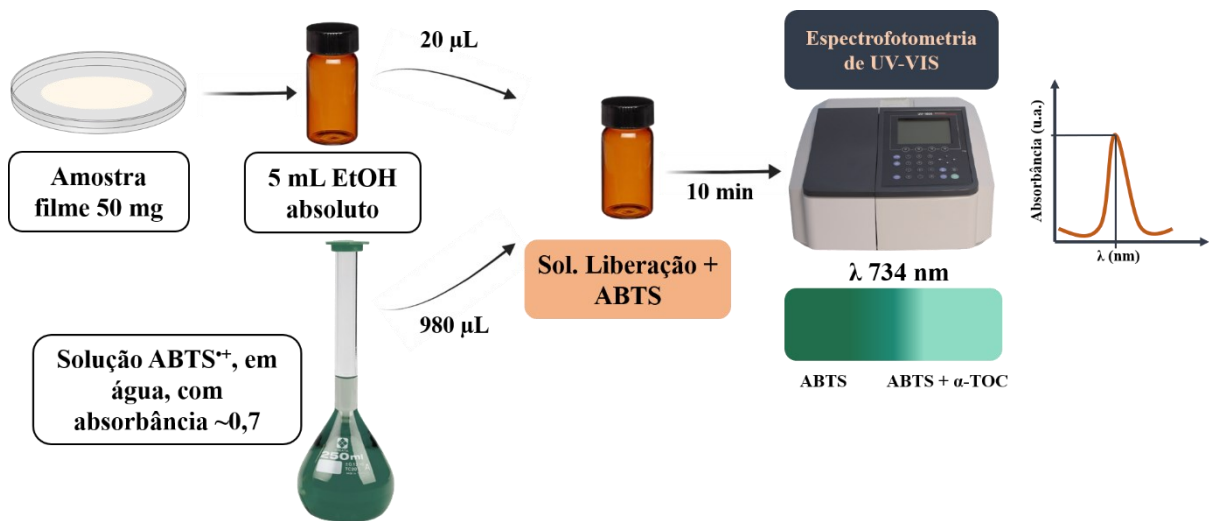
Para a determinação da porcentagem de inibição do radical ABTS utilizou-se como base o método descrito por Re e colaboradores (1999) em que uma solução de 7 mmol L⁻¹ de ABTS foi preparada pela dissolução de 53,7 mg de ABTS em 15 mL de água. Uma segunda solução de 2,45 mmol L⁻¹ de persulfato de potássio foi preparada pela dissolução de 9,9 mg deste reagente em 15 mL de água. Ambas as soluções foram misturadas e deixadas reagir por 20 h para a formação do cátion radical ABTS (ABTS^{•+}). Após a mistura há a imediata reação de oxidação do ABTS, mas é preciso que todo ele seja oxidado, e conforme isto ocorre é possível observar a mudança de coloração da solução translúcida verde claro para um tom de verde escuro. Entretanto, após a completa reação foi necessário ajustar a concentração da solução de modo que se obteve uma absorvância em torno de 0,7. Isto foi feito pela diluição de 2 mL da solução de ABTS em 98 mL de etanol absoluto (diluição de 1:50).

Com a absorvância ajustada adicionaram-se 980 µL desta solução a 20 µL de cada amostra obtida a partir da liberação do α -tocoferol. Após 10 min, as amostras foram analisadas por espectrofotometria de UV-Vis no modo varredura de espectro, conforme apresenta a Figura 9. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada amostra e a porcentagem de inibição do radical ABTS foi calculada a partir da Equação 5 utilizando-se o comprimento de onda máximo de 734 nm.

$$\text{Equação 5. \% de inibição do radical} = [(A_{ABTS} - A_{Amostra})/A_{ABTS}] \times 100$$

Onde A_{ABTS} representa a absorvância do radical ABTS e $A_{Amostra}$ representa a absorvância da amostra.

Figura 9. Esquema representativo do ensaio de determinação da atividade antioxidante dos filmes de EHEC contendo α -tocoferol contra o radical ABTS.



Fonte: A autora.

4.3.13 Análise estatística

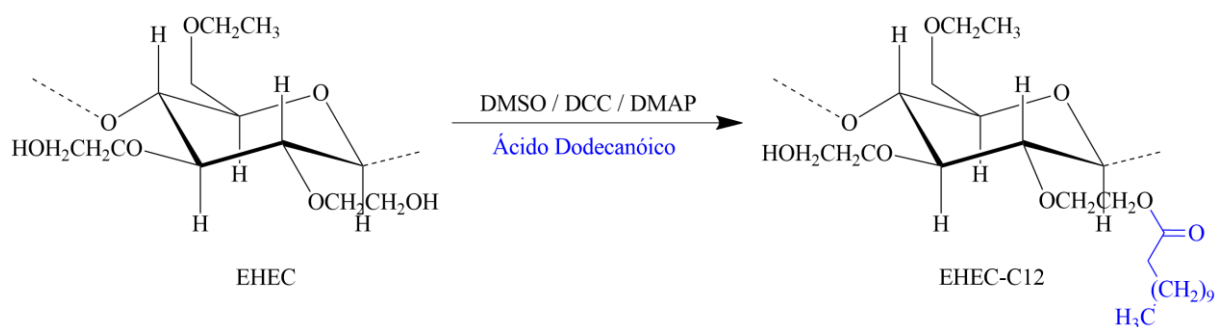
A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o Software Minitab® (versão 20.3, 2021 Minitab LLC, EUA). Para a determinação de diferenças significativas realizou-se o teste de Tukey e os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão. Foram considerados resultados estatisticamente diferentes aqueles que apresentaram valores p menores que 0,05.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 OBTENÇÃO DA EHEC MODIFICADA HIDROFOBICAMENTE (EHEC-C12)

As modificações hidrofóbicas da EHEC com o ácido dodecanóico (Figura 10) foram realizadas com o intuito de diminuir a hidrofiliicidade do polímero por meio da presença de um grupo hidrofóbico ligado à cadeia principal, proporcionando maior estabilidade e visando melhorar a dispersão das emulsões com α -tocoferol. As reações de esterificação da EHEC foram realizadas nas proporções de 10% e 20% de ácido dodecanóico. Os polímeros modificados foram caracterizados por FTIR-ATR e ^1H RMN para confirmar a modificação e a porcentagem de substituição do polímero.

Figura 10 - Reação de esterificação da EHEC utilizando DCC, DMAP e ácido dodecanóico para obtenção da EHEC-C12, a 25,0°C.



Fonte: A autora.

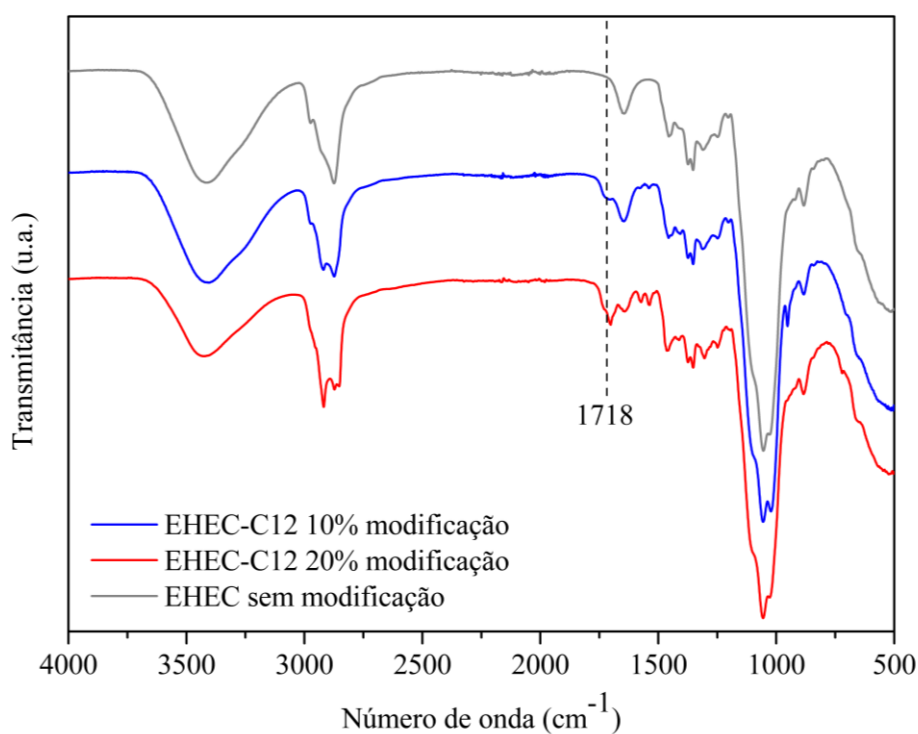
5.1.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier – FTIR

Por meio da análise de espectroscopia de infravermelho foi possível identificar os grupos funcionais presentes no polímero. A reação de esterificação da EHEC com ácido dodecanóico leva à formação de uma ligação do tipo éster, o que gera um movimento vibracional diferente dos demais presentes na estrutura do polímero em estudo, permitindo assim a comprovação da modificação.

A Figura 11 apresenta os espectros de infravermelho do filme de EHEC e das EHEC modificadas nas proporções de 10% e 20%. As bandas de absorção características da EHEC podem ser observadas em aproximadamente 3500 cm^{-1} referente à deformação axial de ligações

O–H, em aproximadamente 1040 cm^{-1} referente à deformação angular de O–H associado à banda de deformação axial C–O (ŞEN; KAHRAMAN, 2018). Em aproximadamente 1450 cm^{-1} observam-se as bandas de deformação angular de CH_2 e em aproximadamente 1375 cm^{-1} as bandas de deformação angular de CH_3 dos grupos óxido de etileno da EHEC (LANGKILDE; SVANTESSON, 1995). Diferentemente da EHEC pura, as amostras de EHEC-C12 apresentam em 1718 cm^{-1} a banda de deformação axial de C=O, confirmando a formação da ligação tipo éster na molécula (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, 2021). Também é possível observar a presença da banda referente à deformação axial de C–H em aproximadamente 2900 cm^{-1} característica de alcanos, proveniente da cadeia de ácido dodecanóico.

Figura 11 – Espectros de FTIR-ATR dos filmes de EHEC sem modificação e modificados com ácido dodecanóico nas proporções de 10% e 20%.



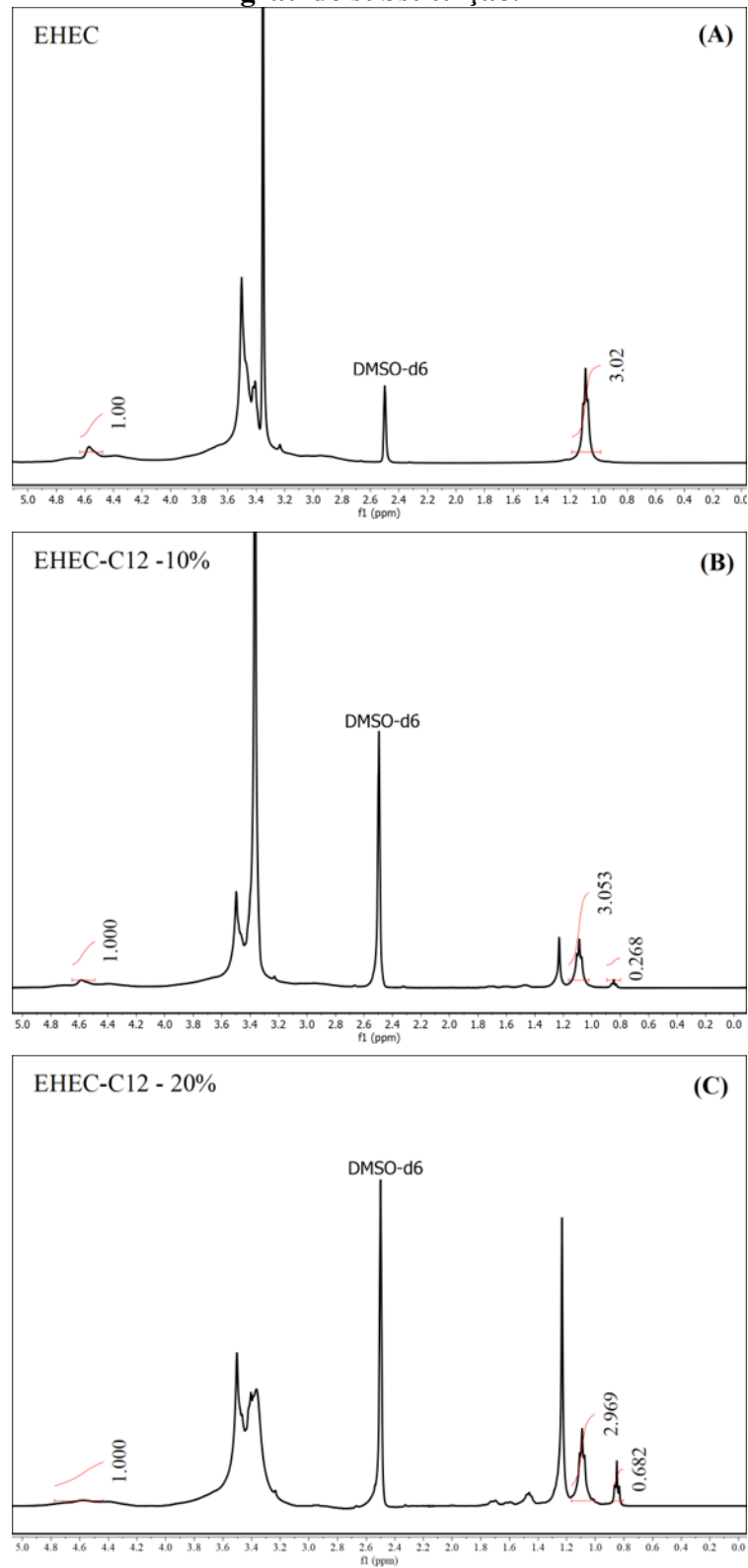
Fonte: A autora.

5.1.2 Ressonância magnética nuclear de próton – ^1H RMN

As modificações da EHEC por esterificação foram caracterizadas por RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6). A Figura 12A mostra o espectro de RMN de ^1H para a EHEC pura, exibindo

sinais do grupo $-\text{CH}_3$ (*t*, δ 1,07 ppm), os grupos $-\text{CH}_2-$ e $-\text{OH}$ (*m*, δ 3,0 e 4,0 ppm) e o hidrogênio anomérico (*s*, δ 4,6 ppm). As Figuras 12B e 12C mostram os espectros de RMN de ^1H para as EHEC modificadas em 10% (EHEC-C12-10%) e em 20% (EHEC-C12-20%). Estas exibem sinais do grupo $-\text{CH}_3$, (dodecanoato) (*t*, δ 0,85 ppm), os grupos $-\text{CH}_2-$ (dodecanoato) e $-\text{CH}_3$ (EHEC) (*m*, δ 1,00 e 1,10 ppm), ainda sinais dos grupos $-\text{CH}_2-$ (dodecanoato) (δ 1,22-1,70 e ppm), os grupos $-\text{CH}_2-$ e $-\text{OH}$ (*m*, δ 3,0 – 4,0 ppm) e o hidrogênio anomérico (*s*, δ 4,6 ppm). Os graus de substituição foram estimados a partir da integração das áreas dos sinais correspondentes aos grupos $-\text{H}$ (anomérico) e $-\text{CH}_3$ (dodecanoato). Obteve-se aproximadamente 9,0% e 23% de substituição, para EHEC-C12-10% e EHEC-C12-20%, respectivamente.

Figura 12 - Espectros de ^1H RMN de EHEC pura (A), EHEC-C12-10% (B) e EHEC-C12-20% (C) em DMSO- d_6 . Estão indicadas as integrais utilizadas para o cálculo do grau de substituição.

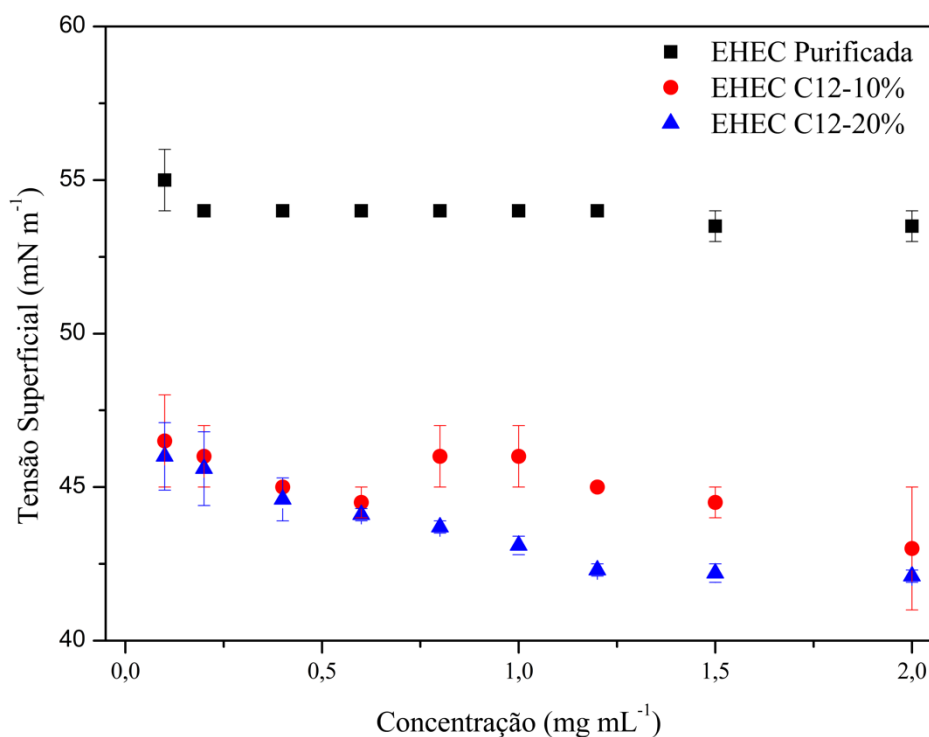


Fonte: A autora.

