



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO - CTC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

GRICIELLE APARECIDA SUTIL

IMPREGNAÇÃO SUPERCRÍTICA DE PIPERINA E EXTRATO DE PIMENTA-DO-REINO EM FILMES DE PLLA PARA EMBALAGENS ATIVAS DE ALIMENTOS

Florianópolis
2023

Gricielle Aparecida Sutil

IMPREGNAÇÃO SUPERCRÍTICA DE PIPERINA E EXTRATO DE PIMENTA-DO-REINO EM FILMES DE PLLA PARA EMBALAGENS ATIVAS DE ALIMENTOS

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Marcelo Lanza, Dr.
Coorientador(a): Kátia Suzana Andrade, Dr.(a)
Evertan A. Rebelatto, Dr.

Florianópolis
2023

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

Sutil, Gricielle Aparecida
IMPREGNAÇÃO SUPERCRÍTICA DE PIPERINA E EXTRATO DE
PIMENTA-DO-REINO EM FILMES DE PLLA PARA EMBALAGENS ATIVAS
DE ALIMENTOS / Gricielle Aparecida Sutil ; orientador,
Marcelo Lanza, coorientador, Kátia Suzana Andrade,
coorientador, Evertan Antonio Rebelatto, 2023.
167 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Tecnologia supercrítica.
3. Embalagens ativas de alimentos. 4. Biopolímeros. 5.
Compostos ativos . I. Lanza, Marcelo. II. Andrade, Kátia
Suzana. III. Rebelatto, Evertan Antonio IV. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos. V. Título.

Gricielle Aparecida Sutil

IMPREGNAÇÃO SUPERCRÍTICA DE PIPERINA E EXTRATO DE PIMENTA-DO-REINO EM FILMES DE PLLA PARA EMBALAGENS ATIVAS DE ALIMENTOS

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 24 de novembro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Marcelo Lanza, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Prof.(a) Ana Carolina de Aguiar, Dr.(a)
Universidade Federal de São Carlos – UFSCar

Prof.(a) Rosana Aparecida da Silva Buzanello, Dr.(a)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Gláucia Regina Medeiros Burin, Dr.(a)
Universidade Federal do Paraná - UFPR

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Prof.(a) Jaciane Lutz Lenczak, Dr.(a)
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação

Prof. Marcelo Lanza, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2023

Aos meus pais Elza e Carmo,
meu esposo Ricardo e meu
filho Emanuel.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela força, sabedoria e por me permitir vivenciar esse momento tão esperado.

Aos meus pais, Elza e Carmo, pelo apoio, ensinamentos e inspiração, que me motivaram a nunca desistir dos meus sonhos. Vivemos momentos difíceis enquanto cursei o doutorado, o incentivo de vocês foram fundamentais para essa conquista.

Ao meu esposo Ricardo, por ter compartilhado comigo essa jornada, pelo incentivo, carinho e compreensão nos momentos em que mais precisei. Obrigada por assumir muitas vezes os cuidados com o Emanuel nos períodos em que estive ausente.

Ao meu filho Emanuel, pela sua paciência nos diversos momentos que não pude lhe dar atenção, que mesmo tão pequeno entendeu a importância da elaboração deste trabalho.

À minha irmã Leise (*in memoriam*), que partiu em 2021, na metade do doutorado. Sua perda ainda dói. Saudades!

Aos meus orientadores prof. Dr. Marcelo Lanza, Dra. Kátia Suzana Andrade e Dr. Evertan A. Rebelatto, que aceitaram me orientar. Pela paciência e compreensão que sempre tiveram comigo. Pelo apoio na execução dos experimentos, correções e pelas valiosas sugestões nos artigos e tese. Vocês acreditaram no meu potencial, isso fez toda a diferença! Eu realmente aprendi muito com vocês.

Aos meus colegas do Latesc pela agradável convivência, troca de experiências e apoio.

Agradeço aos técnicos da Central de Análises do EQA, ao Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos (PROFI), Laboratório de Processos com Membranas (LABSEM), Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN), Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LabCroMS), Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB), por me permitir utilizar os equipamentos e realizar as análises e a profa. Dra. Marta Elisa Rosso Dotto do

Departamento de Física (CFM) pela realização das análises de rugosidade dos filmes.

Agradeço também aos membros da banca examinadora por aceitarem nosso convite e pelas valiosas contribuições.

Aos docentes, técnicos de laboratório e técnicos administrativos do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos (EQA) da Universidade Federal de Santa Catarina, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

Minha gratidão ao Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT), em especial ao campus Sorriso, pela oportunidade em cursar o doutorado e poder vivenciar experiências que contribuíram muito para meu crescimento profissional.

ASSIM MESMO

“Muitas vezes, as pessoas são egocêntricas, ilógicas, insensatas.
Perdoe assim mesmo.
Se você é gentil, as pessoas podem acusá-lo de egoísta, interesseiro.
Seja gentil, assim mesmo.
Se você é um vencedor, terá alguns falsos amigos e alguns inimigos verdadeiros.
Vença assim mesmo.
Se você é honesto e franco, as pessoas podem enganá-lo.
Seja honesto assim mesmo.
O que você levou anos para construir, alguém pode destruir de uma hora para outra.
Construa assim mesmo.
Se você tem paz e é feliz, as pessoas podem sentir inveja.
Seja feliz assim mesmo.
Dê ao mundo o melhor de você, mas isso pode nunca ser o bastante.
Dê o melhor de você assim mesmo.

Veja você que, no final das contas, é entre você e Deus.
Nunca foi entre você e as outras pessoas!”

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

A impregnação supercrítica de agentes ativos em biopolímeros tem-se mostrado promissora no desenvolvimento de embalagens ativas para alimentos. Nestas embalagens, a liberação dos compostos ativos pode provocar mudanças na embalagem para aumentar a vida útil e melhorar as propriedades sensoriais e de segurança. A tecnologia supercrítica apresenta vantagens em relação aos métodos de impregnação convencionais, como a utilização de solventes inertes, atóxicos, de fácil remoção e ambientalmente aceitáveis. Dentre os biopolímeros empregados em embalagens, o PLLA é considerado o mais promissor para substituir os polímeros à base de petróleo. Agentes ativos naturais têm sido estudados para incorporação em embalagens de alimentos por apresentarem capacidade antioxidante e antimicrobiana. O extrato da pimenta-do-reino apresenta compostos bioativos com propriedades importantes, dentre eles a piperina, que é o principal componente. Desta forma, a técnica de impregnação supercrítica foi utilizada para incorporar piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA com objetivo de desenvolver embalagens ativas para alimentos. Os testes preliminares foram realizados em uma célula de alta pressão com parâmetros operacionais de temperatura (40 e 50 °C), pressão (10 e 12 MPa) e parâmetros fixos de taxa de depressurização de 1 MPa min⁻¹ e tempo de 3 h. Foram testados filmes de PLLA de diferentes espessuras (100, 150 e 200 µm). Utilizou-se etanol como cossolvente (5 e 10%), devido à baixa solubilidade dos compostos ativos em dióxido de carbono supercrítico nas condições operacionais estudadas. As melhores condições de operação foram de 10 MPa, 50 °C, 1 MPa min⁻¹, 3 h (28,5 mg g⁻¹), ou seja, nestas condições ocorreu a maior carga de impregnação do composto ativo. Nos tratamentos sem adição de cossolvente, a carga máxima de impregnação foi de 53 mg g⁻¹ para o extrato de pimenta-do-reino. Com a adição de 5% de cossolvente a carga máxima de impregnação foi semelhante entre a piperina (56 mg g⁻¹) e o extrato (52 mg g⁻¹). As análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e a difração de raio x (DRX) indicaram que a incorporação dos agentes ativos com scCO₂ aumentou a cristalinidade dos filmes, sendo maiores com a adição do cossolvente. Todos os filmes tratados apresentaram maior alongação na ruptura e se tornaram mais flexíveis, o que foi comprovado pela redução no módulo de Young. A adição de cossolvente reduziu a resistência a ruptura dos filmes impregnados. A análise de intumescimento indicou que todos os filmes são insolúveis em água. A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) revelou a presença de bandas características dos compostos ativos nos filmes impregnados. A capacidade antioxidante determinada pelo método DPPH foi maior para os filmes impregnados com extrato comparados aos filmes com piperina pura, sendo de aproximadamente 84%. No meio simulante 95% etanol a liberação de piperina foi maior para os filmes impregnados com extrato e 5% de cossolvente (86%) devido à maior afinidade da piperina no meio e a interação do etanol com o PLLA, o que melhorou a difusão. Os resultados obtidos neste estudo demonstram o potencial do PLLA e do extrato de pimenta-do-reino como estratégia sustentável e ecologicamente correta para a elaboração de embalagens ativas de alimentos.

Palavras-chave: tecnologia verde; biopolímeros; filmes ativos; agentes ativos; CO₂ supercrítico.

ABSTRACT

The supercritical impregnation of active agents in biopolymers has shown promise in the development of active packaging for food. In these packages, the release of active compounds can cause changes in the packaging to increase shelf life and improve sensory and safety properties. Supercritical technology has advantages over conventional impregnation methods, such as the use of inert, non-toxic, easily removed and environmentally acceptable solvents. Among the biopolymers used in packaging, PLLA is considered the most promising to replace petroleum-based polymers. Natural active agents have been studied for incorporation into food packaging due to their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Black pepper extract contains bioactive compounds with important properties, including piperine, which is the main component. In this way, the supercritical impregnation technique was used to incorporate piperine and black pepper extract into PLLA films with the aim of developing active packaging for food. Preliminary tests were carried out in a high pressure cell with operating parameters of temperature (40 and 50 °C), pressure (10 and 12 MPa) and fixed parameters of depressurization rate of 1 MPa min⁻¹ and time of 3 h. PLLA films of different thicknesses (100, 150 and 200 µm) were tested. Ethanol was used as a cosolvent (5 and 10%), due to the low solubility of the active compounds in scCO₂ (supercritical carbon dioxide) under the operational conditions studied. The best operating conditions were 10 MPa, 50 °C, 1 MPa min⁻¹, 3 h (28,5 mg g⁻¹), that is, under these conditions the highest impregnation load of the active compound occurred. In treatments without the addition of cosolvent, the maximum impregnation load was 53 mg g⁻¹ for black pepper extract. With the addition of 5% cosolvent, the maximum impregnation load was similar between piperine (56 mg g⁻¹) and the extract (52 mg g⁻¹). The analyzes of differential scanning calorimetry (DSC) and x-ray diffraction (XRD) indicated that the incorporation of active agents with scCO₂ increased the crystallinity of the films, which were greater with the addition of the cosolvent. All treated films showed greater elongation at break and became more flexible, which was proven by the reduction in Young's modulus. The addition of cosolvent reduced the breaking strength of the impregnated films. Swelling analysis indicated that all films are insoluble in water. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) revealed the presence of bands characteristic of active compounds in the impregnated films. The antioxidant capacity determined by the DPPH method was higher for films impregnated with extract compared to films with pure piperine, being approximately 84%. In the 95% ethanol simulant medium, the piperine release rate was higher for films impregnated with extract and 5% cosolvent (86%), due to the greater affinity of piperine in the medium and the interaction of ethanol with PLLA, which improved diffusion. The results obtained in this study demonstrate the potential of PLLA and black pepper extract as a sustainable and environmentally friendly strategy for the development of active food packaging.

Keywords: green technology; biopolymers; active films; active agents; supercritical CO₂.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química do PLLA	33
Figura 2 - Três estereoisômeros de lactídeo que formam após polimerização estruturas distintas de PLA.....	34
Figura 3 - Estrutura do PLLA em diferentes escalas	36
Figura 4 - Frutos da pimenta-do-reino (<i>P.nigrum L.</i>).....	44
Figura 5 - Mecanismo de ação das propriedades farmacológicas de compostos bioativos de <i>Piper nigrum L.</i>	46
Figura 6 - Estrutura molecular da piperina.....	49
Figura 7 - Procedimentos operacionais de impregnação supercrítica.....	53
Figura 8 - Esquema dos mecanismos de impregnação supercrítica de aditivos em polímeros assistida por scCO ₂	55
Figura 9 - Esquema do processo de impregnação supercrítica de agentes puros ou multicomponentes em matrizes poliméricas.....	60
Figura 10 - Aparato experimental.....	73
Figura 11 - Carga impregnada com scCO ₂ de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA com e sem cossolvente	90
Figura 12 - Intensidade de fluorescência (unidade arbitrária) em filmes de PLLA puro, PLLA com scCO ₂ e PLLA impregnado com agentes ativos com e sem cossolvente.....	91
Figura 13 - Curva de DSC do PLLA puro, PLLA com scCO ₂ , com adição de piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente na primeira curva de aquecimento e segunda curva de aquecimento.....	92
Figura 14 - Gráficos de difração de raio x (DRX) do PLLA puro, PLLA com scCO ₂ e em diferentes tratamentos com scCO ₂	97
Figura 15 - Variação das propriedades mecânicas (resistência à ruptura, alongação na ruptura e módulo de Young) em diferentes filmes impregnados	100
Figura 16 - Banda da piperina em filmes de PLLA impregnados com piperina com e sem cossolvente.....	104
Figura 17 - Bandas da piperina em filmes de PLLA impregnados com extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente.....	105

Figura 18 - Imagens MEV da superfície (superior) (2000 X) e corte transversal (inferior) (1000 X) (a) PLLA puro, (b) PLLA + scCO ₂ , (c) PLLA + scCO ₂ + PP, (d) PLLA + PP + 5% EtOH, (e) PLLA + PP + 10% EtOH, (f) PLLA + EPR, (g) PLLA + EPR + 5% EtOH, (h) PLLA + EPR + 10% EtOH	108
Figura 19 - Micrografias de força atômica (2D e 3D) de filmes de PLLA puro, PLLA + CO ₂ , PLLA + PP, PLLA + PP + 5% EtOH, PLLA + 10% EtOH, PLLA + EPR, PLLA + EPR + 5% EtOH e PLLA + EPR + 10% EtOH.....	111
Figura 20 - Filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente.....	124
Figura 21 - Capacidade antioxidante dos filmes impregnados em 24 e 96 horas.....	126
Figura 22 - Migração de piperina impregnada em PLLA para meios simulantes de alimentos.....	130
Figura 23 - Migração de extrato de pimenta-do-reino impregnada em PLLA para meios simulantes de alimentos.....	130
Figura B.1. Varredura de comprimento de onda de extrato da piperina em solução aquosa de etanol 10% (v/v) em região UV-Visível	158
Figura B.2. Varredura de comprimento de onda de extrato da piperina em solução aquosa de etanol 95% (v/v) em região UV-Visível	159
Figura B.3. Varredura de comprimento de onda de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v) em região UV-Visível.....	160
Figura B.4. Varredura de comprimento de onda de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 95% (v/v) em região UV-Visível.....	161
Figura B.5. Curva de calibração de piperina em solução de diclorometano:metanol (v/v)	162
Figura B.6. Curva de calibração de piperina em solução aquosa de etanol 10% (v/v).....	163
Figura B.7. Curva de calibração de piperina em solução aquosa de etanol 95% (v/v).....	164
Figura B.8. Curva de calibração de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v).....	165
Figura B. 9. Curva de calibração de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v).....	166

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais conclusões apresentadas em artigos científicos publicados nos últimos anos sobre a impregnação de diferentes agentes ativos em biopolímeros com CO ₂ supercrítico para embalagens de alimentos.....	30
Tabela 2 - Comparação das propriedades mecânicas do PLLA com PS e PET.....	37
Tabela 3 - Composição química da pimenta-do-reino.....	45
Tabela 4 - Composição química do óleo essencial de pimenta-do-reino obtido por extração com CO ₂ supercrítico.....	48
Tabela 5 - Concentração mínima inibitória (CMI) de extrato de pimenta-do-reino, piperina e ampicilina.....	50
Tabela 6 - Solubilidade da piperina e extrato de pimenta-do-reino em scCO ₂	55
Tabela 7 - Parâmetro de solubilidade para PLLA e piperina usando o método de Hoftzyer-Van Krevelen.....	56
Tabela 8 - Parâmetro de solubilidade do sistema piperina/PLLA/CO ₂	56
Tabela 9 - Métodos convencionais de impregnação de substâncias ativas em matrizes poliméricas.....	62
Tabela 10 - Propriedades do PLLA.....	71
Tabela 11 - Parâmetros de processos avaliados para impregnação assistida por scCO ₂ de PLLA com piperina.	74
Tabela 12 - Carga de piperina impregnada em PLLA e rendimento de impregnação em diferentes condições operacionais de P e T	82
Tabela 13 - Carga impregnada de piperina em filmes de PLLA com diferentes espessuras nas condições de processo de P = 10 MPa, T = 50 °C, t = 3 h, Dr = 10 bar min ⁻¹ e ρ _{CO2} = 385,2 Kg m ⁻³	84
Tabela 14 - Composição química do extrato de pimenta-do-reino obtido por extração supercrítica.....	85
Tabela 15 - Carga impregnada de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA.....	85
Tabela 16 - Carga impregnada e rendimento de impregnação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA com scCO ₂ (P = 10 MPa, T = 50 °C, Dr = 1 MPa min ⁻¹ , t = 3 h, ρ _{CO2} = 385,2 Kg m ⁻³).	87

Tabela 17 - Mudanças nas temperaturas características e cristalinidade do PLLA de diferentes tratamentos com scCO ₂	93
Tabela 18 - Propriedades mecânicas dos filmes de PLLA puro, impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente.....	100
Tabela 19 - Grau de intumescimento de filme de PLLA puro e impregnado com piperina e extrato de pimenta-do-reino.	102
Tabela 20 - Ângulo de contato de filme de PLLA puro e impregnado com piperina e extrato de pimenta-do-reino	112
Tabela 21 - Parâmetros de cor e opacidade do filme de PLLA puro (controle) e dos filmes impregnados	123
Tabela A.1 - Absorbância (nm) e capacidade antioxidante (CA%) de filmes de PLLA impregnados com piperina e pimenta-do-reino sem e com 5% de cossolvente	157
Tabela C.1 - Quantidade liberada de PP e EPR em meios simulantes de etanol 10 e 95% (v/v)	167

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
CG/EM	Cromatografia gasosa-espectrometria de massa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CO ₂	Dióxido de carbono
DPPH	(2,2-difenil-1- picrilidrazina)
DR	Taxa de despressurização
DRX	Difração de raio X
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
EFS	Extração com fluido supercrítico
EFS	Extração com fluido supercrítico
EPR	Extrato de pimenta-do-reino
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
GRAS	Geralmente reconhecido como seguro (Generally recognized as safe)
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MFA	Microscopia de força atômica
ONU	Organização das Nações Unidas
PCL	Poli (ϵ -caprolactona)
PDLA	Poli (D-ácido láctico)
PDLLA	Poli (LD-ácido láctico)
PEBD	Poli etileno de baixa densidade
PEG	Polietilenoglicol
PEO	Óxido de polietileno
PET	Polietileno
PGA	Poli (ácido glicólico)
PHA	Polihidroxialcanoato
PHB	Polihidroxibutirato
PHBV	3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato
PHV	Polihidroxivalerato
PLA	Poli (ácido láctico)

PLLA	Poli (L - ácido láctico)
PP	Polipropileno
PP	Piperina
PS	Poliestireno
PVA	Poli (álcool vinílico)
PVOH	Álcool polivinílico
RDC	Resolução da diretoria colegiada
ScCO ₂	Dióxido de carbono supercrítico
TBHQ	Terc-butilhidroquinona
T _g	Temperatura de transição vítrea
T _m	Temperatura de fusão
UE	União europeia
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	24
OBJETIVOS	26
OBJETIVO GERAL	26
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA	27
1.1 BIOPOLÍMEROS USADOS EM PROCESSOS DE IMPREGNAÇÃO	29
1.1.1 Poli (L-ácido lático) – PLLA	32
1.1.1.1 <i>Propriedades mecânicas</i>	35
1.1.1.2 <i>Propriedades térmicas</i>	37
1.1.1.3 <i>Propriedades de barreira a gases e vapor de água</i>	38
1.1.2 PLLA e CO₂ supercrítico	39
1.2 AGENTES ATIVOS EM PROCESSOS DE IMPREGNAÇÃO.....	40
1.2.1 Pimenta-do-reino (<i>Piper nigrum L.</i>)	43
1.2.1.1 <i>Extrato da pimenta-do-reino obtido por extração supercrítica</i>	46
1.2.2 Piperina	48
1.3 IMPREGNAÇÃO SUPERCRÍTICA.....	51
1.3.1 Influência dos parâmetros de processo na impregnação supercrítica ..	57
1.4 EMBALAGENS ATIVAS PARA ALIMENTOS.....	60
1.4.1 Migração de compostos ativos em embalagens de alimentos	62
CAPÍTULO 2 - EFEITO DA IMPREGNAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO DE PIPERINA E EXTRATO DE PIMENTA-DO-REINO NAS PROPRIEDADES DE FILMES DE POLI(L-ÁCIDO LÁTICO) PARA EMBALAGENS ATIVAS DE ALIMENTOS	65
RESUMO	67
2.1 INTRODUÇÃO.....	68
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	70
2.2.1 Materiais	70
2.2.2 Preparação dos filmes de PLLA	71
2.2.3 Impregnação supercrítica	72
2.2.4 Testes preliminares	73

2.2.4.1 <i>Influência dos parâmetros impregnação supercrítica usando piperina como substância modelo</i>	73
2.2.4.1.1 Pressão e temperatura	73
2.2.4.1.2 Diferença nas espessuras dos filmes	74
2.2.5 Produção do extrato de pimenta-do-reino	75
2.2.5.1 <i>Composição química do extrato de pimenta-do-reino</i>	75
2.2.6 Caracterização dos filmes impregnados	76
2.2.6.1 <i>Determinação e quantificação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA</i>	76
2.2.6.1.1 Análises gravimétrica e espectrofotométrica	76
2.2.6.1.2 Fluorescência	77
2.2.6.2 <i>Propriedades estruturais</i>	78
2.2.6.2.1 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	78
2.2.6.2.2 Difração raio X (DRX)	78
2.2.6.3 <i>Propriedades funcionais</i>	79
2.2.6.3.1 Propriedades mecânicas	79
2.2.6.3.2 Propriedades de barreira	79
Grau de intumescimento	79
2.2.6.4 <i>Propriedades de superfície</i>	80
2.2.6.4.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	80
2.2.6.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	80
2.2.6.4.3 Microscopia de força atômica (MFA)	80
2.2.6.4.4 Ângulo de contato	80
2.2.7 Análise estatística	81
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
2.3.1 Testes preliminares	81
2.3.1.1 <i>Influência da pressão e temperatura no processo de impregnação</i>	81
2.3.1.2 <i>Espessuras dos filmes</i>	83
2.3.2 Composição química do extrato de pimenta-do-reino	84

2.3.3 Quantificação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA	85
2.3.3.1 <i>Medida gravimétrica e espectrofotométrica</i>	85
2.3.3.2 <i>Influência do cossolvente no processo de impregnação supercrítica</i>	87
2.3.3.3 <i>Fluorescência</i>	90
2.3.4 Propriedades estruturais	91
2.3.4.1 <i>DSC</i>	91
2.3.4.2 <i>Difração de raio x (DRX)</i>	96
2.3.5 Propriedades funcionais	98
2.3.5.1 <i>Propriedades mecânicas</i>	98
2.3.5.2 <i>Propriedades de barreira</i>	101
2.3.5.2.1 <i>Grau de intumescimento</i>	101
2.3.6 Propriedades de superfície	102
2.3.6.1 <i>Análises de FTIR</i>	102
2.3.6.2 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	106
2.3.6.3 <i>Rugosidade dos filmes</i>	109
2.3.6.4 <i>Ângulo de contato</i>	112
2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	113
CAPÍTULO 3 – IMPREGNAÇÃO SUPERCRÍTICA DE PIPERINA E EXTRATO DE PIMENTA-DO-REINO EM PLLA: EFEITOS NAS PROPRIEDADES ÓPTICAS, ANTIOXIDANTES E DE MIGRAÇÃO DOS COMPOSTOS ATIVOS	114
RESUMO	115
3.1 INTRODUÇÃO	116
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	118
3.2.1 Materiais	118
3.2.2 Propriedades ópticas	118
3.2.2.1 <i>Parâmetros de cor</i>	118
3.2.2.2 <i>Opacidade</i>	119
3.2.3 Capacidade antioxidante	119
3.2.4 Migração para os meios simulantes de alimentos	120
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	121
3.3.1 Propriedades ópticas	121

3.3.2 Propriedades antioxidantes	125
3.3.3 Migração para os meios simulantes de alimentos	127
3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	131
Capítulo 4 - CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS....	132
4.1 CONCLUSÕES	133
4.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	134
REFERÊNCIAS	135
APÊNDICE A – Capacidade antioxidante da piperina e extrato de pimenta-do-reino	157
APÊNDICE B - Curvas de calibração	158
B.1 Varredura de comprimento de onda de piperina em solução aquosa de etanol 10% (v/v)	158
B.2. Varredura de comprimento de onda da piperina em solução aquosa de etanol 95% (v/v)	159
B.3. Varredura de comprimento de onda do extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v)	160
B.4. Varredura de comprimento de onda do extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 95% (v/v)	161
B. 5 Curva de calibração de piperina em solução diclorometano:etanol	162
B.6 Curva de calibração de piperina em solução aquosa de etanol 10% (v/v)	163
B.7 Curva de calibração da piperina em solução aquosa de etanol 95% (v/v)	164
B.8 Curva de calibração de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v)	165
B.9 Curva de calibração de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 95% (v/v)	166
APÊNDICE C - Migração de PP e EPR em meios simulantes de alimentos ..	167

DIAGRAMA CONCEITUAL DA TESE

Impregnação supercrítica de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA para embalagens ativas de alimentos

O que?

Avaliou-se o uso de dióxido de carbono supercrítico na impregnação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de poli (L-ácido lático) – PLLA com adição de cossolvente para elaboração de embalagens ativas de alimentos.

Por quê?

- As regulamentações ambientais aliadas à consciência social têm pressionado nos últimos anos a indústria em substituir as embalagens obtidas do petróleo por polímeros de base biológica, além do desenvolvimento de processos industriais baseados na tecnologia verde.
- O emprego de agentes ativos naturais em embalagens pode ser considerado uma alternativa à redução do uso dos conservantes sintéticos para a preservação de alimentos.
- O PLLA é um biopolímero de fácil aquisição e custo relativamente baixo, além de apresentar propriedades semelhantes às de polímeros utilizados em embalagens de alimentos.
- A pimenta-do-reino é altamente disponível e apresenta compostos bioativos, com atividade antimicrobiana e antioxidantes para o emprego como conservante em alimentos.
- A tecnologia supercrítica preserva as propriedades dos agentes ativos, já que não utiliza temperaturas altas em seu processamento e apresenta vantagens em relação aos métodos convencionais de impregnação.

O que já existe?

- Pesquisas científicas nos últimos anos deixam claro que a utilização do processo de impregnação supercrítica para a produção de embalagens de alimentos é promissora, porém, o número de publicações ainda é limitado.
- O PLLA é estudado com mais frequência em processos de impregnação para aplicação em áreas médicas e farmacêuticas.
- A população tem aumentado o interesse em adquirir alimentos saudáveis e embalagens que reduzam o desperdício de alimentos, a fim de reduzir os impactos ambientais.
- As embalagens ativas são alternativas interessantes à substituição das embalagens convencionais empregadas na área de alimentos.

Hipóteses

- É possível incorporar piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA usando CO₂ supercrítico?
- O processo de impregnação supercrítica causa alguma alteração a olho nu na aparência dos filmes?

- As propriedades ópticas e mecânicas dos filmes são afetadas pelo processo de incorporação dos compostos com CO₂ supercrítico?
- As propriedades de barreira a umidade dos filmes ativos são alteradas em relação aos filmes de PLLA puros?
- Os filmes ativos obtidos pelo processo de impregnação supercrítica se assemelham aos filmes convencionais para alimentos?
- Os filmes impregnados apresentam atividades antioxidante capazes de preservar o alimento e serem caracterizados como embalagens ativas?
- A piperina e o extrato de pimenta-do-reino podem migrar para o alimento?

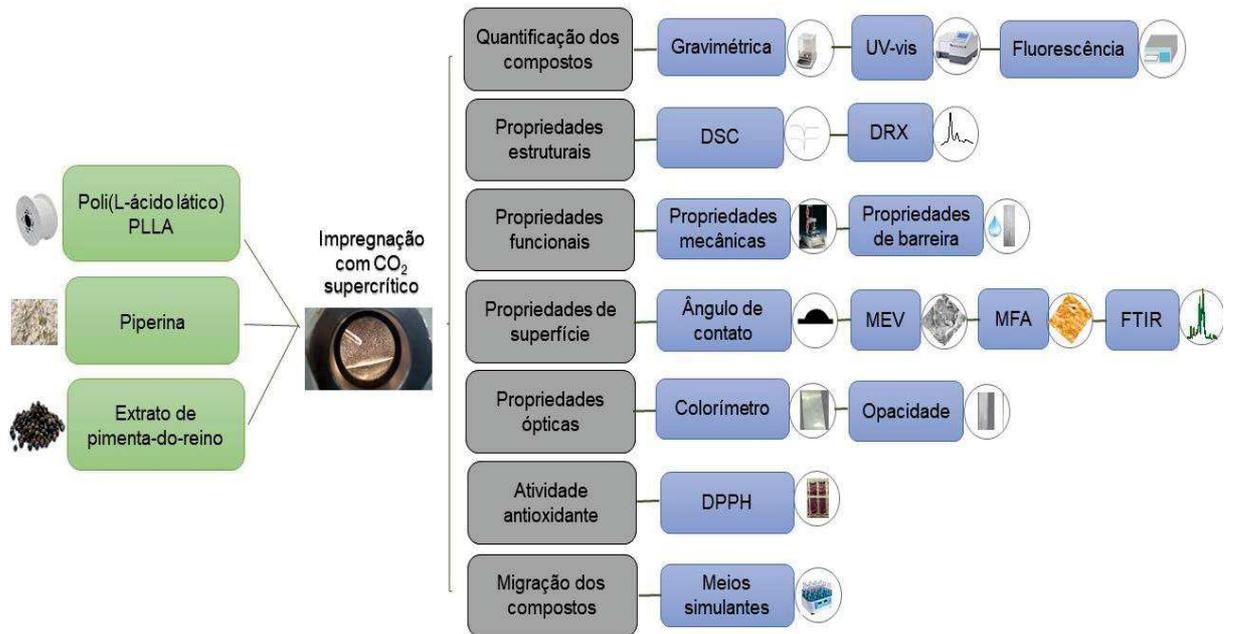
Quais as etapas?

- Produção dos filmes de PLLA por termocompressão;
- Testes preliminares com a impregnação de piperina em filmes de PLLA para definir as condições de processo (temperatura e pressão) e espessura dos filmes;
- Impregnação supercrítica de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA com adição de cossolvente (5 e 10%);
- Quantificação dos compostos ativos impregnados;
- Caracterização dos filmes impregnados;
- Avaliação da capacidade antioxidante dos filmes ativos;
- Avaliação da migração dos compostos para fluidos simulantes de alimentos.

Resultados esperados?

- Obter filmes ativos para o emprego em embalagens ativas para alimentos a partir do processo de impregnação supercrítica, com propriedades que se assemelham aos filmes convencionais;
- Aumentar o “*shelf life*” de produtos alimentícios a partir da migração dos compostos ativos para o alimento.

Fluxograma da sequência metodológica da tese



INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, pesquisas na área de alimentos foram intensificadas com foco na geração de produtos com benefícios à saúde e em embalagens que reduzam perdas, desperdícios de alimentos e causem menos impacto ao meio ambiente. As regulamentações ambientais aliadas à consciência social têm pressionado pela substituição das embalagens plásticas, derivadas do petróleo. Desta forma, tem-se aumentado o interesse por embalagens ativas produzidas por polímeros de base biológica e processos industriais sustentáveis baseados em tecnologias limpas. Dentre essas tecnologias, destaca-se a que utiliza fluidos supercríticos, que possui aplicações potenciais na indústria alimentícia, incluindo processos de extração, precipitação, encapsulamento, impregnação e reações químicas (FORNARI; STATEVA, 2015).

A embalagem ativa pode ser definida como aquela que altera as condições dos alimentos para aumentar a vida útil ou melhorar as propriedades sensoriais e de segurança, mantendo a qualidade dos alimentos, podendo ser dividida em três categorias: absorvedores, sistemas de entrega e outros sistemas (FORNARI; STATEVA, 2015). As principais vantagens dessas embalagens estão relacionadas ao alto potencial de transporte de ingredientes, para aumentar a vida útil do produto, o valor nutricional ou mesmo as propriedades sensoriais. Além de reduzir as perdas causadas pela deterioração de microrganismos, por meio da ação de agentes antimicrobianos presentes nas embalagens.

A maioria das pesquisas em embalagens ativas de alimentos tem sido direcionada para o uso de aditivos naturais e ecologicamente corretos, motivados pela opinião negativa dos consumidores em relação ao consumo de aditivos sintéticos, uma vez que muitos deles podem ser tóxicos para o ser humano e causar sabor indesejável nos alimentos. Compostos naturais com atividade antimicrobiana e antioxidante, como óleos essenciais, enzimas, ácidos orgânicos, sais ácidos, ácidos graxos, metais, agentes quelantes, entre outros, têm sido incorporados aos biopolímeros para prolongar a vida útil do alimento (VILELA *et al.*, 2018), bem como em matrizes poliméricas com nanoestruturas que podem atuar como reforço físico, mecânico e térmico da estrutura polimérica (PAJNIK *et al.*, 2020).

Para a produção de embalagens ativas pelo processo de impregnação supercrítica, a matriz sólida pode ser um polímero petroquímico, que corresponde à maioria dos materiais utilizados em embalagens de alimentos, ou um biopolímero, obtido a partir de fontes renováveis e biodegradáveis, incluindo proteínas, polissacarídeos e lipídios. O interesse na aplicação de biopolímeros em embalagens tem aumentado, tanto por parte das indústrias quanto dos consumidores. Algumas questões estão sendo estudadas a fim de melhorar as propriedades desses materiais, como resistência à tração, flexibilidade, propriedades de barreira, bem como a redução dos custos de produção desses materiais (CERRO *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2014).

Novas perspectivas surgem com o uso do fluido supercrítico como solvente no processo de impregnação de compostos em polímeros. Os fluidos supercríticos possuem características que os tornam excelentes solventes, como alta densidade, proporcionando alto poder de solvatação, baixas viscosidades e altos coeficientes de difusão. Solventes como propano, etano e dióxido de carbono (CO₂) podem ser utilizados, mas o mais utilizado é o CO₂, conhecido como solvente ecológico por não apresentar toxicidade, ser inerte, facilmente removido do extrato, ter baixo custo e baixa temperatura crítica (FORNARI; STATEVA, 2015). O CO₂ solubiliza os agentes ativos e proporciona um inchamento e plastificação do filme, o que facilita a difusão do composto de interesse na matriz. Após a despressurização, os solutos de interesse ficam “presos” na matriz polimérica (FORNARI; STATEVA, 2015).