5.1.3 Tensão superficial

A atividade na superfície para a EHEC e as EHECs modificadas foram analisadas através de um tensiômetro de anel, com soluções aquosas dos polímeros a 25°C. A Figura 13 mostra os valores de tensão superficial para as EHECs em função da concentração de polímero. A EHEC pura apresentou uma diminuição da tensão superficial em relação à água pura (72,8 mN m⁻¹). Na faixa de concentração estudada, a tensão superficial permaneceu praticamente constante em aproximadamente 54,5 mN m⁻¹. As EHECs modificadas apresentaram maior atividade na superfície, o que indica característica tensoativa, causada pela presença dos grupos alquílicos adicionados a cadeia do polímero. A tensão superficial diminuiu para aproximadamente 45,0 mN m⁻¹ para a EHEC C12-10% e 43,0 mN m⁻¹ para a EHEC C12-C20%.

Figura 13 – Gráfico de variação da tensão superficial da EHEC e EHEC modificada em função da concentração em solução aquosa.



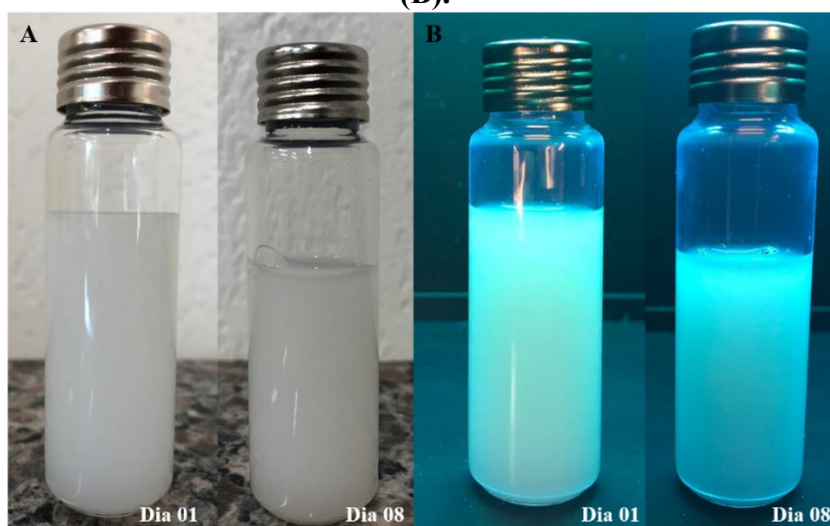
Fonte: A autora.

5.2 OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE EHEC-C12/ α -TOCOFEROL

A metodologia de preparo das nanopartículas (NP) foi adaptada até chegar-se à descrita no item 4.2.2, sendo que em um dos ensaios preliminares utilizou-se um volume total de solvente de 15 mL. Neste ensaio, foi possível observar a formação de uma emulsão de coloração branco leitosa, quando a EHEC dissolvida foi adicionada sobre a solução alcóolica contendo o α -tocoferol, indicando a possível formação das NP. As demais emulsões foram sempre preparadas com volume final de 5 mL de solvente, para todas as três concentrações de α -tocoferol utilizadas.

Na Figura 14 é possível observar a emulsão formada no dia do preparo e após sete dias sob luz fluorescente e sob a incidência de luz UV (365 nm). A emissão de fluorescência da solução era esperada, visto que o α -tocoferol possui em sua estrutura um anel aromático com um grupo hidroxil (-OH) associado. Quando uma luz UV é incidida sobre esta estrutura a molécula é eletronicamente excitada pela absorção de um fóton. Quando os elétrons voltam para o seu estado fundamental a molécula emite radiação no mesmo comprimento de onda de absorção, conferindo-lhe então fluorescência.

Figura 14 – Emulsão de NP de EHEC-C12 10%/ α -tocoferol por um período de oito dias sob luz fluorescente (A) e sob luz UV com comprimento de onda de excitação de 365 nm (B).



Fonte: A autora.

Visualmente a emulsão permaneceu estável entre os dias 01 e 08, pois não foram observadas mudanças na amostra como coalescência, por exemplo, o que seria um indicativo

de aglomeração das partículas formadas. Esta mesma emulsão foi armazenada vedada e mantida ao abrigo da luz por 8 meses e não foi observada coalescência.

5.2.1 Espalhamento de luz dinâmico - DLS

Foram avaliadas pela técnica de espalhamento de luz dinâmico quatro diferentes emulsões de NP. Em um dos ensaios preliminares preparou-se uma emulsão de NP de EHEC sem modificação encapsulando 10 mg de α -tocoferol e outra utilizando EHEC-C12 com 10% de modificação. Ambas as emulsões foram avaliadas por DLS logo após o preparo e depois armazenadas, vedadas e ao abrigo de luz por 1 ano, quando foram então avaliadas novamente. Outras duas emulsões foram preparadas e avaliadas após o preparo, uma com EHEC-C12 10% e outra com EHEC-C12 20% de modificação e 10 mg de α -tocoferol. A Tabela 2 apresenta os resultados de diâmetro hidrodinâmico (D_H) médio e índice de polidispersão (PDI) das partículas destas emulsões.

Para a emulsão com EHEC não modificada obtiveram-se NP com D_H médio de 437 ± 189 nm e índice de polidispersão (PDI) de 0,201. Já para as NP de EHEC-C12 10% o D_H médio obtido foi 737 ± 206 nm, e um PDI de 0,140. O tamanho médio maior das NP de EHEC-C12 em relação às sem modificação pode ser explicado pela maior interação entre o α -tocoferol e a estrutura mais hidrofóbica da EHEC. Isto porque a presença de uma cadeia carbônica lateral com 12 carbonos faz com que mais α -tocoferol seja encapsulado pelo polímero modificado. Os valores de PDI obtidos para as amostras indicam uma distribuição uniforme de tamanho das nanopartículas formadas após o processo de emulsificação pois, comumente, consideram-se valores de PDI abaixo de 0,30 uma monodispersão (DANAIEI et al., 2018; KONG; KUTTY, 2021). O mesmo padrão de tamanho e PDI foi observado para a replicata de EHEC-C12 10% e para a emulsão de EHEC-C12 20% contendo 10 mg de α -tocoferol. Assim, o método de preparo das NP, além de ser bastante simples, permite a obtenção de baixas dispersões, sendo também reprodutível.

Tabela 2 – Tamanho hidrodinâmico e índice de polidispersão de emulsões de NP de EHEC e EHEC-C12 com 10 mg de α -tocoferol.

Emulsão NP	Composição emulsão		Data da análise	D _H (nm)	PDI
	Modificação C12 (%)	Massa de α -tocoferol (mg)			
EHEC	-	10	Após preparo - 2021	437±189	0,201
			Após 1 ano - 2022	750±245	0,230
EHEC-C12	10	10	Após preparo - 2021	737±206	0,140
			Após 1 ano - 2022	712±198	0,128
EHEC-C12	10	10	Após preparo - 2022	722±209	0,194
EHEC-C12	20	10	Após preparo - 2022	665±213	0,217

Fonte: A autora.

A emulsão de EHEC-C12 10% armazenada por 1 ano também se mostrou estável e não apresentou aumento no tamanho das nanopartículas, enquanto que as NP de EHEC sem modificação apresentaram D_H 72% maior em comparação a 1 ano antes. Isto indica que as partículas sem modificação tendem a aglomerar (coalescer) ao longo do tempo, enquanto que o efeito estérico, resultante da presença das cadeias de ácido dodecanóico, mantém a estabilidade das NP formadas pelos polímeros modificados.

Granata e colaboradores (2018) também observaram a estabilidade de suas partículas poliméricas de poli(ϵ -caprolactona) com óleo essencial de orégano e tomilho na presença de polissorbatos 80. Por um período de 30 dias nas temperaturas de 4 °C e 40 °C não houve variação significativa no tamanho e índice de polidispersão dos nanosistemas, tanto pela presença das cargas negativas do polímero quanto pelo efeito estérico causado pela presença do polissorbato 80. Byun e colaboradores (2011) utilizaram poli(ϵ -caprolactona) nas proporções de 300 mg e 500 mg para encapsular 10 mg de α -tocoferol e obtiveram NP de tamanho similar aos deste trabalho. O procedimento de preparo adotado foi a ultrassonicação seguido da adição de PVA e agitação magnética vigorosa para formação das nanopartículas. Utilizando a mesma quantidade de α -tocoferol utilizada no presente trabalho os pesquisadores obtiveram NP variando de tamanho entre $247,70 \pm 1,65$ a $1.070 \pm 55,75$ nm dependendo das variáveis adotadas. Entretanto, vários dos sistemas apresentaram valores de PDI superiores a 0,30 (0,1 a 0,7).

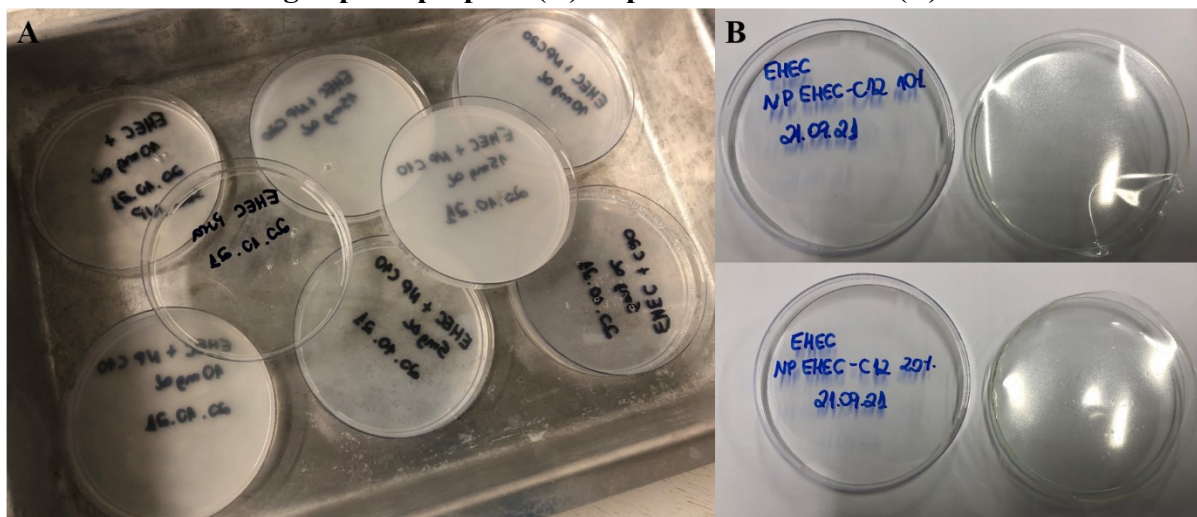
Ma e colaboradores (2021) prepararam cápsulas de α -tocoferol em etil celulose com diferentes viscosidades por um método bastante similar, utilizando agitação de 600 rpm por 30

min. Os autores observaram que com o aumento da viscosidade do polímero (9 cP para 200 cP) o tamanho médio das partículas diminuiu de 72.596 ± 979 nm para 245 ± 1 nm. Em geral, quatro estágios principais são observados na formação das partículas: supersaturação, criação da nucleação, crescimento dos núcleos e aglomeração. Estes processos influenciam o tamanho e distribuição das partículas. Isto porque as partículas de etil celulose de menor viscosidade tendem a aglomerar. A razão é que o aumento da viscosidade do polímero é resultado do aumento da massa molar, consequentemente aumentando a repulsão estérica. Por isto que as partículas preparadas com etil celulose de maior viscosidade apresentaram menor tamanho.

5.3 INCORPORAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS NOS FILMES DE EHEC

Após a obtenção das emulsões de NP prepararam-se os filmes de EHEC aos quais incorporaram-se as NP. A Figura 15A mostra os filmes logo após o preparo e a Figura 15B mostra os filmes após secos.

Figura 15 – Filmes de EHEC com a incorporação de α -tocoferol livre e nanoencapsulado logo após o preparo (A) e após secos em estufa (B).



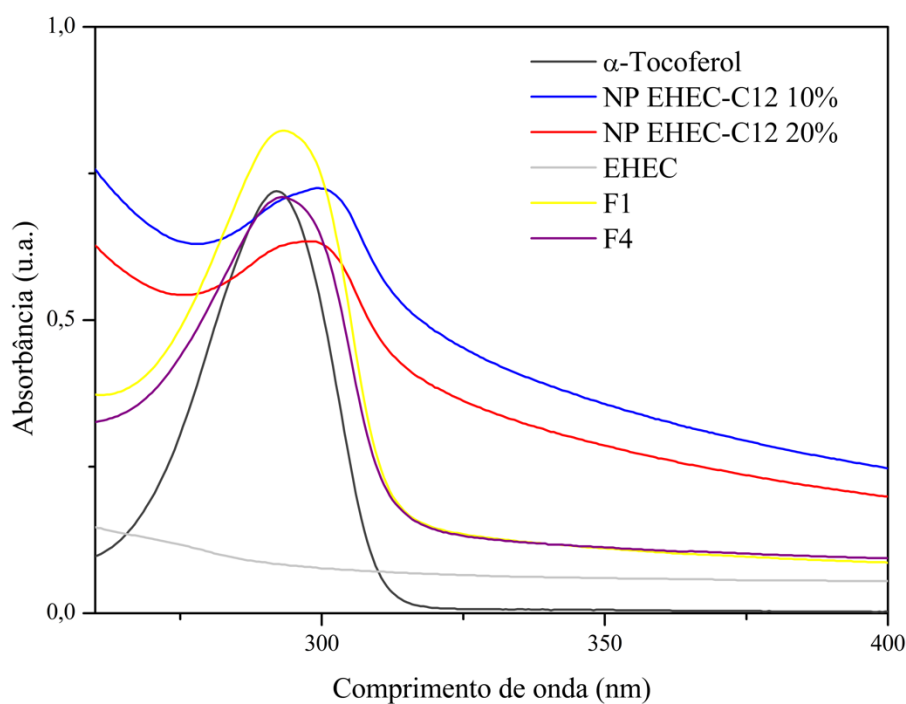
Fonte: A autora.

Estes filmes foram então analisados por espectroscopia de UV-Vis de modo a identificar a presença de α -tocoferol e comprovar sua incorporação. A Figura 16 apresenta os espectros de UV-Vis dos filmes preparados, assim como as emulsões diluídas das nanopartículas incorporadas aos filmes. Os ensaios foram realizados no modo varredura de

espectro com comprimento de onda de interesse em 292 nm, referente ao α -tocoferol (MOTTA, 2012).

A incorporação de α -tocoferol nos filmes foi confirmada pela presença da banda característica do composto. A mesma banda de absorção é observada nos espectros das amostras de emulsão de NP com EHEC-C12 10% e EHEC-C12 20%, enquanto que na amostra de EHEC pura esta banda não aparece.

Figura 16 – Espectro de absorbância de UV-Vis das emulsões de NP de EHEC-C12/ α -tocoferol modificadas com 10 e 20%, dos filmes de EHEC puro e com a incorporação das NP: F1 com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e F4 com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 5 mg de α -tocoferol.



Fonte: A autora.

5.4 AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO DE α -TOCOFEROL DOS FILMES

Para a avaliação da liberação de α -tocoferol dos filmes construiu-se uma curva analítica de α -tocoferol com faixa linear de trabalho entre $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $200 \mu\text{g mL}^{-1}$, em triplicata. Obteve-se um coeficiente de correlação linear de 0,9997 apresentando a equação $y = 0,00681x - 0,0467$. O limite de quantificação (LOQ) determinado para o método foi $20 \mu\text{g mL}^{-1}$.

¹, conforme primeiro ponto da curva. O gráfico da curva preparada pode ser visto no Apêndice A.

A partir da curva analítica calculou-se a concentração de α -tocoferol liberado para cada amostra em determinado tempo. Os resultados foram convertidos para porcentagem de liberação e estão apresentados na Tabela 3.