Considerando as técnicas de impregnação em matrizes poliméricas, são geralmente utilizados processos convencionais como fusão (CARDOSO *et al.*, 2017), agentes dispersantes (ABDEL *et al.*, 2020), impregnação úmida ou imersão (SHAHBAZI, 2017), incorporação ao meio reacional de substâncias para polimerização ou modificação da matriz e processos (SADEGHI *et al.*, 2021). Essas técnicas são conhecidas por apresentarem desvantagens como longos tempos de processo, uso de altas temperaturas e solventes orgânicos, além de serem caras e não ecologicamente corretas. O processo de impregnação supercrítica apresenta vantagens sobre os métodos tradicionais, como melhoria na taxa de incorporação de substâncias, baixa viscosidade do solvente, alto poder de dissolução de materiais orgânicos, baixa temperatura de processo e interação entre diferentes matrizes

poliméricas (TORRES *et al.*, 2017). Nesse contexto, a impregnação com solvente supercrítico vem sendo estudada como uma alternativa interessante a outras técnicas convencionais.

Considerando os pontos citados acima, o objetivo deste estudo é desenvolver um filme de PLLA impregnado com piperina e extrato de pimenta-do-reino usando CO₂ supercrítico, avaliando as características finais dos filmes, para o potencial emprego em embalagens ativas para alimentos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Elaborar um filme ativo de PLLA impregnado com piperina e extrato de pimenta-do-reino usando CO₂ supercrítico e avaliar as propriedades dos materiais finais para o emprego como embalagem ativa de alimentos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar os parâmetros de processo (pressão e temperatura) na carga de impregnação de piperina (usada como modelo) em filmes de PLLA;
- b) Determinar qual a maior carga de impregnação de piperina em filmes de PLLA com diferentes espessuras;
- c) Caracterizar os filmes de PLLA com impregnação de piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem adição de cossolvente etanol, em relação à carga de impregnação, propriedades estruturais, funcionais, barreira, ópticas e de superfície;
- d) Verificar os efeitos da adição de cossolvente nas propriedades dos filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino;
- e) Determinar a capacidade antioxidante dos filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino;
- f) Analisar a liberação da piperina e extrato de pimenta-do-reino em meios simulantes de alimentos por meio da leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-Vis.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

O capítulo 1 tem como objetivo apresentar uma revisão de literatura sobre o emprego de biopolímeros e agentes ativos na produção de embalagens de alimentos usando tecnologia supercrítica. O biopolímero PLLA e os agentes ativos piperina e extrato de pimenta-do-reino foram apresentados mais profundamente, por terem sido empregados na elaboração das embalagens ativas de alimentos. A tecnologia supercrítica usada no processo de impregnação dos compostos foi discutida, bem como o processo de migração dos compostos ativos para o alimento.

Parte deste capítulo foi publicado em: Sutil, G. A.; Andrade, K. S.; Rebelatto, E. A.; Lanza, M. Effects of incorporation of pure or multicomponent active agents in biopolymers for food packaging using supercritical CO₂. *Trends in Food Science & Technology*, 120 (2022): 349 – 362; <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.025>.

Trends in Food Science & Technology 120 (2022) 349–362



Effects of incorporation of pure or multicomponent active agents in biopolymers for food packaging using supercritical CO₂

Gricielle A. Sutil, Kátia S. Andrade^{*}, Evertan A. Rebelatto, Marcelo Lanza

Chemical and Food Engineering Department, Federal University of Santa Catarina, EQA/UFSC, C.P. 476, CEP, 88040-900, Florianópolis, SC, Brazil



1.1 BIOPOLÍMEROS USADOS EM PROCESSOS DE IMPREGNAÇÃO

Os plásticos sintéticos obtidos a partir de matérias-primas fósseis são os materiais mais utilizados atualmente por apresentarem baixo custo e fácil processabilidade. De acordo com o ranking mundial de 2015, os oito primeiros polímeros mais utilizados como matéria-prima nas indústrias são de origem fóssil. O polipropileno (PP) é considerado líder na produção, estimada em 68 milhões de toneladas, das quais 55 milhões são resíduos gerados. O segundo lugar é o polietileno de baixa densidade (PEBD) com produção de 64 milhões e 57 milhões de resíduos descartados (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017).

Nos últimos anos, estudos têm revelado materiais alternativos que apresentam vantagens em termos de redução de impactos ambientais, como os biopolímeros, considerados possíveis alternativas para substituição de plástico na indústria alimentícia. Algumas dificuldades, no entanto, devem ser superadas, como o baixo volume de produção e a dificuldade de processamento, o que torna os biopolímeros mais caros quando comparados aos polímeros tradicionais (FECHINE, 2013).

Os biopolímeros podem ser divididos em três categorias de acordo com sua origem: I) biopolímeros naturais, como carboidratos, proteínas e lipídios obtidos de plantas ou animais. II) biopolímeros obtidos de fontes renováveis, por exemplo, poliésteres alifáticos, poliésteres microbianos, como polihidroxialcanoato (PHA), polihidroxibutirato (PHB), polihidroxivalerato (PHV) e seus copolímeros poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV) e polímeros sintetizados quimicamente, como poli (ácido glicolítico) (PGA), poli (ϵ -caprolactona) (PCL), álcool polivinílico (PVOH) e polilactídeos (PLA), bem como III) blendas ou compostos desses polímeros (RHIM, 2007).

Considerando a utilização de biopolímeros na elaboração de embalagens de alimentos, as principais propriedades a serem estudadas estão relacionadas às propriedades de barreira, mecânicas, térmicas, ópticas e morfológicas. Por exemplo, o grau de cristalinidade afeta as propriedades de barreira, resistência, tração e transparência, e em polímeros amorfos a absorção de CO₂ supercrítico e a

plastificação são consideradas maiores do que em polímeros semicristalinos. (GOODSHIP e OGUR, 2004).

A degradação de polímeros biodegradáveis é ativada pela ação de bactérias, fungos e algas. Esses microrganismos normalmente degradam polímeros por ação enzimática. Suas cadeias também podem ser quebradas por processos não enzimáticos, fotólise e hidrólise (CHIELLINI *et al.*, 2011). A Tabela 1 apresenta alguns exemplos de publicações recentes de processos de impregnação supercrítica de agentes bioativos em biopolímeros para uso em embalagens de alimentos.

Tabela 1 - Principais conclusões apresentadas em artigos científicos publicados nos últimos anos sobre a impregnação de diferentes agentes ativos em biopolímeros com CO₂ supercrítico para embalagens de alimentos

Materiais	Agentes ativos	Principais conclusões	Referências
PLA/lignina	Cinamaldeído	Incorporação efetiva de Ci em filmes. Modificação nas propriedades mecânicas e térmicas dos filmes com redução evidente no parâmetro T _g . Ci causou maior efeito plastificante que Lig-Np. A incorporação de Lig-Np em filmes de PLA mostrou importantes propriedades de barreira à luz UV.	CERRO <i>et al.</i> (2021)
Celulose nanofibrilada	Extrato de folha de manga	A impregnação assistida por CO ₂ de NFC com MLE criou filmes robustos com estabilidade térmica até 250 °C, bom desempenho mecânico (módulo de Young > 4,7 GPa), propriedades de barreira à luz UV, capacidade antioxidante com porcentagem máxima de inibição de 84%, e atividade antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> (inibição de crescimento ≈ 37%) e <i>Escherichia coli</i> (inibição de crescimento ≈ 91%).	CEJUDO-BASTANTE <i>et al.</i> (2021)
Fibras naturais de juta	Extrato de bagaço de uva vermelha Petit Verdot (RGPE)	As propriedades antioxidantes e antimicrobianas do RGPE foram transferidas com sucesso para tecidos naturais de juta por meio de impregnação supercrítica.	CEJUDO-BASTANTE <i>et al.</i> (2021)
Gelatina de pele de peixe	Extrato de bagaço de uva vermelha Petit Verdot (RGPE)	O óleo essencial apresentou distribuição heterogênea dentro do filme, confirmando sua impregnação. A impregnação resultou em um filme com menor resistência à tração, maior flexibilidade e maior opacidade quando comparado ao filme controle. A	ALBUQUERQUE <i>et al.</i> (2020)

		estabilidade térmica diminuiu após o processo de impregnação.	
PLA, (PLA/NP) PLA/NP-LA)	Cinamaldeído	Natureza amorfa do filme PLA/NP. Permeabilidade ao oxigênio reduzida em 44% do PLA/NP-LA comparado ao PLA puro. A taxa de difusão do cinamaldeído diminuiu 74% nos filmes de PLA/NP.	SEPULVEDA <i>et al.</i> (2020)
Amido- Quitosana/ Amido- quitosana-zeólita	Timol	A adição de zeólita natural (15–60%) aumentou a capacidade de carga dos filmes permitindo a incorporação de timol em uma quantidade de 16,7–27,3%. Filmes de SCZ impregnados com timol (24% e 27%) mostraram um efeito antibacteriano significativo contra <i>E. coli</i> e <i>Staphylococcus</i> resistente à metilina (<i>S. aureus</i>) (MRSA).	PAJNIK <i>et al.</i> (2020)
Filmes de PLA com C30B	Timol Cinamaldeído	Alterações nas propriedades estruturais, térmicas, mecânicas e antibacterianas dos materiais finais. Atividade antibacteriana eficaz.	VILLEGAS <i>et al.</i> (2019)
Gelatina/ quitosana	Óleo de cravo (Eugenol)	Impregnação relativamente alta da substância ativa a baixa temperatura e pressão e um curto intervalo de tempo, sem efeito adverso na morfologia do filme. Filmes termicamente estáveis a 110 °C.	RADOVIC <i>et al.</i> (2019)
PLA/PCL	Timol puro Extrato de timol	O filme de timol puro reduziu a viabilidade bacteriana. Boa estabilidade térmica em T até 150 °C. Otimização necessária do processo de impregnação do extrato de tomilho.	MILOVANOVIC <i>et al.</i> , (2018)
Amido de milho e alginato de cálcio	Quercetina	Eficiência da adsorção supercrítica para a incorporação de quercetina. O sistema de adsorção supercrítica é adequado para liberação controlada em embalagens ativas de alimentos.	FRANCO <i>et al.</i> (2018)
PLA/Nano poli (ácido vinílico) PV/cristais de celulose-CNC	Timol	Melhoria nas propriedades mecânicas e térmicas com a incorporação do nanocompósito. Taxa de liberação de timol mais lenta com a incorporação de nanofibrilas.	ALVARADO <i>et al.</i> (2018)

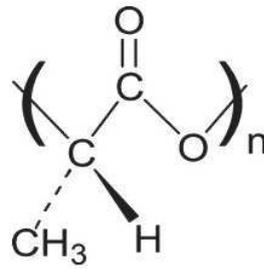
PLA	Cinamaldeído	Melhor rendimento de impregnação em altas pressões e menor taxa de despressurização. Melhoria das propriedades térmicas, estruturais e mecânicas dos filmes de PLA, tornando-os mais resistentes que os filmes de PLA puro. Forte atividade antimicrobiana contra <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> .	VILLEGAS <i>et al.</i> (2017)
Acetato de celulose	Timol	Alterações na morfologia dos filmes com alto rendimento de impregnação de timol. Forte efeito antimicrobiano contra cepas de <i>E. coli</i> e <i>C. albicans</i> . Longo período de liberação de timol.	MILOVANOVIC <i>et al.</i> (2015)
Amido de mandioca	Cinamaldeído	Incorporação de uma substância ativa superior em relação aos métodos convencionais. Diminuição da capacidade de absorção de vapor de água e permeabilidade ao vapor de água dos filmes.	SOUZA <i>et al.</i> (2014)

*Abreviações: PLA, Poliláctico; PCL, Policaprolactona; PV, Álcool polivinílico; CNC, Nanocristais de celulose; C30B, Cloisite 30B; NP, nanopartículas; NP-LA, nanopartículas com ácido láctico; AQZ, amido-quitosana-zeólita.

1.1.1 Poli (L-ácido láctico) – PLLA

O PLLA é um poliéster termoplástico alifático biodegradável, produzido por polimerização da abertura do anel de lactídeo (monômero do ácido láctico) ou por policondensação do ácido láctico (Figura 1). O ácido láctico possui em sua estrutura um carbono quiral com unidades enantioméricas L e D. A combinação destas unidades forma três isômeros de ácido láctico enantioméricos L, D e meso lactídeos, apresentados na Figura 2. Os polímeros formados de unidades L são chamados de poli (L-ácido láctico) – PLLA, unidades D são poli (D-ácido láctico) – PDLA e polímero racêmico é o poli (LD-ácido láctico) – PDLLA. Os isômeros genericamente são chamados de poli (ácido láctico) ou polilactídeos, abreviados de PLA (MASUTANI; KIMURA, 2018 apud LORENZO; ANDROSCH, 2018).

Figura 1 - Estrutura química do PLLA

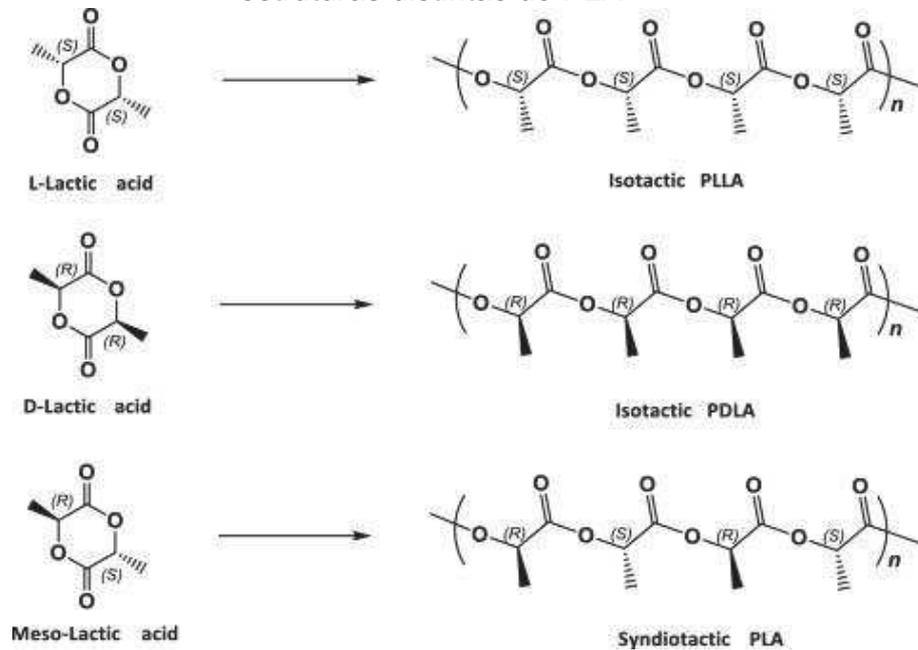


Fonte: KRIKORIAN (2003)

Diferentes graus de PLA estão disponíveis no mercado, que podem variar de acordo com os monômeros usados e das condições de síntese, sendo possível controlar a razão L para D do produto final. As propriedades físicas, mecânicas, cristalinidade, bem como a morfologia do polímero irão depender das diferentes proporções de unidades L, D ou meso lactídeos e da massa molecular (varia de acordo com a adição de compostos hidroxílicos). O PLA pode ser produzido totalmente amorfo ou até 40% cristalino (AURAS *et al.*, 2003). Os polímeros com mais de 93% de ácido L-láctico são considerados semicristalinos, enquanto o PLA com 50 - 93% de L-láctico são considerados amorfos (REN, 2010). É classificado como seguro (GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos e pode ser usado para aplicações em embalagens de alimentos (FDA, 2002).

O PLLA foi identificado pela primeira vez há 80 anos por Carothers, cientista da Dupont, ao produzir um polímero bioabsorvível, de baixo peso molecular, por meio do aquecimento do ácido láctico, sendo produzido na época em baixa escala e aplicado na área biomédica, como dispositivo de fixação óssea, como pinos e hastes. No início de 1990 a empresa Cargill Inc (EUA) considerou o potencial do PLLA em substituir polímeros a base de petróleo por apresentar propriedades mecânicas e natureza biodegradável e passaram a produzir o polímero em grande escala. Além das propriedades citadas, a biocompatibilidade e baixa toxicidade potencializaram seu uso em várias aplicações como biomédicas, indústrias automotivas, componentes de dispositivos eletrônicos, impressão 3D, copos para bebidas frias, garrafas, talheres, filmes de embalagens para alimentos e outras aplicações (LORENZO e ANDROSCH, 2018).

Figura 2 - Três estereoisômeros de lactídeo que formam após polimerização estruturas distintas de PLA



Fonte: LI *et al.* (2016)

O PLLA tem apresentado importância cada vez maior, por ser considerado um plástico renovável, de base biológica, que pode ser sintetizado a partir de biomassa e recursos renováveis como açúcares e amido. O PLLA é um polímero semicristalino, com propriedades como rigidez e transparência semelhantes ao poliestireno (PS) e tereftalato de polietileno (PET). Apresentam boa resistência a tração, com valores mais altos do que o PS e mais baixos que o PET. Possui barreira de sabor e odor semelhantes aos plásticos de PET. Apresentam temperatura de fusão (T_m) e temperatura de transição vítrea (T_g) mais baixos do que PS e PET, o que torna o PLLA melhor para selagem e com boa capacidade de impressão. É facilmente processável em equipamentos para produzir peças moldadas, filmes e fibras (GARLOTTA, 2002). O coeficiente de permeabilidade ao vapor de água não varia significativamente com a umidade relativa (AURAS *et al.*, 2003).

Pesquisas acadêmicas e industriais têm sido direcionadas nos últimos anos para melhorar o desempenho do PLLA, a fim de aumentar as aplicações no campo de embalagens sustentáveis. Na área de alimentos o uso do PLLA apresenta algumas limitações relacionadas à menor permeabilidade ao vapor de água,

propriedades mecânicas e térmicas, baixa ductibilidade e propriedades de barreira térmica e ao oxigênio. Estudos sobre modificações de PLLA têm sido realizados como a adição de modificadores, copolimerização com outros polímeros ou mistura. Materiais de base biológica/biodegradável como o poli-hidroxibutirato (PHB), nanocompósitos como nanocristais de celulose (CNC) tem sido utilizados como blendas misturados ao PLLA, plastificantes como polietilenoglicol (PEG), o que tem permitido ajustes em algumas propriedades, como o alongamento na ruptura para estender suas aplicações no campo de embalagens de alimentos (EL-HADI, 2017; ARRIETA *et al.*, 2017; RAPA *et al.*, 2017).

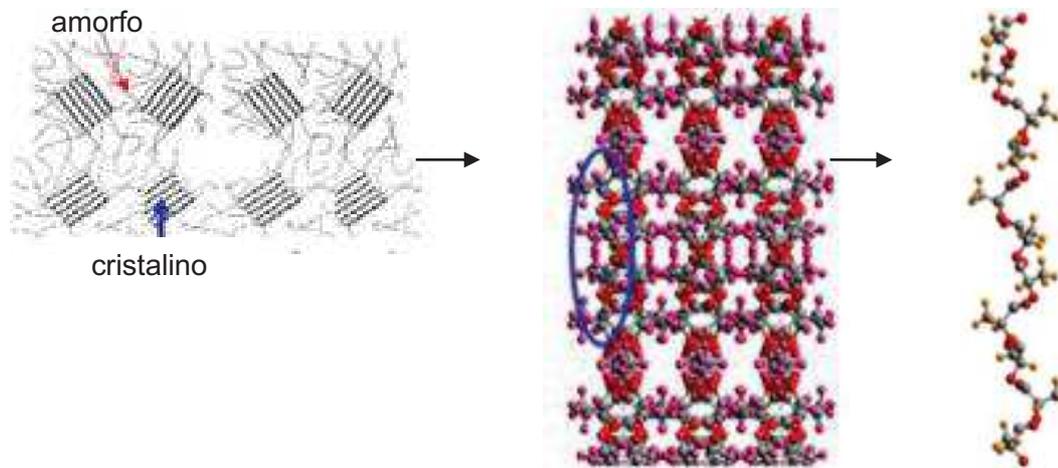
1.1.1.1 Propriedades mecânicas

Em relação às propriedades mecânicas é importante usar um polímero que possa suportar a carga no manuseio, processamento, transporte e armazenamento. As propriedades mecânicas dos polímeros são dependentes de seu peso molecular, cristalinidade, estrutura do polímero, formulação do material (plastificantes, blendas, compósitos, etc) e processamento (ex: orientação) (AVÉROUS, 2008). Os polímeros semicristalinos como o PLLA (Figura 3) são considerados mais resistentes, quando comparado aos polímeros amorfos como o PDLA. Os polímeros semicristalinos apresentam unidades de repetição regulares, que permitem que as cadeias se dobrem nas regiões mais densas chamadas de cristalitos, estes atuam como ligações cruzadas dando ao polímero maior resistência à tração e maior módulo (rigidez) em comparação com um polímero amorfo semelhante (FARAH *et al.*, 2016).

A cristalinidade influencia nas propriedades dos polímeros como dureza, módulo, resistência à tração, rigidez, dobra e ponto de fusão, sendo importante se verificar a taxa de cristalinidade de um polímero antes de selecioná-lo para uma determinada aplicação. Portanto, melhorar o grau de cristalinidade é considerada uma das melhores opções para se alcançar excelentes propriedades. A composição de estereoisômeros do PLLA tem um efeito significativo na taxa de cristalinidade (ZHANG *et al.*, 1993). Outros métodos como introdução de cadeia longa por extrusão reativa e adição de agente de nucleação reticulado podem formar PLLA

com alta cristalinidade e propriedades mecânicas melhoradas (SIMMONS *et al.*, 2019).

Figura 3 - Estrutura do PLLA em diferentes escalas



Fonte: adaptado de TAJITSU (2018)

As propriedades mecânicas do PLLA mais estudadas e que influenciam o desempenho de embalagens são: resistência a tração (σ , em MPa), módulo de Young (E , em GPa), alongação na ruptura (ϵ , em %) e densidade polimérica (ρ , em g/cm^3). Essas propriedades são ferramentas úteis para os casos em que se pretendem utilizar os polímeros sem a necessidade de reforço e para se determinar as dimensões necessárias para uma certa resistência mecânica ou rigidez.

As propriedades mecânicas do PLLA, intermediárias entre as do PS e PET, o torna adequado para o emprego em embalagens de alimentos (EL-HADI, 2017) e principalmente aplicações biomédicas biocompatíveis/bioabsorvíveis (CHAMPEAU *et al.*, 2015; LASPRILLA *et al.*, 2012). A Tabela 2 compara as propriedades mecânicas do PLLA com PS e PET.

Tabela 2 - Comparação das propriedades mecânicas do PLLA com PS e PET

Materiais	Resistência a tração (MPa)	Módulo de Young (GPa)	Alongamento de ruptura (%)
PLLA	59	3,8	4 – 7
PS	45	3,2	3
PET	57	2,8 – 4,1	300

Fonte: ANDERSON *et al.* (2008) apud SIN e TUEEN (2019)

Com um módulo de Young de 3,8 GPa e uma resistência a tração de 59 MPa, o PLLA tem propriedades em temperatura ambiente comparáveis ao PET. A ductibilidade, no entanto, é pobre com um alongamento de ruptura inferior a 10%. A baixa tenacidade limita seu uso nas aplicações que necessitam de deformações plásticas em níveis de tensão mais elevada (GRIJPMA *et al.*, 1992). Plastificantes biodegradáveis e não biodegradáveis têm sido utilizados com o PLLA para melhorar a ductibilidade, por meio do aumento da mobilidade da cadeia (ARRIETA *et al.*, 2014; QIN *et al.*, 2015, GE *et al.*, 2013). Porém, podem reduzir a resistência a tração e módulo de Young, porque o plastificante penetra nas cadeias poliméricas e diminui as forças intermoleculares, que causam a menor coesão da cadeia polimérica.

Rapa *et al.* (2017) verificou um aumento de até 250% no alongamento de ruptura do PLLA com a adição de diferentes plastificantes como Adipato de bis[2-(2butoxi)etilo] (DBEEA), Proviplast, citrato de tributil orto-acetil (ATBC). Outra desvantagem do uso desses aditivos é que eles saem da matriz do PLLA ao longo do tempo resultando em um plástico quebradiço (ABDELWAHAB *et al.*, 2012). A escolha dos plastificantes para se utilizar em embalagens de alimentos segue requisitos técnicos e legislativos (PILLIN *et al.*, 2006).

1.1.1.2 Propriedades térmicas

Determinar as propriedades térmicas de um polímero é muito importante para definir a estabilidade térmica e determinar a temperatura na qual o polímero começa a se degradar (ALVARADO *et al.*, 2018). A resistência térmica é definida como a capacidade de um material manter suas propriedades de interesse em um nível desejado na temperatura máxima de serviço por um período prolongado, sendo que ter uma certa resistência ao calor é um dos principais critérios para a seleção de um material (NAGARAJAN *et al.*, 2016).

A resistência ao calor do PLLA depende da cristalinidade e do comportamento de cristalização. Várias técnicas e métodos têm sido exploradas para melhorar a cristalinidade e resistência ao calor que incluem copolimerização, estereocomplexação, misturas de polímeros, plastificantes, cargas de reforço de nanoescala e fibras naturais (ZHOU *et al.*, 2015).

Estudos relacionados a estereoisômeros PLLA/PDLA apresentaram bons resultados em relação à melhoria da resistência térmica e mecânica, bem como estabilidade hidrolítica. Masutani *et al.* (2012) elaboraram copolímeros de PLLA e PDLA com diferentes comprimentos de bloco e sequência e verificaram que os filmes apresentaram excelentes resultados de estabilidade térmica e termomecânicas devido a formação de cristais estereocomplexos.

1.1.1.3 Propriedades de barreira a gases e vapor de água

Um dos fatores mais importantes na escolha de um polímero para emprego em embalagens de alimentos é sua barreira contra a transferência de gases, vapor de água e moléculas de aroma. A permeabilidade ocorre principalmente na fase amorfa e é determinada pelos processos físicos de solubilidade de um gás na interface gás/polímero e difusão do gás dentro do polímero (ZENKIEWICZ e RICHERT, 2008). As propriedades de barreira são expressas pela medição da permeabilidade com a determinação dos coeficientes de solubilidade e difusão.

O PLLA apresenta propriedades de barreira relativamente fracas, o que limita seu uso em indústrias de embalagem. Assim, pesquisas são necessárias para melhorar as propriedades de barreira do PLLA. O aumento da cristalinidade pode levar a uma redução da permeabilidade e propriedades de barreira melhoradas (TSUJI *et al.*, 2006; COLOMINES *et al.*, 2008). Estudos demonstraram que pequenas alterações no conteúdo estereoquímico L:D tem efeito nas propriedades de permeação, sendo que o aumento da cristalinidade do PLLA causa uma redução na permeabilidade ao oxigênio e vapor de água (TSUJI *et al.*, 2006).

A adição de nanopartículas é um outro método que pode melhorar as propriedades de barreira. As nanopartículas funcionam como obstáculos na passagem dos gases. Um estudo de Khaki *et al.* (2019) investigou a permeabilidade ao oxigênio e vapor de água utilizando nanocompósitos com PLLA. Verificou-se que na presença de 1% de óxido de grafeto em PLLA, ocorreu uma diminuição de 80 e 30% da permeabilidade ao oxigênio e vapor de água, respectivamente. Nesse mesmo trabalho investigou-se o efeito da cristalização e da presença simultânea de nanocompósitos, verificando-se que a adição de 1% do nanocompósito aumentou

para 35% a cristalinidade, reduzindo em 90 e 60% a taxa de permeação ao oxigênio e transmissão de vapor de água, respectivamente.

1.1.2 PLLA e CO₂ supercrítico

O dióxido de carbono é um dos principais fluidos supercríticos utilizados em processos como a impregnação supercrítica por apresentar facilidade de atingir o ponto crítico ($T_c = 31,04 \text{ }^\circ\text{C}$; $P_c = 73,8 \text{ bar}$), ser não-tóxico, de baixo custo, inerte, de fácil remoção do sistema por despressurização, ter excelente capacidade de plastificação, podendo inchar a maioria dos polímeros. A plastificação é um dos efeitos mais importantes no processo de impregnação de polímeros, pois proporciona que o gás sorvido atue como uma espécie de “lubrificante”, facilitando o deslizamento das moléculas da cadeia umas sobre as outras, causando o amolecimento do polímero, além de aumentar a difusividade dos aditivos na matriz polimérica (KIKIC e VECCHIONE, 2003).

Estudos como de Yu *et al.* (2013) avaliaram a sorção e difusão de CO₂ supercrítico em PLLA em diferentes condições de temperatura e pressão, sendo verificado que a maior sorção de equilíbrio (16,9%) foi atingida com a diminuição da temperatura e elevação da pressão, indicando afinidade do PLLA e CO₂ supercrítico. Altos coeficientes de difusão indicaram a viabilidade do processo de impregnação supercrítica para o polímero PLLA e scCO₂.

Champeau *et al.* (2014) determinaram a sorção de CO₂ e o inchamento de quatro tipos diferentes de polímeros: óxido de polietileno (PEO), ácido poli-L-lactídeo (PLLA), polietileno de tereftalato (PET) e polipropileno (PP) em diferentes pressões e temperatura de 40 °C, sendo verificado que a quantidade de CO₂ sorvida em todos os polímeros aumenta com a pressão. Uma alta sorção pode ser alcançada quando o polímero for capaz de realizar interações específicas com o CO₂ e apresentar alta mobilidade em regiões amorfas. Os resultados demonstraram que o PLLA adsorveu a maior quantidade de CO₂, sendo de até 25% em 15 MPa, porém verificou-se que seu inchamento permaneceu baixo. A alta sorção do CO₂ em PLLA e baixo inchamento pode ser explicada devido a três parâmetros: a) as interações do CO₂ com os sítios de carbonila da cadeia polimérica, o que pode aumentar a mobilidade

da cadeia por meio das interações do CO₂ e polímero e causar um efeito de plastificação, b) ao volume livre de PLLA relativamente grande e c) a baixa temperatura de transição vítrea (T_g) do PLLA. Observou-se que o inchaço é altamente dependente da cristalinidade do polímero, esse comportamento foi destacado no caso do PEO que apresentou uma região cristalina menor e maior inchaço comparado ao PLLA.

1.2 AGENTES ATIVOS EM PROCESSOS DE IMPREGNAÇÃO

Os primeiros registros de embalagens de alimentos revestidas com agentes ativos ocorreram em 1906 e foram produzidos por GW Maxwell, que utilizou cera de parafina para proteger da umidade as embalagens de papel utilizadas para armazenar leite, comercializadas nas cidades de Los Angeles e São Francisco, EUA (ROBERTSON, 2002). Na década de 1980, em particular, houve um amplo uso de materiais plásticos assépticos com barreiras de gás (COLES; MCDOWELL; KIRWAN, 2003). Desde então, uma ampla variedade de agentes ativos tem sido testada em laboratórios para possíveis aplicações em embalagens de alimentos. Os principais agentes ativos incorporados em matrizes poliméricas para embalagens de alimentos estão relacionados a agentes antimicrobianos e antioxidantes, sequestrantes, absorvedores e emissores (CIRILLO; SPIZZIRRI; LEMMA, 2015; VILELA *et al.*, 2018; RESTUCCIA *et al.*, 2010).

Entre os agentes eliminadores têm-se os removedores de etileno (por exemplo, óxidos metálicos, silicatos de camada e zeólitos, dióxido de titânio, permanganato de potássio e carvão ativado), removedores de oxigênio (por exemplo, ácido gálico, nanopartículas de ferro, paládio, ácido ascórbico, nanotubos de óxido de titânio, glicose oxidase, lacase, pirogalol) (DEY e NEOGI, 2019). Como agentes absorventes têm-se os agentes absorventes de umidade de base orgânica (por exemplo, sorbitol, frutose), agentes absorventes de umidade de base inorgânica (por exemplo, óxido de cálcio, gel de sílica), absorvedores de luz UV (por exemplo, nanopartículas de ferro, óxido de zinco), absorvedores de dióxido de carbono (por exemplo, hidróxido de cálcio, zeólita, carvão ativado) (LEE, 2016). Têm-se os emissores de CO₂ (por exemplo, bicarbonato de sódio, ácido cítrico, carbonato

ferroso, emissores de etanol (etanol encapsulado) (VILELA *et al.*, 2018; SELVAMUTHUKUMARAN, 2022).

Os agentes antimicrobianos e antioxidantes incluem ácidos orgânicos (por exemplo, ácido benzóico, sorbatos), enzimas (por exemplo, lisozima, glicose oxidase), peptídeos (por exemplo, nisina, lactoferrina), componentes bioativos puros (por exemplo, timol, carvacrol), polímeros (predominantemente quitosana), extratos vegetais (por exemplo, semente de uva, chá verde), óleos essenciais (por exemplo, cravo, tomilho), íons metálicos (por exemplo, prata, ouro, platina), óxidos metálicos (por exemplo, TiO_2 , ZnO e MgO), antioxidantes com hidroxitolueno (BHT), hidroxianisol butilado (BHA) e terc-butilhidroquinona (TBHQ) (CIRILLO; SPIZZIRRI; LEMMA, 2015; VILELA *et al.*, 2018).

A ação do antioxidante como agente ativo está relacionada ao aumento da estabilidade de alimentos sensíveis à oxidação, prolongando a vida útil e preservando a qualidade do produto. Os agentes antioxidantes são utilizados nos filmes das embalagens e podem migrar para os alimentos ou absorver os radicais oxidativos dos alimentos (SELVAMUTHUKUMARAN, 2022) e podem ser incorporados em matrizes poliméricas como antioxidantes sintéticos ou naturais.

O uso de antioxidantes sintéticos tem sido restrito devido à sua toxicidade resultante de sua interação com alimentos, portanto, há uma tendência das indústrias em substituí-los por antioxidantes naturais por apresentarem menor toxicidade e maior segurança (MONÇÃO *et al.*, 2021). Os antioxidantes naturais podem afetar as propriedades mecânicas e propriedades de barreira ao vapor de água e oxigênio dos revestimentos/filmes, mas não interferem na segurança alimentar (MONÇÃO *et al.*, 2021). Uma desvantagem seria a necessidade de quantidades maiores para atingir a mesma capacidade antioxidante dos antioxidantes sintéticos (VILELA *et al.*, 2018).