Nos primeiros 15 min de liberação, para todas as sete amostras avaliadas, a porcentagem de α -tocoferol liberado ficou em torno de 50%. Para o filme F5 o valor médio de α -tocoferol liberado foi de $46,86 \pm 10,44\%$, sendo a amostra que apresentou menor porcentagem média de liberação neste tempo. Os filmes que liberaram maior quantidade de α -tocoferol foram F4, $60,89 \pm 6,47\%$ e F2, $60,88 \pm 1,33\%$. Com a aplicação do teste de Tukey para avaliação estatística nos primeiros dois monitoramentos, 15 e 45 min, não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os filmes. Isto indica que em um primeiro contato com o solvente simulador de alimentos gordurosos, etanol absoluto, a encapsulação ou não do α -tocoferol com EHEC modificada não teve influência. O mesmo pode ser dito para a quantidade de α -tocoferol incorporada aos filmes, sendo que a incorporação de 5 mg ou 15 mg de α -tocoferol não leva a uma liberação mais rápida ou mais lenta, pois as porcentagens liberadas não apresentaram diferença significativa em termos estatísticos.

Tabela 3 - Cinética de liberação de α -tocoferol dos filmes de EHEC em etanol absoluto por 225 minutos.

Tempo (minutos)	Filmes						
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
15	55,70±4,06 ^A	60,88±1,33 ^A	54,56±10,63 ^A	60,89±6,47 ^A	46,86±10,44 ^A	57,81±10,14 ^A	58,56±9,87 ^A
45	93,34±2,53 ^A	83,92±5,76 ^A	76,92±7,09 ^A	88,90±2,17 ^A	79,37±2,70 ^A	76,54±7,92 ^A	85,44±1,74 ^A
75	98,06±1,31 ^{AB}	94,61±2,33 ^B	92,36±3,63 ^B	98,81±1,82 ^{AB}	100,20±1,48 ^{AB}	102,22±3,16 ^A	93,82±0,70 ^B
105	99,00±1,54 ^{BC}	96,71±0,47 ^C	98,94±0,4 ^{BC}	101,87±2,01 ^{AB}	103,64±0,48 ^A	104,02±1,74 ^A	97,55±1,84 ^C
165	100,08±1,72 ^{BCD}	98,50±0,29 ^{CD}	101,37±1,06 ^{ABC}	102,60±1,76 ^{AB}	105,23±0,63 ^A	104,46±1,87 ^{AB}	97,83±1,83 ^D
225	100,89±1,78 ^{BCD}	98,09±0,17 ^{CD}	101,71±1,12 ^{BC}	103,34±1,46 ^{AB}	106,20±0,82 ^A	104,96±1,88 ^{AB}	98,10±1,78 ^D

*Letras iguais na mesma linha representam o resultado do Teste de Tukey em que não há diferença significativa entre as liberações das amostras em determinado tempo (Tukey, $p > 0,05$). Letras diferentes entre amostras na mesma linha indicam que há diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

**F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação.

A liberação total do α -tocoferol começou a ser observada a partir de 75 min de condução do ensaio nas amostras F5 e F6. O acompanhamento da liberação, contudo, foi feito até 225 min. Nota-se então que para os filmes F1, F3, F4, F5 e F6 a porcentagem de liberação ultrapassa 100%. Isto pode ser explicado pela distribuição de α -tocoferol nas porções de amostra utilizadas para este ensaio. Também pode ser decorrente de interferências espectrais pela presença de EHEC dissolvida em meio ao etanol, proveniente das NP ou do próprio filme, ou ainda por erros embutidos no ensaio provenientes de amostragem, por exemplo. Contudo, o aumento na porcentagem é visível, indicando que conforme o filme permanece em contato com etanol, o α -tocoferol segue sendo liberado.

A partir de 75 min foi observada a diferença entre as liberações dos filmes (Tukey, $p < 0,05$), indicadas na Tabela 3 por diferentes letras em uma mesma linha. Neste caso é importante a comparação, principalmente, entre amostras com a mesma proporção de α -tocoferol incorporada. Para os filmes F2, F5 e F7, com 10 mg de α -tocoferol, a partir de 75 min os resultados indicam que há diferença estatística, porém apenas entre os filmes F5 e F2 e F5 e F7. Essa diferença pode ser proveniente da presença das NP formadas por EHEC-C12 20% de ácido dodecanóico, indicando que há uma influência destas na retenção do α -tocoferol ao filme. Porém, o mesmo padrão não é observado para os filmes F1 e F4, F3 e F6 que possuem NP com as mesmas concentrações de α -tocoferol, mas com as NP formadas por diferentes porcentagens de ácido dodecanóico substituído.

Desta forma, a diferença estatística no caso do filme F5 com os filmes F2 e F7 pode ser devido a uma maior interação da concentração de α -tocoferol com as NP de EHEC-C12 20%, ou novamente, apenas um resultado proveniente de alguma interferência espectral ou pequenos erros embutidos nos ensaios.

Perfis de liberação bastante similares foram observados em um estudo da liberação de α -tocoferol em etanol a partir de filmes de etileno vinil álcool, um polímero de característica bastante hidrofílica (CHEN et al., 2012). A liberação a partir destes filmes deu-se de forma rápida e o equilíbrio foi atingido em um curto período de tempo. Em filmes de quitosana reticulados com glutaraldeído, tripolifosfato de sódio e citrato de sódio, a liberação de α -tocoferol em etanol 50% também ocorreu rapidamente (cerca de 48 h) até atingir um patamar de equilíbrio (YEAMSUKSAWAT; LIANG, 2019).

Nanocápsulas de α -tocoferol e caprolactona incorporadas em filmes de carboximetilcelulose também apresentaram rápida liberação do α -tocoferol em etanol nas

primeiras 2 h de ensaio, seguido de estabilização (MIRZAEI-MOHKAM et al., 2019). Os autores deste estudo sugerem que essa rápida liberação pode ser decorrente da característica hidrofóbica das nanocápsulas e alta afinidade do α -tocoferol com o etanol. É importante observar que a polaridade e solubilidade são propriedades essenciais para determinar a afinidade entre o polímero, a substância a ser liberada e o solvente do meio de liberação, e portanto a propensão de a liberação ocorrer pela interação entre estes (ZYGOURA; PALEOLOGOS; KONTOMINAS, 2011). Além disto, solventes de baixa massa molar, como o etanol, tendem a penetrar mais facilmente a estrutura dos polímeros. O que explica porque o etanol pode ser considerado um solvente agressivo, como afirmam Manzanarez-López e colaboradores (2011), que também observaram a escalada na difusão do α -tocoferol para o solvente em seus filmes poliméricos de ácido láctico.

A EHEC é insolúvel em altas concentrações de álcoois de cadeia curta como o etanol (JULLANDER, 1955). Uma vez que se utilizou etanol absoluto nos ensaios de liberação, este solvente não é capaz de solubilizar o polímero, porém suas moléculas, por serem de cadeia curta e de baixa massa molar, conseguem penetrar a estrutura da EHEC e ocupar os pequenos espaços entre os grupos etil e hidroxietil, exercendo um efeito estéreo na estrutura do polímero. Este efeito estéreo também pode aumentar a liberação do α -tocoferol do filme e favorecer sua interação com o etanol presente no meio. Diferentemente da EHEC, o α -tocoferol, por sua característica hidrofóbica, é solúvel em etanol e portanto acaba migrando para a solução (NIKI; ABE, 2019).

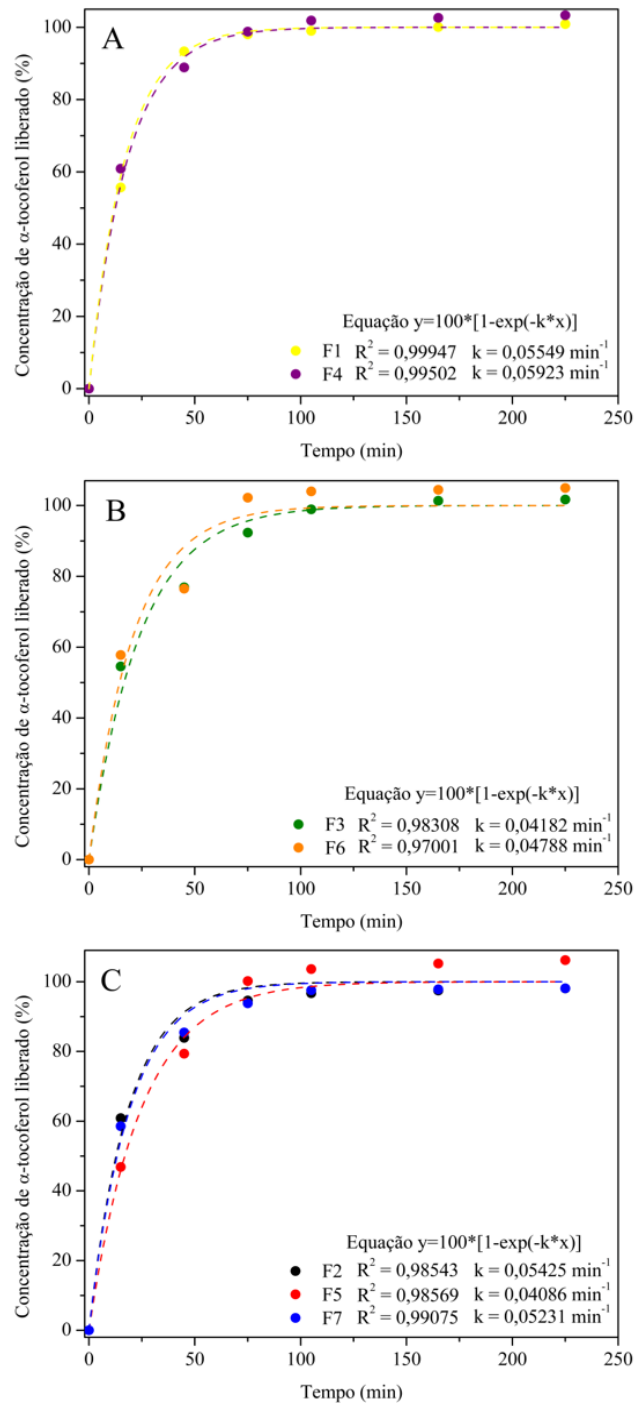
Além disso, a espessura dos filmes ($47,0 \pm 9,0 \mu\text{m}$ à $64,0 \pm 13,0 \mu\text{m}$), similar aos preparados por Manzanarez-López ($54,61 \mu\text{m}$), pode ser mais um fator que favorece a interação polímero, α -tocoferol e solvente; visto que os filmes são extremamente finos o etanol consegue, fácil e rapidamente, difundir-se na estrutura do polímero e interagir com o α -tocoferol.

Para compreender melhor o perfil de liberação dos filmes de EHEC preparados, os dados de liberação foram comparados a diferentes modelos matemáticos utilizando o software DDSolver 1.0. Os dados foram avaliados para os modelos de ordem zero, primeira ordem, Higushi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell, Peppas-Sahlin e Weibull. Ao avaliar o coeficiente de correlação obtido para todos os filmes em cada modelo matemático, o que melhor se ajustou ao perfil de liberação experimental foi o de primeira ordem, ao apresentar R^2 mais próximo de 1. A constante de velocidade, k , obtida para cada liberação é bastante similar entre os filmes, o que indica que não há diferença significativa entre a velocidade de liberação do α -

tocoferol entre os filmes. A Figura 17 apresenta os gráficos de liberação, em que os pontos representam os dados experimentais, e as linhas pontilhadas o perfil de liberação predito com o modelo matemático de primeira ordem.

O modelo cinético de liberação de primeira ordem afirma que a mudança na concentração em relação ao tempo é dependente apenas da concentração (BRUSCHI, 2015). Assim, no caso de agentes ativos solúveis incorporados em matrizes porosas, a quantidade deste ativo liberada é proporcional a quantidade de ativo ainda presente no polímero. Por isto a quantidade de antioxidante liberada tende a diminuir em função do tempo, o que foi observado nos resultados experimentais com os filmes de EHEC e α -tocoferol.

Figura 17 - Perfil de liberação de α -tocoferol em função do tempo de condução do ensaio para diferentes filmes. (A) Comparação entre amostra F1 com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e F4 com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 5 mg de α -tocoferol. (B) Comparação entre amostra F3 com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e F6 com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 15 mg de α -tocoferol. (C) Comparação entre amostra F2 com incorporação de NP de EHEC-C12 10%, F5 com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 10 mg de α -tocoferol e F7 com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação.

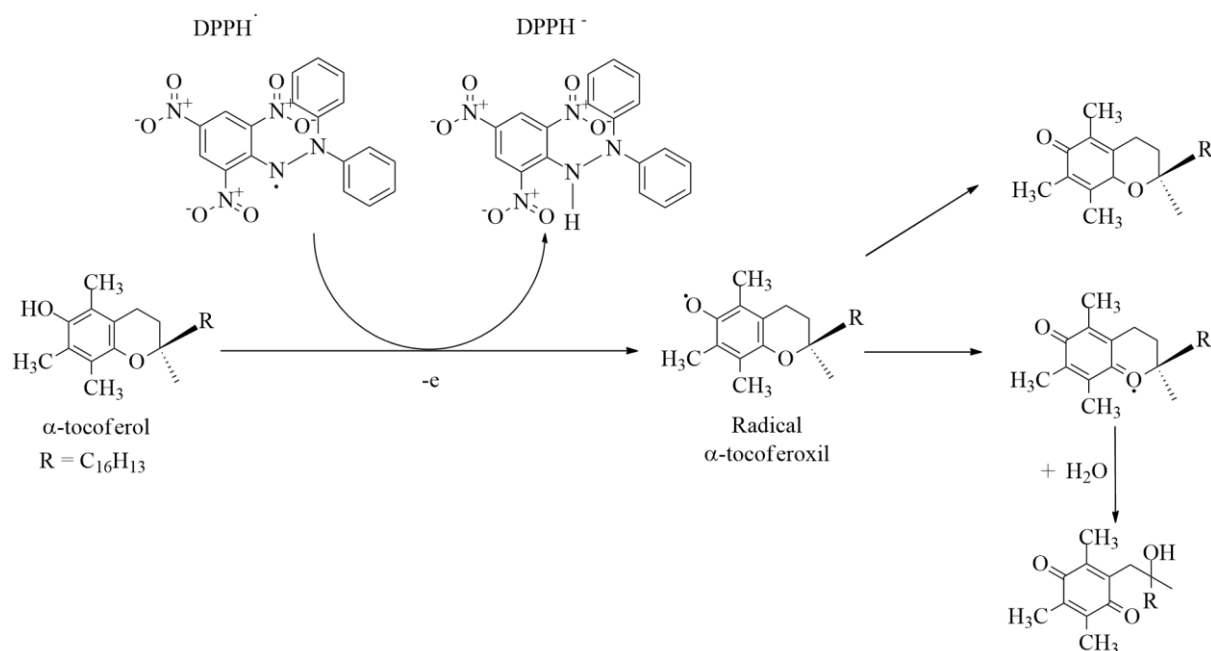


Fonte: A autora

5.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante dos filmes foi determinada frente a utilização de dois métodos distintos empregando diferentes radicais livres (DPPH e ABTS) por espectrofotometria de UV-Vis. O DPPH é um radical considerado estável devido à deslocalização do elétron desemparelhado na molécula como um todo, isso faz com que a molécula não dimerize como ocorre em outros casos (MOLYNEUX, 2004). Essa deslocalização faz com que o DPPH apresente coloração violeta e absorva no comprimento de onda de 515 nm, quando dissolvido em etanol. Quando o α -tocoferol é adicionado à solução de DPPH, há a doação de um hidrogênio fenólico para o radical, levando-o à sua forma reduzida e conseqüentemente há uma mudança na coloração da solução que passa de violeta para um amarelo escuro. Deste modo foi possível acompanhar o decaimento da banda de absorção em 515 nm com o aumento da concentração de α -tocoferol em solução. A Figura 18 apresenta o mecanismo proposto para esta reação.

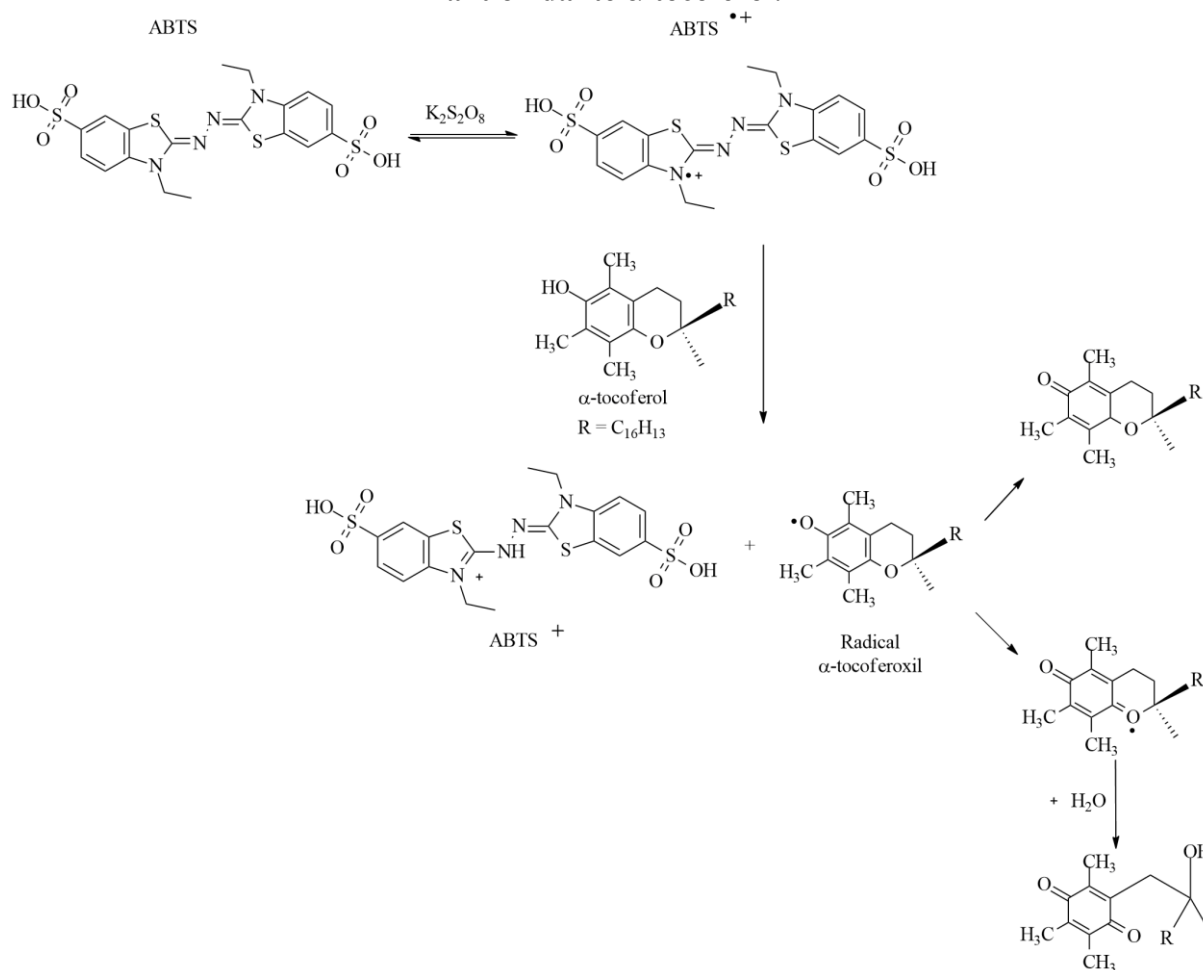
Figura 18 – Mecanismo de reação de estabilização do radical DPPH, em etanol, pela ação do antioxidante α -tocoferol.



Fonte: Adaptado de Zhang et al. (2019).

O radical ABTS por sua vez apresenta coloração azul/verde e quando reduzido pela incorporação de um hidrogênio fenólico apresenta descoloração da solução (Figura 19). Essa diferença foi observada acompanhando-se o decaimento da banda de absorção do ABTS em 730 nm. (ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY, 1998)

Figura 19 – Mecanismo de geração do radical ABTS e estabilização pela ação do antioxidante α -tocoferol.

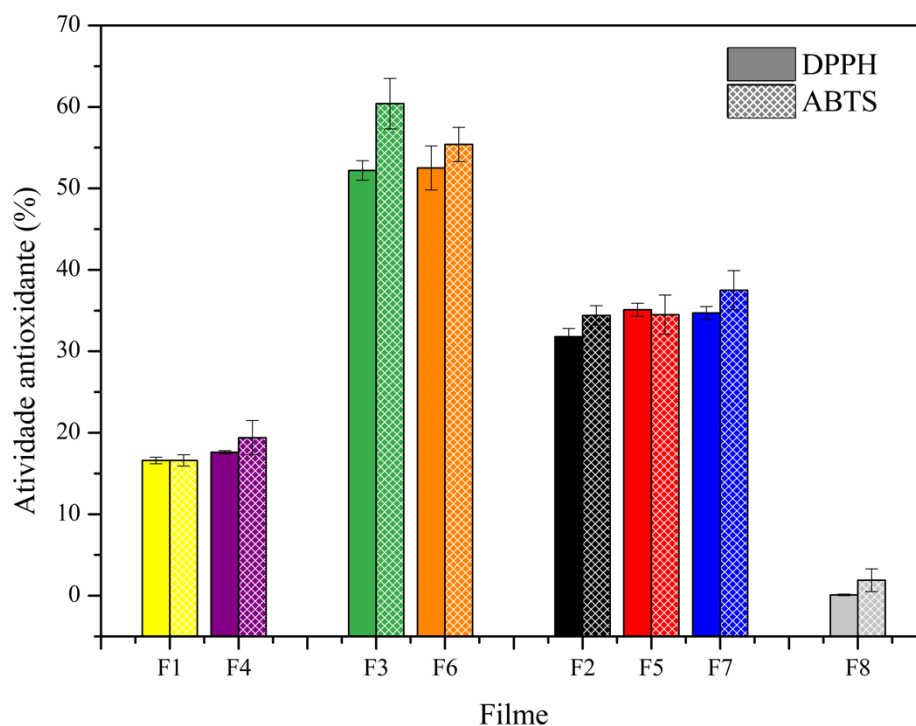


Fonte: Adaptado de Bedlovicová et. al (2020) e Zhang et. al (2019).

Os ensaios foram realizados em triplicata e um filme puro de EHEC foi analisado como controle apresentando valores $< 2,0\%$ de atividade para ambos os radicais. Amostras dos filmes com a mesma concentração de α -tocoferol incorporada, tanto de maneira livre quanto encapsulada, apresentaram valores muito similares de inibição para ambos os radicais e não foi observada diferença estatística entre estas amostras (Teste de Tukey, $p > 0,05$). A Figura 20

apresenta os resultados da atividade antioxidante das amostras e como esperado, com o aumento da porcentagem de α -tocoferol incorporado aos filmes há também a elevação da capacidade antioxidante destes. Isto porque com a maior concentração de α -tocoferol há maior disponibilidade de grupos fenólicos para doação de hidrogênios, permitindo que ocorram mais reações de redução dos radicais.

Figura 20 - Gráfico da atividade antioxidante das soluções de liberação de α -tocoferol de filmes de EHEC com incorporação de α -tocoferol com e sem encapsulação contra o radical DPPH e ABTS. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol.



Fonte: A autora.

Conforme discutido no ensaio de liberação, houve diferença significativa entre a amostra F5 com as amostras F2 e F7 a partir de 75 min de condução do ensaio de liberação, e mesmo em 225 min a diferença se manteve. Contudo, nos ensaios de determinação de atividade antioxidante, realizado após 225 min, essa diferença não foi observada. O que indica que a pequena diferença nas porcentagens de liberação não afeta a atividade antioxidante do α -

tocoferol liberado, seja contra o radical DPPH ou ABTS. Estes resultados também comprovam que a encapsulação da vitamina nas NP não altera as propriedades antioxidantes do material.

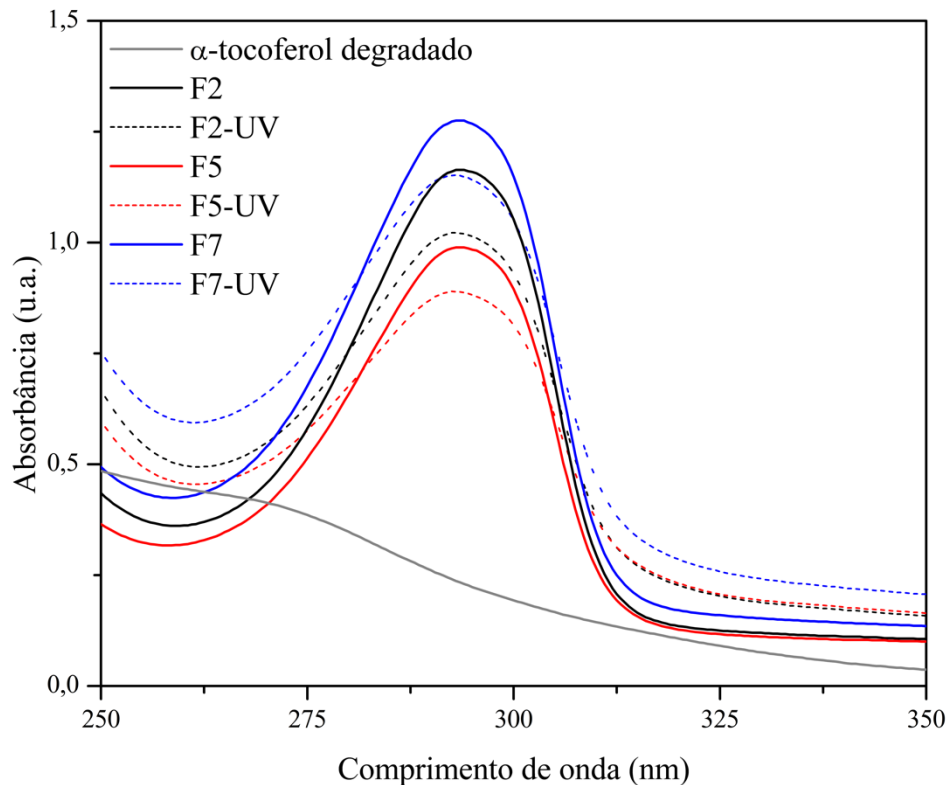
Filmes de carboximetilcelulose com α -tocoferol nanoencapsulado também apresentaram um perfil linear de atividade antioxidante contra o DPPH, e a capacidade antioxidante aumentou com o aumento da quantidade de α -tocoferol no filme (MIRZAEI-MOHKAM et al., 2019). Os autores obtiveram atividades de 29,37, 49,74 e 68,85% quando da adição de 30, 50 e 70% de nanocápsulas aos filmes enquanto que o filme puro apresentou resultado próximo de 0%. De Carvalho (2019) obteve o mesmo comportamento antioxidante em seus filmes de poli(álcool vinílico), onde com o aumento da concentração de α -tocoferol houve aumento da propriedade antioxidante contra ambos radicais, DPPH e ABTS.

5.6 ESTABILIDADE DO α -TOCOFEROL NOS FILMES

5.6.1 Análise por espectrofotometria de UV-Vis

Análises por espectrofotometria no ultravioleta foram realizadas para avaliar a estabilidade do α -tocoferol incorporado tanto de modo livre quanto nanoencapsulado aos filmes de EHEC. A Figura 21 mostra os espectros de absorbância dos filmes F2, F5 e F7 mantidas sob radiação ultravioleta a 254 nm por um período de 6 h (os espectros dos filmes F1, F3, F4 e F6 estão apresentados no Apêndice B). Neste ensaio, além da incidência direta de radiação UV sobre os filmes, a presença de oxigênio também pode ser considerada um fator importante e que influencia na estabilidade do α -tocoferol, visto que os ensaios não foram realizados em atmosfera inerte (MOTTA, 2012). É possível observar que há uma diminuição nas bandas de absorbância das amostras quando comparado à absorbância antes da incidência contínua de luz UV sobre estas. Porém, tanto o α -tocoferol nanoencapsulado quanto o livre na matriz polimérica não sofrem total degradação, como é observado para o α -tocoferol puro, o que indica que a matriz polimérica fornece uma barreira de proteção contra a ação do oxigênio presente no ar e da ação da luz UV.

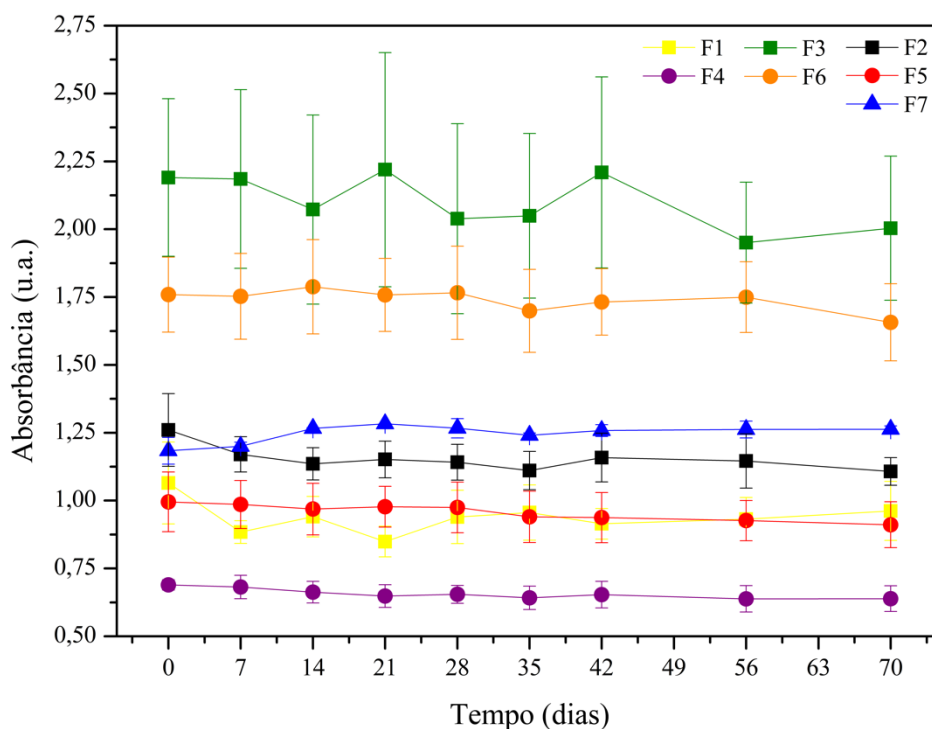
Figura 21 - Espectros de comparação da estabilidade do α -tocoferol livre e incorporado em filmes de EHEC. F2 e F2-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e 10 mg de α -tocoferol; F5 e F5-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 10 mg de α -tocoferol; F7 e F7-UV - amostras com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. Amostras F2-UV, F5-UV, F7-UV e α -tocoferol degradado submetidas à radiação UV a 254 nm por 6h.



Fonte: A autora.

Por um período de 72 dias as amostras dos filmes F1 a F7 foram armazenadas em placas de Petri, mantidas sob condições de temperatura ambiente e ao abrigo de luz, e acompanhou-se a banda de absorção do α -tocoferol em 292 nm por espectrofotometria de UV. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada filme e as leituras de absorbância foram realizadas em 7, 14, 21, 28, 35, 42, 56 e 72 dias. A partir dos espectros construiu-se um gráfico da absorção máxima em 292 nm *versus* tempo (Figura 22), para acompanhar a estabilidade do α -tocoferol nos filmes. Uma mesma faixa de intensidade é observada para cada filme ao longo dos 72 dias de ensaio. Esses resultados, assim como no ensaio sob luz UV por 6 h, indicam que o α -tocoferol possui maior estabilidade quando incorporado a filmes de EHEC, seja encapsulado ou livre na matriz polimérica.

Figura 22 - Representação gráfica da variação de intensidade da banda de absorção do α -tocoferol no UV de amostras de EHEC, entre o primeiro e último dia, após mantidas em condição ambiente por 72 dias. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação.



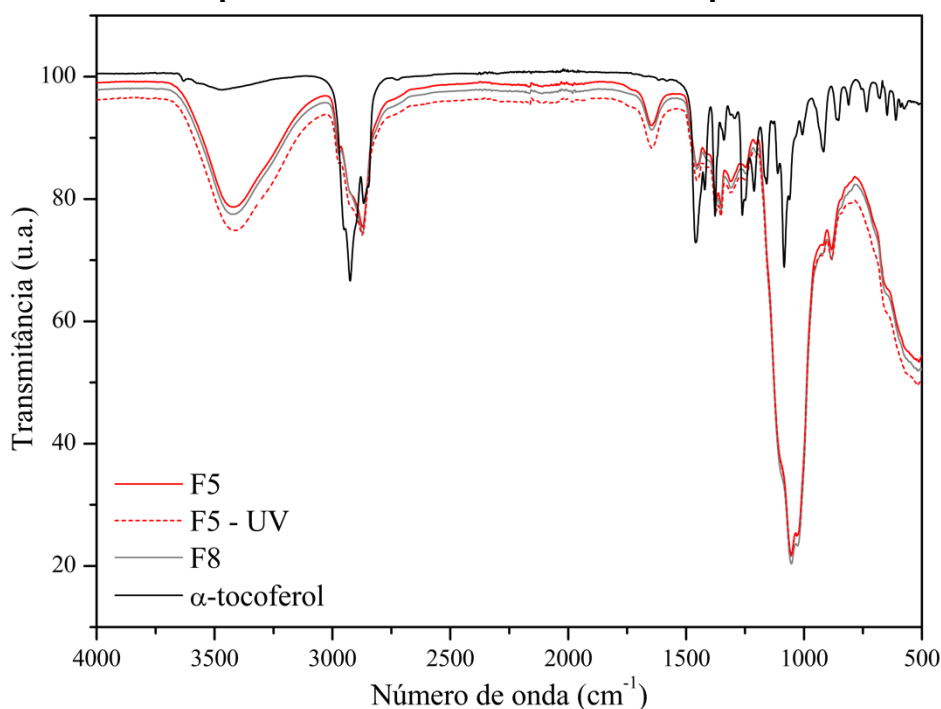
Fonte: A autora.

Martelli e colaboradores (2017) observaram a estabilidade do α -tocoferol, por um período de 8 semanas, quando incorporado a filmes de carboximetilcelulose. Quando encapsulado em nanopartículas lipídicas sólidas e incorporado a filmes de PVA, De Carvalho e colaboradores (2019), também observaram a estabilidade do α -tocoferol por um período de 12 semanas. A diferença na concentração de α -tocoferol incorporado aos filmes não teve influência nos ensaios de estabilidade, sendo que o mesmo perfil foi observado ao longo do tempo para as três concentrações estudadas. Resultado similar ao observado para as três concentrações de α -tocoferol incorporadas aos filmes de EHEC.