Pontos importantes devem ser considerados antes de impregnar um composto ativo em uma matriz polimérica, como a verificação da concentração do composto que será incorporado; no caso de uma embalagem antimicrobiana, conhecer os microrganismos presentes no alimento; escolher adequadamente o polímero que será a matriz para impregnar o agente, para que haja compatibilidade entre o composto e a embalagem; conhecer as propriedades físico-químicas como

pH do alimento de interesse, a solubilidade e composição química da substância ativa (CIRILLO; SPIZZIRRI; LEMMA, 2015).

É importante sempre considerar que as propriedades físicas e mecânicas dos materiais de embalagem serão mantidas após a incorporação dos agentes ativos (COLES; MCDOWELL; KIRWAN, 2003) e que os compostos bioativos impregnados são permitidos para contato com alimentos, de acordo com os regulamentos de segurança alimentar de cada país, como Estados Unidos - *Food and Drugs Administration* (US.FDA) e União Europeia, a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar. No Brasil não existe legislação específica para a segurança de embalagens ativas, entretanto, algumas resoluções são consideradas, como a Resolução RDC nº. 91, de 11 de maio de 2001 (BRASIL, 2001), que aprova o regulamento técnico “Critérios gerais e classificação de materiais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos” e a Resolução RDC nº 51, de 26 de novembro de 2010 (BRASIL, 2010), que fornece informações sobre a migração em materiais plásticos, embalagens e equipamentos destinados a entrar em contato com alimentos (MONÇÃO *et al.*, 2021). Caso os compostos migrem para o produto, alterando a composição do alimento, é necessário incluí-lo na lista de ingredientes para garantir a segurança do produto embalado (RESTUCCIA *et al.*, 2010).

Volatilidade, solubilidade, tamanho da molécula, interação entre o composto e o polímero são características que podem influenciar o processo de impregnação de agentes ativos em polímeros. Isso pode ser verificado no estudo de Pires (2017) em que os compostos ativos betacaroteno e timol foram incorporados simultaneamente em uma membrana de quitosana-alginato. Os métodos testados foram imersão em solução e impregnação supercrítica. Para o processo de impregnação supercrítica, foi possível verificar que grande parte da quantidade adicionada de timol evaporou na etapa de despressurização, o que pode ser explicado pela alta volatilidade e solubilidade em $scCO_2$. Por outro lado, a molécula de β -caroteno apresentou maior eficiência de incorporação para o sistema supercrítico (33%), possivelmente porque a molécula interage formando ligações de hidrogênio com o polímero da membrana. Para o timol, obteve-se uma baixa taxa de incorporação, sendo de 0,2%.

Pesquisas relacionadas à incorporação de agentes ativos em diferentes matrizes poliméricas foram publicadas recentemente, incluindo filmes comestíveis de quitosana com extratos de chokeberry (SADY *et al.*, 2021); filmes de nanocompósitos de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV) e óleo essencial de orégano (COSTA *et al.*, 2020); filme antimicrobiano à base de misturas de poli(álcool vinílico) PVA/amido enriquecidos com diferentes concentrações de etil lauroil arginato (WU *et al.*, 2021); filmes de isolado de proteína de soja incorporando carvacrol (TAO *et al.*, 2022); filmes de polipropileno com nanocelulose e nanoquitina (NGUYEN *et al.*, 2021).

Embora o uso de materiais biológicos seja incentivado para a produção de embalagens de alimentos, alguns parâmetros relevantes devem ser considerados pela indústria para que não ocorram equívocos. A escolha do material com base na sustentabilidade requer uma perspectiva mais ampla. Muitos materiais biológicos, por exemplo, causam impactos ambientais como eutrofização, uso de água e pesticidas, demanda total de energia primária e uso da terra, etc. superior ao uso de polímeros à base de petróleo. Os plásticos de base biológica podem liberar substâncias adicionadas involuntariamente (NIAS), é obrigação do fabricante garantir a segurança de acordo com o artigo 3 do Regulamento-Quadro da UE (CE) nº 1935/2004 (Comissão da UE, 2018) para materiais e artigos em contato com alimentos. No caso de embalagens com nanopartículas incorporadas, o risco potencial deve ser avaliado (MENDES e PEDERSEN, 2021).

1.2.1 Pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.)

Pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) são os frutos/bagas maduros secos inteiros ou em pó da planta trepadeira, perene, lenhosa, tropical *Piper nigrum* L. O gênero *Piper* pertence a classe das dicotiledôneas, ordem *Piperales* e família *Piperaceae*. A pimenta-do-reino é utilizada amplamente nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentos, o que justifica sua importância econômica.

Os frutos (Figura 4) apresentam semente única, pericarpo carnudo e endocarpo duro. As várias espécies de *Piper* podem ser subdivididas com base na mudança de cor dos frutos no amadurecimento e no sabor. Os dois tipos básicos de

alteração de cor no amadurecimento seriam a transformação da cor verde para preto, e verde transformando-se em amarelo, laranja ou vermelho. A espécie *P. nigrum L.* pertence ao segundo grupo. Quanto ao sabor podem ser divididos em frutos com sabor amargo, frutos com sabor amargo inicialmente seguido de picante, sabor picante e aromático e frutos com sabor pungente, incluindo neste último a espécie *P. nigrum L.* (RAVINDRAN, 2000).

Figura 4 - Frutos da pimenta-do-reino (*P.nigrum L.*)



Fonte: EMBRAPA (2003)

No Brasil a cultura foi introduzida no final do século XVII, no estado da Bahia, porém somente em 1933 após sua reintrodução no estado do Pará por colonizadores japoneses, ela passou a ter importância econômica no país. Segundo dados da FAO o Brasil é o segundo maior produtor e exportador mundial, respondendo por 14% da produção, atrás apenas do Vietnã, que contribui com mais de 30% da produção mundial de pimenta-do-reino. Em 2019 a produção no Brasil foi de 109.401 toneladas, sendo os estados do Espírito Santo, Pará e Bahia os maiores produtores de pimenta-do-reino do país. (FAO, 2020).

A pimenta-do-reino é composta de nutrientes essenciais como vitaminas A e K, fibras alimentares e minerais K, Ca, Mg, Na, Fe, Al e Se e baixos níveis de metais pesados como Hg, Cr, As, C e Pb, o que minimiza o risco à saúde humana (SHANGO *et al.*, 2021). O conteúdo de piperina, óleo volátil, amido e fibra pode variar em diferentes amostras e é considerado um indicativo de qualidade da pimenta-do-reino.

Em relação aos atributos de qualidade que contribuem para seu valor como aditivo alimentar, a piperina, composto alcalóide, contribui para a pungência e componentes do óleo volátil como álcoois, aldeídos, β -pineno, β -cariofileno, terpeno, limoneno, monoterpenóides, diterpenóides e triterpenóides são responsáveis pelas propriedades antioxidantes e sabor dos produtos de pimenta (SHANGO *et al.*, 2021). A Tabela 3 apresenta a composição química dos grãos de pimenta-do-reino.

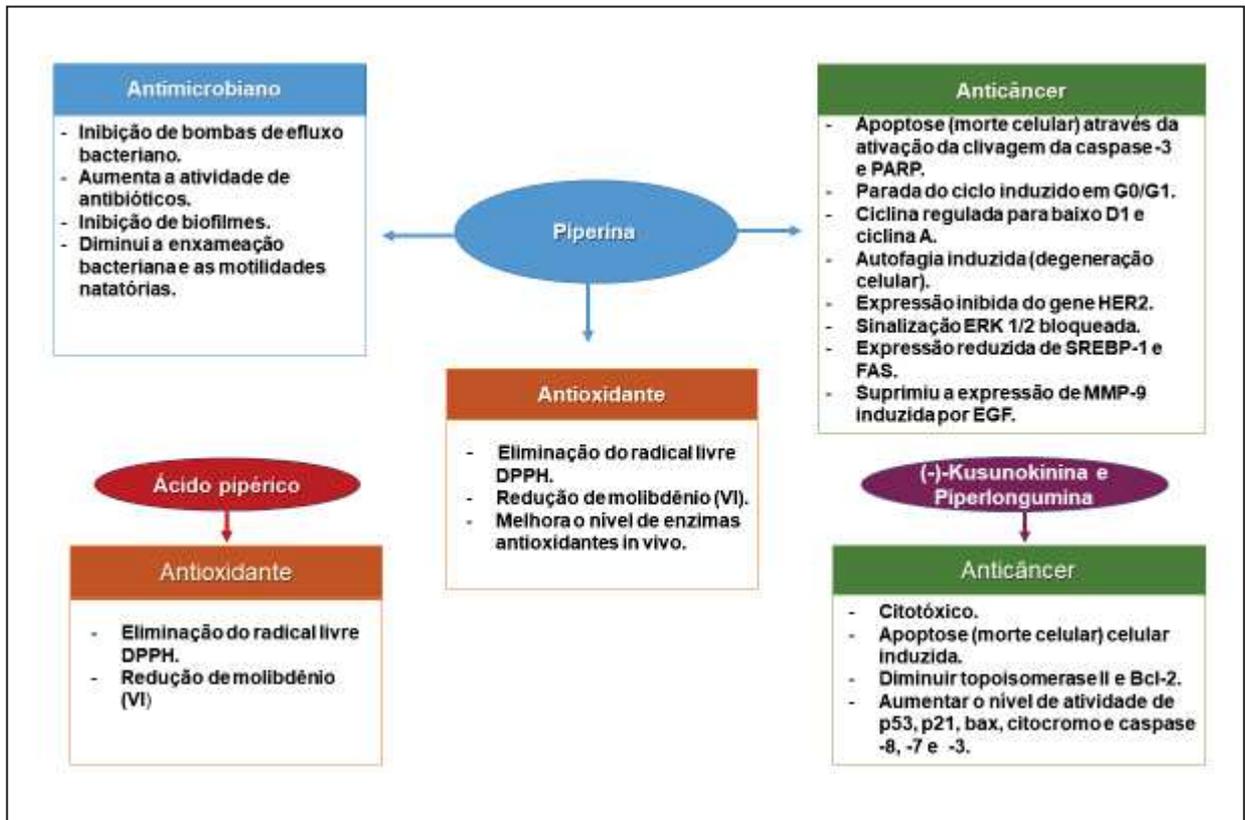
Tabela 3 - Composição química da pimenta-do-reino

Componentes Químicos	Teor encontrado no grão (%)
Amido	10 - 13,5
Fibra	47 - 53
Proteína	11 - 14
Óleo volátil	1,2 - 5
Óleos essenciais	2,37 - 5,7
Piperina	5 - 9

Fonte: JAYASHREE *et al.* (2009)

A pimenta-do-reino e seus compostos bioativos são de grande importância, devido ao seu potencial terapêutico contra várias doenças. Eles apresentam propriedades fisiológicas e farmacológicas importantes como atividade antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena, analgésica, anticonvulsivante, neuroprotetora, hipoglicêmica, hipolipidêmica e anti-inflamatória (TAKOOREE *et al.*, 2019). A Figura 5 apresenta um resumo dos principais mecanismos de ação das propriedades farmacológicas dos compostos ativos da pimenta-do-reino.

Figura 5 - Mecanismo de ação das propriedades farmacológicas de compostos bioativos de *Piper nigrum L*



PARP: polimerase; SREBP: proteína ligada ao elemento regulador de esteroide; HER2: receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano; ERK: cinase regulada por sinais extrarregulares; FAS: associado ao domínio da morte; MMP-9: metaloproteinase da matriz 9; EGF: expressão do fator de crescimento epitelial; Bcl-2: proteína intra-citoplasmática que inibe a apoptose; p53: proteína 53; p21: proteína 21; bax: proteína X.

Fonte: TAKOOREE *et al.* (2019)

1.2.1.1 Extrato da pimenta-do-reino obtido por extração supercrítica

A indústria de alimentos nos últimos anos tem aumentado o interesse no emprego do extrato em relação à pimenta moída em formulações de produtos processados, devido à conveniência e estabilidade durante o manuseio, por ser livre de contaminação microbiana e biodeterioração, espaço de armazenamento reduzido e alta concentração de constituintes aromáticos (SRINIVASAN, 2007).

O extrato da pimenta-do-reino há muito tempo tem sido obtido por meio de métodos convencionais como hidrodestilação, destilação a vapor, extração Soxhlet. No entanto, nos últimos anos novas técnicas surgiram, como extração assistida por ultrassom, extração assistida por microondas e extração por fluidos supercríticos

(EFS) (COELHO e PALAVRA, 2015). A EFS é uma tecnologia promissora para a extração de óleos essenciais de pimenta-do-reino descrita por Ferreira *et al.* (1999), sendo 70% do óleo extraído durante o processo em taxa constante.

A extração com fluido supercrítico apresenta vantagens em relação aos métodos tradicionais, por ser possível empregar temperaturas brandas, o que é indicado para isolar compostos bioativos termosensíveis; ser relativamente barato e disponível a partir de recursos naturais, apresentar excelente solubilidade e permeabilidade, alta densidade e baixa viscosidade do fluido supercrítico; seletividade extrativa que pode ser alcançada alterando os parâmetros de processo como pressão, temperatura e co-solvente, ausência ou pouco traço de solvente no processo e obtenção de um extrato com alta pureza. O fluido supercrítico mais frequentemente utilizado na extração supercrítica é o CO₂ por apresentar baixos parâmetros críticos ($T_c = 31,1 \text{ }^\circ\text{C}$, $P_c = 73,8 \text{ bar}$), status GRAS (do inglês *Generally Recognized as Safe*), não toxicidade, não inflamabilidade e ser ecológico (LI *et al.*, 2021).

Embora o custo inicial da montagem da planta de operação desta tecnologia seja superior aos métodos tradicionais, deve-se comparar os benefícios relacionados à seletividade de extração, ausência de solvente residual e contaminação bacteriana e padronização da intensidade do sabor. O método de EFS consiste em duas etapas: extração dos compostos solúveis pelo solvente supercrítico e separação dos solutos extraídos do solvente. A extração pode ser realizada em uma matriz sólida, líquida ou viscosa, sendo a maior parte dos processos industriais realizados em matrizes sólidas (MARTÍNEZ e VANCE, 2008).

O processo ocorre na unidade de extração onde o solvente, CO₂ supercrítico, flui pela matriz sólida e dissolve as substâncias solúveis, por meio de interações solvente-matriz sólida e solvente-soluto. Os componentes dissolvidos se difundem através dos poros da matriz e pela transferência de massa são transportados para o fluido supercrítico. A solução que flui para fora da unidade de extração se expande para o estado gasoso e o soluto extraído se torna insolúvel e precipita na unidade de coleta, posteriormente sendo determinadas a quantidade e composição do extrato (HUANG, 2015).

O extrato da pimenta-do-reino contém principalmente uma mistura de hidrocarbonetos terpênicos e seus compostos oxigenados com ponto de ebulição na faixa de 80 a 200 °C. A composição varia dependendo da cultivar, condições climáticas, região de origem, etc (MENON *et al.*, 2000). Nos últimos anos vários estudos têm sido realizados para a determinação da composição química de óleos essenciais da pimenta-do-reino usando CO₂ supercrítico. A Tabela 4 apresenta os resultados da composição química de alguns desses estudos.

Tabela 4 - Composição química do óleo essencial de pimenta-do-reino obtido por extração com CO₂ supercrítico

Compostos	1	2	3
Monoterpenos			
α-pineno	4,09	1,77	4,25
β-pineno	2,61	3,47	7,27
Sabineno	11,64	5,46	3,63
Limoneno	19,80	6,81	15,64
Sesquiterpenos			
β-cariofileno	21,76	12,43	25,38
Mirceno	7,70	-	1,98
p-cymeno	-	-	0,62
α-Copaeno	1,31	6,83	3,84
Óxido de Cariofileno	-	7,94	1,12

1: EFS: 150 bar/40 °C. Fonte: FERREIRA *et al.* (1999).

2: EFS: 100 bar/40 °C. Fonte: PERAKIS e MAGOULAS (2005).

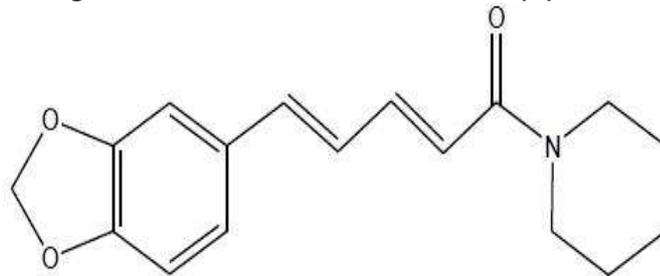
3: EFS: 300 bar/40 °C. Fonte: BAGHERI *et al.* (2014).

1.2.2 Piperina

A piperina (C₁₇H₁₉NO₃) é um alcalóide, cristalino (de cor amarela), insolúvel em água, com temperatura de fusão de 128 a 130 °C, considerada o principal composto bioativo extraído da oleoresina da pimenta-do-reino. É conhecida por sua pungência característica, seus benefícios terapêuticos como antiinflamatório, antimicrobiano, anticancerígeno, anticonvulsante, antidepressivo, neuroprotetivo (KIM *et al.*, 2009; CHONPATHOMPIKUNLERT *et al.*, 2010; KHAJURIA *et al.*, 2018)

também por aumentar a capacidade de biodisponibilidade de vários medicamentos e nutrientes (DOUCETTE *et al.*, 2013). A Figura 6 apresenta a estrutura molecular da piperina.

Figura 6 - Estrutura molecular da piperina



Fonte: CHOPRA *et al.* (2016)

As atividades biológicas, abundância, facilidade de isolamento e as diferentes possibilidades de aplicação da piperina impulsionam seu emprego em diferentes áreas como farmacêutica, médica, cosméticos e alimentos. Na indústria de alimentos a piperina pode ser empregada de diferentes formas, dentre elas na formulação de alimentos, elaboração de alimentos funcionais, na prevenção ou retardo da deterioração de alimentos devido a sua atividade antimicrobiana e antioxidante e em embalagens ativas para alimentos.

Acredita-se que a piperina seja o principal composto com atividade antimicrobiana da pimenta-do-reino, estando relacionada principalmente contra cepas Gram positivas patógenas como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Streptococcus faecalis*. Entre as bactérias Gram negativas a maior eficiência é contra a *Pseudomonas aeruginosa* seguida da *Salmonella typhi* e *Escherichia coli*. A Tabela 5 apresenta o resultado de um estudo realizado por Karsha e Lakshimi (2010), comparando a concentração mínima inibitória (CMI) da piperina pura, extratos de pimenta-do-reino extraídos com os solventes acetona e diclorometano (DCM) e o antibiótico ampicilina.

Tabela 5 - Concentração mínima inibitória (CMI) de extrato de pimenta-do-reino, piperina e ampicilina

Bactéria	CMI (PPM)			
	Extrato de acetona	Extrato DCM	Piperina	Ampicilina
<i>Staphylococcus aureus</i>	125	125	250	0,98
<i>Bacillus cereus</i>	250	62,5	250	125
<i>Streptococcus faecalis</i>	500	125	250	1,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62,5	125	250	0,98
<i>Escherichia coli</i>	125	125	250	1,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	125	125	250	1,9
<i>Salmonela typhi</i>	250	250	250	15,63

Fonte: KARSHA e LAKSHIMI (2010)

A capacidade antioxidante da pimenta-do-reino tem sido atribuída a piperina e seus isômeros chavicina, isopiperina e isochavicina e monoterpenos. Tipsrisukond *et al.* (1998) estudaram os efeitos antioxidantes do óleo essencial e oleoresina de pimenta-do-reino obtidos por extrações supercríticas e convencionais em carne suína moída. Na carne suína moída em contato com a oleoresina obtida por extração supercrítica foram encontrados resultados superiores na redução da oxidação lipídica, medidos pela concentração de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) e hexanal durante 8 dias de armazenamento, devido a maior quantidade de piperina presente na oleoresina obtida pelo extrato supercrítico.

A extração da piperina pode ser realizada por métodos convencionais ou pelo emprego de tecnologias verdes. Alguns métodos convencionais usados para extração da piperina são maceração, extração com solvente e imersão e utilizam geralmente solventes orgânicos como acetona, diclorometano, etanol, éter dietílico. Algumas das desvantagens desses métodos estão relacionadas ao emprego de altas temperaturas e tempo prolongado de processo, o que pode provocar risco de degradação do produto final.

Os métodos de extração com fluido supercrítico e assistidos por microondas ou ultrassom apresentam vantagens em relação aos métodos convencionais por se tratar de uma tecnologia limpa, eficiente, seletiva, rápida e livre de resíduos

(SHITYAKOV *et al.*, 2019). A extração supercrítica utiliza como principal solvente o dióxido de carbono e tem sido amplamente aplicada na extração da piperina por apresentar alto rendimento do processo, com valores entre de 81 a 98% (PETER, 2006).

As técnicas analíticas e métodos quantitativos mais comuns utilizados na detecção da piperina após a extração da pimenta-do-reino são cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa-espectrometria de massa (CG/EM), ensaios colorimétricos, método Kjeldahl e espectrofotometria ultravioleta-visível (UV-Vis). O método Kjeldahl foi uma das primeiras técnicas usadas para medir a piperina indiretamente, por meio da avaliação da quantidade total de nitrogênio da pimenta preta (SHITYAKOV *et al.*, 2019).

1.3 IMPREGNAÇÃO SUPERCRÍTICA

Embora os primeiros relatos de processos com tecnologia supercrítica tenham ocorrido em 1879, a impregnação supercrítica em matrizes poliméricas pode ser considerada uma tecnologia relativamente recente, que vem sendo cada vez mais utilizada em diversas aplicações, principalmente nas áreas farmacêutica e alimentícia. Uma das primeiras patentes para a impregnação de agentes em polímeros foi registrada em 1985 e envolve a impregnação de aromas, substâncias de controle de pragas e fármacos em polímeros termoplásticos sob condições supercríticas (SAND, 1986).

Anos mais tarde, Berens *et al.* (1992) comprovaram a eficiência do CO₂ como solvente em processos de impregnação supercrítica, ao verificar que o CO₂ acelerou o processo de incorporação de compostos de baixo peso molecular em polímeros, sendo ainda hoje utilizado na maioria dos processos de impregnação supercrítica.

O CO₂ apresenta propriedades desejáveis como temperatura crítica moderada (31,04 °C), pressão crítica de 73,8 bar, densidade de 0,47 g cm⁻³, para as mesmas condições de pressão e temperatura e alta difusividade, o que permite penetrar em regiões amorfas da matriz polimérica causando um aumento no volume livre do polímero (inchaço), modificando as propriedades mecânicas e físicas do

polímero. Assim, há uma diminuição da temperatura de transição vítrea (T_g), que está relacionada à plastificação (BELIZÓN *et al.*, 2018), além de baixa viscosidade superficial de baixa tensão, facilitando a penetração das moléculas na matriz polimérica.

Outras vantagens do uso do CO_2 supercrítico como solvente estão relacionadas a características como ser inerte, atóxico, ter baixo custo, estar disponível em alta pureza, ser facilmente removido, o que reduz o custo do tratamento de resíduos, e ser considerado o solvente mais ambientalmente aceitável comparado aos solventes utilizados em processos convencionais.

A área de impregnação supercrítica é de grande interesse para diversos fins na indústria alimentícia, como a preparação de novos materiais, por exemplo, no desenvolvimento de embalagens ativas de alimentos (SOUZA *et al.*, 2014; CEJUDO-BASTANTE *et al.*, 2017), embalagem inteligente (FUERTES, 2016), microencapsulação (GUO e CHEN, 2018) e conservação de alimentos (CEJUDO-BASTANTE *et al.*, 2019).

Um dos fatores importantes para a utilização da técnica é verificar previamente a solubilidade do material a ser disperso (soluto) no fluido supercrítico. As etapas do processo de impregnação consistem basicamente no contato do soluto dissolvido no solvente supercrítico com a matriz polimérica. O polímero a ser impregnado então incha pela ação do fluido supercrítico e o soluto que está em contato com o fluido supercrítico é então disperso com ele. A plastificação associada à redução da temperatura de transição vítrea auxilia no processo de impregnação (GOODSHIP e OGUR, 2004).

Idealmente, as interações formadas entre o soluto e a matriz no processo de impregnação supercrítica seriam mais fortes do que aquelas entre soluto e CO_2 supercrítico, o que forçaria a impregnação em condições supercríticas, seguida de despressurização para remoção final do CO_2 . Se o soluto e a matriz não interagem, a impregnação é obtida pela despressurização da mistura supercrítica soluto-matriz- CO_2 , que força o soluto a precipitar na matriz, pois não é mais solúvel em CO_2 . Neste último caso, no entanto, o soluto não está aderido à matriz e será facilmente separado (FORNARI; STATEVA, 2015).

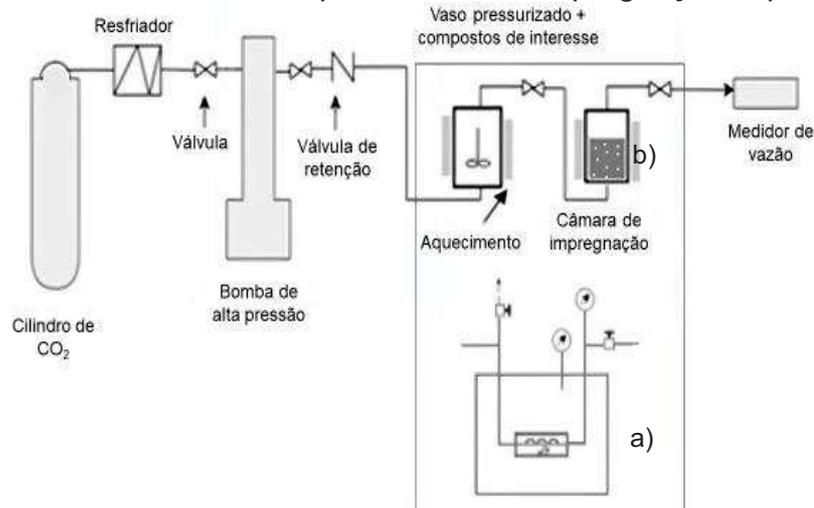
Existem diferentes configurações possíveis para realizar os procedimentos operacionais no processo de impregnação supercrítica de uma substância em uma matriz polimérica:

a) Dissolver o soluto em CO₂ supercrítico até a saturação e depois colocá-lo em contato com a matriz em um reservatório diferente. O sistema é composto basicamente por um cilindro de solvente, refrigerador, bomba de alta pressão, recipiente de alta pressão para solvatação do soluto, câmara de alta pressão para precipitação contendo a matriz. Este procedimento garante um melhor controle do rendimento de impregnação.

b) Colocar o soluto e a matriz no mesmo recipiente desde o início, mas separados por uma grade para que não haja contato entre o soluto não dissolvido e a matriz (FORNARI; STATEVA, 2015).

A Figura 7 mostra o esquema dos dois procedimentos operacionais de impregnação supercrítica.

Figura 7 – Procedimentos operacionais de impregnação supercrítica



Fonte: Adaptado de FORNARI; STATEVA (2015)

O processo de impregnação supercrítica é vantajoso em relação a outros processos convencionais para impregnar moléculas hidrofóbicas, por exemplo, óleos essenciais; a quantidade de soluto e a profundidade de impregnação podem ser ajustadas controlando as variáveis do processo; os produtos finais são isentos de

resíduos e a técnica permite trabalhar em condições relativamente amenas, o que é desejável para compostos naturais com atividades biológicas (SOUZA *et al.*, 2014).

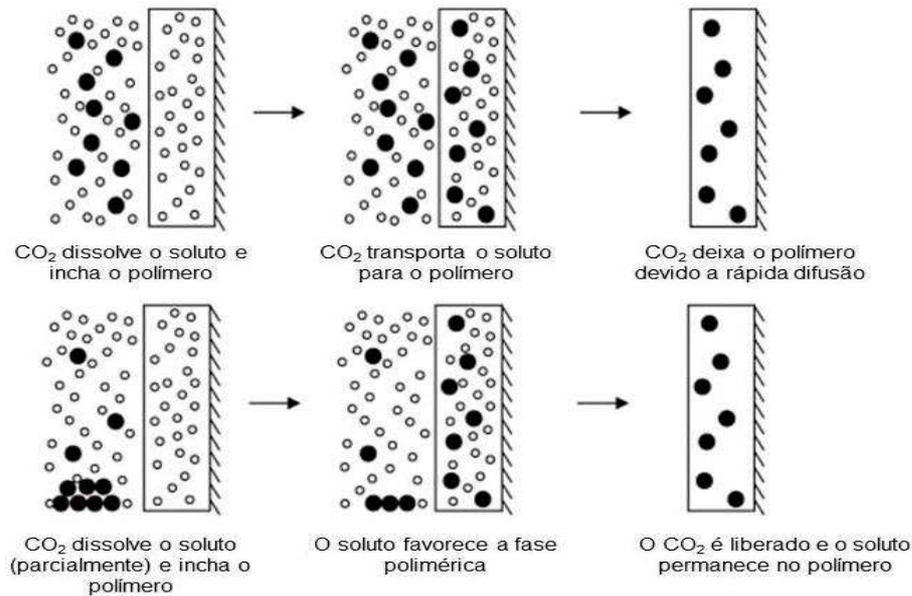
O processo de impregnação pode ser classificado em geral de acordo com dois mecanismos (KIKIC e VECCHIONE, 2003; KAZARIAN e MARTIROSIANO, 2002):

- Deposição do soluto solúvel em um fluido supercrítico na matriz polimérica após a despressurização;
- Dispersão molecular causada pela adsorção química do soluto na superfície do polímero.

A deposição do soluto na matriz polimérica ocorre nos casos em que o soluto apresenta baixa solubilidade no fluido supercrítico. A mistura $scCO_2$ + composto se difunde e deposita fisicamente por precipitação. Neste caso, ocorre a formação de substâncias recristalizadas sem que ocorra dispersão molecular.

A dispersão molecular depende da interação $scCO_2$ -polímero, interação de soluto-polímero e a solubilidade do soluto em $scCO_2$, os quais determinam os coeficientes do soluto entre o fluido supercrítico e a matriz transportadora. Este mecanismo está relacionado a solutos com alta afinidade pelo fluido supercrítico, resultando em um alto poder de partição. A mistura soluto/ $scCO_2$ atua como agente de dilatação/plastificante e dissolve-se resultando em soluto molecularmente disperso na matriz (MASMOUDI *et al.*, 2011; MUSTAPA *et al.*, 2016). A Figura 8 apresenta um esquema dos mecanismos de impregnação supercrítica.

Figura 8 - Esquema dos mecanismos de impregnação supercrítica de aditivos em polímeros assistida por $scCO_2$



Fonte: HUSSAIN *et al.* (2012)

A adição de um cossolvente polar pode ser uma alternativa para aumentar a solubilidade de compostos com maior polaridade, aumentando assim a eficiência do processo de impregnação (DIAS *et al.*, 2011). A Tabela 6 apresenta a solubilidade da piperina e extrato de pimenta-do-reino em $scCO_2$.

	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Solubilidade (g _{soluto} /g _{CO₂})	Referências
Piperina	40	100	0,00015	KUMORO <i>et al.</i> , (2009)
	40	120	0,00019	
	50	100	0,00008	
	50	120	0,00014	
Extrato de pimenta-do-reino	50	100	0,0025	PERAKIS <i>et al.</i> , (2005)

O parâmetro de solubilidade avalia a força de interação entre dois componentes, sendo que quanto mais próximo o valor da solubilidade entre os componentes, por exemplo: soluto e solvente ou soluto e matriz polimérica maior

será a miscibilidade entre estes compostos. Considerando a baixa solubilidade da piperina em scCO₂ (KUMORO *et al.*, 2009), o mecanismo de impregnação pode ter uma partição maior para a fase do polímero ao invés da fase scCO₂, fazendo com que mais soluto se concentre no polímero. Verificou-se que os parâmetros de solubilidade do PLLA e piperina são próximos, o que indica uma boa afinidade entre os compostos. Greenhalgh *et al.* (1999) estudaram a solubilidade de vários pares de fármaco/transportador e como resultado sugeriram que sistemas com diferença entre o parâmetro de solubilidade do fármaco e o do transportador ($\Delta\delta$) menor que 7,5 MPa^{1/2} apresentaram miscibilidade completa, sistemas com $\Delta\delta$ entre 7,4 e 15,0 MPa^{1/2} apresentaram algum sinal de imiscibilidade, e aqueles com $\Delta\delta$ acima de 15,9 MPa^{1/2} apresentaram imiscibilidade completa. A Tabela 7 apresenta os parâmetros de solubilidade do PLLA e piperina obtidos pelo método Hoftzyer-Van Krevelen (KREVELEN e NIJENHUIS, 2009).

Tabela 7 - Parâmetro de solubilidade para PLLA e piperina usando o método de Hoftzyer-Van Krevelen

Polímero/composto	Parâmetro de solubilidade ($\Delta\delta$) (MPa ^{0,5})	$\Delta\delta$ ($\delta_{\text{PLLA}} - \delta_{\text{piperina}}$) (MPa ^{0,5})
PLLA	23,3	
Piperina	20,0	3,3

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Os parâmetros de solubilidade em relação ao scCO₂ do sistema piperina e PLLA foram calculados com base no método de Krevelen e Nijenhuis (2009). Os resultados calculados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Parâmetro de solubilidade do sistema piperina/PLLA/CO₂

Polímero/composto	$\Delta\delta$ ($\delta_{\text{CO}_2} - \delta_{\text{PLLA}}$) (MPa ^{0,5})		$\Delta\delta$ ($\delta_{\text{CO}_2} - \delta_{\text{piperina}}$) (MPa ^{0,5})
	ρ_{CO_2}	δ_{CO_2}	
665 Kg m ⁻³ (50°C, 13,8 MPa)*	9,1	14,2	10,9
759 Kg m ⁻³ (40°C, 13,8 MPa)*	10,4	12,9	9,6
846 Kg m ⁻³ (40°C, 20,7 MPa)*	11,7	11,6	8,3

*HUSSAIN *et al.* (2012).

Parâmetro de solubilidade usado para PLLA é 23,3 MPa^{1/2} (KREVELEN e NIJENHUIS, 2009).

Parâmetro de solubilidade usado para piperina é 20 MPa^{1/2} (KREVELEN e NIJENHUIS, 2009).

1.3.1 Influência dos parâmetros de processo na impregnação supercrítica

O controle de parâmetros operacionais como pressão, temperatura, tempo de contato, taxa de despressurização influenciam o poder solvente e as propriedades de transporte do fluido supercrítico, o que pode afetar diretamente a capacidade de solvatação do CO₂, difusividade, inchamento e efeitos de plastificação no processo de impregnação supercrítica (SOUZA *et al.*, 2014; GUO e CHEN, 2018). De acordo com a literatura, as faixas de pressão e temperatura mais estudadas no processo de impregnação supercrítica são de 90 a 200 bar e 35 a 55 °C, respectivamente (CHAMPEAU *et al.*, 2015).