5.6.2 Análise de estabilidade por FTIR-ATR

Para os estudos de estabilidade as amostras também foram avaliadas antes e após 72 dias por espectroscopia de infravermelho. Entretanto, conforme é possível observar na Figura 23, para o filme F5, não foram identificadas bandas em regiões do espectro que correspondam ao α -tocoferol ($1650 - 1450 \text{ cm}^{-1}$ referente ao anel aromático C=C; $1300 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ absorção C-O) (MAN; AMMAWATH; MIRGHANI, 2005). O mesmo perfil de espectro foi obtido para as demais amostras. Visto que a proporção de α -tocoferol dispersa nos filmes de EHEC varia entre 1-3%, é difícil identificar sua presença nos espectros de infravermelho, pois a intensidade das bandas é tão pequena em comparação às da matriz polimérica que acaba sendo suprimida. Alterações nas bandas características da EHEC também não foram observadas.

Figura 23 - Espectros de FTIR-ATR para avaliação da estabilidade do α -tocoferol incorporado ao filme de EHEC. F5 e F5-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 10 mg de α -tocoferol, antes e após 6 h sob radiação UV a 254 nm, respectivamente. F8 – Filme de EHEC pura.



Fonte: A autora.

5.7 ÂNGULO DE CONTATO E ENERGIA DE SUPERFÍCIE

A obtenção dos valores de ângulos de contato permite a compreensão da hidrofobicidade de uma superfície e sua capacidade de ser molhada, sendo crucial para

aplicações biológicas ou com o propósito de uso em embalagens alimentícias (WANG et al., 2021). Isto porque a partir deste parâmetro é possível prever a interação da água, presente nos organismos, alimentos e ambiente com a superfície polimérica.

São consideradas hidrofóbicas superfícies que apresentam altos valores de ângulo de contato com a água ($\theta > 90^\circ$) e hidrofílicas aquelas que apresentam baixos valores de ângulo de contato ($\theta < 90^\circ$) (PIAO; WINANDY; SHUPE, 2010). O ângulo de contato está associado diretamente à microestrutura e propriedades químicas do filme, além de permitir a determinação da energia de superfície destes já que esta é uma medida indireta para componentes sólidos (AHAMMED et al., 2020; OH; LUNER, 1999).

A energia de superfície pode ser determinada a partir do ângulo de contato pois está associada a área de superfície com as quais as moléculas do líquido estão em contato (ZANCAN, 2017). Quando a superfície de contato aumenta, pela melhor interação líquido-superfície, as moléculas do interior do líquido migram para a superfície e o trabalho executado pelas demais moléculas sobre estas é negativo. Quando a superfície de contato sólido-líquido diminui, as moléculas concentram-se no interior do líquido e o trabalho é positivo. Por isto que superfícies hidrofílicas apresentam altos níveis de energia de superfície e superfícies hidrofóbicas apresentam baixa energia de superfície.

A Tabela 4 apresenta os resultados de ângulo de contato, componentes polares e dispersivos e energia de superfície obtidos para as amostras.

Tabela 4 - Ângulo de contato e energia de superfície total dos filmes de EHEC com e sem incorporação de α -tocoferol, livre e nanoencapsulado, para três diferentes líquidos.

Filme	Ângulo de contato (°)			γ_s^p (mN m ⁻¹)	γ_s^d (mN m ⁻¹)	γ_s (mN m ⁻¹)
	Água	Formamida	Diiodometano			
F1	105,13±0,03	63,99±0,03	45,27±0,02	0,11	41,53	41,64
F2	104,75±0,07	63,95±0,09	43,80±0,01	0,10	41,86	41,97
F3	105,01±0,04	64,53±0,10	44,03±0,01	0,13	41,86	41,98
F4	104,61±0,03	57,91±0,09	32,50±0,02	0,46	49,82	50,29
F5	109,59±0,08	73,73±0,09	36,82±0,01	0,90	43,86	44,76
F6	106,80±0,10	71,78±0,10	38,18±0,01	0,41	42,52	42,92
F7	110,05±0,43	82,30±0,12	39,97±0,01	0,67	38,82	39,49
F8	71,67±0,06	31,75±0,01	54,60±0,02	11,49	28,75	40,25

F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol. γ_s^p : componente polar; γ_s^d : componente dispersivo; γ_s : energia de superfície.

A EHEC é um polímero que apresenta uma característica polar pela presença, principalmente, dos grupos óxido de etileno, e essa sua característica favorece a interação com a água, o que pôde ser observado pelos ensaios de ângulo de contato. O filme de EHEC pura apresentou o menor valor de ângulo de contato, 71,67±0,06, em comparação às demais amostras quando em contato com a água, o solvente de maior polaridade entre os utilizados no ensaio.

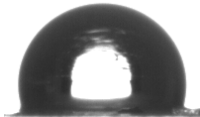

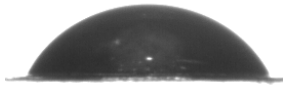
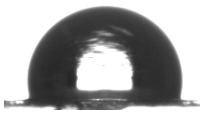
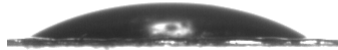
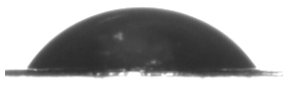
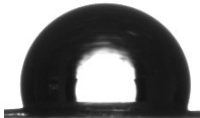
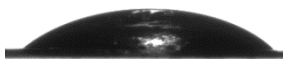
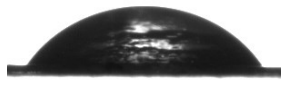
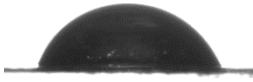
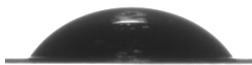
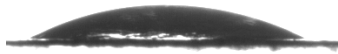
É interessante observar que, mesmo tendo característica polar, o ângulo de contato da EHEC pura com diiodometano, o solvente apolar, é menor do que o ângulo de contato com a água. Isto porque, apesar da presença dos grupos óxido de etileno que lhe conferem uma certa polaridade, a EHEC ainda possui grupos etil em sua estrutura, que são grupos apolares. Além disso, esses grupos estão distribuídos de maneira irregular na estrutura, o que leva à formação dos domínios hidrofóbicos, conforme discutido no item 3.2.2. Isto também explica o fato de o ângulo de contato com a formamida ser o menor de todos, visto que este é um solvente polar, porém intermediário entre a água e o diiodometano.

A incorporação de α -tocoferol aos filmes de EHEC, contudo, levou a um aumento do ângulo de contato com os solventes polares quando comparados aos filmes de EHEC pura. Isto porque o α -tocoferol é uma molécula hidrofóbica e, portanto, leva à formação de uma interface mais hidrofóbica na superfície do filme polimérico, o que diminuiu a interação

polímero/solvente. Com o diiodometano, o contrário é observado, com um aumento da interação e conseqüentemente a diminuição do ângulo de contato.

Observando-se estes resultados, nota-se que o filme que apresenta maior ângulo de contato com ambos os solventes polares é a amostra F7, na qual incorporaram-se 10 mg de α -tocoferol diretamente na matriz, sem encapsulação. Este resultado é complementar ao observado nas imagens de MEV (Figura 24), visto que a dispersão da vitamina no filme não é regular e homogênea, e parte desta encontra-se na superfície do filme. Isso leva à uma interface mais hidrofóbica; quando em contato com o solvente polar há o conseqüente aumento do ângulo de contato. A Tabela 5 apresenta imagens dos ângulos de contato permitindo uma comparação visual entre algumas das amostras.

Tabela 5 - Ângulo de contato de filmes de EHEC com e sem incorporação de α -tocoferol.

Filmes	Ângulo de contato (°)		
	Água	Diiodometano	Formamida
F1	105,13±0,03	45,27±0,02	63,99±0,03
			
F4	104,61±0,03	32,50±0,02	57,91±0,09
			
F7	110,05±0,43	39,97±0,01	82,30±0,12
			
F8	71,67±0,06	54,60±0,02	31,75±0,01
			

F1 e F4: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e 20% com 5 mg α -tocoferol, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol.

Em relação à energia de superfície das amostras não se observa diferença significativa entre os resultados, sendo que estes variam entre $39,49 \text{ mN m}^{-1}$ e $50,29 \text{ mN m}^{-1}$. Entretanto, observa-se que para o filme da EHEC pura (F8), a energia de superfície total tem influência de ambos os componentes, polar ($11,49 \text{ mN m}^{-1}$) e dispersivo ($28,75 \text{ mN m}^{-1}$), uma característica anfifílica devido aos grupos polares e apolares da estrutura química da EHEC. Enquanto que os demais filmes apresentaram valores do componente polar $<1,00 \text{ mN m}^{-1}$. Entre os filmes F1 e F7, a presença do α -tocoferol é responsável pelos altos valores do componente dispersivo e baixos valores para o componente polar. Entretanto, o balanço entre ambos os componentes, em cada uma das amostras, leva a resultados de energia de superfície total bastante similares sem ou com o α -tocoferol incorporado. Os resultados mostram que a incorporação de α -tocoferol aos filmes de EHEC altera o ângulo de contato destes filmes com solventes polares e apolares, formando filmes mais hidrofóbicos; e que a energia de superfície dos filmes com α -tocoferol tem maiores contribuições pelas forças dispersivas.

5.8 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A permeabilidade de vapor de água (WVP) é umas das propriedades mais importantes em filmes com aplicação em alimentos devido ao papel exercido pela água em reações químicas e enzimáticas que levam à deterioração (ALYANAK, 2004). Esta tem relação direta, portanto, com o tempo de prateleira dos alimentos. A permeabilidade a água em filmes poliméricos é diretamente afetada pela composição do material que o constitui (caráter hidrofílico ou hidrofóbico), temperatura e umidade do ambiente.

Polissacarídeos geralmente apresentam boa capacidade de barreira ao oxigênio e dióxido de carbono e também boas propriedades mecânicas (ALYANAK, 2004; MOTTA, 2012). Contudo, devido à sua característica hidrofílica apresentam alta permeabilidade ao vapor de água, o que acaba sendo um problema para aplicações em embalagens de alimentos.

Uma das maneiras de aumentar a barreira à permeação de água é pela adição de um componente hidrofóbico ao filme polimérico (ALYANAK, 2004). Assim, conforme observado nos resultados de ângulo de contato, em que a incorporação de α -tocoferol conferiu característica mais hidrofóbica, esperava-se também o aumento da propriedade de barreira a umidade.

A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos para os filmes F2, F5, F7 e F8. A variação da permeabilidade entre os filmes avaliados deu-se entre $4,64 \pm 1,26$ e $6,11 \pm 1,26$ g.mil/m².d.kPa, dependendo da composição do filme. O filme de EHEC pura apresentou WVP de $4,64 \pm 1,26$ g.mil/m².d.kPa, porém não foi observada diferença significativa (teste de Tukey, $p > 0,05$) com a adição de 10 mg α -tocoferol, estando este livre ou encapsulado. Estes resultados indicam que os filmes de EHEC pura e com α -tocoferol incorporado possuem boa capacidade de barreira à permeação de água, porém em comparação com o polietileno de baixa densidade (LDPE), amplamente utilizado na indústria de embalagens alimentícias, ainda apresenta valores de 10-100 vezes maior (PÉROVAL et al., 2002; TURHAN; ŞAHBAZ, 2004).

Tabela 6 - Permeabilidade de vapor de água (WVP) dos filmes de EHEC com e sem incorporação de α -tocoferol

Filme	Espessura (mm)	WVP (g/s.m.Pa) $\times 10^{-11}$	WVP (g.mil/m ² .d.kPa)
F2	$0,064 \pm 0,013$	$7,07 \pm 1,46$	$6,11 \pm 1,26$
F5	$0,064 \pm 0,010$	$6,98 \pm 1,12$	$6,03 \pm 1,07$
F7	$0,054 \pm 0,013$	$5,96 \pm 1,24$	$5,15 \pm 0,97$
F8	$0,047 \pm 0,009$	$5,37 \pm 0,73$	$4,64 \pm 1,26$

F2 e F5: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e 20% com 10 mg α -tocoferol, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol.

Em comparação a outros polímeros biodegradáveis como poli(hidroxibutirato), poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato), poli(ácido láctico) e polipropileno carbonato (16 a >120 g.mil/m².d.kPa) os filmes de EHEC preparados apresentam uma barreira à água maior (WU; MISRA; MOHANTY, 2021). Quando comparada a outros éteres de celulose, como a etil celulose (WVP $\sim 1,9 \times 10^{-10}$ g/s.m.Pa) e metil celulose ($\sim 0,87 \times 10^{-10}$ g/s.m.Pa), a EHEC apresenta resultados similares porém menores, apresentando maior barreira à permeação de água (DONHOWE; FENNEMA, 1993; HEREDIA-GUERRERO et al., 2018).

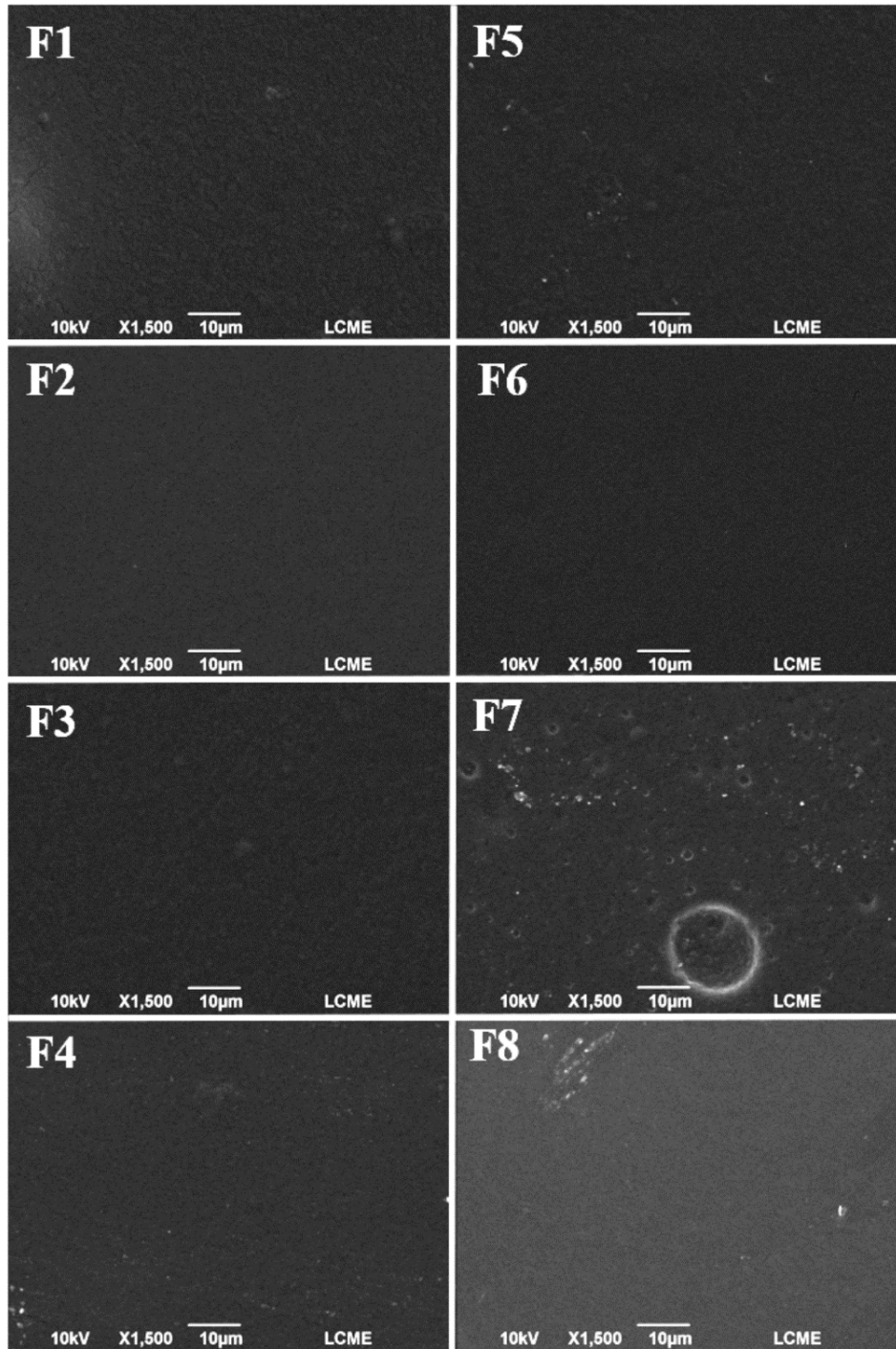
5.9 MORFOLOGIA

As micrografias de todos os filmes estudados foram realizadas a fim de avaliar a incorporação e homogeneidade da distribuição do α -tocoferol na matriz polimérica de EHEC. A Figura 24 apresenta, com uma amplificação de $1500\times$, as imagens obtidas para a superfície

dos oito filmes estudados. Em alguns pontos das micrografias é possível observar pequenos pontos brancos do que pode ser polímero não bem disperso (F4, F5 e F8) ou reagentes não removidos durante a diálise após as reações de modificação hidrofóbica que acabaram incorporados aos filmes. Entretanto, a superfície de todos os oito filmes preparados mostra-se lisa, sem rugosidades. Na amostra F7, em que se incorporou o α -tocoferol diretamente no polímero, observa-se que a dispersão deste não é homogênea, pois é possível observar várias gotículas de tamanhos distintos distribuídas pela superfície. Essa dispersão irregular na superfície do filme F7 corrobora com o valor de ângulo de contato (em água) que apresentou um valor maior comparado aos outros filmes. Contudo, o mesmo não é observado nos filmes F1 a F6 em que a incorporação de α -tocoferol foi feita por encapsulação com as EHEC modificadas. Isto indica que a encapsulação favorece uma dispersão e incorporação homogênea da vitamina aos filmes do polímero.