Em processos em que há saturação da fase CO₂ + composto ativo, causada pela quantidade excessiva de composto ativo colocado na célula de impregnação, verificou-se que o aumento da pressão (ou densidade) leva a um aumento na quantidade de composto dissolvido em CO₂ supercrítico, gerando um maior gradiente de concentração e aumentando o poder de inchamento do polímero, o que conseqüentemente causará uma maior incorporação do composto ativo na matriz polimérica (ROJAS *et al.*, 2020).

Nos estudos desenvolvidos por Cejudo-Bastante *et al.* (2017) e Dias *et al.* (2011), as altas pressões causaram a solubilização de uma maior quantidade de compostos, melhor plastificação do polímero e difusão da substância ativa. Por outro lado, estudos mostraram valores mais baixos para a impregnação de compostos ativos em altas pressões em sistemas com saturação da fase CO₂ + composto ativo, provavelmente causado pelo aumento da solubilidade do composto ativo e conseqüentemente de seu coeficiente de partição na fase supercrítica e diminuição da difusividade de scCO₂ na fase polimérica devido a uma maior saturação da matriz polimérica com fluido supercrítico (RADOVIC *et al.*, 2019).

Em situações em que a fase de CO₂ não está saturada com o composto ativo (não há excesso de massa do composto sendo totalmente dissolvido em CO₂), um aumento de pressão pode causar uma diluição do composto ativo gerando um gradiente de concentração menor, reduzindo a incorporação do composto ativo na matriz polimérica (ROJAS *et al.*, 2020). Estudos mostraram menores taxas de incorporação de compostos ativos em matrizes poliméricas com aumento de pressão

conforme descrito por Medeiros *et al.* (2017) para impregnação de óleo essencial de cravo em filmes de LLDPE. O oposto foi obtido por Goñi *et al.* (2016), que obteve maiores rendimentos de impregnação ao impregnar eugenol em filmes de LLDPE usando dióxido de carbono supercrítico a temperatura constante.

Estudos mostraram que a temperatura pode ter fortes efeitos na taxa de impregnação. As temperaturas utilizadas devem ser moderadas para preservar os agentes ativos que podem se degradar em altas temperaturas. Os resultados demonstraram que os maiores rendimentos de impregnação foram obtidos com temperatura moderada (CEJUDO-BASTANTE *et al.*, 2017). Milovanovic *et al.* (2013) ao estudar a incorporação de timol em gaze de algodão sob diferentes condições de processo usaram temperaturas amenas de 35 °C para o processo de impregnação, considerando que o timol apresentava solubilidade em CO₂ supercrítico próximo a temperatura de 50 °C. Por outro lado, Hussain e Grant (2012) estudando a impregnação de ibuprofeno em filmes de poli (metacrilato de metila), verificaram um aumento na difusividade do ibuprofeno com o aumento da temperatura, o que ocasionou um aumento na taxa de impregnação do composto ativo.

A importância do parâmetro tempo no processo de impregnação está relacionado à influência na difusão da substância ativa na matriz polimérica. Uma vez que há casos em que o maior tempo de contato pode aumentar a capacidade de sorção de scCO₂ na matriz. Um aumento significativo na carga antioxidante foi observado em filmes de PET/PP quando longos períodos de impregnação (22 h) foram aplicados para impregnação de galato de metila e extrato de folha de manga (BELIZÓN *et al.*, 2018). Por outro lado, verificou-se em outro estudo que o aumento do tempo de impregnação levou a uma diminuição da impregnação da substância ativa em uma matriz polimérica, devido ao aumento da cristalinidade da matriz do poliéster que foi saturada ao longo do tempo com scCO₂ (SEPULVEDA *et al.*, 2020). Desta forma, é possível verificar que assim como os parâmetros de pressão e temperatura, o tempo de impregnação dependerá do tipo de princípio ativo e polímeros utilizados.

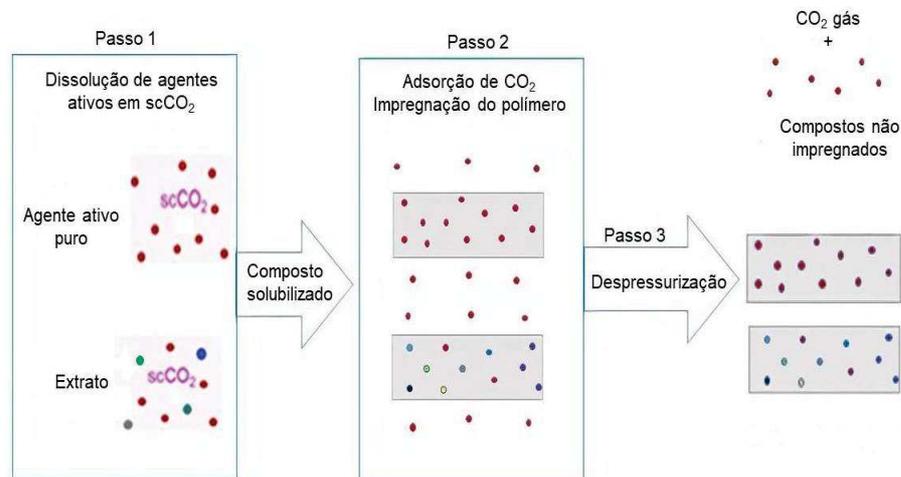
A taxa de despressurização é um importante parâmetro operacional no processo de impregnação supercrítica e deve ser estudada especificamente para cada sistema. Deve-se analisar a afinidade entre a substância ativa e a matriz

polimérica, o que interferirá na escolha de uma despressurização rápida ou lenta. Uma taxa de despressurização rápida pode aumentar a carga do polímero, porém, pode causar danos à estrutura do material. Uma despressurização lenta pode preservar a estrutura do polímero, porém, muito soluto pode ser perdido quando misturado com $scCO_2$.

Nos processos em que ocorra alta afinidade entre soluto e matriz polimérica, a despressurização lenta é indicada. Se tiver pouca afinidade, a despressurização rápida é indicada para que a substância ativa não seja levada pelo solvente e fique presa no polímero (CHAMPEAU *et al.*, 2015). Diferentes valores de taxa de impregnação em diferentes matrizes poliméricas comparando a impregnação de vários agentes ativos puros e misturas têm sido relatados na literatura. Na maioria deles foram utilizadas taxas de despressurização lentas para não alterar ou danificar as amostras poliméricas processadas e favorecer a impregnação dos agentes ativos nas matrizes poliméricas (SEPULVEDA *et al.*, 2020; BELIZÓN *et al.*, 2018; DIAS *et al.*, 2011). Por outro lado, verificou-se que a taxa de despressurização rápida favoreceu a impregnação do ácido cafeico puro, que também foi utilizado como parâmetro para a impregnação do extrato de folha de oliveira (CEJUDO-BASTANTE *et al.*, 2017).

A Figura 9 apresenta uma representação esquemática do processo de impregnação supercrítica de agentes puros ou multicomponentes em matrizes poliméricas.

Figura 9 - Esquema do processo de impregnação supercrítica de agentes puros ou multicomponentes em matrizes poliméricas



Fonte: Adaptado de CHAMPEAU *et al.* (2015)

1.4 EMBALAGENS ATIVAS PARA ALIMENTOS

As embalagens ativas podem ser definidas como sendo embalagens que alteram as condições dos alimentos para aumentar a vida útil ou melhorar as propriedades sensoriais e de segurança, mantendo a qualidade dos alimentos. As embalagens ativas visam corrigir alguma falha das embalagens tradicionais, por exemplo, uma embalagem de plástico com barreira de umidade adequada, mas barreira de oxigênio inadequada. Algumas das funções desenvolvidas na tecnologia de embalagens ativas incluem funções inteligentes, absorvedores, sistema de eliminação, atividade antimicrobiana, controle da atmosfera, comestibilidade e biodegradabilidade (HAN, 2014).

A indústria nos últimos anos tem investido mais intensamente em novas tecnologias para o desenvolvimento de embalagens ativas, devido à preferência dos consumidores por produtos mais naturalmente preservados e o interesse em produzir alimentos com qualidade e mais seguros. Alguns exemplos destas embalagens seriam sistemas de eliminação de oxigênio, para prevenir a oxidação e ranço dos alimentos, bem como o crescimento de bactérias aeróbias e bolores; eliminação de umidade, onde são incluídos materiais dessecantes na forma de sachês para controlar a umidade dentro da embalagem; sistema de absorção de

dióxido de carbono que evitam que as embalagens inflem após o processo devido a formação de dióxido de carbono e sistemas antimicrobianos para evitar o crescimento de microrganismos e deteriorantes patogênicos e que podem ser uma alternativa para diminuir a quantidade de conservantes (AHVENAINEN, 2003, ROOPA *et al.*, 2023).

As substâncias necessárias para se atingir o efeito da embalagem ativa podem ser incorporadas no próprio material ou embalados em sachês ou rótulos e inseridos na embalagem. As substâncias ativas não podem colocar em risco a saúde do consumidor, para isso leis foram criadas para regulamentar o sistema de embalagem (KRUIJF e RIJK, 2003). A tecnologia para desenvolver essas embalagens tem sido o grande desafio da indústria, já que o material precisa ter propriedades térmicas e mecânicas adequadas para máquinas de embalagem com boa vedação, ter boa aparência e preço razoável.

Os principais métodos de produção de embalagens ativas para alimentos são conhecidos como convencionais e são apresentados na Tabela 9. Os métodos convencionais utilizam água ou outros tipos de solventes e apresentam algumas desvantagens que devem ser consideradas, como baixas taxas de difusão de agentes em matrizes poliméricas, uso de solventes tóxicos, alta temperatura que pode causar redução dos compostos ativos, profundidade limitada, tempo de contato longo, excesso de impregnantes, alto consumo de energia, água, solventes e outros aditivos (MEDEIROS *et al.*, 2017).

Tendo em vista as desvantagens apresentadas pelos métodos convencionais, a tecnologia supercrítica é uma alternativa a esses processos. Em 2014 foi realizada a primeira impregnação de um composto ativo utilizando CO₂ supercrítico em uma matriz polimérica para a produção de embalagens ativas de alimentos (TORRES *et al.*, 2014).

O processo de impregnação supercrítica é vantajoso em relação a outros processos convencionais por impregnar moléculas hidrofóbicas, por exemplo, óleos essenciais; a quantidade de soluto e a profundidade de impregnação podem ser ajustadas controlando as variáveis do processo; os produtos finais são isentos de resíduos e a técnica permite trabalhar em condições relativamente amenas, o que é desejável para compostos naturais com atividades biológicas (SOUZA *et al.*, 2014).

Tabela 9 - Métodos convencionais de impregnação de substâncias ativas em matrizes poliméricas

Métodos convencionais	Características	Desvantagens	Referências
Mistura simples por fusão do polímero	A matriz polimérica misturada com as substâncias ativas é aquecida até a fusão, sendo em seguida resfriada.	Degradação de substâncias.	GARRIDO-MIRANDA <i>et al.</i> (2018) EFRATI <i>et al.</i> (2014)
Dispersão ou dissolução em solventes ou agentes dispersantes	Dispersão ou dissolução da matriz polimérica e substâncias ativas em solventes ou meios dispersantes, que depois serão removidos por secagem.	Os solventes podem apresentar problema de toxicidade ou serem difíceis de remover.	PASTOR <i>et al.</i> (2013) AKHTAR <i>et al.</i> (2013)
Impregnação por via úmida ou imersão (soaking)	Imersão do polímero já sintetizado, em uma solução de uma substância ativa previamente dissolvida.	Alto consumo de solvente e água, toxicidade dos solventes, degradação dos compostos ativos e polímeros, baixo rendimento de incorporação ou dispersão de substâncias ativas causada pelo intumescimento da matriz.	WORAPRAYOTE <i>et al.</i> (2013) JIN <i>et al.</i> (2009)
Incorporação em meio reacional de substâncias para a polimerização ou modificação da matriz e processos	Mistura das substâncias ativas com solventes, catalisadores, reagentes, agentes iniciadores em alguma etapa do preparo do polímero. As substâncias ativas ficam retidas por oclusão no interior da matriz.	Temperaturas elevadas de processo. Utiliza solventes e outras espécies químicas, possibilidade de ocorrência de reações indesejáveis, pode ocorrer degradação de substâncias e/ou formação de compostos perigosos.	ZACTITI <i>et al.</i> (2006) ALMINDEREJ (2020)

1.4.1 Migração de compostos ativos em embalagens de alimentos

O termo migração geralmente está relacionado a um processo de difusão que pode ser fortemente influenciado pela interação da substância impregnada com o material da embalagem (ARVANITTOYANNIS; BÓSNEA, 2010). A maioria dos sistemas de embalagens são formados por material da embalagem, alimento e espaço livre. A atividade dos compostos bioativos depende da migração da substância para o alimento ou da evaporação dos materiais para o espaço livre.

Substâncias como óleos essenciais apresentam princípios de ação baseados em sua volatilidade. Outras substâncias como zeólita não apresentam volatilidade e sua atividade se baseia em migração da embalagem para o alimento (QUINTAVALLA e VICINI, 2002; VÉRONIQUE, 2008 apud SELVAMUTHUKUMARAN, 2022).

A difusão é a transferência de massa de moléculas de uma região de alta concentração para uma região de baixa concentração até que o equilíbrio seja alcançado (MILTZ, 1997). A taxa de difusão é calculada pela Equação 1.1 e é conhecida como segunda Lei de Fick (CUSSLER, 2009).

$$\partial C_p / \partial t = D(\partial^2 C_p / \partial x^2) \quad (1.1)$$

Onde: C_p (mg g^{-1}): concentração de migração no material polimérico; D (cm^2/s): coeficiente de difusão; t (s): tempo em que a difusão ocorre e x (cm): distância entre a embalagem e o alimento.

Geralmente a caracterização experimental da migração de agentes ativos impregnados em filmes ocorre por meio de simuladores de alimentos definidos por regulamentações internacionais (DOPICO *et al.*, 2003; CRAN *et al.*, 2010; TORRES *et al.*, 2014), devido à dificuldade em se realizar a análise em alimentos reais por apresentarem uma mistura de substâncias em sua composição como água, carboidratos, gorduras, lipídios, vitaminas, fibras e minerais (CRAN *et al.*, 2010; TORRES *et al.*, 2014). Cada meio simulante representa um tipo de alimento e incluem: água; ácido acético em água 3% (v/v); 8, 15, 50 e 95% etanol em água (v/v), azeite de oliva, óleo de girassol, simulante sintético gordura HB307 (CRAN *et al.*, 2010).

Diferentes análises têm sido empregadas para determinar a migração de agentes ativos em embalagens de alimentos, sendo que as principais seriam as análises cromatográficas ou espectrofotométricas. Torres *et al.* (2014) analisaram a migração de timol impregnado em filmes de PEBD em etanol 10% (v/v) e etanol 95% (v/v) como simuladores aquosos e gordurosos, respectivamente, e mediram em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Medeiros *et al.* (2017) estudaram a migração de óleo essencial de cravo impregnado em filmes de PEBD para meio

simulante de etanol 10 e 95% a exemplo de Torres e analisaram a migração do óleo por UV-Vis. Hwang *et al.* (2013) estudaram a migração de α -tocoferol e resveratrol impregnados em filmes de PLLA e PLLA/amido em meio simulante de etanol 100% e quantificaram as substâncias que migraram dos filmes por cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE).

CAPÍTULO 2

**EFEITO DA IMPREGNAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO DE PIPERINA E
EXTRATO DE PIMENTA-DO-REINO NAS PROPRIEDADES DE FILMES DE
POLI(L-ÁCIDO LÁTICO) PARA EMBALAGENS ATIVAS DE ALIMENTOS**

O capítulo 2 inclui a preparação dos filmes de PLLA, o processo de impregnação da piperina e do extrato de pimenta-do-reino nos filmes com CO₂ supercrítico e a quantificação dos compostos por gravimetria e UV-Vis. Estão apresentadas também a caracterização dos filmes em relação às suas propriedades estruturais, funcionais e de superfície.

Os resultados apresentados neste capítulo serão submetidos à publicação em revista com alto fator de impacto.

RESUMO

A grave crise ambiental tem impulsionado, nos últimos anos, a busca por alternativas que reduzam a poluição causada pelos plásticos e o desperdício de alimentos. A indústria de alimentos é responsável pela maior parte destes resíduos e, portanto, enfrenta o desafio de encontrar soluções que substituam os plásticos derivados do petróleo. Embalagens ativas obtidas a partir de polímeros biodegradáveis e de fontes renováveis com uso de tecnologia verde podem ser uma opção interessante. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver uma embalagem ativa para alimentos a partir da incorporação de extrato de pimenta-do-reino (EPR) e piperina pura (PP) em filmes de poli (L-ácido láctico) (PLLA) utilizando tecnologia supercrítica. A piperina foi utilizada como modelo para determinar a influência das condições operacionais de pressão (10 e 12 MPa), temperatura (40 e 50 °C) e taxa de depressurização de 1 MPa min⁻¹ por 3 h sob agitação no rendimento de impregnação. Foram testados filmes de PLLA de diferentes espessuras (100, 150 e 200 µm). As condições mais favoráveis foram obtidas a 10 MPa e 50 °C e usadas na incorporação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de 200 µm. Também foi testada a adição de etanol como cossolvente nas proporções de 5 e 10%. Nos tratamentos sem cossolvente os filmes impregnados com extrato apresentaram maior rendimento de impregnação (5,28%). A adição de 5% de cossolvente favoreceu o aumento do rendimento da piperina (5,61%). Os filmes impregnados exibiram maior cristalinidade em comparação aos filmes puros. A resistência à ruptura foi reduzida nos filmes com adição de cossolvente. O módulo de Young foi reduzido e a elongação na ruptura aumentou para todos os tratamentos. As propriedades superficiais dos filmes revelaram a presença de bandas características de piperina e polímero e modificação da superfície, tornando-se rugosa. Os filmes com cossolvente exibiram propriedades de hidrofobicidade mais elevadas em comparação com os filmes de PLLA sem cossolvente. Os resultados mostraram que é possível utilizar fontes renováveis e tecnologia verde na elaboração de embalagens ativas para alimentos, sendo uma alternativa promissora na redução de impactos ambientais.

Palavras-chave: tecnologia verde; dióxido de carbono supercrítico; embalagens de alimentos; biopolímero; agentes ativos.

2.1 INTRODUÇÃO

A grave crise ambiental tem sido uma preocupação mundial, o que tem exigido ações urgentes de governos, empresas e da população, que considerem os limites dos recursos naturais e garantam um modelo de desenvolvimento sustentável. Assegurar padrões de produção e consumo sustentáveis, o desenvolvimento de tecnologias ambientalmente seguras e a redução do desperdício alimentar, bem como da poluição, são alguns dos objetivos que fazem parte de um conjunto de programas incluídos na agenda 2030 das Nações Unidas para o desenvolvimento sustentável (FAO, 2015).

O aumento da população mundial, estimado até 2050 em 9,7 bilhões (ONU, 2022), projeta um aumento de 60% na produção de alimentos (FAO, 2015). Diante disso, a expectativa é que o nível de resíduos gerados pela indústria alimentícia, como o produzido pelas embalagens, cresça ainda mais nos próximos anos. Cerca de 40% das embalagens descartadas são de plásticos, sendo que as embalagens plásticas descartáveis para alimentos representam a maior parcela (NAVARRE *et al.*, 2022), o que causa um efeito devastador ao meio ambiente, tanto pela formação de microplásticos quanto pelo aumento da emissão de gases do efeito estufa. Assim, a substituição de embalagens plásticas derivadas do petróleo por matérias-primas renováveis, em combinação com tecnologias ecologicamente corretas, como a tecnologia supercrítica, pode ser uma alternativa valiosa e importante para a redução desse problema.

Novas tendências em embalagens de alimentos baseadas no uso de biopolímeros e compostos ativos naturais surgiram a partir do interesse do consumidor por produtos que garantam segurança, saudabilidade, sabor, praticidade e sustentabilidade. A embalagem ativa é um exemplo, que incorpora agentes capazes de alterar as condições dos alimentos para aumentar a vida de prateleira ou melhorar as qualidades sensoriais e de segurança, mantendo a qualidade dos alimentos (FORNARI; STATEVA, 2015).

A produção de bioplástico está projetada para aumentar de 2,23 milhões em 2022 para 6,3 milhões de toneladas em 2027 (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2022). Alguns dos principais biopolímeros estudados são o de ocorrência natural: celulose

(HUANG *et al.*, 2022), amido (ROY; RHIM, 2022), quitosana (SALIM *et al.*, 2022), alginato (FILHO *et al.*, 2019) e os sintéticos como polihidroxialcanoatos (PHA) (ARRIETA *et al.*, 2019), poli (ϵ -caprolactona) (PCL) (SISKOVÁ *et al.*, 2022), poli (ácido glicólico) (PGA) (REGUBALAN *et al.*, 2022) e poli (ácido lático) (PLA), considerado o biopolímero mais utilizado na indústria de embalagens de alimentos, com 20,7% de participação na produção global de bioplásticos em 2022 (REN *et al.*, 2022; BIOPLÁSTICOS EUROPEUS, 2022).

Em geral, as embalagens são produzidas utilizando tecnologias convencionais como fusão (CARDOSO *et al.*, 2017), agentes dispersantes (DAIRI *et al.*, 2019), impregnação úmida ou imersão (SHAHBAZI, 2017), incorporação em meio reacional de substâncias para polimerização ou modificação da matriz e processos (TIAN *et al.*, 2012). A impregnação supercrítica é uma metodologia inovadora que vem ganhando destaque e vem sendo estudada como uma alternativa interessante às técnicas convencionais na produção de embalagens para alimentos. O processo utiliza dióxido de carbono em alta pressão como solvente para incorporar substâncias ativas em matrizes poliméricas e tem como principais vantagens o uso de temperaturas amenas, desejável para compostos naturais com atividade biológica (SOUZA *et al.*, 2014), melhora na taxa de incorporação de substâncias, baixo índice de viscosidade, alto poder de dissolução de materiais orgânicos e interação entre diferentes matrizes (TORRES *et al.*, 2017).

Um dos principais biopolímeros utilizados pela indústria é o PLA, que é um poliéster termoplástico alifático biodegradável, obtido a partir de monômeros de ácido lático, sintetizado a partir de biomassa de fontes renováveis como açúcar de milho, batata e cana-de-açúcar. Pode ser produzido por polimerização de abertura de anel de lactídeo (monômero de ácido lático) ou por policondensação de ácido lático. O ácido lático possui em sua estrutura um carbono quiral com unidades enantioméricas L e D. Os polímeros formados a partir de unidades L são chamados de poli (L-ácido lático) – PLLA. As propriedades mecânicas do PLLA são intermediárias entre as do poliestireno (PS) e do tereftalato de polietileno (PET), tornando-o adequado para uso em embalagens de alimentos (EL-HADI, 2017).

Extratos naturais têm sido investigados como uma alternativa aos conservantes sintéticos. Pesquisas relacionadas à incorporação de agentes ativos

em diferentes matrizes poliméricas foram publicadas recentemente, incluindo filmes comestíveis de quitosana com extratos de chokeberry (SADY *et al.*, 2021); filmes nanocompósitos de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV) e óleo essencial de orégano (COSTA *et al.*, 2020); filme antimicrobiano baseado em misturas de poli(álcool vinílico) PVA/amido enriquecido com diferentes concentrações de etil lauroil arginato (WU *et al.*, 2021); filmes de isolado de proteína de soja incorporando carvacrol (TAO *et al.*, 2022); filmes de polipropileno com nanocelulose e nanoquitina (NGUYEN *et al.*, 2021). O extrato de pimenta-do-reino tem sido investigado para diversas aplicações alimentícias, medicinais e cosméticas, pois apresenta importantes propriedades fisiológicas e farmacológicas, incluindo capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana, importantes para o uso em embalagens ativas. A piperina é o principal composto bioativo da pimenta-do-reino com atividade anti-inflamatória e antioxidante (SHITYAKOV *et al.*, 2019; ANDRADE *et al.*, 2017).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo desenvolver filmes ativos de PLLA com uma substância multicomponente (extrato de pimenta-do-reino) e uma substância pura (piperina) para serem utilizados em embalagens de alimentos.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Materiais

Os filamentos de PLLA para impressão 3D com diâmetro de 1,75 mm e sem coloração foram adquiridos da empresa Cliever (Belo Horizonte/MG). O dióxido de carbono (99,9% de pureza) foi adquirido da White Martins S/A (São Paulo/SP). A piperina ($\geq 95\%$ de pureza, pó amarelo) foi adquirida da Vita Essência (Florianópolis/SC). A pimenta-do-reino (*Piper nigrum L.*, cultivar Bragantina) foi adquirida no comércio local de Florianópolis/SC. O extrato de pimenta-do-reino foi obtido por extração supercrítica. Outros produtos químicos de grau analítico incluem álcool metílico (grau 99,8% PA, Neon, São Paulo/SP) e álcool etílico (grau 99,8% PA, Neon, São Paulo/SP), diclorometano ($>99,9\%$; Dinamica, São Paulo/SP), acetonitrila (99,9%, Dinamica, São Paulo/SP) para análise por HPLC.

2.2.2 Preparação dos filmes de PLLA

Os filmes PLLA utilizados no processo de impregnação foram obtidos por termocompressão dos pellets em prensa hidráulica com aquecimento (PHS 15t, Ico Comercial, Brazil). Filmes de poliéster foram utilizados para o contato entre a prensa e as amostras.

Os filamentos de PLLA foram cortados em pedaços de aproximadamente 1 cm de comprimento. Para a elaboração dos filmes de diferentes espessuras foram pesados para cada filme 1,5 g de pellets em balança analítica (AUY 220, Shimadzu, Filipinas, $\pm 0,0001$ g de precisão) e colocados na superfície do filme de poliéster em temperatura constante de 160 °C de acordo com os seguintes ciclos de prensagem:

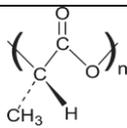
Ciclo 1: 0 ton por 2 min, seguido de 2 ton por 1 min, 4 ton por 10 segundos.

Ciclo 2: 0 ton por 2 min, seguido de 2 ton por 1 min, 4 ton por 1 min e 6 ton por 1 min.

Ciclo 3: 0 ton por 2 min, seguido de 2 ton por 1,5 min, 4 ton por 1,5 min e 6 ton por 1 min.

Os filmes obtidos foram retirados da prensa, resfriados à temperatura ambiente (25 °C), cortados na medida de 7,5 x 1,5 cm e armazenados até a realização dos experimentos de impregnação. Os filmes obtidos eram transparentes, flexíveis e homogêneos, sem bolhas de ar aprisionadas. A Tabela 10 apresenta as propriedades do PLLA.

Tabela 10 - Propriedades do PLLA

Propriedade	PLLA
Estrutura molecular	
Massamolecular (kg mol ⁻¹)	140 – 160
Temperatura de transição vítrea (T _g) a 1 atm de pressão (°C)	55 - 80
Temperatura de fusão (T _m) (°C)	173 - 178

Fonte: LASPRILLA *et al.* (2012)

2.2.3 Impregnação supercrítica

O procedimento de impregnação dos filmes de PLLA foi conduzido empregando o método estático em uma célula de alta pressão de volume variável. O aparato experimental utilizado neste estudo pode ser visto com detalhes nos trabalhos apresentados por Lanza (2004) e Rebelatto *et al.*, (2015). A Figura 10 apresenta o aparato do experimento. Uma quantidade precisa de piperina (25,5 mg) ou extrato de pimenta-do-reino (28,2 mg) foram pesadas em balança analítica (AUY 220, Shimadzu, Filipinas, $\pm 0,0001$ g de precisão) e, em seguida, carregada na célula. Filmes de PLLA (11,25 cm², 200 μ m de espessura média) foram utilizados no processo, sendo usado um filme para cada processo de impregnação. O sistema foi então fechado e pressurizado até a pressão operacional pré-estabelecida e a temperatura da célula foi atingida, conforme item 2.2.4.1.1. O CO₂ no estado líquido a 7 °C, 10 MPa foi carregado por meio da bomba de seringa. O processo foi realizado a pressão e temperatura constante durante 3 horas. Nos casos em que foi utilizado um cossolvente adicionou-se 5 e 10% v/v considerando o volume de CO₂ introduzido na célula. Após a impregnação, a pressão interna da célula foi reduzida na taxa de despressurização lenta e controlada (DR) de 1 MPa min⁻¹ e a temperatura do banho termostático foi imediatamente reduzida a 15 °C para evitar a remoção de sólidos durante a despressurização. Todas as condições experimentais foram realizadas em triplicata. Após a despressurização do sistema, os filmes de PLLA impregnados foram retirados da célula e o excesso de composto ativo não impregnado foi removido com papel toalha. Em seguida, os filmes impregnados foram imersos em metanol para garantir a total remoção dos compostos da superfície dos filmes e transferidos para placas que posteriormente ficaram armazenadas no dessecador para difusão do CO₂. Em todos os ensaios, pesou-se as amostras até o 5° dia após a impregnação com CO₂ supercrítico para a determinação da massa do composto ativo impregnada nos filmes de PLLA usando o método gravimétrico e espectroscopia de UV-Vis. Verificou-se após esse período que as massas dos filmes estabilizaram, indicando uma dessorção lenta de CO₂. O mesmo comportamento foi confirmado também no estudo de Coutinho (2020). Após

esse período, os filmes foram protegidos da luz por papel alumínio e armazenados em refrigerador até a realização das análises de caracterização.

Figura 10 - Aparato experimental



Fonte: elaborado pela autora (2023)

2.2.4 Testes Preliminares

2.2.4.1 Influência dos parâmetros de impregnação supercrítica usando piperina como substância modelo

2.2.4.1.1 Pressão e temperatura

Para o estudo da influência dos parâmetros de processo nas cargas de impregnação foram impregnados piperina como modelo em filmes de PLLA, por ser abundante e remover um dos principais compostos bioativos presentes no extrato da pimenta-do-reino (ANDRADE *et al.*, 2017; TIWARI *et al.*, 2020). Inicialmente foram testadas as condições de processo de 20 MPa de pressão, temperatura de 40 °C, taxa de despressurização de 1 MPa min⁻¹ e tempo de processo de 1h30min, verificou-se, porém, que a estrutura física do filme ficou deformada, com formação de ondulações. Sendo assim, optou-se por testar outras variáveis de processo com

pressões mais baixas para evitar danos físicos à matriz. Foram testadas temperatura (40 e 50 °C), pressão (10 e 12 MPa) e taxa de despressurização e tempo constantes de 1 MPa min⁻¹ e 3 horas respectivamente. Os parâmetros testados foram estabelecidos com base em estudos anteriores de processos de impregnação supercrítica (ALVARADO *et al.*, 2018; LUKIC; VULIC; IVANOVIC, 2020; MILOVANOVIC *et al.*, 2018), nos quais se verificou uma maior plastificação do polímero em pressões que variaram de 10 a 20 MPa.

Um excesso de massa de piperina de 25,5 mg foi usado nos processos, variando de 12 vezes (40 °C e 12 MPa) a 26,5 vezes (50 °C e 10 MPa) maior que a solubilidade de piperina em scCO₂ (KUMORO *et al.*, 2009) nas diferentes condições testadas, para garantir uma condição saturada durante todo o processo. Os parâmetros de processos avaliados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Parâmetros de processos avaliados para impregnação assistida por scCO₂ de PLLA com piperina

Amostras	Densidade (kg m ⁻³)	Solubilidade 10 ⁻⁵ (g _{PP} /g _{CO2})	Temperatura (°C)	Pressão (MPa)
1	629	2,34	40 °C	10 MPa
2	718,9	2,93	40 °C	12 MPa
3	385,2	1,32	50 °C	10 MPa
4	586,4	2,14	50 °C	12 MPa

Fonte: elaborado pela autora (2023)

2.2.4.1.2 Diferença nas espessuras dos filmes

Filmes com diferentes espessuras foram testados para verificar possíveis variações na carga de impregnação da piperina. Os filmes foram obtidos conforme descrito no item 2.2.2. As espessuras foram medidas com micrômetro digital (Mitutoyo, Japão, precisão de ± 0,001 mm) em dez posições aleatórias e obtida uma média da espessura para cada filme. Foram obtidos filmes nas espessuras de 100, 150 e 200 µm.

2.2.5 Produção do extrato de pimenta-do-reino

O extrato de pimenta-do-reino foi obtido por extração com fluido supercrítico (EFS). As condições operacionais foram definidas com base no trabalho de Andrade *et al.*, (2017). As EFS foram realizadas sob pressão de 20 MPa e temperatura de 40 °C, com vazão de CO₂ de 8,33 g min⁻¹, durante 240 min. Aproximadamente 20 g de amostra seca e moída foram usados em cada ensaio. Após a extração, os extratos obtidos foram armazenados em refrigerador até o momento dos testes de impregnação.

2.2.5.1 Composição química do extrato de pimenta-do-reino

A composição química do extrato de pimenta-do-reino usado nos ensaios de impregnação supercrítica foi determinada em um sistema de cromatografia gasosa (Agilent Technologies, modelo 7820A) acoplado ao espectrômetro de massas (Agilent Technologies modelo 5975 MSD). Os compostos foram separados em coluna capilar HP5 MS (30 m x 0,25 mm de diâmetro interno x 200 µm de espessura de filme). Hélio foi o gás carreador com vazão de 1 mL min⁻¹, razão de divisão 1:50, temperaturas do injetor e detector de 240 e 250 °C, respectivamente, enquanto a temperatura da coluna foi programada linearmente na taxa de 3 °C min⁻¹ de 70 a 180°C (GUAN *et al.*, 2007). Em seguida, 1 µL de solução do extrato (1% v/v em etanol) foi injetado no equipamento e os principais componentes foram identificados comparando seus espectros de massa e tempos de retenção com a biblioteca espectral de massa NIST 11 disponível no equipamento GC-MS (MEDEIROS, 2017).

A quantidade de piperina presente no extrato foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Shimadzu, modelo 2020) equipado com coluna Phenomenex – com fase estacionária de C18 (150 X 4,60 mm; 5,0 µm). Como fase móvel foi empregada a solução acetonitrila:água (ácido acético 1%) (60:40), com fluxo de solvente de 1 mL min⁻¹ e o volume fixo de injeção da amostra (10 µL), conforme descrito anteriormente por Wood *et al.*, (1988). A piperina foi solubilizada em metanol grau analítico na concentração de 1,5 ppm. As amostras foram filtradas (0,22 µm, Kasvi). A quantificação da piperina foi realizada a partir da

comparação da área das amostras com um padrão de piperina (1,5 ppm). A análise foi realizada em triplicata e o resultado apresentado em percentual de piperina.