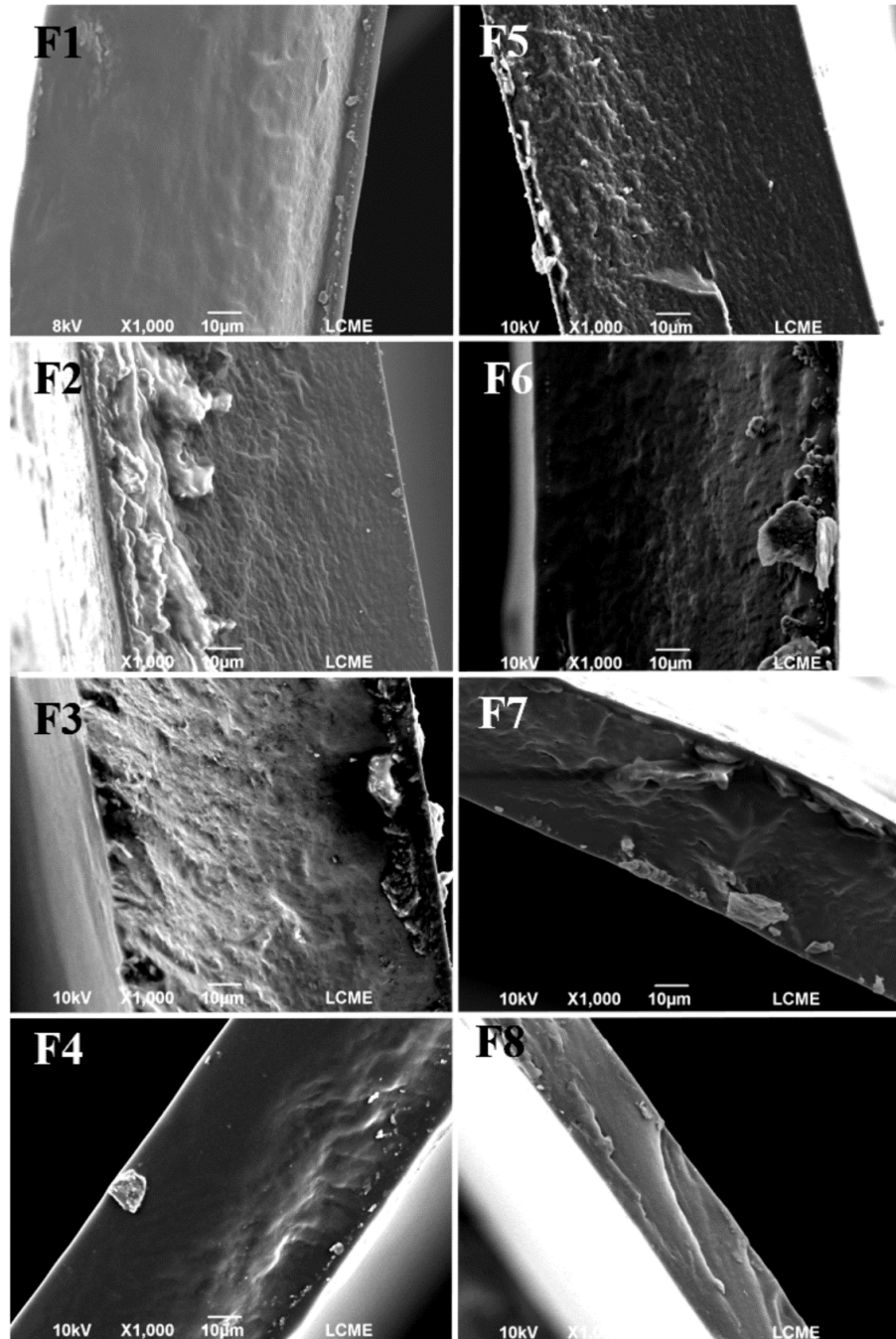
A seção transversal dos filmes também foi avaliada para compreender melhor a diferença da dispersão do α -tocoferol no polímero quando livre ou encapsulado. As micrografias apresentadas na Figura 25 não mostram cavidades no interior do polímero, o que seria um indicativo de baixa homogeneidade do α -tocoferol com a EHEC, visto que estes são imiscíveis (tal característica foi observada durante o preparo dos filmes em que para a amostra F7 encontrou-se dificuldade na homogeneização após a adição dos 10 mg de α -tocoferol). Isto indica que a encapsulação em EHEC modificada (amostras F1 a F6) favorece a dispersão na matriz polimérica. No caso da amostra F7, também não são observadas cavidades internas, o que neste caso indica que o α -tocoferol pode estar todo disperso na superfície do polímero, conforme observado na Figura 20 – F7.

Figura 24 - Micrografias da superfície dos filmes de EHEC. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol.



Fonte: A autora.

Figura 25 - Micrografias da fratura criogênica dos filmes de EHEC. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol.



Fonte: A autora.

Com o fato de o α -tocoferol não estar bem disperso e incorporado à matriz esperava-se observar uma diferença significativa nos ensaios de liberação entre a amostra F7 e as demais amostras em que o α -tocoferol foi encapsulado (F2 e F5 – 10 mg de α -tocoferol). A liberação nos primeiros minutos analisados poderia apresentar valores mais altos de absorbância na amostra F7, pois o α -tocoferol teria contato direto com o etanol favorecendo a liberação. Contudo, a diferença de liberação entre essas amostras é muito pequena no início e, portanto, não é possível afirmar que a presença do óleo na superfície afetou a liberação. Diferentemente do observado nos ensaios de ângulo de contato, conforme discutido no item 5.7.

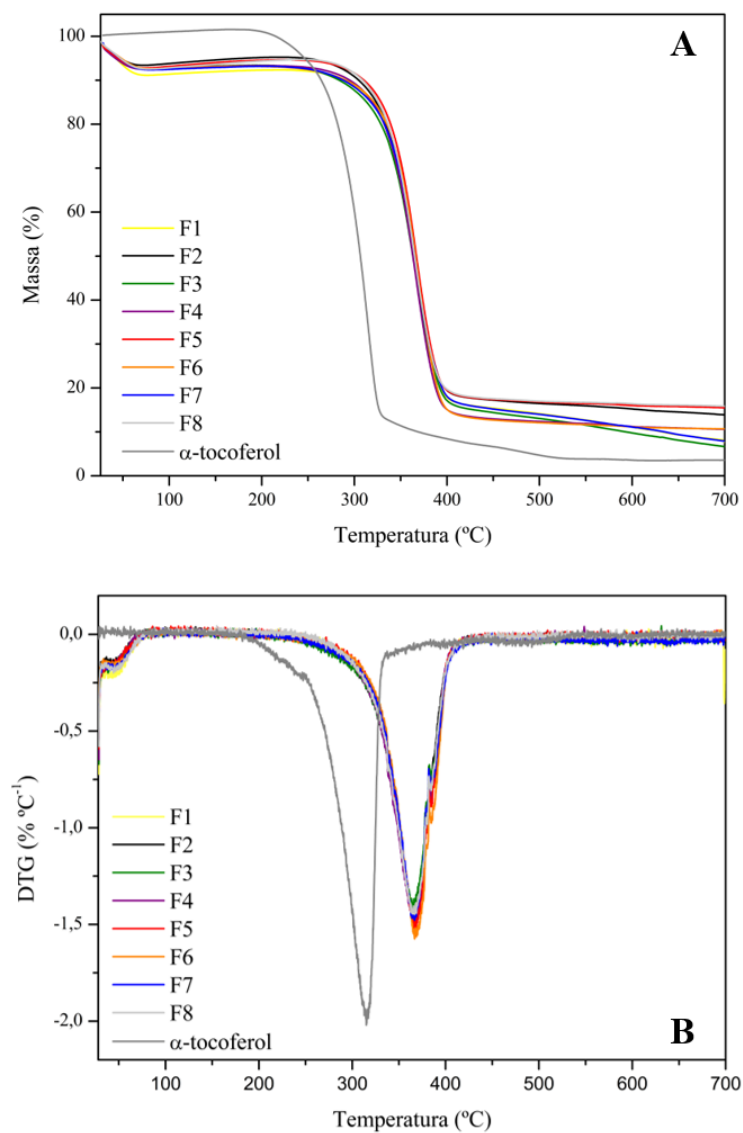
5.10 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A estabilidade térmica de um polímero, determinada por ensaio termogravimétrico, define a temperatura até a qual este pode ser aquecido e ainda assim manter suas propriedades sem se degradar, sendo de extrema importância seu conhecimento para aplicações em embalagens já que estas requerem processos térmicos para sua preparação e processamento (ALOJALY; BENYOUNIS, 2020; DE CARVALHO et al., 2019). A Figura 26 apresenta os resultados de TGA e DTG para os filmes de EHEC preparados e também para o α -tocoferol.

A curva do α -tocoferol apresenta uma perda de massa de aproximadamente 90% entre 200 a 332 °C. Ma e colaboradores (2021) reportaram a temperatura de início da degradação do α -tocoferol em $230,2 \pm 1,0$ °C e Heirlings e colaboradores (2004) em 215 °C. Todos os filmes de EHEC avaliados apresentaram entre 26 e 65 °C um evento de perda de massa, este pode ser proveniente da evaporação da água presente nos filmes (CARVALHO, 2013). Um segundo evento de perda de massa nos filmes inicia-se em 263°C, proveniente da degradação da EHEC. A presença das NP com α -tocoferol (F1 a F6) ou α -tocoferol livre na matriz polimérica (F7), contudo, não afetou o comportamento térmico dos filmes de EHEC, pois as perdas de massa entre a EHEC pura e os demais filmes é muito semelhante. Diferentemente do observado por De Carvalho (2013) quando incorporou NP lipídicas de α -tocoferol em filmes de PVA que retardaram a degradação do polímero. Entretanto, a incorporação do α -tocoferol em EHEC, tanto livre quanto encapsulado, aumenta sua estabilidade térmica, uma vez que em nenhuma das 7 amostras (F1 a F7) é observado evento de perda de massa em torno de 200 °C referente a degradação do α -tocoferol.

Durante os processos de extrusão a temperatura a que os materiais são submetidos pode variar entre 170 e 230 °C, sendo importante que o antioxidante apresente estabilidade para que possa ser utilizado em embalagens (HEIRLINGS et al., 2004). Visto que a temperatura de degradação quando incorporado aos filmes de EHEC inicia-se em aproximadamente 263 °C, os sistemas preparados são promissores para o preparo de embalagens.

Figura 26 – Curvas de TGA (A) e DTG (B) para os filmes de EHEC e α -tocoferol em função da temperatura. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol.



Fonte: A autora.

A maior perda de massa dos filmes é observada a partir de aproximadamente 395 °C. A perda média de massa para os filmes nesta temperatura foi de 81 %, já o α -tocoferol puro apresentou 86% de perda de massa em 330 °C. A massa residual de amostra em 700 °C variou entre 2% e 16%. A Tabela 7 apresenta os resultados de perda de massa em relação à temperatura para os oito filmes de EHEC em 65 °C, 395 °C e 700 °C e também a massa residual de cada amostra.

Tabela 7 – Resultados de perda de massa e massa residual em porcentagem para os filmes de EHEC preparados obtidos a partir das curvas de TGA.

Filmes	Perda de massa (%)			Massa residual em 700 °C (%)
	T (65 °C)	T (395 °C)	T (700 °C)	
F1	7,5	83,3	97,8	2,2
F2	6,5	79,3	86,1	13,9
F3	7,1	81,4	93,3	6,6
F4	7,4	83,8	89,4	10,6
F5	7,0	79,3	84,5	15,5
F6	7,0	83,4	89,3	10,7
F7	7,2	80,1	92,1	8,0
F8	7,1	79,2	84,2	15,8

T (°C): Temperatura. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol.

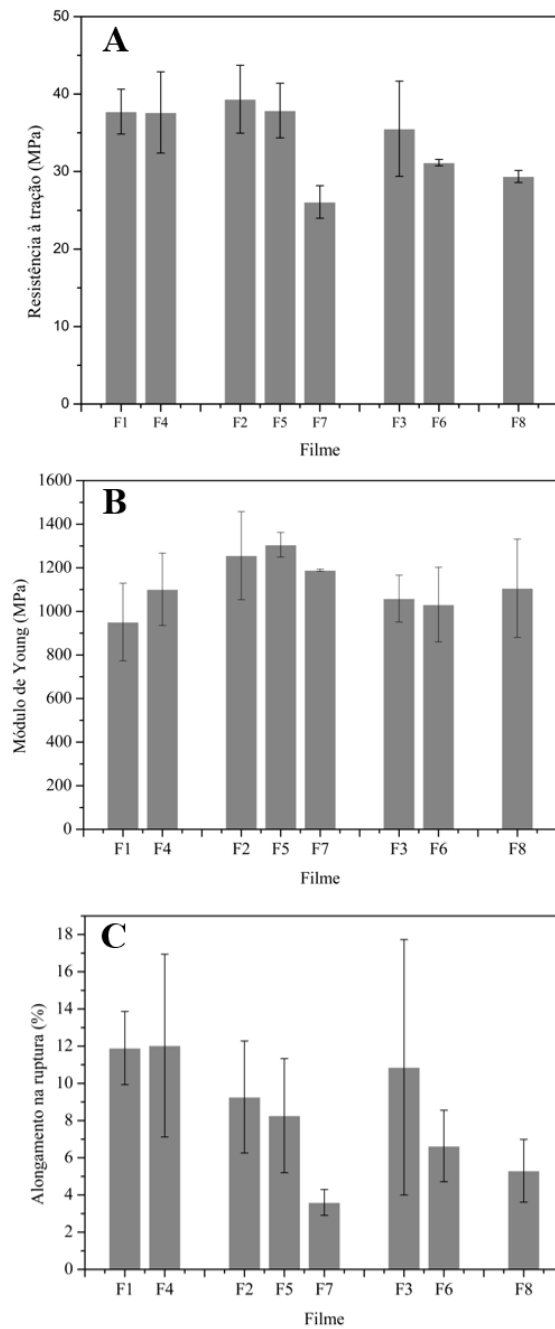
5.11 PROPRIEDADES MECÂNICAS

A utilização de polímeros de origem natural deve satisfazer alguns critérios e propriedades, que também são necessários nos demais polímeros utilizados na produção de embalagens alimentícias (DOMÍNGUEZ et al., 2018). Alguns destes são propriedades ópticas, de vedação, barreira e mecânicas. A importância do estudo das propriedades mecânicas de um material que visa ser utilizado como embalagem advém da necessidade deste material de apresentar resistência a forças externas, como fricção, por exemplo, que ocorre durante o processamento, manuseio e armazenamento (WANG et al., 2021). Durante estes processos, o material precisa manter-se intacto de modo a garantir a integridade e qualidade do alimento.

Os resultados do ensaio de tração estão apresentados na Figura 27. Dentre os oito filmes estudados, o F7 apresentou a menor resistência à tração, $26,07 \pm 2,10$ MPa. Foi observada diferença estatisticamente significativa (teste de Tukey, $p < 0,05$) entre os resultados do filme F7 com os filmes F1, F4, F2 e F5, com NP de EHEC-C12 10 e 20% com 5 e 10 mg de α -tocoferol, respectivamente. Porém não há diferença entre o filme F7 e os filmes F8 (EHEC pura), F3 e F6 (com incorporação de NP com 15 mg de α -tocoferol) (teste de Tukey, $p > 0,05$). Não foi observada diferença significativa entre os filmes contendo NP (F1, F2, F3, F4, F5, F6) e o filme de EHEC pura, F8.