2.2.6 Caracterização dos filmes impregnados

2.2.6.1 Determinação e quantificação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA

2.2.6.1.1 Análises gravimétrica e espectrofotométrica

As amostras impregnadas com piperina e extrato de pimenta-do-reino foram analisadas usando o método gravimétrico e espectrofotométrico. A carga de piperina impregnada em PLLA ($\text{mg}_{\text{piperina}}/\text{g}_{\text{PLLA}}$) foi determinada pelo método gravimétrico considerando a massa inicial e final dos filmes (após o 5° dia do processo de impregnação) pesados em balança analítica e calculada pela Equação 2.1.

$$C_{PP} = \frac{(m_{F,\text{impr}} - m_{F,i})}{m_{F,i}} \times 1000 \quad (2.1)$$

Onde C_{PP} é a carga de piperina impregnada ($\text{mg}_{\text{piperina}}/\text{g}_{\text{PLLA}}$), $m_{F,\text{impr}}$ é a massa do filme impregnado (g) e $m_{F,i}$ é a massa do filme inicial (g).

O rendimento de impregnação (I %) foi calculado de acordo com a Equação 2.2. Considerou-se $m_{p,\text{impr}}$ a massa dos filmes impregnados com piperina e $m_{f,i}$ a massa inicial dos filmes, pesados em balança analítica.

$$I (\%) = \frac{m_{F,i}}{(m_{F,\text{impr}} + m_{F,i})} \times 100 \quad (2.2)$$

A quantificação da piperina impregnada nos filmes de PLLA foi determinada por UV-Vis segundo o método descrito por Buzanello *et al.* (2015) usando um espectrofotômetro da marca Perkin Elmer, modelo Lambda 45 que opera na faixa de 190 a 1100 nm. Preparou-se uma curva analítica da piperina e solução de diclorometano:metanol 1:1 (v/v) com concentração de 2 a 18 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e determinada

a equação da reta, usada nos cálculos para quantificação da piperina presente nas amostras (Apêndice B.6). O branco e as amostras dos filmes impregnados foram preparados, conforme descrito a seguir.

I. Preparo do branco (PLLA + diclorometano + metanol)

Para o preparo do branco, 1 mg de filme de PLLA puro foi diluído em diclorometano:metanol 1:1 (v/v) em um tubo vedado. O tubo foi mantido em ultrassom até completa dissolução. A solução foi filtrada com uma membrana Millipore (0,45 μm) e 1 mL foi diluído em uma solução 1:1 (v/v) de diclorometano:metanol para 10 mL.

II. Preparo da amostra dos filmes impregnados

Para o preparo das amostras 1 mg de filme impregnado foi diluído em diclorometano:metanol 1:1 (v/v) em um tubo vedado e mantido em ultrassom até completa dissolução.

A absorbância da amostra foi medida a 342 nm, maior comprimento de onda de absorbância da piperina (VISHVNATH *et al.*, 2002), usando o branco (PLLA + diclorometano:metanol 1:1) (v/v).

2.2.6.1.2 Fluorescência

A presença dos compostos ativos impregnados nos filmes de PLLA foi determinada por análise de fluorescência dos filmes impregnados usando um multileitor (Infinite M200 Tecan). O espectro de excitação foi determinado previamente por varredura das amostras nos comprimentos de onda de 230 a 435 nm. As fluorescências das amostras foram medidas no comprimento de onda de emissão de 435 nm e excitação de 390 nm. As amostras dos filmes foram cortadas em diferentes regiões dos filmes impregnados e colocadas dentro de um scanner e a fluorescência foi lida em toda a amostra. A análise foi realizada em triplicata para cada filme.

2.2.6.2 Propriedades estruturais

2.2.6.2.1 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A estabilidade térmica dos filmes de PLLA impregnados foi analisada usando um calorímetro diferencial de varredura Perkin-Elmer (Jade-DSC, EUA) previamente calibrado com índio e zinco. Os termogramas foram obtidos de 25 a 250 °C, com fluxo de nitrogênio de 20 mL min⁻¹. A massa da amostra foi de aproximadamente 8 a 10 mg.

As temperaturas de transição vítrea (T_g), entalpia de fusão (ΔH_f) e temperatura de fusão (T_m) foram determinadas de acordo com o método ASTM D3418-12 (ASTM D3418-12, 2012). O grau de cristalinidade (X) dos materiais foi deduzido dos dados DSC usando a Equação 2.3.

$$X (\%) = \frac{\Delta H_m}{W \Delta H_m^0} \times 100 \quad (2.3)$$

Onde ΔH_m é a entalpia de fusão do PLLA, W é a fração mássica do PLLA em amostras (excluindo a piperina e extrato de pimenta-do-reino), e ΔH_m^0 é a entalpia teórica de fusão de 100% de PLLA cristalino, assumido como 93,1 J g⁻¹ (SEGUELA e RIETSCH, 1986; KONG e HAY, 2002).

2.2.6.2.2 Difração raio X (DRX)

A análise de difração de raios X foi realizada em um difratômetro Miniflex 600 (Rigaku) para estudar as fases cristalinas dos filmes impregnados. O equipamento foi equipado com uma fonte Cu K α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) no ângulo de varredura de de $2\theta^\circ$, entre 2° e 30° a $0,02^\circ/\text{seg}$.

2.2.6.3 Propriedades funcionais

2.2.6.3.1 Propriedades mecânicas

Resistência à tração, alongamento de ruptura e módulo de Young foram medidos em 25 °C usando um analisador de textura (TA-HD Plus, Stable Micro Systems, Reino Unido). Os ensaios de tração foram realizados usando uma célula de carga de 750 kg com separação inicial de 30 mm e velocidade de cruzeta de 10 mm s⁻¹ de acordo com o método ASTM D882-12 (ASTM D882-12, 2012). As análises foram realizadas em amostras de 75 x 15 mm de filmes de PLLA impregnados, com o objetivo de se avaliar o efeito do processamento de alta pressão nas propriedades mecânicas dos filmes.

2.2.6.3.2 Propriedades de barreira

Grau de intumescimento

O grau de intumescimento dos filmes, representado pela capacidade de água absorvida pelos filmes foi determinado segundo o método de Xu, Bartley e Johnson (2003). Os filmes cortados em pedaços de 3 x 3 cm foram imersos em um béquer contendo 500 mL de água destilada a 23 °C. A cada 15 min os filmes eram retirados e secados em toalha de papel para a remoção do excesso de água, sua massa era determinada e retornava ao béquer com água. O processo foi realizado até a massa dos filmes permanecerem contantes. O grau de intumescimento (GI) foi calculado pela Equação 2.4, onde M_f é a massa final do filme e M_0 a massa inicial do filme. O resultado foi apresentado em percentual de GI (%). A análise foi realizada em triplicata.

$$GI (\%) = \frac{M_f - M_0}{M_f} \times 100 \quad (2.4)$$

2.2.6.4 Propriedades de superfície

2.2.6.4.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho de FTIR dos filmes de PLLA impregnados foram registrados no modo de absorbância usando um espectrofotômetro (FTIR, Cary 660, Agilent Technologies, EUA) equipado com refletância total atenuada (ATR).

Os espectros foram obtidos com uma resolução de 4 cm^{-1} , em um número de ondas na faixa de $400 - 4000\text{ cm}^{-1}$ e no modo de 30 varreduras.

2.2.6.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia dos filmes de PLLA impregnados foi analisada por MEV em um microscópio eletrônico de varredura JSM-6390 LV (JEOL – Tóquio – Japão) a 15 kV.

As amostras foram fixadas no *stub* metálico com fita de carbono e revestidas com uma fina camada de ouro.

2.2.6.4.3 Microscopia de força atômica (MFA)

As possíveis alterações na rugosidade dos filmes de PLLA tratados e não tratado causados pela impregnação com CO_2 supercrítico foram investigadas por análise topográfica. As imagens foram obtidas por microscopia de força atômica (AFM, Easyscan2 Flex, Nanosurf, CH), digitalizando 512 linhas na velocidade de 1 linha s^{-1} . A rugosidade da raiz quadrada média (RMS) (R_q) e a rugosidade média (R_a) foram calculadas usando o software WSxM 5.0 Develop 9.1®.

2.2.6.4.4 Ângulo de contato

As medidas do ângulo de contato foram obtidas com o emprego do goniômetro modelo 250-F1 marca Ramé-Hart *Instrument*, USA 250 a $20\text{ }^\circ\text{C}$. As amostras foram fixadas em uma lâmina de vidro por meio de uma fita adesiva dupla

face. As lâminas foram colocadas na base do equipamento. Uma gota de água de 0,1 mL foi colocada sobre a superfície da amostra usando uma seringa. Foram realizadas 10 medidas do ângulo de contato em um intervalo de 10 s, utilizando uma câmera fotográfica de alta resolução acoplado ao computador equipado com o *software* DROPimage Standard. Os valores dos ângulos representam a média de duas repetições de três filmes de cada tratamento.

2.2.7 Análise estatística

Os dados quantitativos foram analisados pelo método ANOVA seguido pelo Teste de Tukey para avaliar a diferença significativa entre os vários tratamentos. Letras diferentes foram usadas para indicar que a diferença de médias é significativa no nível de 5%.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Testes preliminares

2.3.1.1 Influência da pressão e temperatura no processo de impregnação

O controle dos parâmetros operacionais influencia o poder solvente e as propriedades de transporte do fluido supercrítico, o que pode afetar diretamente a capacidade de solvatação do CO₂, difusividade, inchamento e efeitos de plastificação no processo de impregnação supercrítica (SOUZA *et al.*, 2014; GUO e CHEN, 2018). De acordo com a literatura, as faixas de pressão e temperatura mais estudadas no processo de impregnação supercrítica são 9 a 20 MPa e 35 a 55 °C, respectivamente (CHAMPEAU *et al.*, 2015).

Os experimentos para ajuste dos parâmetros de pressão e temperatura foram descritos na seção 2.2.4.1. Não foram encontrados dados na literatura sobre a impregnação de piperina em filmes de PLLA usando scCO₂. A carga de piperina impregnada nos filmes de PLLA (mg_{piperina}/g_{PLLA}) nas diferentes condições de processo, bem como o rendimento de impregnação estão representados na Tabela

12. O efeito da temperatura foi maior em relação à pressão. Um aumento de 10 °C resultou em um aumento de aproximadamente 90% na carga de impregnação a uma pressão de 10 MPa. A carga de impregnação da piperina variou de 15,25 para 28,54 mg g⁻¹ nos filmes de PLLA. Comparando os valores de pressão, as maiores cargas foram obtidas a 10 MPa, sendo favorecida pela temperatura mais alta de 50 °C. A alteração da pressão de 10 para 12 MPa, mantendo a temperatura constante de 40 °C não demonstrou diferença significativa na carga de piperina impregnada, o que foi comprovada na análise estatística.

Resultados semelhantes foram obtidos por Rosales *et al.* (2021) que impregnaram extrato de folha de manga em filamentos de PLA nas diferentes condições de pressão (10 e 40 MPa) e temperatura (45 e 55 °C), sendo as maiores cargas de impregnação obtidas em 10 MPa e 55 °C.

Tabela 12 – Carga de piperina impregnada em PLLA e rendimento de impregnação em diferentes condições operacionais de P e T

Densidade do CO ₂ (kg m ⁻³) ¹	Temperatura (°C)	Pressão (MPa)	Carga de piperina (mg g ⁻¹)*	Rendimento de impregnação (% peso)
629	40	10	15,25 ± 0,03 ^c	1,52 ± 0,03 ^c
718,9	40	12	17,17 ± 2,85 ^c	1,72 ± 0,28 ^c
385,2	50	10	28,54 ± 0,31 ^a	2,85 ± 0,03 ^a
586,4	50	12	22,08 ± 0,48 ^b	2,21 ± 0,04 ^b

¹(KUMORO *et al.*, 2009).

* Resultados determinados pelo método gravimétrico.

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença estatística entre os valores ($p < 0,05$).

Cada valor representa a média de 2 repetições com o desvio padrão correspondente.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Uma explicação para esses resultados pode estar relacionada à solubilidade do scCO₂ em PLLA, que aumenta em altas pressões e baixas temperaturas (MA *et al.*, 2010; KUMORO *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2006), o que poderia ter saturado a matriz polimérica com o scCO₂, reduzindo o coeficiente de difusividade (RADOVIC *et al.*, 2019), resultando em cargas de impregnação mais baixas a uma pressão de 12 MPa. Outra possível razão pode estar relacionada à redução da densidade do CO₂ com o aumento da temperatura, o que ocasionou uma

interação mais intensa entre piperina-PLLA do que CO₂-PLLA, apresentando uma maior partição para a fase polimérica ao invés da fase scCO₂, fazendo com que mais soluto se concentrasse no polímero. Kazarian e Martirosyan (2002) e Hussain e Grant (2012) encontraram resultados semelhantes para a impregnação de ibuprofeno em PMMA, quando verificaram que a interação ibuprofeno-PMMA é maior que CO₂-PMMA em baixas densidades. Em outro estudo Miranda-Villa *et al.* (2022) verificaram o efeito de três variáveis de processo (densidade de CO₂, temperatura e taxa de despressurização) no rendimento de impregnação da carvona em filmes de PLA e obtiveram maiores rendimentos de impregnação em menores densidades de scCO₂.

De acordo com as cargas impregnadas de piperina nos parâmetros operacionais estudados, foi escolhida pressão de 10 MPa e temperatura de 50 °C para dar continuidade nos experimentos de impregnação.

2.3.1.2 Espessuras dos filmes

Filmes de PLLA com diferentes espessuras (100, 150 e 200 µm) foram testados para verificar possíveis diferenças na carga de impregnação de piperina. A quantificação foi realizada pelo método gravimétrico e confirmada pela análise em UV-Vis. Nas duas análises os resultados foram semelhantes e coerentes, sendo observada maior carga de impregnação nos filmes de 200 µm. Os resultados variaram de 17,82 a 26,28 mg g⁻¹. A análise estatística não confirmou diferenças significativas ao nível de 5% nas cargas impregnadas dos filmes nas diferentes espessuras testadas, tanto para os resultados da análise gravimétrica, quanto da análise UV-Vis. Considerando-se que em altas pressões os filmes sofreram deformação, conforme verificado nos testes preliminares com pressão de 20 MPa (item 2.2.4.1.1), optou-se em utilizar os filmes com maior espessura (200 µm) para dar continuidade nos experimentos, buscando uma maior integridade estrutural dos filmes. Os resultados podem ser observados na Tabela 13.

Tabela 13 - Carga impregnada de piperina em filmes de PLLA com diferentes espessuras nas condições de processo de $P = 10 \text{ MPa}$, $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 3 \text{ h}$, $Dr = 1 \text{ MPa min}^{-1}$ e $\rho_{\text{CO}_2} = 385,2 \text{ kg m}^{-3}$

Espessura Filme (μm)	$m_{\text{PP}}/m_{\text{filme}}$ (mg g^{-1})	
	Gravimétrica	UV-Vis
100	$17,82^a \pm 3,49$	$16,42^a \pm 3,82$
150	$20,68^a \pm 2,43$	$20,85^a \pm 2,87$
200	$26,28^a \pm 4,10$	$22,86^a \pm 0,29$

Letras iguais na mesma coluna indica que não há diferença estatística entre os valores ($p < 0,05$).

Cada valor representa a média de 3 repetições com o desvio padrão correspondente.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

A espessura dos filmes pode influenciar a difusão dos compostos ativos, e filmes com espessuras mais finas apresentarão coeficientes de difusão menores. Isso ocorre devido ao baixo teor de solvente incorporado resultante do reduzido volume livre que promove a mobilidade das moléculas de solvente (VRENTAS e DUDA, 1977). Além disso, a espessura dos filmes influenciará nas propriedades mecânicas, barreira, permeabilidade ao vapor, que são parâmetros importantes na preparação de embalagens de alimentos. Uma ampla gama de valores de espessura de filmes foi relatada para filmes de biopolímeros, que dependerá da composição do filme, bem como dos parâmetros e aplicações do processo (DEBEAUFORT e VOILLEY, 2009).

2.3.2 Composição química do extrato de pimenta-do-reino

A composição do extrato de pimenta-do-reino obtida por extração com fluido supercrítico pode ser observada na Tabela 14. Os principais compostos identificados em termos de porcentagem de área relativa foram β -cariofileno e piperina. No estudo realizado por Andrade *et al.* (2017) para o extrato de pimenta-do-reino obtido por EFS em difentes condições de pressão e temperatura foram encontrados também como compostos majoritários a piperina e o β -cariofileno. Alguns compostos como o β -cariofileno e o α -Humulene exibem atividade biológica como efeito antitumoral (PARISOTTO *et al.*, 2012).

Embora a piperina não tenha sido o composto determinado em maior quantidade no extrato avaliado, optou-se em utilizá-la por ser o principal composto

do extrato de pimenta-do-reino, apresentando importantes atividades biológicas como antioxidante, antitumoral, antidepressiva, antimicrobiana, entre outros (KIM *et al.*, 2009; CHONPATHOMPIKUNLERT *et al.*, 2010; KHAJURIA *et al.*, 2018).

Tabela 14 – Composição química do extrato de pimenta-do-reino obtido por extração supercrítica

Extrato (condição de extração)	HPLC Conteúdo de piperina Área (%)	CG/EM Conteúdo de β - cariofileno Área (%)	CG/EM Abundância relativa Área (%)
ESC (scCO ₂ /20 MPa e 40 °C)	25,31	39,40	Decano (1,73) cis- α -Bisaboleno (7,93) γ -Cadineno (6,88) α -copaeno (5,15) 4-epi-cubebol (4,67) Óxido de cariofileno (4,19) α -Humuleno (2,60) Eremofileno (1,80) T-muurolol (1,48) α -Muuroleno (1,14) 1-Dodeceno (0,87) δ -cadinol (7,89)

Fonte: elaborado pela autora (2023)

2.3.3 Quantificação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA

2.3.3.1 Medida gravimétrica e espectrofotométrica

A quantificação do extrato e da piperina incorporados nos filmes de PLLA determinados pelos métodos gravimétricos e espectrofotométrico podem ser observados na Tabela 15.

Tabela 15 - Carga impregnada de piperina (PP) e extrato de pimenta-do-reino (EPR) em filmes de PLLA (P = 10 MPa, T = 50 °C, Dr = 1 MPa min⁻¹, t = 3 h)

Filmes impregnados	Carga impregnada (mg g ⁻¹) ¹	Carga PP/EPR e PP (mg g ⁻¹) ²	Razão mássica de PP/EPR (%)
Extrato de pimenta-do-reino	52,86 ^a ± 3,79	25,74 ^a ± 0,48	48,7
Piperina pura	26,28 ^b ± 4,10	22,86 ^b ± 0,29	-

¹ Resultados determinados por análise gravimétrica.

² Resultados determinados por espectrofotometria UV-Vis.

Cada valor representa a média de 3 repetições com o desvio padrão correspondente.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

A maior carga de impregnação ocorreu com o extrato de pimenta-do-reino, sendo aproximadamente 100% superior à da piperina pura nas mesmas condições de operação. Uma das razões pode estar relacionada a maior solubilidade do extrato em scCO₂, que é de 0,0025 g_{soluto}/gCO₂ (PERAKIS *et al.*, 2005), enquanto a da piperina é de 0,00008 g_{soluto}/gCO₂ (KUMORO *et al.*, 2009) em 50 °C e 10 MPa. Outra razão pode estar relacionada a composição do extrato de pimenta-do-reino com moléculas como piperina, β-cariofileno, decano que apresentam diferentes características como polaridade, tamanhos e estruturas e que podem influenciar na incorporação desses compostos na matriz polimérica. Por exemplo, moléculas de monoterpenos e sesquiterpenos, que fazem parte da composição do extrato da pimenta-do-reino, apresentam massas moleculares menores comparadas a da piperina, o que facilita a incorporação destes compostos no filme.

Cejudo-Bastante *et al.* (2017) impregnaram extrato de folha de oliveira em PET/PP e compararam com a impregnação de ácido caféico. Os melhores resultados de impregnação foram obtidos com o extrato de folha de oliveira, cerca de 95% maior em relação ao ácido caféico, nas condições de processo de 35 °C, taxa de despressurização de 100 bar min⁻¹ e 40 MPa. Os resultados estão relacionados à composição do extrato, que possui moléculas de diferentes tamanhos, polaridades e estruturas, como flavonóides secoroides e fenóis simples, o que influenciaria na solubilidade em scCO₂ e favoreceria a impregnação desses compostos na matriz polimérica.

Por outro lado, Milovanovic *et al.* (2018) estudaram a impregnação de timol e extrato de tomilho em filmes de PLA/PCL, obtendo resultados superiores para o timol puro (35,8%) em relação ao extrato de tomilho (5,08%). A ligação de hidrogênio entre os grupos carbonila dos poliésteres e os grupos hidroxila do timol faz com que o timol puro interaja fortemente com a matriz polimérica. Além disso, o processo utilizado no caso do extrato de tomilho é realizado em três ciclos com duas etapas de descompressão, o que resultou em perda de extrato de tomilho, resultando em menor carga de impregnação, além de perda parcial de voláteis (timol).

2.3.3.2 Influência do cossolvente no processo de impregnação supercrítica

A adição de etanol como cossolvente pode aumentar a solubilidade de substâncias ativas no processo de impregnação supercrítica, favorecendo uma maior interação das moléculas com a matriz polimérica. Os efeitos de intumescência e plastificação podem ser aumentados, melhorando a difusão das substâncias no polímero e favorecendo a impregnação. Alguns autores relataram a influência não apenas do cossolvente, como também da proporção cossolvente/CO₂ na afinidade dos compostos ativos e a matriz (GÁRCIA-CASAS *et al.*, 2018, 2019). Desta forma, CO₂ + etanol a 5 e 10% foram testados como fase supercrítica para melhorar a impregnação da piperina e de extrato de pimenta-do-reino. Os dados da impregnação da piperina pura e do extrato de pimenta-do-reino com adição de cossolvente em filmes de PLLA são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Carga impregnada e rendimento de impregnação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA com scCO₂ (P = 10 MPa, T = 50 °C, Dr = 1 MPa min⁻¹, t = 3 h, ρ_{CO₂} = 385,2 kg m⁻³)

Piperina			
Filmes impregnados	Carga impregnada de piperina (mg g ⁻¹) ¹	Carga impregnada de piperina (mg g ⁻¹) ²	Rendimento de impregnação (% em peso) ¹
PLLA/PP	26,28 ^c ± 4,10	22,85 ^c ± 0,35	2,62 ^c ± 0,40
PLLA/PP-5	55,93 ^a ± 3,34	33,16 ^b ± 3,82	5,61 ^a ± 0,30
PLLA/PP-10	48,02 ^b ± 4,27	39,89 ^a ± 8,12	4,80 ^b ± 0,42
Extrato de pimenta-do-reino			
Filmes impregnados	Carga impregnada de extrato (mg g ⁻¹) ¹	Carga impregnada de piperina (mg g ⁻¹) ²	Rendimento de impregnação (% em peso) ¹
PLLA/EPR	52,86 ^a ± 3,79	25,74 ^a ± 0,48	5,28 ^a ± 0,26
PLLA/EPR-5	52,36 ^a ± 0,60	22,14 ^b ± 1,19	5,26 ^a ± 0,09
PLLA/EPR-10	30,46 ^b ± 1,08	14,28 ^c ± 0,72	3,05 ^b ± 0,07

PLLA/PP: PLLA + piperina; PLLA/PP/5: PLLA + piperina + 5% de etanol; PLLA/PP/10: PLLA + piperina + 10% de etanol; PLLA/EPR: PLLA + extrato de pimenta-do-reino; PLLA/EPR/5: PLLA + extrato de pimenta-do-reino + 5% de etanol; PLLA/EPR/10: PLLA + extrato de pimenta-do-reino + 10% de etanol. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença estatística entre os valores (p < 0,05). Cada valor representa a média de 3 repetições com o desvio padrão correspondente. ¹Resultados determinados pelo método gravimétrico. ²Resultados determinados pelo método de espectrofotometria UV-Vis.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Verificou-se que ambos os resultados da impregnação de piperina (com 5% de cossolvente) e de extrato (com e sem adição de 5% de cossolvente) foram similares. Com a adição de cossolvente (5 e 10% etanol), a carga da piperina passou a ser de 55,93 e 48,02 mg g⁻¹, respectivamente. O aumento nas cargas de impregnação pode ter sido influenciado pelo aumento da solubilidade da piperina em scCO₂, além do aumento dos efeitos de inchamento e plastificação do PLLA favorecidos com a adição do etanol. Como o PLLA contém grupos éster polares em sua cadeia de poliéster, o efeito plastificante pode aumentar com a adição do etanol, já que a afinidade entre o polímero e CO₂ aumenta. Nagavekar e Singhal (2018) estudaram a influência do etanol na solubilidade da extração de piperina em scCO₂. As pressões testadas variaram de 10 a 30 MPa e os parâmetros fixos foram temperatura de 40 °C, vazão de CO₂ de 2 L min⁻¹ e tempo de extração de 60 min. Foram testadas diferentes porcentagens de etanol que variaram de 10 a 30% em pressão de 25 MPa. O resultado para o teor de piperina extraído com scCO₂ sem etanol foi de 11,07 mg g⁻¹ a 25 MPa. Já no caso em que foi adicionado 30% de cossolvente verificou-se que o teor de piperina passou a ser de 38,73 mg g⁻¹. Os resultados destes estudos confirmam que a adição de etanol favoreceu a solubilidade da piperina na mistura scCO₂ + etanol.

García-Casas *et al.* (2019) relataram resultados semelhantes ao estudar a impregnação de quercetina em grânulos de sílica usando 5 e 8% de etanol em diferentes condições de processo. Os maiores valores de carga impregnada foram de 300 µg de quercetina por grama de sílica, obtidos nas condições de processo de 10 MPa, 50 °C, 2 h e com adição de 5% de etanol. Nas mesmas condições de operação, mas sem adição de cossolvente foi observada uma impregnação de 70 µg de quercetina por grama de sílica, ocorrendo um aumento de aproximadamente 43% de quercetina com a adição de 5% de cossolvente. Neste mesmo estudo, testou-se um aumento na adição de etanol para 8% e tempo de impregnação de 1 h. Observou-se neste caso, uma redução para 240 µg de quercetina por grama de sílica, o que pode ser explicada devido à alta quantidade de quercetina perdida no processo em decorrência do curto tempo de impregnação. Em outro estudo Cejudo-Bastante *et al.* (2017) usaram etanol como cossolvente para aumentar a solubilidade

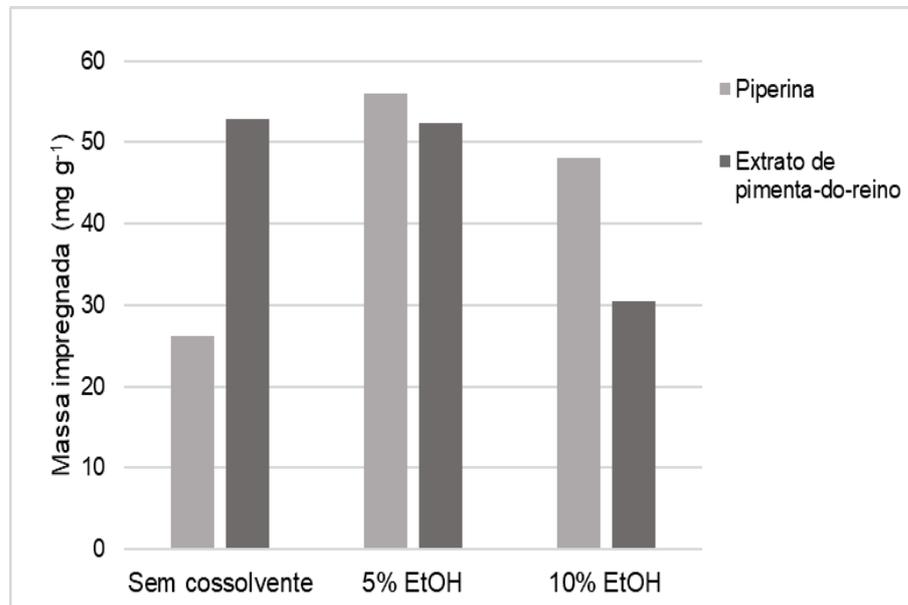
de galato de metila em filmes de PET/PP. A adição de etanol aumentou a eficiência de impregnação em todas as pressões estudadas.

No caso do extrato de pimenta-do-reino, a carga de impregnação com adição de 5% de etanol não sofreu alteração em relação à impregnação do extrato puro, já com a adição de 10% de cossolvente, a massa de extrato reduziu em aproximadamente 42,5% comparado ao extrato puro e ao extrato com 5% de cossolvente (Tabela 16). Provavelmente, com a adição de 10% de etanol, o aumento da afinidade substância ativa/CO₂ pode ter provocado maior perda de compostos com a fase scCO₂, o que reduziu a impregnação do extrato.

Quando comparados os resultados da impregnação de piperina e extrato de pimenta-do-reino com adição de cossolvente, verificou-se uma carga de impregnação da piperina com 5% de etanol levemente superior comparada aos outros tratamentos. Verificou-se que a adição de 10% de etanol favoreceu a incorporação em relação à piperina pura. Já para o extrato, a carga de impregnação foi reduzida em relação ao composto puro com a adição de 10% de etanol. A Figura 11 apresenta uma comparação dos resultados da impregnação da piperina e extratos com diferentes quantidades de cossolvente obtidos por análise gravimétrica.

Belizón *et al.* (2018) investigaram a impregnação de galato de metila puro, usada como substância modelo, e compararam com a impregnação de extrato de folhas de manga usando etanol a 1% como cossolvente para aumentar a solubilidade do extrato em scCO₂. Os melhores resultados de impregnação foram obtidos sob condições de processo de 10 MPa, 45 °C e 22 h, com carga de impregnação de ~38 e 12 mg/100 mg para o extrato de manga e galato de metila, respectivamente.

Figura 11 – Carga de piperina e extrato de pimenta-do-reino impregnada com scCO₂ em filmes de PLLA com e sem cossolvente



Fonte: elaborado pela autora (2023)

2.3.3.3 Fluorescência

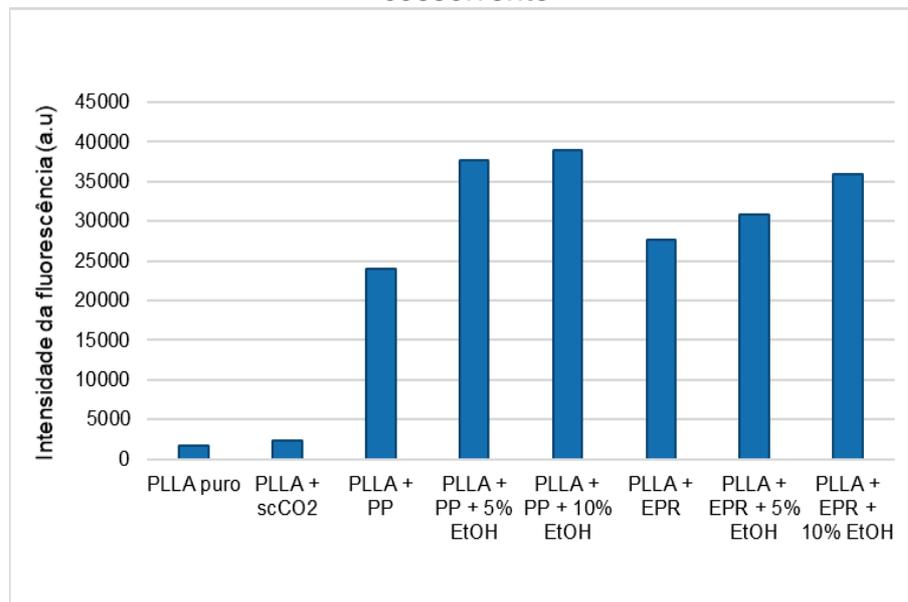
A quantificação dos compostos ativos incorporados nos filmes também foi confirmada pela análise de fluorescência. A intensidade da fluorescência é dada em unidades arbitrárias e pode ser observada na Figura 12. Além dos filmes impregnados com compostos ativos, foram analisados filmes impregnados somente com o etanol e CO₂ supercrítico para verificar a influência do cossolvente na fluorescência dos filmes.

Conforme pode ser observado na Figura 12 os filmes puros e filmes com scCO₂ sem adição de compostos ativos apresentaram baixa fluorescência, sendo aproximadamente 16 vezes menor comparado aos filmes impregnados com piperina com 5 e 10% de cossolvente, respectivamente (filmes com maior fluorescência). Desta forma, este resultado confirma a carga de piperina e extrato de pimenta-do-reino incorporados nos filmes de PLLA.

Darpenigny *et al.* (2020) obtiveram resultados semelhantes ao investigar a impregnação supercrítica de timol em estruturas de nanofibrilas de celulose. A análise de fluorescência foi realizada para investigar se o scCO₂ havia alcançado o

interior da estrutura do polímero e se o timol havia sido adsorvido no interior da estrutura de nanofibrila. Verificou-se que as estruturas puras apresentaram baixa intensidade de fluorescência, sendo 5 vezes menor que nos filmes impregnados, confirmando a carga de timol no interior do material de nanofibrila de celulose.

Figura 12 – Intensidade de fluorescência (unidade arbitrária) em filmes de PLLA puro, PLLA com scCO₂ e PLLA impregnado com agentes ativos com e sem cossolvente



PLLA + PP: PLLA + piperina; PLLA + PP + 5%EtOH: PLLA + piperina + 5% etanol; PLLA+ PP + 10% EtOH: PLLA+ piperina + 10% etanol; PLLA + EPR: PLLA + extrato de pimenta-do-reino; PLLA + EPR + 5% EtOH: PLLA + extrato de pimenta-do-reino + 5% etanol; PLLA + EPR + 10% EtOH: PLLA + extrato de pimenta-do-reino + 10% etanol.

Fonte: elaborado pela autora (2023)

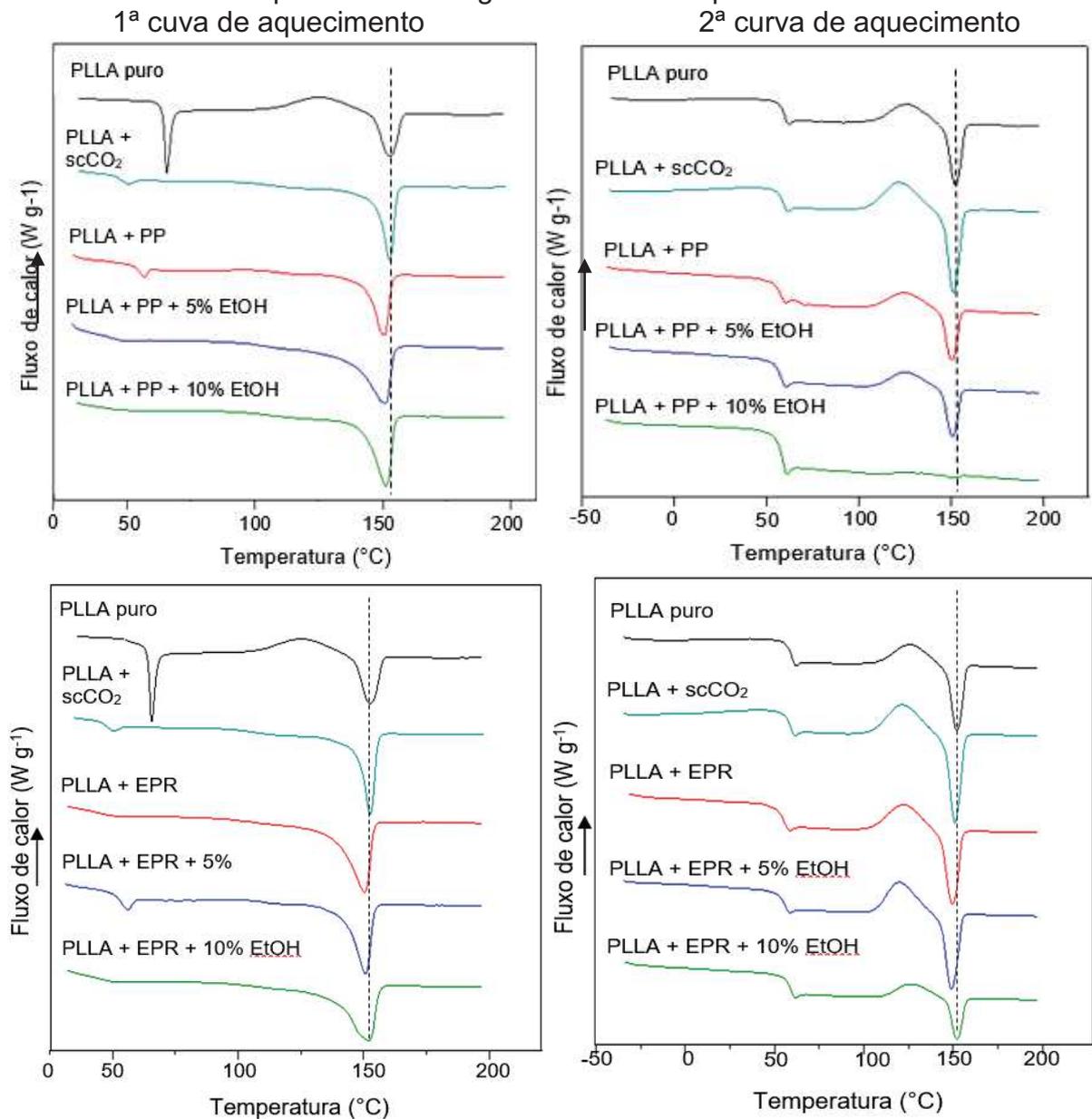
2.3.4 Propriedades estruturais

2.3.4.1 DSC

O efeito da impregnação supercrítica da piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem adição de cossolvente nas propriedades térmicas dos filmes de PLLA foi analisado por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). Conforme relatado na literatura, o PLLA apresenta temperatura de fusão de 130 °C a 180 °C e temperatura de transição vítrea entre 50 °C e 80 °C (AURAS *et al.*, 2004). Na Tabela

17 são apresentados os resultados de temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão (T_m) e porcentagem de cristalinidade (X) das amostras da primeira e segunda curva de aquecimento. As curvas de DSC também estão apresentadas na Figura 13. O grau de cristalinidade foi determinado a partir do calor de fusão e do conteúdo cristalino formado durante a cristalização a frio (CF), sendo avaliado em termos de diferença entre $\Delta H_f - \Delta H_{cf}$.

Figura 13 – Curva de DSC do PLLA puro, PLLA com scCO₂, com adição de piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente na primeira curva de aquecimento e segunda curva de aquecimento



Fonte: elaborado pela autora (2023)

Considerando-se o interesse pelos impactos causados pelo processamento com scCO₂ e a incorporação dos agentes ativos, os resultados da primeira curva de aquecimento serão discutidos com mais detalhes, já que na segunda curva de aquecimento o histórico térmico é apagado. Desta forma, na primeira curva de aquecimento é possível verificar a influência do tratamento com scCO₂ e dos compostos impregnados na matriz polimérica e na segunda curva de aquecimento é possível verificar somente a influência dos compostos impregnados na matriz polimérica.

Tabela 17 – Mudanças nas temperaturas características e cristalinidade do PLLA de diferentes tratamentos com scCO₂

Amostras	Primeira curva de aquecimento			Segunda curva de aquecimento		
	T _g (°C)	T _m (°C)	X (%)	T _g (°C)	T _m (°C)	X (%)
PLLA puro	-	152,583	2,621	59,81	152,083	0,124
PLLA + scCO ₂	47,38	152,575	29,729	58,84	151,085	0,422
PLLA/PP	-	150,589	28,277	57,05	150,111	2,472
PLLA/PP/5% EtOH	-	149,085	21,733	57,00	150,428	0,120
PLLA/PP/10% EtOH	-	151,231	36,171	57,75	150,810	0,372
PLLA/EPR	52,97	150,746	29,684	55,24	149,578	1,922
PLLA/EPR/5% EtOH	-	150,419	37,577	55,47	149,079	10,380
PLLA/EPR/10% EtOH	-	152,061	33,582	59,17	152,245	8,635

T_m: temperatura de fusão, T_g: transição vítrea e X: cristalinidade.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Ao analisar a primeira curva de aquecimento, é possível observar que a T_m do filme impregnado com scCO₂ não apresentou grande alteração em relação ao PLLA puro. No caso dos filmes impregnados com os agentes ativos e tratados com scCO₂, ocorreu um deslocamento para temperaturas de fusão mais baixas de até 3 °C aproximadamente comparado ao PLLA puro. Durante o tratamento com scCO₂ ou de resfriamento/despressurização os cristais de PLLA originais são parcialmente fundidos e novos cristais mais instáveis podem ser formados, apresentando temperatura de fusão mais baixas, além do estreitamento e formação de picos de

fusão mais nítidos, causado pela modificação do tamanho dos cristalitos, o que pode ser observado na Figura 13 e nos resultados de DRX apresentados no item 2.3.4.2.

A determinação da T_g na primeira curva de aquecimento foi possível somente para os filmes impregnados com $scCO_2$ sem adição de agentes ativos e para os filmes impregnados com extrato. A ausência da T_g pode indicar que houve mudança na microestrutura do polímero, o que não permitiu a detecção da transição vítrea na análise de DSC. Coutinho (2020) encontrou resultados semelhantes ao impregnar cetoprofeno e aspirina em filmes de PLLA com $scCO_2$, em duas diferentes condições de processo (60 °C; 9 MPa) e (80 °C; 30 MPa), não sendo possível determinar a T_g nos filmes impregnados na primeira curva de aquecimento.

O grau de cristalinidade do PLLA puro estimado na primeira curva de aquecimento foi muito baixo, sendo próximo a 2,6%, isto significa que o polímero apresenta estrutura praticamente toda amorfa, o que pode ser confirmado também no resultado de DRX apresentado na Figura 14 e pela transparência do filme. A formação da estrutura amorfa do PLLA, se deve ao processo de termocompressão realizado para obtenção do filme. Colomines *et al.* (2008) obtiveram filmes de PLA amorfos com 6% de cristalinidade, a partir da moldagem por compressão a 200 °C e 0,34 MPa por 5 min. A incorporação de $scCO_2$ proporcionou aumento do grau de cristalinidade dos filmes para 29,7%, sendo influenciada pelo efeito de plastificação do CO_2 , o que causou inchaço no polímero reorientando cristais menos compactados a formar estruturas mais planares (ESTEKI *et al.*, 2013). Ao aumentar a taxa de expansão, o grau de cristalização aumenta devido ao estiramento biaxial (NOFAR *et al.*, 2012). A incorporação de piperina (2,62%) e extrato de pimenta-do-reino (5,28%) sem cossolvente praticamente não alterou a cristalinidade em relação ao PLLA + $scCO_2$, o que indica que mesmo com a adição dos compostos ativos a modificação causada pelo $scCO_2$ se manteve. Porém, verificou-se que com a incorporação desses compostos (com e sem cossolvente) as larguras dos picos de fusão sofreram modificações, formando picos mais largos, indicando que novos cristais foram formados, com tamanhos menores e menos homogêneos em relação aos cristais formados no tratamento com $scCO_2$ puro.

Os maiores valores de cristalinidade foram de 36 e 37,5% para os filmes impregnados com 10% de cossolvente para piperina ($I = 4,8\%$) e 5% de cossolvente

para o extrato de pimenta-do-reino ($I = 5,2\%$), respectivamente. Provavelmente, a adição de etanol no processo favoreceu a nucleação e formação de novos cristais, contribuindo para o aumento da cristalinidade na matriz polimérica, o que pode ser confirmada pela opacidade dos filmes (item 3.3.1). Gondo *et al.* (2011) investigaram a cristalização induzida do PLA pelos solventes orgânicos metanol e etanol, sendo nos dois casos detectada a formação de estrutura cristalina. Em outro estudo realizado por Iñiguez-Franco *et al.* (2016) também verificou-se um aumento na cristalinidade de filmes de PLA imersos em etanol, o que foi explicado pela redução da T_g devido ao processo da cristalização induzida pelo solvente, que fez com que as cadeias apresentassem mobilidade para se reorganizarem em uma estrutura cristalina, considerada mais estável. Em muitas aplicações, o aumento da cristalização do PLLA é desejado para aumentar a estabilidade em alta temperatura (LI e HUNEAULT, 2007). O estudo deste parâmetro é importante, pois irá determinar propriedades físicas do material como o comportamento mecânico, assim como também poderá influenciar na cinética de degradação hidrolítica e enzimática (MANO *et al.*, 2005).

Ao realizar-se a segunda curva de aquecimento o histórico térmico do polímero é apagada, sendo possível verificar na Tabela 17 que os valores de T_m praticamente não sofreram alteração em relação à primeira curva de aquecimento, apresentando valores próximos ao do PLLA puro. O mesmo comportamento foi observado por Dartora (2018) ao estudar a cristalização e morfologia do PLA com adição de goma de cajueiro. A temperatura de transição vítrea foi obtida para a maioria dos tratamentos a partir do segundo ciclo de aquecimento. Observou-se em quase todos os tratamentos que a T_g sofreu uma pequena redução em relação ao PLLA puro, sendo maior para os filmes impregnados com os compostos ativos, que para o filme puro com $scCO_2$. Pesquisas sugerem que os aditivos podem ser mais eficazes que o CO_2 para dilatar o polímero e diminuir a T_g (TORRES *et al.*, 2017). O aumento da T_g para o extrato com 10% de cossolvente pode estar relacionado a uma menor carga de impregnação do composto ativo. Sabe-se que a incorporação de compostos ativos e dissolução do CO_2 no polímero podem atuar com um efeito plastificante, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas, o que ocasionará redução na T_g . Torres *et al.* (2017) relataram resultados semelhantes ao impregnar

timol com scCO₂ em filmes de PLLA, verificando redução da T_g nos filmes impregnados.

Outra consideração importante é que não foram observados picos de fusão endotérmicos referentes aos compostos impregnados nos filmes, indicando que os componentes não foram incorporados na forma cristalina, e sim dispersos molecularmente. Isto, poderá influenciar no processo de liberação dos compostos, pois caso estejam na forma cristalina, o meio de liberação precisa difundir para a matriz polimérica, solubilizar o composto, para que ele possa ser liberado. Caso o composto esteja na fase amorfa, não é necessária a etapa de solubilização, o que irá facilitar a liberação (COUTINHO, 2020).

2.3.4.2 Difração de raio x (DRX)

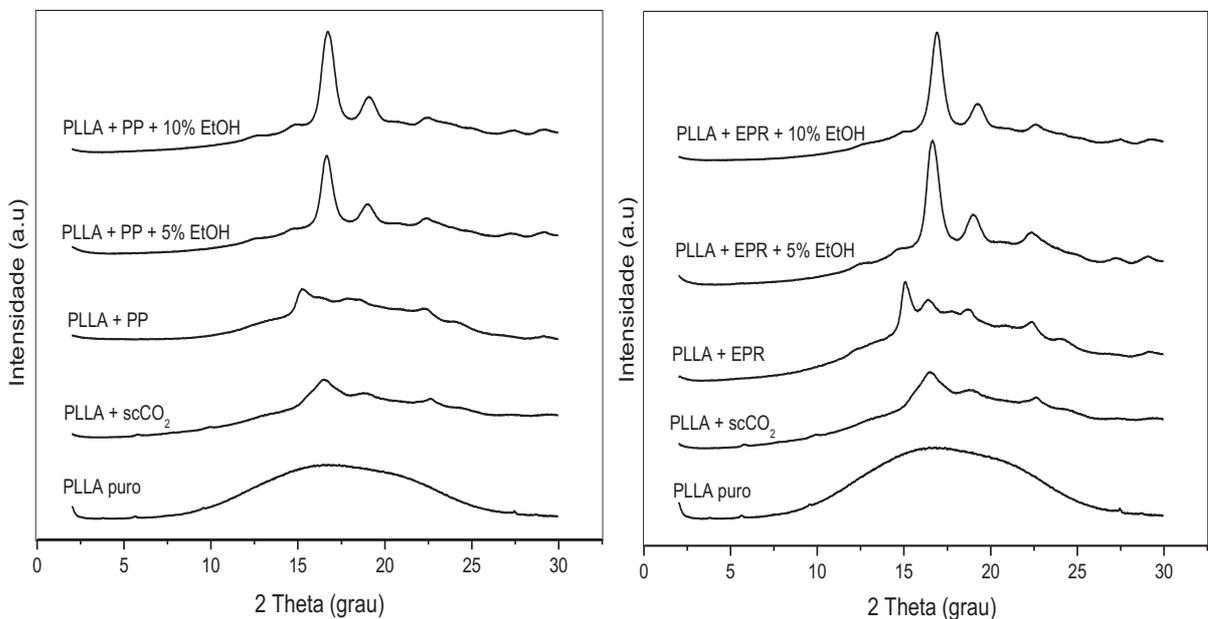
A difração de raio x é considerada uma das técnicas mais precisas e representativas para investigar a estrutura cristalina dos materiais. As análises de DRX permitiram avaliar o efeito da incorporação da piperina e extrato de pimenta-do-reino, bem como do CO₂ supercrítico na matriz polimérica. Os difratogramas das amostras podem ser observados na Figura 14. O filme de PLLA puro apresentou o halo amorfo, indicando baixa cristalinidade, o que pode ser confirmado pelo resultado de DSC. Como já citado anteriormente, o processo de termocompressão usado na elaboração dos filmes de PLLA, influenciou na formação de filmes de PLLA amorfos. Na amostra de PLLA + scCO₂ verificou-se a formação de picos cristalinos em 16,54, 18,7 e 22,5°, confirmando a influência do solvente CO₂, no aumento da cristalinidade do polímero. Nos filmes de PLLA + PP e PLLA + EPR sem cossolvente verificou-se a formação dos mesmos picos do filme de PLLA + scCO₂ e a formação de novos picos em 15,15° (PLLA + PP e PLLA + EPR) e 21,14° (PLLA + EPR), que correspondem a incorporação da piperina pura e piperina presente no extrato incorporados no PLLA. Os mesmos picos de piperina foram encontrados por Sarjidan *et al.*, (2021) ao realizar análise de DRX em filme de poli[2-metoxi-5-(2-etilhexiloxi)-1,4-fenilenovinileno] (MEH-PPV) impregnado com piperina.

Nas amostras de PLLA + PP e PLLA + EPR com cossolvente, picos cristalinos apareceram nos difratogramas das amostras, sendo de 14,8, 16,54, 19,1

e $22,5^\circ$. Esses picos são característicos da formação de cristais de PLLA na forma α , confirmando o resultado obtido por Iñiguez-Franco *et al.* (2016) que encontraram os picos de difração $14,8^\circ$, $16,8^\circ$, $19,1^\circ$ e $22,4^\circ$ ao investigar a cristalinidade de filmes de PLLA imersos em etanol. Em outro estudo, Sato *et al.* (2012), também encontraram resultados semelhantes ao investigarem a cristalinidade de filmes de PLA imersos em solventes orgânicos. Picos de $15,15^\circ$ e $21,79^\circ$ também foram encontrados nas amostras, correspondendo a impregnação da piperina pura e piperina presente na composição do extrato (SARJIDAN *et al.*, 2021). Verificou-se na amostra de PLLA + EPR + 10% EtOH em $2\theta = 16,8^\circ$ que a intensidade do pico diminuiu em relação ao PLLA + EPR + 5% EtOH, indicando menor cristalinidade da amostra, provavelmente devido à menor carga de impregnação do extrato.

A comparação entre os difratogramas confirmam que a piperina e o extrato de pimenta-do-reino foram dispersos nos filmes em estado cristalino, o que concorda com os valores de cristalinidade obtidos na análise de DSC (Tabela 17).

Figura 14 – Gráficos de difração de raio x (DRX) do PLLA puro, PLLA com $scCO_2$ e em diferentes tratamentos com $scCO_2$



Fonte: elaborado pela autora (2023)

2.3.5 Propriedades funcionais

2.3.5.1 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes são características importantes na produção de embalagens de alimentos, pois permitem prever o comportamento do material em diferentes condições de processamento, transporte, manuseio e armazenamento. O PLLA é um biopolímero que pode ser utilizado em embalagens de alimentos, porém características como fragilidade precisam ser melhoradas. Uma das razões da fragilidade do PLLA pode estar relacionada à temperatura de transição vítrea ser de 60 °C, assim, as cadeias poliméricas são rígidas e inflexíveis próximo da temperatura ambiente. Outro fator está relacionado a baixa densidade de nucleação, ou seja, taxas de cristalização lentas, levando a formação de grandes esferulitos (agregados cristalinos) na matriz polimérica. Estas razões afetam negativamente as propriedades mecânicas do material (EL-HADI, 2017).

Os efeitos da impregnação supercrítica de compostos ativos em filmes de PLLA em relação às propriedades de resistência à ruptura, alongação na ruptura e módulo de Young foram avaliadas para PLLA puro, PLLA + piperina, PLLA + extrato com e sem cossolvente e estão descritos na Tabela 18, bem como a espessura dos filmes correspondentes. A avaliação da resistência à ruptura mostrou que nos filmes impregnados com piperina e extrato sem cossolvente não houve mudança significativa em relação ao PLLA puro. Verificou-se, porém, que com a adição de cossolvente a resistência foi reduzida em 53 e 55% para os tratamentos com piperina + 5 e 10% de cossolvente, respectivamente, comparado ao PLLA puro. Nos tratamentos com extrato, a redução foi de 56,5 e 53% com adição de 5 e 10% de cossolvente comparado ao PLLA puro. A redução nas propriedades de tensão pode estar relacionada a maior mobilidade da cadeia polimérica e o efeito plastificante provocado pelo etanol como cossolvente (IÑIGUEZ-FRANCO *et al.*, 2016). Além disso, o aumento da cristalinidade dos filmes pode ter comprometido a tenacidade do produto. As propriedades de tensão são importantes, pois indicam a capacidade de manter a integridade dos filmes sob o estresse que ocorre durante o processamento, manuseio e armazenamento de materiais embalados (RHIM, 2004).

Dessa forma, a redução nas propriedades de tração dos filmes pode indicar uma redução na resistência do filme, o que não é desejável para a embalagem.

Em todos os tratamentos o módulo de Young foi reduzido em comparação ao PLLA puro, sendo nos filmes com adição de cossolvente verificada uma redução mais expressiva. Nos filmes com piperina a redução foi de 53 e 49% e para os filmes com extrato a redução foi de 50,7 e 65,2% para 5 e 10% de cossolvente, respectivamente. Esses resultados são acompanhados da redução da T_g , como esperado (com exceção do tratamento com extrato e 10% de cossolvente), estando associados ao efeito plastificante do $scCO_2$, do cossolvente e dos compostos ativos que provocou menor rigidez dos filmes tratados, e portanto, a formação de filmes mais flexíveis. Verificou-se também, que nos filmes com menor cristalinidade, o módulo de Young foi maior. Considera-se que quanto maior o módulo de Young, maior a resistência à deformação plástica. Resultados semelhantes foram obtidos por Villegas *et al.* (2019), que obtiveram uma redução no módulo de Young de 86% ao impregnar timol em filmes de PLA com $scCO_2$ e de 77% ao impregnar timol em filmes de PLA e nanoargila.

A alongação na ruptura está relacionada em como o material poderá se deformar até a ruptura. Verificou-se que os maiores valores estão relacionados aos tratamentos com adição de cossolvente, provavelmente devido ao cossolvente e às maiores cargas de composto impregnado. As amostras de PLLA tratadas com piperina e extrato sem a adição de cossolvente apresentaram um aumento na alongação na ruptura passando de 4,12% no filme de PLLA puro para 4,8 e 5,5 % nos filmes impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino, respectivamente. Nos filmes impregnados com adição de 5% cossolvente o aumento na alongação variou de 4,12% no filme de PLLA puro para 9,83 e 7% nos filmes impregnados com piperina e extrato respectivamente. Com a adição de 10% de etanol a variação foi de 4,12% para 12,31 e 10,31% para piperina e extrato, respectivamente. Os resultados indicaram que a presença de $scCO_2$, do cossolvente e dos compostos ativos atuaram aumentando a capacidade de deformação dos filmes. Como já citado, esse efeito está relacionado a ação plastificante do $scCO_2$, do cossolvente e dos compostos ativos que irão interagir com a matriz dando mais mobilidade ao polímero.

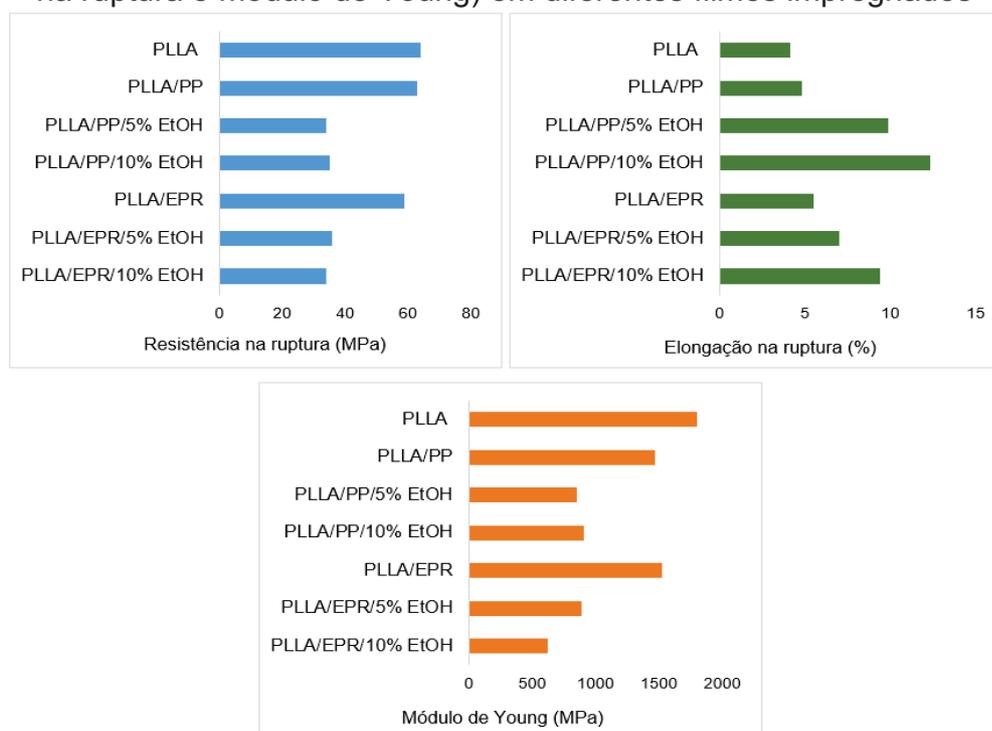
Tabela 18 – Propriedades mecânicas dos filmes de PLLA puro, impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente

Amostra	Espessura do filme (μm)	Resistência a ruptura (MPa)	Elongação na ruptura (%)	Módulo de Young (MPa)
PLLA puro	$186 \pm 0,002$	$64,30^a \pm 3,1$	$4,12^{c,d} \pm 0,5$	$1802,25^a \pm 243$
PLLA/PP	$217 \pm 0,005$	$65,57^a \pm 12,5$	$4,80^{c,d} \pm 1,3$	$1465,2^b \pm 64,0$
PLLA/PP/5% EtOH	$234 \pm 0,004$	$34,13^b \pm 1,2$	$9,83^b \pm 2,8$	$849^c \pm 34,4$
PLLA/PP/10% EtOH	$256 \pm 0,006$	$35,58^b \pm 2,8$	$12,31^a \pm 4,0$	$912,24^c \pm 154$
PLLA/EPR	$224 \pm 0,009$	$59,08^a \pm 10,7$	$5,50^c \pm 1,2$	$1522^b \pm 49,1$
PLLA/EPR/5% EtOH	$242 \pm 0,006$	$36,41^b \pm 0,5$	$7,00^c \pm 2,2$	$888,3^c \pm 87,5$
PLLA/EPR/10% EtOH	$224 \pm 0,034$	$34,15^b \pm 1,0$	$10,31^b \pm 1,8$	$626,56^c \pm 153$

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Para melhor observação dos resultados, a Figura 15 apresenta as variações das propriedades mecânicas em relação à resistência à ruptura, alongação na ruptura e módulo de Young.

Figura 15 – Variação das propriedades mecânicas (resistência na ruptura, alongação na ruptura e módulo de Young) em diferentes filmes impregnados



Fonte: elaborado pela autora (2023)

2.3.5.2 Propriedades de barreira

2.3.5.2.1 Grau de intumescimento

O conhecimento sobre a interação dos filmes com a água é um fator importante para filmes que serão usados em embalagens de alimentos, já que esta interação pode provocar alterações na vida útil e qualidade dos alimentos. As propriedades hidrofílicas/hidrofóbicas da superfície dos filmes impregnados foram estudadas por meio de análise de ângulo de contato (item 2.3.6.4) e grau de intumescimento.

O grau de intumescimento dos filmes está relacionado à sua solubilidade e interação com água. A capacidade de água absorvida pelos filmes impregnados foi verificada por medidas de grau de intumescimento (GI). Os resultados alteraram entre 0 e 0,73% nos diferentes tratamentos, conforme Tabela 19, porém não foram verificadas diferenças significativas ($p > 0,05$) comparados ao filme de PLLA puro. Filmes de PLLA apresentam baixa solubilidade em água (GURLER *et al.*, 2020; FABA *et al.*, 2022). A solubilidade dos filmes processados com scCO₂ apresentam valores de absorção de água equivalentes ao filme controle que foi de 0,66% e convencionais que variaram de 0,54 e 0,60% (BIERHALZ *et al.*, 2013).

A solubilidade em água dos filmes impregnados foi maior para os filmes com maior carga impregnada. Os resultados estão de acordo com as micrografias de MEV (item 2.3.6.2) e rugosidade (2.3.6.3), onde verificou-se alteração na estrutura com aumento na rugosidade. Os valores de GI (%) foram menores que 1% e apresentaram leve alteração comparados ao filme puro. Estes resultados sugerem que todos os filmes analisados apresentaram insolubilidade em água.

Tabela 19 – Grau de intumescimento de filme de PLLA puro e impregnado com piperina e extrato de pimenta-do-reino

Filmes impregnados	Grau de Intumescimento (%)
PLLA puro	0,38 ^a ± 0,03
PLLA/PP	0 ^a
PLLA/PP/5% EtOH	0,71 ^a ± 0,17
PLLA/PP/10% EtOH	0,67 ^a ± 0,27
PLLA/EPR	0,56 ^a ± 0,28
PLLA/EPR/5% EtOH	0,73 ^a ± 0,21
PLLA/EPR/10% EtOH	0,62 ^a ± 0,22

¹Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre os valores pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: elaborado pela autora (2023).

2.3.6 Propriedades de superfície

2.3.6.1 Análises de FTIR

A eficiência de impregnação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA, bem como possíveis interações entre os agentes ativos e a matriz polimérica foram comprovadas por meio de espectroscopia FTIR. Os espectros do PLLA puro e dos filmes de PLLA impregnados com piperina com e sem cossolvente (5 e 10% etanol) estão representados na Figura 16. Os espectros de PLLA puro e filmes de PLLA impregnados com extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente (5 e 10% etanol) estão representados na Figura 17. Observou-se que os espectros de PLLA com tratamento apresentaram bandas de absorção características tanto para piperina quanto para PLLA. Considerando que a piperina está presente na composição do extrato, algumas bandas presentes nas amostras de extrato são as mesmas das amostras impregnadas com piperina.

A impregnação de agentes ativos na matriz é um processo que pode envolver interação química, por exemplo, por meio de ligações de hidrogênio, devido às interações entre o composto ativo e a matriz polimérica. Desta forma, pode ocorrer deslocamento, alargamento ou desaparecimento de frequências específicas

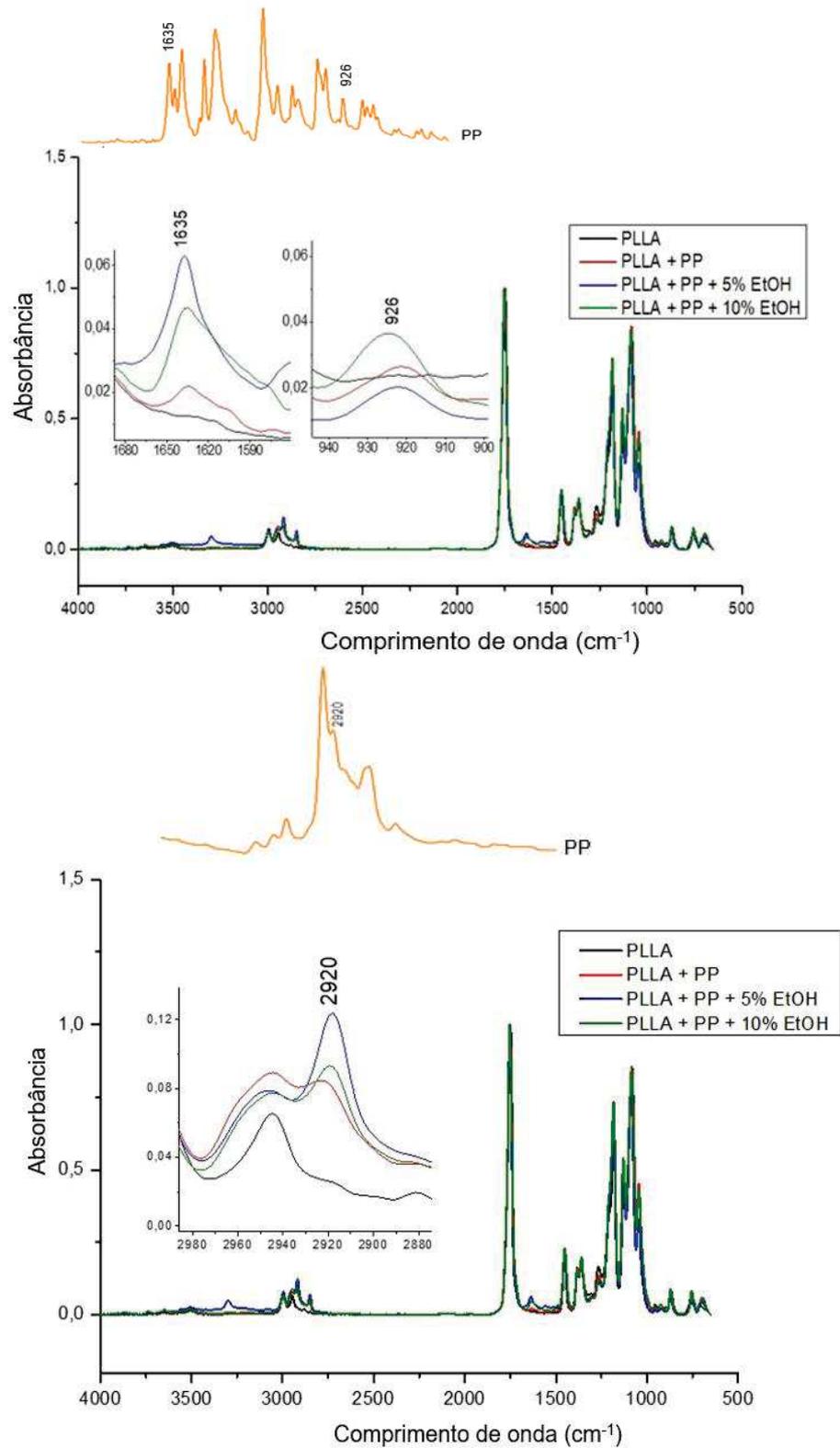
na região do infravermelho (QUILAQUEO *et al.*, 2019). A piperina, é o principal composto presente no extrato da pimenta-do-reino, desta forma, a análise de FTIR foi feita para o composto puro, o qual foi usado como referência para comparação das bandas formadas nos filmes de PLLA impregnados com piperina pura e extrato da pimenta-do-reino.

A impregnação da piperina foi confirmada nos filmes de PLLA pela presença das bandas com banda a 926 cm^{-1} que pode ser atribuída ao estiramento do grupo C–O, uma banda a 1635 cm^{-1} que pode ser atribuída a vibração de estiramento das duplas ligações (-C=C-) e a amida terciária (C=O) presente na estrutura da piperina. As Figuras 16 e 17 apresentam os espectros dos filmes impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino. Nos filmes impregnados com piperina pura verificou-se a presença de uma banda em 2920 cm^{-1} . Esta mesma banda aparece nos filmes impregnados com extrato com um deslocamento para uma frequência mais baixa, ou seja, de 2917 cm^{-1} . Esta banda pode ser atribuída a vibração de estiramento alifático assimétrico C-H presente nos compostos impregnados. Bandas semelhantes de piperina impregnada em poli[2-metóxi,5-(2'-etil-hexiloxi)-p-fenilenovinileno] (MEH-PPV) foram encontrados por Sarjidan *et al.* (2021) em 902 , 1623 e 2946 cm^{-1} . Asasutjarit *et al.* (2020) encontraram bandas de piperina em 1633 e 2940 cm^{-1} em filmes impregnados com uma mistura de ervas rica em piperina.

A adição de cossolvente não alterou a estrutura química do PLLA, o que pode ser comprovado pela existência das mesmas bandas nos filmes com piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente. Estes resultados confirmam a pesquisa realizada por Sato *et al.* (2012) ao verificar que não houve diferença na posição das bandas de filmes de PLA imersos e não imersos em etanol e outros solventes orgânicos.