O módulo de Young ou módulo de elasticidade observado para a amostra controle, F8, foi de 1106 ± 225 MPa. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre este filme e os filmes com a incorporação de α -tocoferol livre e encapsulado. O mesmo perfil de resultados foi observado para o alongamento na ruptura, em que não houve diferença significativa entre os resultados ($p > 0,05$). Jamshidian e colaboradores (2012) incorporaram α -tocoferol em filmes de PLA na proporção de 2%, mesma proporção da vitamina presente nos filmes de EHEC F2, F5 e F7, e observaram uma redução média de 8% no módulo de Young e tensão na ruptura, em comparação à amostra de PLA pura. Entretanto, ao aplicarem o teste estatístico de Tukey também não evidenciaram diferença estatística entre o sistema puro e com α -tocoferol. Em relação ao alongamento na ruptura, os autores observaram um aumento de 16% quando adicionado α -tocoferol, considerando as médias das replicatas. Porém, novamente os resultados estatísticos não mostram diferença entre as amostras, mesmo perfil observado nos filmes de EHEC com α -tocoferol. Assim, em ambos os estudos se nota que há uma variação nos resultados dos três testes, porém estes resultados não indicam que o α -tocoferol, nas concentrações estudadas, altere realmente as propriedades mecânicas dos filmes. Observa-se também que o desvio padrão dos resultados de um mesmo filme é bastante alto, o que pode ser em razão de falhas na estrutura do filme utilizado nestes ensaios ou mesmo distribuição não homogênea do α -tocoferol, o que levou a altos desvios entre os resultados. Assim, uma quantidade maior de amostras precisaria ser utilizada para confirmar que a presença do α -tocoferol não afeta as propriedades mecânicas da EHEC.

Figura 27 - Resultados do ensaio de teste de resistência à tração (A), módulo de Young (B) e alongamento na ruptura (C) dos filmes de EHEC preparados. F1, F2 e F3: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 10% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F4, F5 e F6: Filmes com incorporação de NP de EHEC-C12 20% com α -tocoferol nas proporções de 5, 10 e 15 mg, respectivamente. F7: Filme com incorporação de 10 mg de α -tocoferol sem encapsulação. F8: Filme de EHEC sem α -tocoferol.



Fonte: A autora.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho modificou-se hidrofobicamente a EHEC com ácido dodecanóico nas proporções de aproximadamente 10 e 20%. A partir deste polímero modificado prepararam-se NP encapsulando α -tocoferol e estes sistemas mantiveram-se estáveis por 1 ano, quando mantidos em solução. Estas NP preparadas foram incorporadas a filmes de EHEC visando fornecer propriedades antioxidantes para possível aplicação na indústria alimentícia.

Estes sistemas encapsulados apresentaram melhor dispersão na matriz polimérica quando comparados à incorporação da vitamina de maneira livre. A hipótese inicial era que em termos de velocidade de liberação dos filmes, a encapsulação do α -tocoferol fornecesse um perfil de liberação mais lento em comparação a este incorporado livremente na EHEC. Observaram-se, entretanto, perfis bastante similares entre ambos os sistemas quando comparando-se a mesma proporção de α -tocoferol nos filmes.

A presença de α -tocoferol nos filmes forneceu a estes propriedades antioxidantes e observou-se que com o aumento da concentração de α -tocoferol incorporado há também o aumento da propriedade antioxidante. Apesar de os resultados de propriedade antioxidante e velocidade de liberação serem bastante similares, entre os sistemas livre e encapsulados, os resultados de MEV mostraram que a encapsulação fornece uma distribuição mais homogênea do α -tocoferol nos filmes de EHEC.

Quando mantido em condições ambiente por 72 dias, na presença de oxigênio, ou sob radiação UV por 6 h, a incorporação do α -tocoferol aos filmes conferiu maior estabilidade a estes. Melhora na estabilidade térmica também foi observada para o α -tocoferol quando incorporado aos filmes, o que pode permitir seu manuseio em temperaturas de até 263 °C sem que se degrade. Sua incorporação aos filmes, contudo, não alterou as propriedades térmicas ou mecânicas da EHEC. A propriedade de barreira à água dos filmes preparados também não foi alterada pelo α -tocoferol, entretanto, os filmes apresentaram boa capacidade de barreira quando comparados a outros éteres de celulose.

Apesar de várias das propriedades avaliadas nos filmes não terem apresentado diferença significativa quando o α -tocoferol foi incorporado livre ou nanoencapsulado, a nanoencapsulação facilitou o processo de dispersão da vitamina durante o preparo dos filmes. Isto porque a presença do polímero modificado utilizado no preparo das emulsões promove uma melhor interação com a EHEC pura utilizada na formação dos filmes. Essa melhor

dispersão, conseqüentemente, permite a formação de filmes mais homogêneos, fator muito importante para as propriedades mecânicas de um material para ser utilizado como embalagem, por exemplo.

7 REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, M. et al. Stimuli-responsive In situ gelling system for nose-to-brain drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 327, n. June, p. 235–265, 2020.
- AHAMMED, S. et al. Improvement of the water resistance and ductility of gelatin film by zein. **Food Hydrocolloids**, v. 105, p. 105804, 1 ago. 2020.
- AHMED, I. et al. A comprehensive review on the application of active packaging technologies to muscle foods. **Food Control**, v. 82, p. 163–178, 1 dez. 2017.
- ALOJALY, H.; BENYOUNIS, K. Y. Packaging With Plastics and Polymeric Materials. **Encyclopedia of Materials: Plastics and Polymers**, p. 1–17, 2020.
- ALYANAK, D. **Water Vapour Permeable Edible Membranes**. [s.l.] IzmirInstitute of Technology, 2004.
- AMARAL, A. B.; SOLVA, M. V. DA; LANNES, S. C. D. S. Lipid oxidation in meat: Mechanisms and protective factors - a review. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 1–15, 1 dez. 2018.
- ARCA, H. C. et al. Pharmaceutical Applications of Cellulose Ethers and Cellulose Ether Esters. **Biomacromolecules**, v. 19, n. 7, p. 2351–2376, 2018.
- AZZI, A. Many tocopherols, one vitamin E. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 61, p. 92–103, 1 jun. 2018.
- BECK, R.; GUTERRES, S.; POHLMANN, A. **Nanocosmetics and Nanomedicines**. 1. ed. Berlin: Springer, 2011.
- BEDLOVICOVÁ, Z. et al. A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles. **Molecules**, v. 25, p. 1–24, 2020.
- BERDAHL, D. R.; NAHAS, R. I.; BARREN, J. P. Synthetic and natural antioxidant additives in food stabilization: Current applications and future research. In: **Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications: Understanding Mechanisms of Oxidation and Antioxidant Activity**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2010. p. 272–320.
- BERGER, K. R. **A Brief History of Packaging**. Disponível em: <<https://ufdc.ufl.edu/IR00001524/00001>>. Acesso em: 28 jun. 2020.
- BROCKHAUS, S.; PETERSEN, M.; KERSTEN, W. A crossroads for bioplastics: exploring product developers' challenges to move beyond petroleum-based plastics. **Journal of Cleaner Production**, v. 127, p. 84–95, 20 jul. 2016.
- BRUSCHI, M. L. Mathematical models of drug release. **Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems**, p. 63–86, 2015.
- BYUN, Y. et al. Formulation and characterization of α -tocopherol loaded poly E-caprolactone

(PCL) nanoparticles. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 24–28, 2011.

CALEJO, M. T. et al. Thermoresponsive hydrogels with low toxicity from mixtures of ethyl(hydroxyethyl) cellulose and arginine-based surfactants. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, n. 1–2, p. 454–462, 2012a.

CALEJO, M. T. et al. Interactions between ethyl(hydroxyethyl) cellulose and lysine-based surfactants in aqueous media. **European Polymer Journal**, v. 48, n. 9, p. 1622–1631, 2012b.

CALEJO, M. T. et al. In vitro cytotoxicity of a thermoresponsive gel system combining ethyl(hydroxyethyl) cellulose and lysine-based surfactants. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 682–686, 2013.

CARLSSON, A. et al. Hydration of ethyl hydroxyethyl cellulose. **Polymer**, v. 27, n. 3, p. 431–436, 1986.

CARVALHO, S. M. **Incorporação de Nanopartículas Lipídicas Sólidas contendo Alfa-Tocoferol em filmes de Álcool Polivinílico**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

CHEN, X. et al. Release kinetics of tocopherol and quercetin from binary antioxidant controlled-release packaging films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 13, p. 3492–3497, 2012.

CHEN, X. et al. Critical review of controlled release packaging to improve food safety and quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 15, p. 2386–2399, 2018.

CORTÉS-MORALES, E. A.; MENDEZ-MONTEALVO, G.; VELAZQUEZ, G. Interactions of the molecular assembly of polysaccharide-protein systems as encapsulation materials. A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 295, p. 12, 2021.

DANAEI, M. et al. **Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems** *Pharmaceutics* MDPI AG, , 18 maio 2018. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/pharmaceutics>. Acesso em: 10 out. 2020

DE CARVALHO, S. M. et al. PVA antioxidant nanocomposite films functionalized with alpha-tocopherol loaded solid lipid nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 581, n. August, p. 123793, 2019.

DESSBESELL, L. et al. Global lignin supply overview and kraft lignin potential as an alternative for petroleum-based polymers. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 123, p. 109768, 1 maio 2020.

DEY, A.; NEOGI, S. Oxygen scavengers for food packaging applications: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 90, p. 26–34, 1 ago. 2019.

DILKES-HOFFMAN, L. S. et al. Environmental impact of biodegradable food packaging when considering food waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 325–334, 10 abr. 2018.

DJUVE, J. et al. Templating of ethyl(hydroxyethyl)cellulose on graphite by surfactant-

polymer interactions. **Langmuir**, v. 18, n. 7, p. 2673–2677, 2002.

DOMÍNGUEZ, R. et al. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research International**, v. 113, p. 93–101, 1 nov. 2018.

DONHOWE, I. G.; FENNEMA, O. The effects of solution compositions and drying temperature on crystallinity, permeability and mechanical properties of methylcellulose films. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 17, n. 4, p. 247–257, 1993.

DORDEVIC, V. et al. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 7, p. 452–490, 2015.

DOUGLASS, E. F. et al. A Review of Cellulose and Cellulose Blends for Preparation of Bio-derived and Conventional Membranes, Nanostructured Thin Films, and Composites. **Polymer Reviews**, v. 58, n. 1, p. 102–163, 2 jan. 2018.

EL IDRISSE, A. et al. Synthesis and Characterization of the New Cellulose Derivative Films Based on the Hydroxyethyl Cellulose Prepared from Esparto “‘Stipa tenacissima’” Cellulose of Eastern Morocco. II. Esterification with Acyl Chlorides in a Homogeneous Medium. **J. Appl. Polym. Sci**, v. 127, p. 3633–3644, 2012.

ENGIN, K. N. Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. **Molecular Vision**, v. 15, p. 855–860, 2009.

EUROPEAN BIOPLASTICS. **Bioplastics market data**. Disponível em: <<https://www.european-bioplastics.org/market/>>. Acesso em: 6 maio. 2022.

EUROPEAN COMMISSION. **Impact assessment on measures addressing food waste to complete SWD (2014) 207 regarding the review of EU waste management targets**. Brussels: [s.n.]. Disponível em: <<https://ec.europa.eu/environment/archives/eusd/pdf/IA.PDF>>. Acesso em: 10 out. 2020.

FIROUZ, M. S.; MOHI-ALDEN, K.; OMID, M. A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. **Food Research International**, v. 141, n. January, 2021.

FRANCO, P.; INCARNATO, L.; DE MARCO, I. Supercritical CO₂ impregnation of α -tocopherol into PET/PP films for active packaging applications. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 34, p. 266–273, 1 dez. 2019.

FRANKLIN ASSOCIATES. **Life Cycle Impacts of Plastic Packaging Compared To Substitutes in the United States and Canada**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://plastics.americanchemistry.com/Reports-and-Publications/LCA-of-Plastic-Packaging-Compared-to-Substitutes.pdf>>.

FROIIO, F. et al. Edible Polymers for Essential Oils Encapsulation: Application in Food Preservation. **Industrial and Chemical Research**, v. 58, p. 20932–20945, 2019.

GALLI, F.; AZZI, A. Present trends in vitamin E research. **BioFactors**, v. 36, n. 1, 1 jan. 2010.

GARRISON, T. F.; MURAWSKI, A.; QUIRINO, R. L. Bio-based polymers with potential for biodegradability. **Polymers**, v. 8, n. 7, p. 262, 14 jul. 2016.

GAWADE, R. P.; CHINKE, S. L.; ALEGAONKAR, P. S. Polymers in cosmetics. In: ALMAADEED, M. A. A.; PONNAMMA, D.; CARIGNANO, M. A. (Eds.). **Polymer Science and Innovative Applications**. 1. ed. Doha: Elsevier, 2020. p. 545–565.

GEUEKE, B.; GROH, K.; MUNCKE, J. Food packaging in the circular economy: Overview of chemical safety aspects for commonly used materials. **Journal of Cleaner Production**, v. 193, p. 491–505, 20 ago. 2018.

GHADERI, M. et al. All-cellulose nanocomposite film made from bagasse cellulose nanofibers for food packaging application. **Carbohydrate Polymers**, v. 104, n. 1, p. 59–65, 15 abr. 2014.

GHAVIDEL, N.; FATEHI, P. Recent Developments in the Formulation and Use of Polymers and Particles of Plant-based Origin for Emulsion Stabilizations ChemSusChem. **ChemSusChem**, v. 14, p. 4850–4877, 2021.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, v. 35, n. 1, p. 42–51, 2014.

GRANATA, G. et al. Essential oils encapsulated in polymer-based nanocapsules as potential candidates for application in food preservation. **Food Chemistry**, v. 269, p. 286–292, 15 dez. 2018.

GRANSTRÖM, M. **Cellulose Derivatives: Synthesis, Properties and Applications**. [s.l.] University of Helsinki, 2009.

GUERRA, J. **Associação entre xantana, polietilenoimina, dodecil sulfato de sódio e derivados anfílicos dos polímeros em soluções aquosas diluídas**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

GULCIN, İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives of Toxicology**, v. 94, n. 3, p. 651–715, 1 mar. 2020.

HAN, J.-W. et al. Food Packaging: A Comprehensive Review and Future Trends. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, p. 860–877, 2018.

HEDIN, J. et al. Bi-layer formation of imidazole-modified ethyl(hydroxyethyl)cellulose at a hydrophobic surface as monitored by QCM-D. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 336, n. 2, p. 388–392, 15 ago. 2009.

HEIRLINGS, L. et al. Influence of polymer matrix and adsorption onto silica materials on the migration of α -tocopherol into 95% ethanol from active packaging. **Food Additives and Contaminants**, v. 21, n. 11, p. 1125–1136, 2004.

HELLER, M. C.; SELKE, S. E. M.; KEOLEIAN, G. A. Mapping the Influence of Food Waste in Food Packaging Environmental Performance Assessments. **Journal of Industrial Ecology**, v. 23, n. 2, p. 480–495, 25 abr. 2019.

- HEREDIA-GUERRERO, J. A. et al. Antimicrobial, antioxidant, and waterproof RTV silicone-ethyl cellulose composites containing clove essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 192, n. March, p. 150–158, 2018.
- HSIEH, M.-F. et al. Nano-Sized Micelles of Block Copolymers of Methoxy Poly(ethylene glycol)-Poly(E-caprolactone)- Graft-2-Hydroxyethyl Cellulose for Doxorubicin Delivery. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 8, n. 3, 2008.
- JAIN, S. et al. Cellulose derivatives as thermoresponsive polymer: An overview. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 12, p. 139–144, 2013.
- JAMSHIDIAN, M. et al. Structural, mechanical and barrier properties of active PLA-antioxidant films. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3, p. 380–389, jun. 2012.
- JIANG, Z.; NGAI, T. Recent Advances in Chemically Modified Cellulose and Its Derivatives for Food Packaging Applications: A Review. **Polymers**, v. 14, n. 1533, p. 30, 2022.
- JONGJAREONRAK, A. et al. Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 3, p. 449–458, maio 2008.
- JULLANDER, I. Solubility properties of on-ionic water-soluble cellulose ethers in mixtures of water and alcohol. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 9, p. 1620–1633, 1955.
- KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L.-Å. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v. 31, n. 7, p. 671–701, jul. 1996.
- KJØNIKSEN, A. L.; KNUDSEN, K. D.; NYSTRÖM, B. Phase separation and structural properties of semidilute aqueous mixtures of ethyl(hydroxyethyl)cellulose and an ionic surfactant. **European Polymer Journal**, v. 41, n. 9, p. 1954–1964, 2005.
- KLEMM, D. et al. **Comprehensive Cellulose Chemistry: Functionalization of Cellulose**. First ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1998. v. 2
- KONG, Y. T.; KUTTY, R. V. Physical characterization of propolis encapsulated vitamin E TPGS as nanomedicine. **Materials Today: Proceedings**, 24 mar. 2021.
- LAI, W.-F. Design of Polymeric Films for Antioxidant Active Food Packaging. **Int. J. Mol. Sci**, v. 2022, p. 12, 2021.
- LANGKILDE, F. W.; SVANTESSON, A. Identification of celluloses with Fourier-Transform (FT) mid-infrared, FT-Raman and near-infrared spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 13, n. 4–5, p. 409–414, 1995.
- LEE, Y. S. et al. Effectiveness of antioxidant-impregnated film in retarding lipid oxidation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 9, p. 993–1000, 2004.
- LI, J. et al. Evaluation of alpha-tocopherol stability in soluble dietary fiber based nanofiber. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 485–490, 1 maio 2016.
- LOURENÇO, S. C.; MOLDÃO-MARTINS, M.; ALVES, V. D. Antioxidants of Natural

Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. **Molecules**, v. 24, p. 25, 2019.