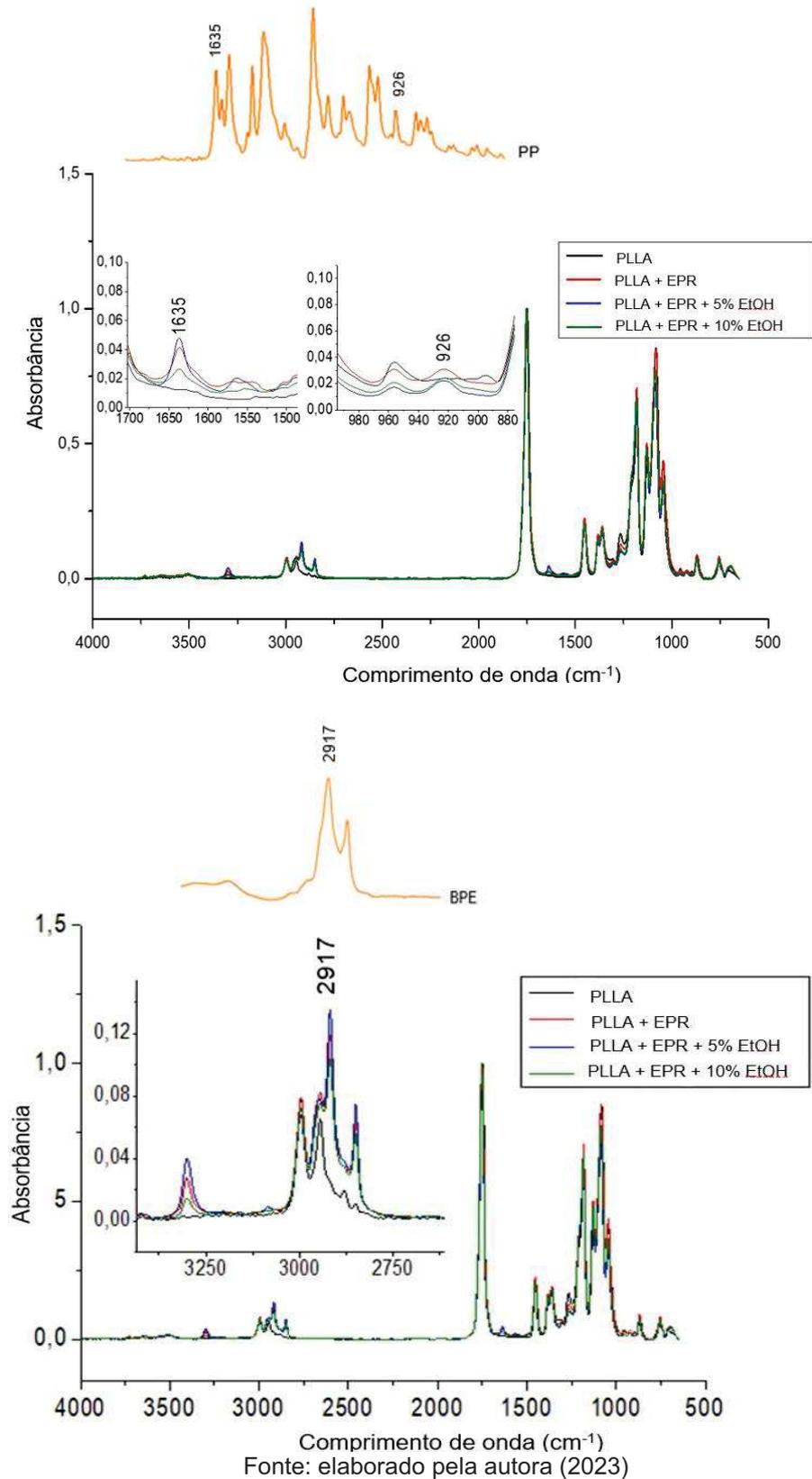
Foram observadas bandas de baixa intensidade em $\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ nas amostras dos filmes impregnados, sugerindo quantidades reduzidas de umidade. Conforme relatado em (PERAKIS *et al.*, 2016) a molécula de água exhibe modos vibracionais ativos em $\sim 3300\text{ cm}^{-1}$, correlacionados ao alongamento simétrico e assimétrico de sua ligação ao OH.

Figura 16 – Bandas da piperina em filmes de PLLA impregnados com piperina com e sem cossolvente



Fonte: elaborado pela autora (2023)

Figura 17 – Bandas da piperina em filmes de PLLA impregnados com extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente



Fonte: elaborado pela autora (2023)

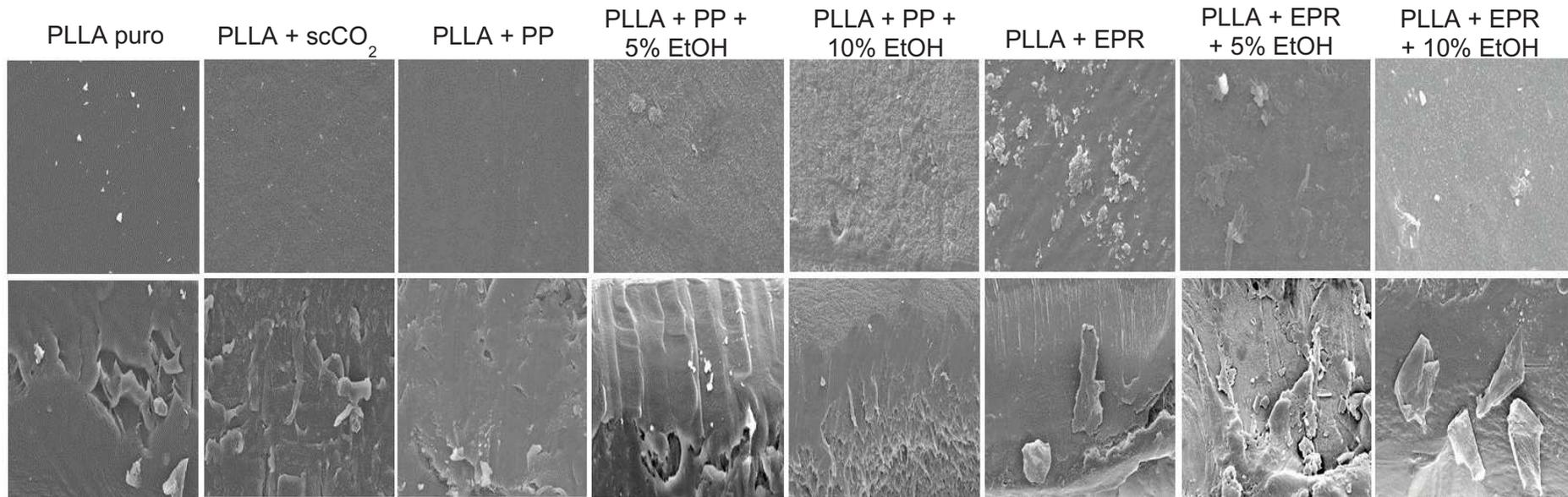
2.3.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias da superfície e da seção transversal dos filmes de PLLA puro, PLLA tratado com scCO₂ e impregnado com piperina ou extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente (5 e 10% etanol) estão apresentadas na Figura 18. Observou-se pela análise de MEV e a olho nu que o processo de impregnação supercrítica não danificou a estrutura do polímero. O filme de PLLA puro (Fig. 18 a) apresentou superfície lisa com partículas brancas na superfície. Estas partículas provavelmente tenham se originado de um aditivo comercial, silicato de magnésio hidratado Mg₃SiO₄0₁₀(OH)₂ (talco) adicionado ao PLLA para a produção do filamento. Este talco frequentemente é utilizado como corante e enchimento, usado também na indústria de alimentos (aditivo alimentar número E553b) (Regulamento UE n° 1363, 2013) para melhorar as propriedades de flexão e tração dos filamentos (MUSIOL *et al.*, 2018; MAK *et al.*, 2021; HUDA *et al.*, 2005). O tratamento com scCO₂ (Fig. 18 b) mostra alteração na estrutura dos filmes, deixando-a mais rugosa, opaca, com partículas menores e dispersas, sugerindo maior alteração, como descrita anteriormente, causada pelo efeito plastificante do CO₂ supercrítico no filme, o que pode ser observado nas micrografias do filme.

Na micrografia do filme impregnado com piperina (Fig. 18 c) é possível verificar a formação de cristais com formatos diferentes, mais claros e menos homogêneos. Uma estrutura menos irregular e mais densa foi formada, confirmando o resultado da análise de rugosidade decrita no item 2.3.6.3. As alterações da estrutura do PLLA impregnado com piperina foram ainda mais evidentes com a adição do cossolvente (Fig. 18 d e 18 e), onde foram observadas estruturas irregulares com aumento da rugosidade, sobretudo no tratamento com 10% de cossolvente. No filme com 5% de cossolvente é possível visualizar uma quantidade maior de piperina depositada na superfície do PLLA, provavelmente devido à maior carga de impregnação. Com a incorporação do extrato de pimenta-do-reino (Fig. 18 d), uma estrutura heterogênea e mais lisa foi formada, na qual gotículas de extrato foram aprisionadas na matriz polimérica. A adição do cossolvente nos filmes com extrato (Fig. 18 g e h), assim como nos filmes com piperina provocou maior alteração da estrutura em relação aos filmes sem cossolvente, com aumento da rugosidade,

sendo maior no filme com adição de 5% de cossolvente. Provavelmente, devido a maior carga de extrato impregnado (5% de cossolvente), e incorporação do CO₂ supercrítico, o que fez aumentar o volume interno. Nos filmes com 10% de cossolvente verificou-se a formação de poros e trincas na superfície, que podem ter sido provocados pelo inchaço do PLLA com o extrato e o cossolvente. Resultados semelhantes foram obtidos por Grosso *et al.*, (2022), ao impregnar extrato de folha de manga em filamentos e discos de PLA com CO₂ supercrítico.

Figura 18 – Imagens MEV da superfície (superior) (2000 X) e corte transversal (inferior) (1000 X) (a) PLLA puro, (b) PLLA + scCO₂, (c) PLLA + scCO₂ + PP, (d) PLLA + PP + 5% EtOH, (e) PLLA + PP + 10% EtOH, (f) PLLA + EPR, (g) PLLA + EPR + 5% EtOH, (h) PLLA + EPR + 10% EtOH



Fonte: elaborado pela autora (2023).

2.3.6.3 Rugosidade dos filmes

A microscopia de força atômica (MFA) foi usada para investigar a rugosidade superficial de filmes de PLLA com piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente, após a impregnação supercrítica. A rugosidade é o conjunto de irregularidades, representado por pequenas saliências (picos) e reentrâncias (vales) presentes na superfície dos filmes (SILVA, 2009). A técnica de MFA pode fornecer informações importantes sobre alterações na morfologia dos filmes, que podem afetar a liberação dos compostos ativos em embalagens de alimentos (KIKKAWA *et al.*, 2004), a aparência, resistência mecânica, entre outros. As imagens topográficas (2D e 3D), rugosidade média quadrática (R_q) e a rugosidade média (R_a) dos filmes tratados com CO_2 supercrítico estão apresentadas na Figura 19.

O tratamento supercrítico alterou a superfície dos filmes de PLLA impregnados. O filme de PLLA puro ($X = 2,621\%$) apresentou superfície predominantemente lisa com alguns poros, quebra e micro-saliências, com valores de R_a e R_q de 11,581 e 20,126 nm, respectivamente. A diferença na rugosidade pode ser atribuída às regiões cristalinas e amorfas do PLA (PANDELE *et al.*, 2020). Sun *et al.*, (2020) observou micrografias do PLLA puro semelhantes aos encontrados neste estudo. Após o tratamento com CO_2 supercrítico ($X = 34,576\%$) a superfície do PLLA se tornou mais rugosa com aumento do R_a e R_q para 59,2 e 86,5 nm, respectivamente. Possivelmente, devido ao rearranjo da estrutura do PLLA causado pela incorporação de CO_2 supercrítico e ao aumento da cristalinidade das amostras, conforme citado na Tabela 17, o que pode estar intimamente ligado à rugosidade dos filmes (TVERDOKHLEBOV *et al.*, 2015). No processo de cristalização pode ocorrer nucleação e crescimento dos esferulitos, característica típica dos polímeros como PLLA (XIAO *et al.*, 2010).

No filme de PLLA + PP ($X = 29,029\%$) a rugosidade foi moderada, sendo R_a de 24,701 nm e R_q de 33,664 nm, sendo menor comparada ao filme de PLLA + scCO_2 e maior comparada ao PLLA puro. A redução na rugosidade pode estar relacionada à formação de agregados de piperina na superfície do filme de PLLA. Resultado semelhante foi observado por Pandele *et al.* (2020) ao verificar redução na rugosidade ao incorporar hapatita (4%) em filmes de PLA. Nos filmes de PLLA +

PP + cossolvente observou-se maior rugosidade comparado aos filmes sem cossolvente, resultando em uma estrutura mais heterogênea, o que pode ser observado também nas imagens obtidas por MEV. Os filmes de PLLA + PP + 5% EtOH ($X = 38,691\%$) apresentaram cavidade na superfície e R_a e R_q de 54,8852 e 72,147 nm, respectivamente. Já nos filmes de PLLA + PP + 10% EtOH ($X = 44,681\%$) a rugosidade foi maior comparado aos filmes com adição de 5% de EtOH, sendo R_a de 68 nm e R_q de 91 nm, respectivamente. Shi *et al.*, (2014) investigaram diferenças na rugosidade de filmes de óxido de estanho com flúor com adição de diferentes tipos de álcoois, sendo observada maior rugosidade e superfície áspera na amostra com adição de etanol.

Nos filmes impregnados com extrato de pimenta-do-reino a rugosidade foi homogênea, apresentando picos regulares, com valores de R_a 48,599 nm e R_q de 63,731 nm (PLLA + EPR). Resultados semelhantes foram encontrados por Jamshidian *et al.*, (2012) que verificaram por meio de análise MFA, altos valores de rugosidade e uma alteração drástica na superfície de filmes de PLA impregnados com antioxidantes como a ascorbila e o α -tocoferol. Em outro estudo, Hosseini *et al.* (2022) ao analisar PLA com cinamaldeído por MFA também encontraram aumento na rugosidade com a incorporação do composto ativo e superfície irregular. Nos filmes de PLLA + EPR + cossolvente observou-se também como citado anteriormente, aumento na rugosidade, sendo R_a 131,6 nm e R_q de 169,1 nm (PLLA + EPR + 5% de cossolvente) e R_a 53,455 e R_q de 71,583 nm (PLLA + EPR + 10% cossolvente). Nestes filmes observou-se a formação de picos de rugosidade e protuberâncias acumuladas, sendo mais visíveis no filme de PLLA + EPR + 5% cossolvente. Os altos valores de rugosidade obtidos nos filmes com adição de cossolvente tanto para piperina quanto para o extrato, influenciaram os altos valores de opacidade apresentados na seção 3.3.1.

Figura 19 – Micrografias de força atômica (2D e 3D) de filmes de PLLA puro, PLLA + CO₂, PLLA + PP, PLLA + PP + 5% EtOH, PLLA + 10% EtOH, PLLA + EPR, PLLA + EPR + 5% EtOH e PLLA + EPR + 10% EtOH



Fonte: elaborado pela autora (2023)

2.3.6.4 Ângulo de contato

O ângulo de contato θ foi medido pela deposição de uma gota de água na superfície dos filmes. O ângulo de contato fornece informações sobre a molhabilidade e polaridade do polímero, importante característica no desenvolvimento de embalagens ativas de alimentos. Segundo Vogler (1998), superfícies hidrofóbicas apresentam ângulo de contato com a água $> 65^\circ$ e superfícies hidrofílicas $< 65^\circ$.

Os valores do ângulo de contato dos filmes estão apresentados na Tabela 20. Os resultados indicaram que a presença dos compostos ativos nos filmes provocou um pequeno aumento do ângulo de contato dos filmes comparados ao filme de PLLA puro, porém nenhuma diferença estatística foi observada entre os valores. Estes resultados são esperados devido ao caráter hidrofóbico do PLLA, piperina e do extrato de pimenta-do-reino (MIKOS *et al.*, 1993; ARGENTATI *et al.*, 2018; CHONG *et al.*, 2020) e são semelhantes aos valores do ângulo de contato encontrados no estudo de Hwang *et al.* (2012) ao incorporar α -tocopherol and resveratrol em filmes de PLLA. Além disto, superfícies rugosas podem levar a melhoria no comportamento hidrofóbico da superfície (ZHANG *et al.*, 2014), o que foi comprovado no filme de PLLA + EPR + 5% EtOH, o qual apresentou a maior rugosidade entre os filmes e ângulo de contato de 82° , o que indica hidrofobicidade.

Tabela 20 – Ângulo de contato de filme de PLLA puro e impregnado com piperina e extrato de pimenta-do-reino

Filmes impregnados	Ângulo de contato ($^\circ$) ¹
PLLA puro	69,78 ^a \pm 3,40
PLLA/PP	75,97 ^a \pm 3,70
PLLA/PP/5% EtOH	83,72 ^a \pm 3,40
PLLA/PP/10% EtOH	76,97 ^a \pm 3,90
PLLA/EPR	73,32 ^a \pm 3,80
PLLA/EPR/5% EtOH	82,01 ^a \pm 3,40
PLLA/EPR/10% EtOH	76,23 ^a \pm 4,40

¹Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre os valores ($p < 0,05$).

Fonte: elaborado pela autora (2023).

2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A impregnação de agentes ativos naturais como piperina e extrato de pimenta-do-reino em PLLA com CO₂ supercrítico foi realizada pela primeira vez para aplicação em embalagens ativas de alimentos. Os testes preliminares indicaram que as maiores cargas de piperina foram obtidas a 10 MPa, 50 °C, 10 bar min⁻¹ após 3 h de impregnação. Nos filmes impregnados sem cossolvente, a carga de extrato de pimenta-do-reino (~53 mg_{EPR}/g_{PLLA}) foi superior comparada ao filme com piperina (~26 mg_{PP}/g_{PLLA}). A adição de cossolvente favoreceu o aumento da carga de piperina. Nos filmes com adição de 5% de etanol a carga foi de ~56 mg_{PP}/g_{PLLA} e com a adição de 10% de etanol foi de 48 mg_{PP}/g_{PLLA}. A impregnação dos compostos foi confirmada pelas análises de FTIR.

Foi observado aumento na cristalinidade dos filmes, influenciado pelo efeito de plastificação do CO₂. Os filmes impregnados se tornaram mais flexíveis, com maior capacidade de deformação e a adição de cossolvente reduziu a resistência a ruptura. O tratamento com CO₂ supercrítico provocou alteração na morfologia, com aumento da rugosidade dos filmes, porém sem danificar a estrutura do polímero, sendo mais significativos nos filmes com cossolvente. O ângulo de contato dos filmes ativos com a água foi medido, sendo para todos os tratamentos > 65°, o que indica que os filmes são hidrofóbicos. A incorporação dos compostos ativos não provocou alterações significativas no ângulo de contato dos filmes comparados ao PLLA puro, considerando a análise estatística. Os resultados da análise de intumescimento sugerem que todos os filmes analisados apresentaram insolubilidade em água. Os resultados obtidos neste estudo são promissores na utilização de biopolímeros e agentes ativos naturais, confirmando a eficácia da tecnologia supercrítica para a produção de embalagens de alimentos.

CAPÍTULO 3

IMPREGNAÇÃO SUPERCRÍTICA DE PIPERINA E EXTRATO DE PIMENTA-DO-REINO EM PLLA: EFEITOS NAS PROPRIEDADES ÓPTICAS, ANTIOXIDANTES E DE MIGRAÇÃO DOS COMPOSTOS ATIVOS

O capítulo 3 inclui a caracterização dos filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino, obtidos conforme descrito no capítulo 2, quanto às propriedades ópticas, capacidade antioxidante e migração dos compostos ativos para os meios simulantes de alimentos.

Os resultados apresentados neste capítulo serão submetidos à publicação em revista com alto fator de impacto.

RESUMO

Piperina pura (PP) e extrato de pimenta-do-reino (EPR) foram incorporados com e sem adição de cossolvente em filmes de poli(L-ácido láctico) (PLLA) usando CO₂ supercrítico para elaboração de embalagens ativas para alimentos. Os filmes foram caracterizados quanto às propriedades ópticas, capacidade antioxidante e migração dos compostos ativos para meios simulantes. A incorporação de extrato de pimenta-do-reino alterou significativamente todos os parâmetros de cor analisados (L^* , a^* , b^* e ΔE^*). Os maiores valores foram determinados para os parâmetros b^* e ΔE^* , o que foi comprovado pela coloração amarelada dos filmes, cor característica do extrato. Para os filmes impregnados com piperina não foram verificadas alterações visíveis de cor comparadas ao filme de PLLA puro, não ocorrendo variações significativas para o parâmetro ΔE^* . Em relação aos parâmetros L^* , a^* , b verificou-se menores variações comparadas aos filmes impregnados com extrato. Para os dois compostos impregnados, a adição do cossolvente aumentou a opacidade dos filmes. A capacidade antioxidante dos compostos ativos, medida pelo método DPPH, atingiu a capacidade máxima de inibição de 84% para os filmes impregnados com extrato de pimenta-do-reino e 5% de cossolvente após 24 h de contato dos filmes impregnados com a solução DPPH. Nestes filmes, observou-se também que os componentes do extrato foram adsorvidos na superfície dos filmes de PLLA, o que foi verificado nas migrações mais rápidas de piperina para o meio simulante de alimentos etanol 95% e, portanto, em propriedades ativas mais elevadas, atingindo liberação máxima de 86%. Os resultados obtidos evidenciaram o bom desempenho dos filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino obtidos por impregnação supercrítica para aplicação em embalagens ativas de alimentos.

Palavras-chave: biopolímero; impregnação supercrítica; migração dos agentes ativos; capacidade antioxidante; propriedades ópticas.

3.1 INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios da indústria de alimentos tem sido buscar alternativas que substituam as embalagens convencionais, obtidas de polímeros de fontes fósseis por materiais e tecnologias que minimizem os impactos ao meio ambiente. Assegurar padrões de produção e consumo sustentáveis, desenvolvimento de tecnologias ambientalmente seguras e a redução do desperdício alimentar, bem como da poluição, são alguns dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável 12 (ODS 12), que fazem parte das Metas de 12.1 a 12.8 do conjunto de programas incluídos na agenda 2030 das Nações Unidas para o desenvolvimento sustentável (FAO, 2015).

Para isto, tem-se estudado o desenvolvimento de embalagens a partir de polímeros de base biológica e biodegradáveis obtidos por tecnologias limpas. Esses biopolímeros, podem ser sintetizados quimicamente a partir de monômeros extraídos da biomassa ou resíduos industriais (TAIB *et al.*, 2023). O poli(L-ácido láctico) PLLA é um exemplo de polímero obtido de fontes renováveis que tem ganhado destaque devido à sua excelente biocompatibilidade e propriedades mecânicas (LOPES *et al.*, 2012). A *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA e as autoridades reguladoras europeias aprovaram o PLA para aplicações em alimentos e como sistemas de liberação de medicamentos (AURAS *et al.*, 2004).

As embalagens convencionais apresentam funções nos alimentos relacionadas ao armazenamento e transporte, proteção contra danos físicos, deteriorações químicas e biológicas prolongando a vida útil, apresentação das informações e promoção de marketing do produto (YAN *et al.*, 2022). Nos últimos anos, a mudança de hábito dos consumidores, que tem optado pelo consumo de alimentos saudáveis e com menos aditivos, tem incentivado a indústria a investir no desenvolvimento de embalagens ativas obtidas a partir da incorporação de agentes ativos naturais na matriz polimérica. As embalagens ativas são definidas como a interação entre a embalagem, o produto e o meio para prolongar a vida útil, melhorar a segurança ou as propriedades sensoriais, mantendo as qualidades do produto (PRASAD; KOCHHAR, 2014). Muitas substâncias derivadas de plantas como especiarias e extratos vegetais têm sido utilizadas há séculos para a preservação e

para prolongar a vida útil dos alimentos (CHATTOPADHYAY; BHATTACHARYYA, 2007).

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum L.*) é uma especiaria usada em muitos alimentos e é também uma planta medicinal. A piperina é o principal composto da pimenta-do-reino e apresenta efeitos farmacológicos (MEGHWAL; GOSWAMI, 2013), antiinflamatórios (PANNU; BHATNAGAR, 2019), além de efeitos antioxidantes e antimicrobianos, podendo ser utilizado como conservante natural contra patógenos de origem alimentar (ZARAI *et al.*, 2013).

Dentre as tecnologias ambientalmente seguras que podem ser usadas no desenvolvimento de embalagens, a impregnação supercrítica apresenta-se como uma alternativa promissora na substituição dos métodos convencionais por empregar solventes verdes, como o CO₂ supercrítico. O CO₂ é o solvente mais utilizado nos processos supercríticos por apresentar baixa toxicidade, sustentabilidade ambiental, ser quimicamente inerte sob muitas condições, além de ter temperatura crítica facilmente alcançável de 31,04 °C e uma pressão crítica de 7,38 MPa, consideradas baixas em relação a outros fluidos supercríticos (ABATE *et al.*, 2019). A impregnação supercrítica consiste em solubilizar o composto ativo, com ou sem adição de cossolvente para atuar como plastificante favorecendo a incorporação do composto ativo. As vantagens principais do uso dessa técnica em relação às técnicas tradicionais estão relacionadas com a melhoria na taxa de incorporação de substâncias, baixa viscosidade do solvente, alto poder de dissolução de materiais orgânicos, baixa temperatura de processo e interação entre diferentes matrizes poliméricas (TORRES *et al.*, 2017).

Por se tratar de uma tecnologia recente no emprego de embalagens ativas de alimentos, estudos têm sido desenvolvidos com foco na análise das propriedades das embalagens que poderiam ser influenciadas pela incorporação dos compostos ativos e do CO₂ supercrítico. As propriedades ópticas, capacidade antioxidante e a liberação das substâncias ativas da matriz polimérica para os meios simulantes são parâmetros avaliados no desenvolvimento de embalagens ativas de alimentos (CERRO *et al.*, 2021; BASTANTE *et al.*, 2017; ALVARADO *et al.*, 2018). Em nosso trabalho anterior (Capítulo II), filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino com CO₂ supercrítico foram preparados e quantificados os

compostos ativos impregnados. Os filmes foram caracterizados quanto às propriedades estruturais, funcionais e de superfície. O presente capítulo visa caracterizar estes filmes em termos de propriedades ópticas, capacidade antioxidante, bem como avaliar a migração dos agentes ativos para os meios simulantes de alimentos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Materiais

Os filmes de PLLA foram produzidos através de termocompressão de pellets de PLLA usando uma prensa hidráulica (PHS 15t, Ico Comercial, Brazil). A piperina (PP) ($\geq 95\%$ de pureza, pó de cor amarela) foi adquirida da Vita Essência (Florianópolis/SC). A pimenta-do-reino foi obtida do comércio local de Florianópolis/SC. O extrato de pimenta-do-reino (EPR) foi obtido por meio de extração supercrítica realizada no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC/UFSC). O dióxido de carbono (99,9% de pureza) usado no processo de impregnação supercrítica foi adquirido da White Martins S/A (São Paulo/SP). Outros produtos químicos usados foram álcool etílico (99,8% grau PA, Neon, São Paulo/SP) e DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazina).

3.2.2 Propriedades ópticas

3.2.2.1 Parâmetros de cor

As medidas de cor foram obtidas de filmes de 7,5 x 1,5 cm de PLLA puro (controle) e impregnados em diferentes tratamentos usando um colorímetro (Delta Vista 450G, Delta Color, Brasil) com iluminante/ângulo 45/0°. As mudanças em cada parâmetro individual (ΔL^* , Δa^* , Δb^*), sendo L^* (luminosidade), a^* (vermelho/verde) e b^* (amarelo/azul) foram obtidas pela escala CIELAB e a diferença de cor (ΔE^*) foi calculada de acordo com a Equação 3.1. Os resultados são valores médios de 6 repetições de cada superfície da amostra.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L *)^2 + (\Delta a *)^2 + (\Delta b *)^2} \quad (3.1)$$

3.2.2.2 Opacidade

A opacidade dos filmes impregnados foi determinada de acordo com o método proposto por Tunç e Duman (2011) em espectrofotômetro (UV-Vis, Quimis). Os filmes foram cortados e fixados no orifício de passagem de luz UV-Vis para se obter a absorbância no comprimento de onda de 600 nm. O espaço vazio foi usado como branco. Foram realizadas leituras em triplicata. A opacidade dos filmes (Op) foi calculada pela Equação 3.2, na qual Abs_{600} é a absorbância em 600 nm e L é espessura do filme (mm).

$$Op = \frac{Abs. 600}{L} \quad (3.2)$$

3.2.3 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada pelo ensaio de inibição DPPH que avaliou a capacidade sequestradora de radicais livres dos filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem adição de 5% de cossolvente. A análise consistiu em preparar uma solução de DPPH em etanol na concentração de 0,024 g L⁻¹. Foram transferidos 4 mL da solução em frascos de vidro escuros, adicionados 100 mg dos filmes impregnados e mantidos hermeticamente fechados e protegidos da luz durante 24 e 96 h sem agitação. A amostra de PLLA puro foi usada como teste controle. O ensaio foi realizado usando um espectrofotômetro com leitor de microplacas de 96 poços. Os valores de absorbância foram lidos a 517 nm, onde ocorre a máxima absorbância do DPPH. A presença de uma substância antioxidante provoca a descoloração da substância e redução da absorbância. A porcentagem de inibição de DPPH de cada amostra foi calculada convertendo-se a absorbância em capacidade antioxidante (CA%) segundo a equação 3.3:

$$CA\% = \frac{(\text{Abs. controle} - \text{Abs. amostra})}{\text{Abs. controle}} \times 100 \quad (3.3)$$

Onde: Abs.controle é a absorbância da reação de controle, Abs.amostra é a absorbância da solução DPPH e a amostra. Os resultados da capacidade antioxidante das amostras de filmes impregnados foram calculados com base na média das absorbâncias.

3.2.4 Migração para os meios simulantes de alimentos

A liberação da piperina presente no extrato de pimenta-do-reino e piperina pura dos filmes de PLLA para os fluidos simulantes foi investigada por meio de testes de migração de acordo com o Regulamento da Comissão Europeia nº 10/2011 relacionado a materiais plásticos que podem entrar em contato com alimentos para simular o comportamento de alimentos aquosos (UE, 2011). Os meios simulantes foram preparados usando 10% de solução aquosa de etanol (v/v) para alimentos aquosos e 95% de solução aquosa de etanol (v/v) para alimentos gordurosos. Amostras de filmes de PLLA puro (amostra controle) e filmes impregnados com PP e EPR com e sem cossolvente (5% de etanol) foram cortados em pedaços de 1,2 x 3,6 cm e imersos em 40 mL de cada fluido simulante de acordo com o método ASTM D4754-11 (ASTM D4754-11, 2011). A amostra de PP e EPR com 5% de cossolvente foi escolhida por apresentar maior carga de impregnação. Os frascos foram continuamente agitados a 100 rpm em temperatura de 25 °C usando um equipamento tipo shaker. Alíquotas de 1 mL foram coletadas dos frascos de erlenmeyer e a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV visível a 340 nm, conforme varreduras de comprimentos de ondas realizadas previamente em ambos os fluidos simulantes. As varreduras da piperina pura e do extrato de pimenta-do-reino são apresentadas nos Apêndices B1 ao B4. A absorbância das amostras (compostos liberados para o meio simulante) foi medida de hora em hora e monitorada até que o estado estacionário fosse atingido. As absorbâncias medidas foram convertidas em concentração de piperina usando uma curva de calibração, obtida a partir de diferentes concentrações de piperina pura (1 a 10 µg mL⁻¹) e

extrato de pimenta-do-reino (5, 10, 15, 20, 25 e 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$) em 10 e 95% de solução aquosas de etanol, com coeficiente de determinação (R^2) de 0,9992 e 0,9972 para PP em solução etanólica 10% e 95%, respectivamente e (R^2) de 0,9997 para EPR em solução etanólica 10 e 95% (Apêndice B6 ao B9). Os experimentos foram realizados em duplicata e a massa dos filmes determinadas antes e após os ensaios de migração.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Propriedades ópticas

As propriedades ópticas dos filmes de PLLA puro e impregnados com diferentes tratamentos foram estudadas em relação ao parâmetro de cor e desempenho de barreira a luz (opacidade). De acordo com os resultados descritos na Tabela 21 é possível observar que a incorporação de piperina e extrato de pimenta-do-reino diminuíram o valor de L^* (luminosidade) e a^* (vermelho/verde) e aumentaram o valor de b^* (amarelo/azul) dos filmes, apresentando os maiores valores de b^* nos filmes impregnados com extrato de pimenta-do-reino, o que se deve à cor característica amarelada do extrato incorporado nos filmes. Outras pesquisas com impregnação de compostos ativos em filmes de PLA relataram alteração da cor dos filmes, com diminuição de L^* (CERRO *et al.*, 2021; HWANG, *et al.*, 2012).

Nos filmes impregnados com piperina as medidas de b^* tiveram uma menor variação comparadas aos filmes impregnados com extrato, provavelmente devido a piperina ser um pó amarelo claro, resultando em pouca alteração na coloração comparada ao filme de PLLA puro. Verificou-se nos filmes impregnados com piperina que não houve diferenças estatísticas significativas na cor total (ΔE^*) entre os diferentes tratamentos e o filme controle, indicando que a incorporação da piperina pura não proporcionou alterações visíveis na cor comparada ao filme puro. Já nos filmes impregnados com extrato, verificou-se que a incorporação do extrato da pimenta-do-reino afetou significativamente a cor dos filmes de PLLA, já que o ΔE^* apresentou diferenças estatísticas significativas para todas as amostras, o que pode

ser observado na diferença de cor a olho nu, comparado aos filmes de PLLA puros (Tabela 21). Para valores de $\Delta E^* > 1$, as diferenças na cor podem ser vistas a olho nu (INOKOSHI *et al.*, 1996).

Em geral, é desejável manter a transparência em filmes ativos quando se pretende observar o alimento. No entanto, a opacidade pode ser importante para se evitar a degradação provocada pela ação da luz, como oxidação de gorduras e degradação de pigmentos (ROJAS *et al.*, 2020). A opacidade pode ser atribuída a diferença entre os índices de refração dos agentes ativos impregnados e PLLA, que modificam o espalhamento e absorção da luz através do filme (PRIYA *et al.*, 2021). Nos filmes impregnados com diferentes tratamentos foram medidas a absorbância no comprimento de onda de 600 nm para determinar se a incorporação dos compostos ativos aumentou suas propriedades de barreira à luz ultravioleta (UV).

Tabela 21 – Parâmetros de cor e opacidade do filme de PLLA puro (controle) e dos filmes impregnados.