LYYTIKÄINEN, J. et al. Skin and bubble formation in films made of methyl nanocellulose, hydrophobically modified ethyl(hydroxyethyl)cellulose and microfibrillated cellulose. **Cellulose**, v. 28, n. 2, p. 787–797, 1 jan. 2021.

MA, X. et al. Ethyl cellulose particles loaded with α -tocopherol for inhibiting thermal oxidation of soybean oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 252, n. June 2020, p. 1–10, 2021.

MAJEWICZ, T. G.; PODLAS, T. J. **Cellulose ethers**, 2000. (Nota técnica).

MALI, S. et al. Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 25, p. 7720–7725, 2004.

MALMSTEN, M. et al. Temperature-Dependent Forces between Hydrophobic Surfaces Coated with Ethyl(hydroxyethyl)cellulose. **Langmuir**, v. 6, n. 10, p. 1572–1578, 1990.

MAN, Y. B. C.; AMMAWATH, W.; MIRGHANI, M. E. S. Determining α -tocopherol in refined bleached and deodorized palm olein by Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 90, p. 323–327, 2005.

MANZANAREZ-LÓPEZ, F. et al. Release of α -Tocopherol from Poly(lactic acid) films, and its effect on the oxidative stability of soybean oil. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 4, p. 508–517, 2011.

MARKET ANALYSIS REPORT. **Food Packaging Market Size - 2020-2027**. Disponível em: <<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/food-packaging-market>>. Acesso em: 28 fev. 2021.

MARKET RESEARCH REPORT. **Food Packaging Market Size - 2020-2027**. Disponível em: <<https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/food-packaging-market-101941>>. Acesso em: 28 fev. 2021.

MARSH, K. S. Food Packaging? Roles, Materials, and Environmental Issues. n. May, 2007.

MARTELLI, S. M. et al. Edible carboxymethyl cellulose films containing natural antioxidant and surfactants: α -tocopherol stability, in vitro release and film properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 21–29, 2017.

MIRZAEI-MOHKAM, A. et al. Optimisation, antioxidant attributes, stability and release behaviour of carboxymethyl cellulose films incorporated with nanoencapsulated vitamin E. **Progress in Organic Coatings**, v. 134, n. May, p. 333–341, 2019.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J. Sci. Technol.**, v. 26, n. 2, p. 211–219, 2004.

MOTTA, C. **Incorporação do antioxidante alfa-tocoferol em filmes de carboximetilcelulose**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

MOUTINHO, I.; FIGUEIREDO, M.; FERREIRA, P. Evaluating the surface energy of laboratory-made paper sheets by contact angle measurements. **Tappi Journal**, v. 6, n. 6, p. 26–32, 2007.

NANDI, L. G. **Caracterização e modificação hidrofóbica do polissacarídeo Lentinan extraído do cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) e estudos da sua auto-associação na presença de sulfobetainas**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

NANDI, L. G. et al. Optical Chemosensor for the Detection of Cyanide in Water Based On Ethyl(hydroxyethyl)cellulose Functionalized with Brooker's Merocyanine. **Analytical Chemistry**, v. 86, p. 4653–4656, 2014.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **Dodecanoic acid**. Disponível em: <<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C143077&Type=IR-SPEC&Index=1>>. Acesso em: 29 jun. 2022.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Ascorbic acid**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54670067#section=Color-Form>>. Acesso em: 10 out. 2020a.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **DL-alpha-Tocopherol**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/DL-alpha-Tocopherol#section=Refractive-Index>>. Acesso em: 10 out. 2020b.

NGUYEN, D. K.; HUYNH, T. L. D.; NASIR, M. A. Carbon emissions determinants and forecasting: Evidence from G6 countries. **Journal of Environmental Management**, v. 285, 1 maio 2021.

NIKI, E.; ABE, K. **Vitamin E: Structure, Properties and Functions**. 1. ed. [s.l.] Royal Society of Chemistry, 2019.

NILSSON, S.; HOLMBERG, C.; SUNDELÖF, L. O. Approach to hydrodynamic equilibrium and its time dependence in the system EHEC/SDS/Water. **Colloid & Polymer Science**, v. 272, n. 3, p. 338–347, 1994.

OH, E.; LUNER, P. E. Surface free energy of ethylcellulose films and the influence of plasticizers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 188, n. 2, p. 203–219, 1999.

ORGANIC CHEMISTRY PORTAL. **Steglich Esterification**. Disponível em: <<https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/steglich-esterification.shtm>>. Acesso em: 5 maio. 2021.

OSTROVSKII, D. et al. Association and Thermal Gelation in Aqueous Mixtures of Ethyl(hydroxyethyl)cellulose and Ionic Surfactant: FTIR and Raman Study. **Macromolecules**, v. 32, n. 5, p. 1534–1540, 1999.

OZDEMIR, M.; FLOROS, J. D. Active Food Packaging Technologies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, n. 3, p. 185–193, maio 2004.

PATURAL, L. et al. Cellulose ethers influence on water retention and consistency in cement-

based mortars. **Cement and Concrete Research**, v. 41, n. 1, p. 46–55, jan. 2011.

PEREIRA, B. **The plastic's sustainability saga: two facts, a misconception, and a better solution**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.worldpackaging.org/Uploads/2022-04/NewsPDF80_1649167213.pdf>.

PÉROVAL, C. et al. Edible arabinoxylan-based films. 1. Effects of lipid type on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 14, p. 3977–3983, 2002.

PIAO, C.; WINANDY, J. E.; SHUPE, T. F. From Hydrophilicity To Hydrophobicity : a Critical Review : Part I . Wettability and Surface Behavior. **Wood and Fiber Science**, v. 42, n. 4, p. 490–510, 2010.

QUERO, F. et al. Cross-linked bacterial cellulose networks using glyoxalization. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 3, n. 2, p. 490–499, 2011.

RAAK, N. et al. Processing- and product-related causes for food waste and implications for the food supply chain. **Waste Management**, v. 61, p. 461–472, 1 mar. 2017.

RAO, J. P.; GECKELER, K. E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 36, n. 7, p. 887–913, 2011.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, maio 1999.

REIS, D. R.; AMBROSI, A.; LUCCIO, M. DI. Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. **Future Foods**, v. 5, n. February, p. 100126, 2022.

RIBEIRO-SANTOS, R. et al. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 61, p. 132–140, 1 mar. 2017.

ROSTAMI, M. R. et al. Application of different biopolymers for nanoencapsulation of antioxidants via electrohydrodynamic processes. **Food Hydrocolloids**, v. 97, p. 105170, 1 dez. 2019.

RYDZ, J. et al. **Present and Future of Biodegradable Polymers for Food Packaging Applications**. Zabrze: Elsevier, 2018.

ŞEN, F.; KAHRAMAN, M. V. Preparation and characterization of hybrid cationic hydroxyethyl cellulose/sodium alginate polyelectrolyte antimicrobial films. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 29, n. 7, p. 1895–1901, 2018.

SHAGHALEH, H.; XU, X.; WANG, S. Current progress in production of biopolymeric materials based on cellulose, cellulose nanofibers, and cellulose derivatives. **RSC Advances**, v. 8, n. 2, p. 825–842, 3 jan. 2018.

SILVESTRE, C.; DURACCIO, D.; CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 12, p. 1766–1782, 1 dez. 2011.

TAJEDDIN, B.; ARABKHEDRI, M. **Polymers and food packaging**. [s.l.] INC, 2020.

THE COUNCIL OF THE EUROPEAN COMUNITIES. **Council Directive 82/711/EEC of 18 October 1982 laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A31982L0711>>. Acesso em: 29 set. 2020.

THURESSON, K.; LINDMAN, R. Effect of Hydrophobic Modification of a Nonionic Cellulose Derivative on the Interaction with Surfactants. Phase Behavior and Association. **Journal of Physical Chemistry**, v. 101, p. 6460–6468, 1997.

TURHAN, K. N.; ŞAHBAZ, F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 61, n. 3, p. 459–466, 2004.

U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION. **CFR - Code of Federal Regulations Title 21.** Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=176.170>>. Acesso em: 22 maio. 2021.

VAUTHIER, C.; BOUCHEMAL, K. Methods for the Preparation and Manufacture of Polymeric Nanoparticles. **Pharmaceutical Research**, v. 26, n. 5, p. 1025–1058, 2009.

WALI, A. et al. Electrospinning of non-ionic cellulose ethers/polyvinyl alcohol nanofibers: Characterization and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, n. October 2017, p. 175–182, 2018.

WALI, A. et al. **In Vivo Wound Healing Performance of Halloysite Clay and Gentamicin-Incorporated Cellulose Ether-PVA Electrospun Nanofiber Mats** *ACS Applied Bio Materials*, 2019.

WANG, G.; OLOFSSON, G. Ethyl(hydroxyethyl)cellulose and ionic surfactants in dilute solution. Calorimetric and viscosity study of the interaction with SDS and some cationic surfactants. **Journal of Physical Chemistry**, v. 99, n. 15, p. 5588–5596, 1995.

WANG, H. et al. Edible films from chitosan-gelatin: Physical properties and food packaging application. **Food Bioscience**, v. 40, 1 abr. 2021.

WANG, J. et al. A novel temperature-sensitive cationic hydrophobic cellulose ether: preparation and characterization. **Colloid and Polymer Science**, v. 298, p. 1227–1237, 2020.

WOLF, G. History of Nutrition The Discovery of the Antioxidant Function of Vitamin E: the Contribution of Henry A. Mattill. **The Journal of Nutrition**, v. 135, p. 363–366, 2005.

WU, F.; MISRA, M.; MOHANTY, A. K. Challenges and new opportunities on barrier performance of biodegradable polymers for sustainable packaging. **Progress in Polymer Science**, v. 117, p. 101395, 2021.

WU, H.; RICHARDS, M. P.; UNDELAND, I. Lipid oxidation and antioxidant delivery systems in muscle food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, p. 1275–1299, 2022.

YAMAUCHI, R. Vitamin E: Mechanism of Its Antioxidant Activity. **Food Set Technol. Int. Tokyo**, v. 3, n. 4, p. 301–309, 1997.

YAN, W. et al. Preparation of α -tocopherol-chitosan nanoparticles/chitosan/montmorillonite film and the antioxidant efficiency on sliced dry-cured ham. **Food Control**, v. 104, n. December 2018, p. 132–138, 2019.

YEAMSUKSAWAT, T.; LIANG, J. Characterization and release kinetic of crosslinked chitosan film incorporated with α -tocopherol. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, n. October, p. 100415, 2019.

YILDIRIM, S. et al. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 1, p. 165–199, 1 jan. 2018.

ZANCAN, P. H. **INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS DE DEPOSIÇÃO NA MOLHABILIDADE DE FILMES DE a-C:H**. [s.l.] Universidade do Estado de Santa Catarina, 2017.

ZHANG, L. et al. Effects of interaction between α -tocopherol, oryzanol, and phytosterol on the antiradical activity against DPPH radical. **LWT - Food Science and Technology**, v. 112, n. October 2018, p. 108206, 2019.

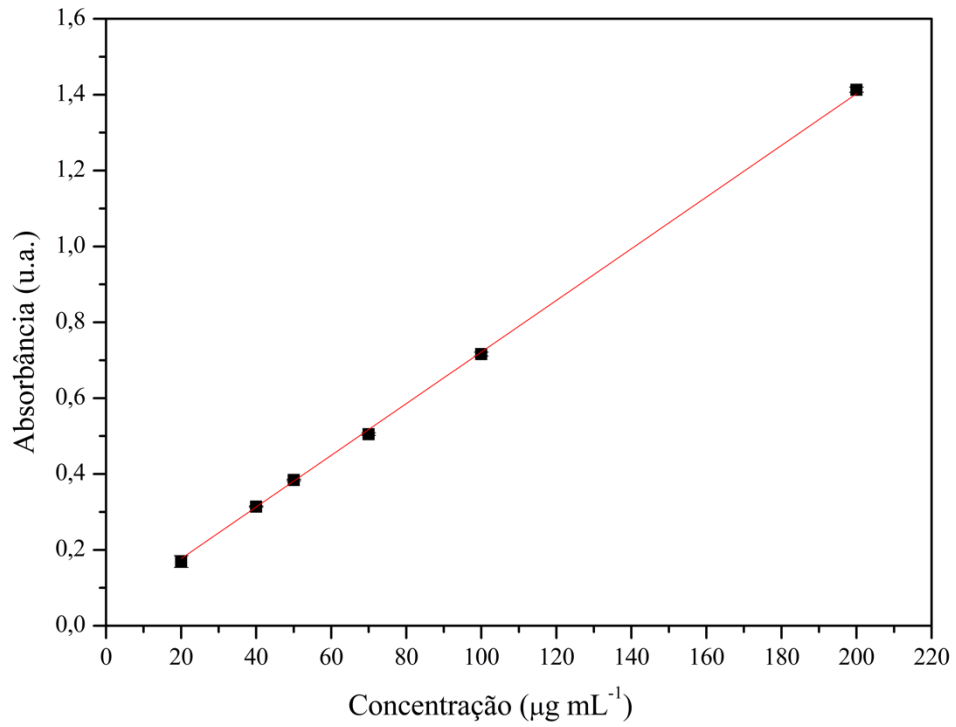
ZHANG, Y.; ZHU, P. C.; EDGREN, D. Crosslinking reaction of poly(vinyl alcohol) with glyoxal. **Journal of Polymer Research**, v. 17, n. 5, p. 725–730, 2010.

ZIGONEANU, I. G. **Alpha-tocopherol: extraction from rice bran by microwave-assisted method, and entrapment and release from polymeric nanoparticles**. [s.l.] Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, 2006.

ZYGOURA, P. D.; PALEOLOGOS, E. K.; KONTOMINAS, M. G. Changes in the specific migration characteristics of packaging-food simulant combinations caused by ionizing radiation: Effect of food simulant. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 80, n. 8, p. 902–910, 2011.

APÊNDICE A – CURVA ANALÍTICA DE α -TOCOFEROL POR
ESPECTROFOTOMETRIA DE UV-VIS

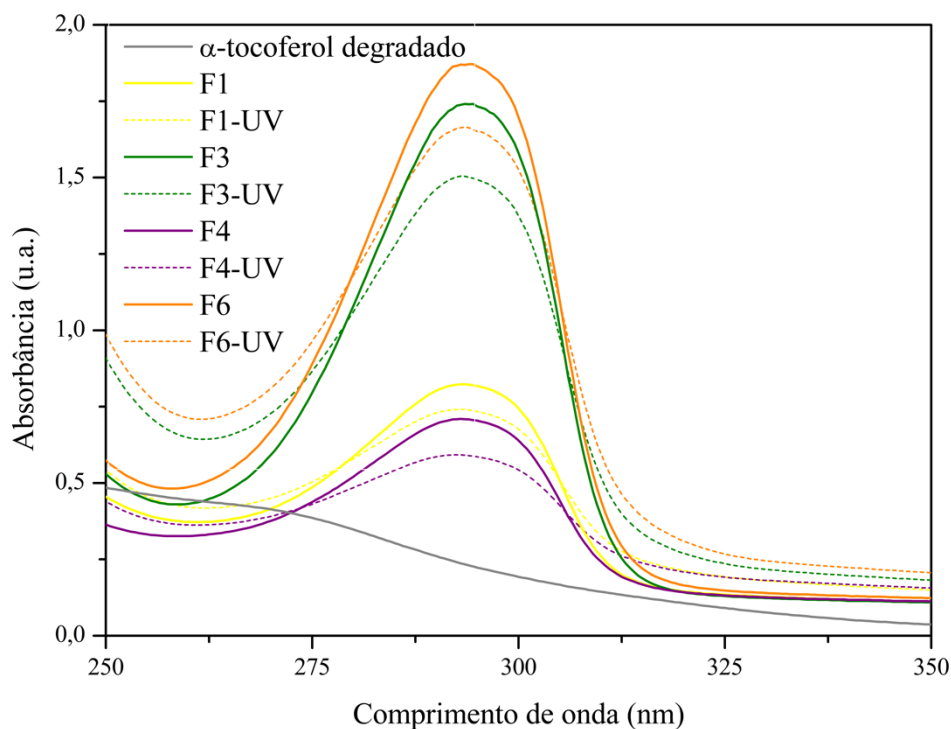
Figura 28 - Curva analítica de α -tocoferol por espectrofotometria de UV-Vis, a 25 °C.



Fonte: A autora.

APÊNDICE B – ESPECTROS DE UV-VIS PARA AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO α -TOCOFEROL INCORPORADO A FILMES DE EHEC

Figura 29 - Espectros de comparação da estabilidade do α -tocoferol livre e incorporado em filmes de EHEC. F1 e F1-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e 5 mg de α -tocoferol; F3 e F3-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 10% e 15 mg de α -tocoferol; F4 e F4-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 5 mg de α -tocoferol. F6 e F6-UV - amostras com incorporação de NP de EHEC-C12 20% e 15 mg de α -tocoferol. Amostras F1-UV, F3-UV, F4-UV e F6-UV e α -tocoferol degradado submetidas à radiação UV à 254 nm por 6h.



Fonte: A autora.