Filmes impregnados	L*	a*	b*	ΔE*	Opacidade (Abs₆₀₀)
PLLA puro	85,126 ^b ± 0,025	0,090 ^a ± 0,020	5,697 ^g ± 0,021	-	0,319 ^{c,d} ± 0,040
PLLA + scCO ₂					0,513 ^{c,d} ± 0,010
PLLA/PP	83,495 ^c ± 0,181	-0,078 ^a ± 0,104	6,938 ^e ± 0,579	3,041 ^d ± 0,863	0,584 ^{c,d} ± 0,070
PLLA/PP/5% EtOH	85,915 ^a ± 1,021	-1,243 ^b ± 0,053	6,351 ^f ± 0,039	2,933 ^d ± 0,934	8,462 ^a ± 0,710
PLLA/PP/10% EtOH	85,155 ^b ± 1,131	-1,145 ^b ± 0,048	7,350 ^d ± 0,025	3,920 ^d ± 0,075	6,348 ^{a,b} ± 0,650
PLLA/EPR	82,111 ^e ± 0,036	-1,215 ^b ± 0,145	12,421 ^b ± 1,645	11,045 ^b ± 1,813	2,115 ^c ± 0,040
PLLA/EPR/5% EtOH	83,488 ^c ± 0,287	-1,876 ^d ± 0,133	17,368 ^a ± 0,056	15,288 ^a ± 0,205	4,981 ^b ± 0,230
PLLA/EPR/10% EtOH	82,945 ^d ± 0,048	-1,435 ^{b,c} ± 0,028	11,320 ^c ± 0,045	9,333 ^c ± 0,022	8,682 ^a ± 0,140

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença estatística entre os valores pelo teste de Tukey (P < 0,05). Cada valor representa a média de 6 repetições com o correspondente desvio padrão.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Na Figura 20 é possível observar os filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente. Na presença de piperina os filmes permaneceram transparentes. No caso dos filmes impregnados com extrato de pimenta-do-reino, verificou-se uma coloração amarelada, característica do extrato. Nos filmes com adição de cossolvente percebe-se que a opacidade é maior comparada aos filmes sem adição de cossolvente.

Figura 20 - Filmes de PLLA impregnados com piperina e extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente



Da esquerda para direita: PLLA, PLLA/scCO₂, PLLA/PP, PLLA/PP/cossolvente, PLLA/EPR, PLLA/EPR/cossolvente.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Os resultados da opacidade dos filmes estão apresentados na Tabela 21, podendo ser comparados os filmes impregnados em diferentes tratamentos com o filme de PLLA puro (filme controle). Verificou-se nos filmes de PLLA + scCO₂, PLLA + piperina e PLLA + extrato sem cossolvente que não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) na opacidade em relação ao PLLA puro, sugerindo que a transparência dos filmes não foi afetada pela incorporação das substâncias ativas e do tratamento com alta pressão. Por outro lado, em todos os tratamentos com adição de etanol, verificou-se que os valores foram maiores em relação ao PLLA puro. Provavelmente a adição do cossolvente, além de aumentar a carga de compostos impregnados pode ter influenciado na passagem da luz ou dispersão da luz, o que provocou aumento da opacidade. A opacidade dos filmes pode ter sido influenciada pela rugosidade dos filmes (seção 2.3.6.3), sendo comprovado pela correlação dos filmes com maiores valores de opacidade apresentarem maior

rugosidade. Todos os filmes com adição de cossolvente apresentaram diferença estatística na opacidade em relação ao filme controle.

Fabra *et al.* (2009) em seus estudos, verificaram que filmes de caseinato de sódio com cera de abelha apresentaram maior rugosidade, causada pela formação de agregados lipídicos nas partes internas e superficiais dos filmes, o que influenciou na opacidade dos filmes. Em outro estudo, Qin *et al.* (2017), verificaram redução da transparência dos filmes de PLA causado pelo acúmulo dos compostos na matriz polimérica ao impregnar diferentes extratos essenciais.

3.3.2 Propriedades antioxidantes

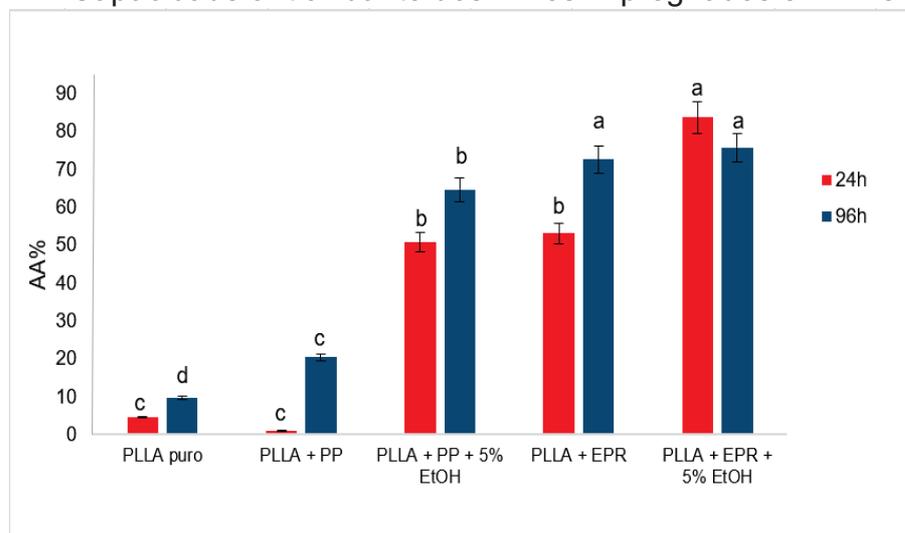
Nos ensaios de impregnação com CO₂ supercrítico os teores de piperina (25,5 mg) e extrato de pimenta-do-reino (28,2 mg) empregados foram semelhantes, porém a quantidade incorporada na matriz polimérica diferiu para cada tipo de composto, o que variou também pelo uso do cossolvente. Presume-se que quanto maior a carga de compostos antioxidantes nos filmes, maior sua capacidade antioxidante. Desta forma, foram utilizados nos experimentos para determinação da capacidade antioxidante os filmes com maiores cargas de compostos ativos. Os resultados dos valores da capacidade antioxidante (CA) determinados pelo método de eliminação dos radicais DPPH das amostras dos filmes de PLLA impregnados estão apresentados na Figura 21. Os resultados da inibição de DPPH foram determinados em 24 e 96 h e foram comparados em relação a um filme de PLLA puro, considerado como controle.

Como pode ser observado na Figura 21, os filmes de PLLA + PP e PLLA + EPR, obtidos no processo de impregnação com scCO₂ apresentaram alta capacidade antioxidante (a maioria ultrapassa 50% CA). Os resultados mostraram que a capacidade antioxidante aumentou significativamente ($p < 0,05$) à medida que a concentração do extrato de pimenta-do-reino e da piperina aumentaram nos filmes. Os valores variaram de 53,216% (24 h) para 72,642% (96 h) para os filmes com extrato de pimenta-do-reino sem adição de cossolvente e de 83,848% (24 h) para 75,861% (96 h) para os filmes com extrato de pimenta-do-reino com adição de 5% de cossolvente.

Para os filmes impregnados com piperina verificou-se uma liberação mais lenta no início (24 h) com 1,185% de capacidade antioxidante variando para 20,421% (96 h) para o processo sem adição de cossolvente e de 50,903% (24 h) para 64,709% (96 h) para o processo com adição de 5% de cossolvente.

Foi realizado também um ensaio de DPPH com o filme de PLLA sem impregnação e foi observada capacidade antioxidante variando de 4,645% (24 h) para 9,814% (96 h). Isso, pode ter ocorrido devido a alguma capacidade de eliminação de radicais do próprio PLLA, ou lenta difusão do DPPH da solução para o filme, diminuindo a sua concentração. O mesmo, foi observado por Goni *et al.* (2016) ao impregnar eugenol em polietileno de baixa densidade (PEBD). Verificou-se redução da absorbância da solução de DPPH em contato com os filmes de PEBD em 12 e após 96 h, indicando alguma capacidade antioxidante dos filmes sem impregnação. Os resultados da capacidade antioxidante dos filmes estão apresentados na Tabela A.1 do Apêndice A.

Figura 21 – Capacidade antioxidante dos filmes impregnados em 24 e 96 horas



Fonte: elaborado pela autora (2023)

Rosales *et al.* (2021) realizaram impregnação supercrítica sob condições semelhantes (10 MPa e 35 °C) em filmes de PLA usando extrato de folha de manga como composto ativo, atingindo 89% de capacidade antioxidante após 2 h. Machado *et al.* (2022) estudaram a impregnação de extrato de folha de oliveira em poliuretano

termoplástico (TPU) e poliácido láctico (PLA) e obtiveram capacidades antioxidantes maiores nos filamentos com maior carga de extrato impregnado.

Verificou-se que nos tratamentos com adição de etanol, que a capacidade antioxidante dos filmes foi maior. Possivelmente, a presença do etanol como cossolvente pode ter melhorado a afinidade dos polifenóis do extrato com o PLLA, facilitando a difusão no interior do polímero, aumentando a capacidade antioxidante destes filmes.

O extrato de pimenta-do-reino obtidos por ESC (scCO₂/200 bar e 40 °C) incorporado nos filmes de PLLA apresentou como principais componentes o β -Cariofileno (39,40%), piperina (25,31%), cis- α -Bisaboleno (7,93%), γ -Cadineno (6,88%), α -copaeno (5,15%), que podem contribuir para a capacidade antioxidante do extrato de pimenta-do-reino. Estudos demonstram que flavonóides, piperina, amidas fenólicas e outros constituintes apresentam propriedades antioxidantes específicas. Além disso, a capacidade antioxidante pode ser devido ao efeito sinérgico de mais de dois componentes presentes no sistema (KAPOOR *et al.*, 2019).

3.3.3 Migração para os meios simulantes de alimentos

O transporte dos compostos ativos da matriz polimérica para o alimento é considerado um dos principais parâmetros no desenvolvimento de embalagens ativas de alimentos, pois é ele que controla a liberação destes agentes e determina a finalidade da embalagem. A migração da piperina pura e da piperina presente no extrato de pimenta-do-reino impregnados em filmes de PLLA para meios simulantes de alimentos aquosos e gordurosos foram medidas por análise UV-Vis ($\lambda = 340$ nm).

As curvas de liberação apresentadas nas Figuras 22 e 23 indicam maior concentração dos compostos ativos em 95% de etanol, porém não se observou liberação completa para nenhuma das amostras nos diferentes meios. A natureza hidrofóbica dos filmes ativos pode ter influenciado a menor liberação dos compostos no meio simulante 10% EtOH. Em 95% de etanol as amostras de filmes impregnados com piperina sem cossolvente (26 mg_{PP}/g_{PLLA}) não alcançaram o

equilíbrio e apresentaram liberação baixa e lenta, atingindo aproximadamente 32% de fração mássica acumulada após 96h. Provavelmente, a baixa carga de impregnação apresentou um menor impacto no volume livre de PLLA, levando a uma liberação mais lenta e mais baixa. Nas amostras de piperina com cossolvente ($56 \text{ mg}_{PP}/\text{g}_{PLLA}$) verificou-se que a liberação foi rápida em 95% de etanol, atingindo o platô após 7 horas de teste com fração de massa cumulativa de 59% após 96 h. As amostras de extrato sem cossolvente ($52 \text{ mg}_{EPR}/\text{g}_{PLLA}$) não apresentaram equilíbrio e a liberação foi lenta em 95% de etanol, atingindo 75% da fração mássica cumulativa após 96 h. Nas amostras de extrato e cossolvente ($52 \text{ mg}_{EPR}/\text{g}_{PLLA}$), a liberação foi rápida, com 46% dos compostos liberados na primeira hora, atingindo platô em 7 h com percentual máximo de 86% dos compostos liberados. Provavelmente, a grande quantidade liberada nas primeiras horas esteja relacionada à incorporação do extrato próxima à superfície dos filmes. Resultados semelhantes foram obtidos por Torres *et al.*, (2014) para filmes de polietileno de baixa densidade impregnado com timol usando CO_2 supercrítico, que relataram atingir equilíbrio na migração dos compostos após aproximadamente 10 horas.

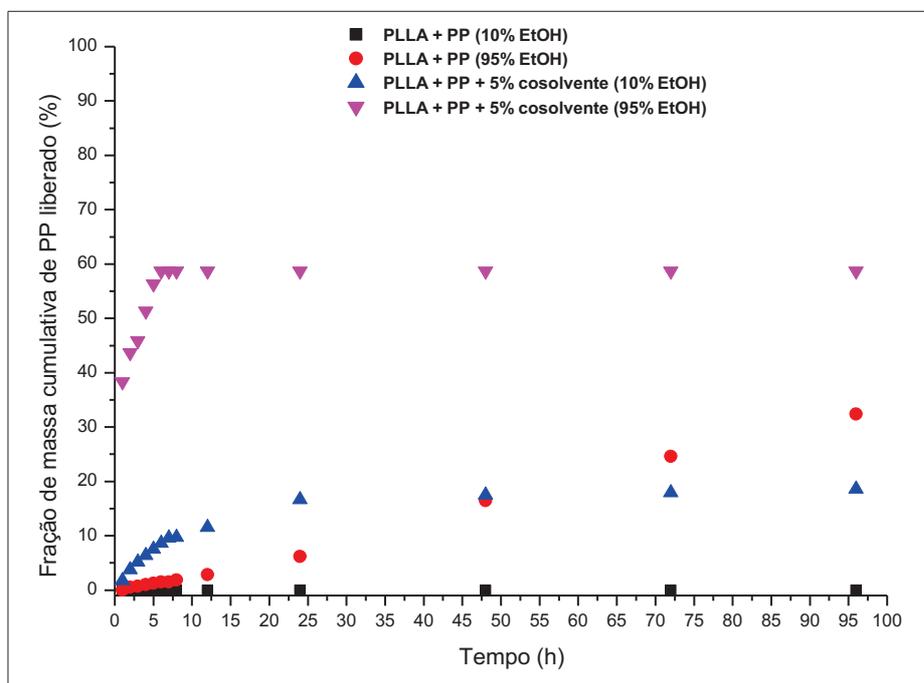
A maior migração dos compostos em 95% de etanol pode estar também relacionada à sorção do meio simulante pelo polímero, provocando efeito plastificante na matriz polimérica, criando espaços vazios, alterando as propriedades de transporte, o que pode ter aumentado a mobilidade das moléculas de piperina e extrato de pimenta-do-reino facilitando a liberação para o meio (MEDEIROS *et al.*, 2018; VIDAL *et al.*, 2021; MASCHERONI *et al.*, 2010). Sugere-se que a maior liberação dos compostos em 95% de etanol, pode estar relacionada também a maior afinidade da piperina e de outros compostos presentes no extrato pelo meio apolar.

Em 10% etanol a fração mássica acumulada para as amostras (piperina pura e o extrato de pimenta-do-reino) foi considerada menor e lenta. Para as amostras de piperina sem cossolvente praticamente não foi verificada liberação do composto, sendo de aproximadamente 1% a liberação para o meio. Para o extrato sem cossolvente a liberação também foi muito baixa (4%), atingindo equilíbrio após 96h. Para os filmes com piperina e cossolvente a fração mássica cumulativa atingiu o equilíbrio após 48 h, com aproximadamente 18,5% do composto liberado. Já para o extrato com cossolvente o equilíbrio foi atingido após 24 h, com aproximadamente

50% dos compostos liberados. A baixa transferência de piperina para o meio etanol 10% se deve provavelmente a baixa solubilidade da piperina em água, correspondendo a 0,04 mg/mL (HAMRAPURKAR *et al.*, 2011; NLM, 2023), fortalecendo a interação da piperina com o PLLA. Resultados semelhantes foram encontrados por Torres *et al.* (2017) ao estudar a liberação do timol de filmes de PLA para meios simulantes (10 e 95% etanol), sendo verificado maior afinidade do timol pela solução etanólica de maior concentração (etanol 95%), que pode ser explicado pelo caráter apolar tanto do timol quanto da solução simulante.

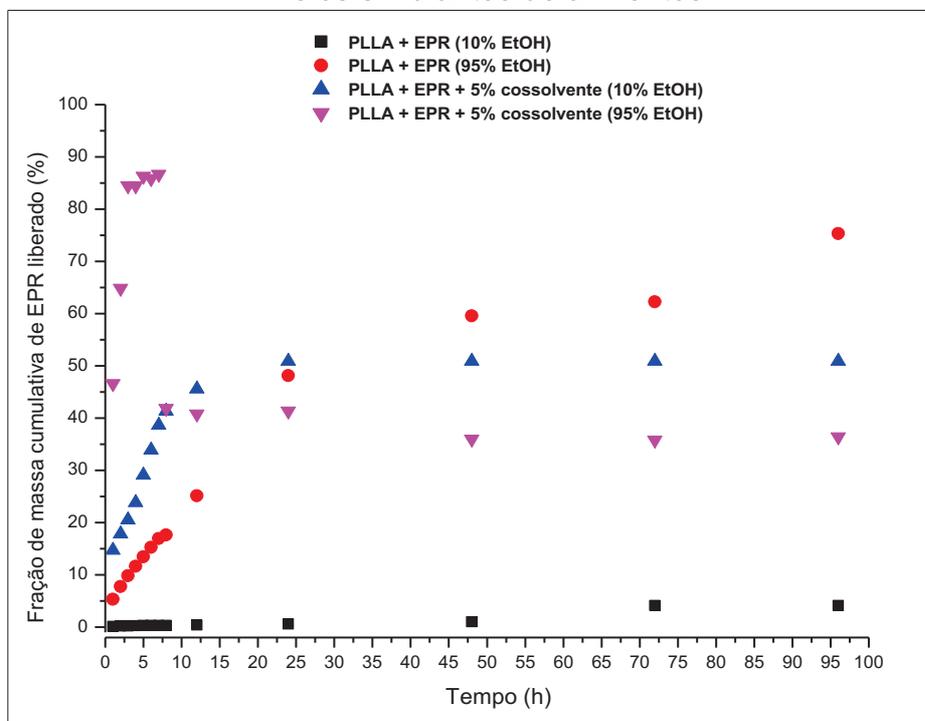
Os filmes impregnados com cossolvente (5% de etanol) apresentaram uma fração mássica cumulativa maior comparados aos filmes sem cossolvente. Bush *et al.* (2007) relataram que a presença do cossolvente melhora a dispersão dos compostos na matriz polimérica. Ao analisar a fração cumulativa mássica dos filmes com extrato de pimenta-do-reino com e sem cossolvente em 95% de etanol, parece que a impregnação exerceu alguma seletividade sobre o conteúdo de compostos impregnados na matriz de PLLA. Considerando que as frações de massa cumulativa das amostras foram medidas em 340 nm (maior comprimento de onda de absorção da piperina), obtido por meio da varredura realizada previamente no extrato (Apêndice B. 4), verificou-se que a piperina, abundante no extrato, também foi abundante nas amostras sem cossolvente (75% de fração mássica cumulativa) e com cossolvente (84,5% fração mássica cumulativa), obtidas no processo de impregnação supercrítica.

Figura 22 – Migração de piperina impregnada em PLLA para meios simulantes de alimentos



Fonte: elaborado pela autora (2023)

Figura 23 – Migração de extrato de pimenta-do-reino impregnada em PLLA para meios simulantes de alimentos



Fonte: elaborado pela autora (2023)

3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O efeito da impregnação de piperina e extrato de pimenta-do-reino em filmes de PLLA com CO₂ supercrítico com e sem adição de cossolvente foi avaliada sobre as propriedades ópticas, capacidade antioxidante e migração dos compostos ativos para meios simuladores de alimentos. A incorporação do extrato de pimenta-do-reino provocou alteração na coloração dos filmes para amarelo, cor característica do extrato. Já nos filmes impregnados com piperina não se verificou alterações na cor comparados aos filmes de PLLA puro. A adição de etanol como cossolvente além de aumentar a incorporação dos compostos ativos pode ter influenciado a passagem da luz ou dispersão da luz, o que provocou aumento da opacidade.

Com relação à capacidade antioxidante dos filmes medida após 24 e 96 h, observou-se que os filmes com maiores cargas de compostos ativos apresentaram maior capacidade antioxidante, sendo a capacidade máxima atingida em filmes impregnados com extrato de pimenta-do-reino com 5% de cossolvente após 24 h.

Os testes de migração em meios simuladores de alimentos aquosos ou gordurosos (etanol 10 e 95%) demonstraram que a liberação dos compostos não foi completa para nenhuma das amostras testadas. A fração máxima cumulativa atingida foi de 86% para os filmes impregnados com extrato de pimenta-do-reino e 5% de cossolvente em meio etanol 95%. Nestes filmes a liberação dos compostos foi rápida, atingindo o platô após 7 h. Estes resultados demonstram a possibilidade de aplicação deste filme no acondicionamento de alimentos com alto teor lipídico como produtos cárneos, laticínios e nozes. Os resultados encontrados neste estudo demonstraram que a impregnação supercrítica é uma tecnologia promissora na fabricação de embalagens ativas de alimentos, sendo uma alternativa de processo para a redução de impactos ambientais.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

4.1 CONCLUSÕES

Piperina e extrato de pimenta-do-reino foram impregnados com sucesso em filmes de PLLA usando CO₂ supercrítico. O emprego do fluido supercrítico promoveu inchamento e plastificação da matriz polimérica favorecendo a incorporação dos agentes ativos.

A eficiência da impregnação com fluido supercrítico foi observada pelas cargas de piperina e extrato de pimenta-do-reino incorporadas na matriz polimérica, comprovadas pelas análises gravimétricas, UV-Vis e fluorescência. A maior carga de impregnação foi atingida pelo extrato de pimenta-do-reino (~53 mg g⁻¹). A adição de cossolvente (5 e 10%) favoreceu o aumento das cargas de impregnação da piperina, atingindo maior carga de impregnação com 5% de etanol. A presença de piperina e extrato de pimenta-do-reino no interior do PLLA foi comprovada também pela análise de FTIR.

Foram observadas alterações nas propriedades mecânicas, sendo que os filmes impregnados com adição de cossolvente apresentaram redução da resistência e módulo de Young. Todos os filmes impregnados apresentaram aumento na elongação na ruptura.

A incorporação dos agentes ativos em meio supercrítico provocou aumento da cristalinidade dos filmes de PLLA em todos os tratamentos comparado ao PLLA puro, sendo maiores com adição de cossolvente. Provavelmente a adição de agentes ativos pode ter provocado uma alteração na estrutura do PLLA, e a adição do cossolvente pode ter favorecido a nucleação dos cristais, o que provocou um aumento na cristalinidade da matriz polimérica.

Piperina e extrato de pimenta-do-reino provaram efetividade como agentes antioxidantes. A capacidade antioxidante dos filmes impregnados foi máxima de ~84% para o extrato de pimenta-do-reino e de ~65% para a piperina, com adição de 5% de cossolvente. A migração de piperina e extrato de pimenta-do-reino em simuladores de alimentos aquosos e gordurosos foi máxima para os filmes com extrato de pimenta-do-reino e 5% de cossolvente. A fração máxima cumulativa atingida foi de 86% em meio etanol 95%, o que demonstra possibilidade de

aplicação em alimentos com alto teor lipídico. Nestes filmes a liberação dos compostos foi rápida, atingindo o platô após 7 h.

Os resultados demonstraram ser possível a elaboração de filmes ativos para alimentos a partir de biopolímeros e agentes ativos naturais usando a técnica de impregnação supercrítica. A incorporação dos filmes em escala industrial poderá ser uma alternativa para contribuir na redução de impactos ambientais, e na melhoria das propriedades das embalagens, por meio da ação dos agentes ativos.

4.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir das conclusões citadas, sugerem-se algumas questões para serem estudadas em novos trabalhos:

- Analisar quais foram os outros compostos, além da piperina, impregnados nos filmes com extrato de pimenta-do-reino;
- Avaliar a capacidade de selagem térmica dos filmes para verificar se o processo de impregnação dos compostos ativos poderá interferir na produção das embalagens;
- Avaliar as propriedades de barreira aos gases dos filmes ativos de PLLA;
- Avaliar a capacidade antioxidante dos filmes impregnados empregando outros métodos;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes de PLLA para melhor direcionamento do tipo de alimento que poderá ser empregado;
- Adicionar nanopartículas inorgânicas como sílica, prata, grafite, óxidos metálicos ao PLLA para melhorar as propriedades de barreira e mecânicas dos filmes;
- Analisar a perda dos agentes ativos em diferentes condições de armazenamento, para definir um prazo de utilização dos filmes como embalagens ativas de alimentos;
- Realizar testes de *shelf-life* em produtos alimentícios em diferentes condições de umidade relativa do ar;
- Avaliar a biodegradabilidade dos filmes em condições controladas.

REFERÊNCIAS

- ABATE, M. T., FERRI, A., GUAN, J., CHEN, G., NIERSTRASZ. Impregnation of Materials in Supercritical CO₂ to Impart Various Functionalities. Prof. Igor Leonardovich Piro (ed.), **Advanced Supercritical Fluids Technologies**, 2019.
- ABDEL REHIM, M. H., YASSIN, M. A., ZAHRAN, H., KAMEL, S., MOHARAM, M. E., TURKY, G. Rational design of active packaging films based on polyaniline-coated polymethyl methacrylate/nanocellulose composites. **Polymer Bulletin**, v. 77, n. 5, p. 2485–2499, 2020.
- ABDELWAHAB, M. A., FLYNN, A., CHIOU, B. S., IMAM, S., ORTS, W., CHIELLINI, E. Thermal, mechanical and morphological characterization of plasticized PLA-PHB blends. **Polymer Degradation and Stability**, v. 97, n. 9, p. 1822–1828, 2012.
- AHVENAINEN, R. Novel food packaging. Boca Raton: **CRC Press**, 2003.
- AKHTAR, M. S., PANWAR, J., YUN, Y. S. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v.1, n. 6, p. 591–602, 2013.
- ALBUQUERQUE, G. A., BEZERRA, F. W. F., OLIVEIRA, M. S., COSTA, W. A., CARVALHO JUNIOR, R. N., JOELE, M. R. S. P. Supercritical CO₂ Impregnation of Piper divaricatum Essential Oil in Fish (*Cynoscion acoupa*) Skin Gelatin Films. **Food and Bioprocess Technology**, v. 13, n. 10, p. 1765–1777, 2020.
- ALMINDEREJ, F., BAKARI, S., ALMUNDARIJ, T. I., SNOUSSI, M., AOUADI, K., KADRI, A. Antioxidant activities of a new chemotype of piper cubeba L. Fruit essential oil (methyleugenol/eugenol): In silico molecular docking and admet studies. **Plants**, v. 9, n. 11, p. 1–18, 2020.
- ALVARADO, N., ROMERO, J., TORRES, A., LOPEZ, D., C., ROJAS, A., GALOTTO, M. J., Supercritical impregnation of thymol in poly (lactic acid) filled with electrospun poly(vinyl alcohol)-cellulose nanocrystals nanofibers: Development an active food packaging material. **Journal of Food Engineering**, v. 217, p. 1–10. 2018.
- ANDERSON, K.S., SCHRECK, K.M., HILLMYER, M.A. Toughening polylactide. *Polym. Rev.* 48, 85 -108 apud Sin, L. T., Tuen, B. S. Polylactic Acid A Practical Guide for the Processing, Manufacturing, and Applications of PLA. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n.48, p. 85 – 109, 2019.
- ANDRADE, K. S., TRIVELLIN, G., FERREIRA, S. R. S. Piperine-rich extracts obtained by high pressure methods. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 370–377, 2017.

ARGENTATI, C., MORENA, F., MONTANUCCI, P., RALLINIA, M., BSTA, G., CALABRESE, N., CALAFIORE, R., CORDELLINI, M., EMILIANI, C., ARMENTANO, I., MARTINO, S. Surface hydrophilicity of poly(L-lactide) acid polymer film changes the human adult adipose stem cell architecture. **Polymers**, v. 10, n. 2, 2018.

ARRIETA, M. P., GARCÍA, A. D., LÓPEZ, D., FIORI, S., Peponi. Antioxidant bilayers based on PHBV and plasticized electrospun PLA-PHB fibers encapsulating catechin. **Nanomaterials**, v. 9, n.3, p. 1–14, 2019.

ARRIETA, M. P., SAMPER, M. D., ALDAS, M., LÓPEZ, J. On the use of PLA-PHB blends for sustainable food packaging applications. **Materials**, v.10, n. 9, p. 1–26, 2017.

ARVANITOYANNIS, I. S., BOSNEA, L. Migration of Substances from Food Packaging Materials to Foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, n. 2, p. 63–76, 2004.

ASASUTJARIT, R., SOOKDEE, P., VEERANONDHA, S., FUONGFUCHAT, A., ITHARAT, A. Application of film-forming solution as a transdermal delivery system of piperine-rich herbal mixture extract for anti-inflammation. **Heliyon**, v. 6, n. 6, 2020.

AURAS, R. A., HARTE, B., SELKE, S., HERNANDEZ, R. Mechanical, physical, and barrier properties of poly(lactide) films. **Journal of Plastic Film and Sheeting**, v. 19, n. 2, p. 123–135, 2003.

AURAS, R., HARTE B., SELKE S. An overview of polylactides as packaging materials. **Macromol Biosci**, v.4, p. 835–864, 2004.

AVÉROUS, L. Polylactic acid: Synthesis, properties and applications. **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**, p. 433–450, 2008.

BAGHERI, H., ABDUL M., BIN, M. Y., SOLATI, Z. Antioxidant activity of Piper nigrum L. essential oil extracted by supercritical CO₂ extraction and hydro-distillation. **Talanta**, v. 121, p. 220–228, 2014.

BELIZON, M., FERNANDEZ-PONCE, M. T., CASAS, L., MANTELL, C., MARTÍNEZ O. F., E. J. Supercritical impregnation of antioxidant mango polyphenols into a multilayer PET/PP food-grade film. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 25, p. 56–67, 2018.

BERENS, A. R., HUVARD, G. S., KORSMEYER, R. W., KUNIG, F. W. Application of compressed carbon dioxide in the incorporation of additives into polymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 46, p. 231–242, 1992.

BHATTACHARJEE, P., PAUL, K., DUTTA, S. Supercritical carbon dioxide (sc-CO₂) extraction of piperine: a green extraction method of biomolecule of therapeutic importance. **Biotechnical processing in the food industry**, v. 1, 2021.

BIERHALZ, A. C. K., SILVA, M. A., SOUSA, H. C., BRAGA, M. E. M., e KIECKBUSCH, T. G. Influence of natamycin loading methods on the physical characteristics of alginate active films. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 76, p. 74–82, 2013.

BUSH, J. R., AKGERMAN, A., HALL, K. R. Synthesis of controlled release device with supercritical CO₂ and co-solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 41, n. 2, p. 311–316, 2007.

BUZANELLO, R.S. A., FERRO, A. C., BONA, E., CARDOZO-FILHO, L., ARAÚJO, P. H. H. de, LEIMANN, F. V., GONÇALVES, O. H. Validation of an Ultraviolet-visible (UV-Vis) technique for the quantitative determination of curcumin in poly(l-lactic acid) nanoparticles. **Food Chemistry**, 172, 99–104, 2015.

CÁRDENAS, J. S. P., CHANONA, J. V. P. MÉNDEZ, G. M., CALDERÓN, R. D., LÓPEZ, M. J. S., PEREA, I. F., VÁZQUEZ A. **Biosyst. Eng.** V. 159, n. 46, 2017.

CÁRDENAS-PÉREZ, S., CHANONA-PÉREZ, J., MÉNDEZ-MÉNDEZ, J. V., CALDERÓN, G. D., LÓPEZ, R. S., PEREA, M. J. F., ARZATE I. V. Evaluation of the ripening stages of apple (Golden Delicious) by means of computer vision system. **Biosystems Engineering**, v. 159, p. 46–58, 2017.

CARDOSO, L. G., PEREIRA, J. C. S., CAMILLOTO, G. P., MIRANDA, A. L., DRUZIAN, J. I., GUIMARÃES, A. G. Development of active films poly (butylene adipate co-terephthalate) – PBAT incorporated with oregano essential oil and application in fish fillet preservation. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 388–397, 2017.

CEJUDO BASTANTE, C., CARDOSO, L. C, MANTELL C., MARTÍNEZ O. E. J. Supercritical impregnation of food packaging films to provide antioxidant properties. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 200–207, 2017.

CEJUDO-BASTANTE, C., ARJONA-MUDARRA, P., FERNANDEZ-PONCE, M. T., CASAS, L., Mantell, C., MARTÍNEZ DE LA OSSA, E. J. Application of a natural antioxidant from grape pomace extract in the development of bioactive jute fibers for food packaging. **Antioxidants**, v. 10, n. 2, p. 1–15, 2021.

CEJUDO-BASTANTE, C., CASAS C. L., FERNANDEZ-PONCE, M. T., MANTELL S. C., MARTÍNEZ, O., E. J. Supercritical impregnation of olive leaf extract to obtain bioactive films ffective in cherry tomato preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 21, n. 100338, 2019.

CEJUDO-BASTANTE, C., SILVA, N. H. C. S., CARDOSO, L. C., SERRANO, C. M., MARTÍNEZ, O., E. J., FREIRE, C. S. R. Biobased films of nanocellulose and mango leaf extract for active food packaging: Supercritical impregnation versus solvent casting. **Food Hydrocolloids**, v. 117, n. 106709, 2021.

CERRO, D., BUSTOS, G., VILLEGAS, C., BUENDIA, N., TRUFFA, G., GODOY, M. P. Effect of supercritical incorporation of cinnamaldehyde on physical-chemical properties, disintegration and toxicity studies of PLA/lignin nanocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 167, n. 15, p. 255–266, 2021.

CHAMPEAU, M., THOMASSIN, J. M., JÉRÔME, C., TASSAING, T. In situ FTIR micro-spectroscopy to investigate polymeric fibers under supercritical carbon dioxide: CO₂ sorption and swelling measurements. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 90, p. 44–52, 2014.

CHAMPEAU, M., THOMASSIN, J. M., TASSAING, T., JÉRÔME, C. Drug Loading of Sutures by Supercritical CO₂ Impregnation: Effect of Polymer/Drug Interactions and Thermal Transitions. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 300, n. 6, p. 596–610, 2015.

CHATTOPADHYAY, R. R.; BHATTACHARYYA, S. K. Herbal spices as alternative antimicrobial food preservatives: An update. **Pharmacog.**, v.1, p. 239-247, 2007.

CHIELLINI, F., FERRI, M., LATINI, G. Physical-chemical assessment of di-(2-ethylhexyl)-phthalate leakage from poly(vinyl chloride) endotracheal tubes after application in high risk newborns. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 409, n. 1–2, p. 57–61, 2011.

CHONG, W. H., CHIN, S. F., PANG, S. C., KOK, K. Y. Synthesis and Characterisation of Piperine-loaded Starch Nanoparticles. **Journal of Physical Science**, v. 31, n. 1, p. 57–68, 2020.

CHONPATHOMPIKUNLERT, P., WATTANATHORN, J., MUCHIMAPURA, S. Piperine, the main alkaloid of Thai black pepper, protects against neurodegeneration and cognitive impairment in animal model of cognitive deficit like condition of Alzheimer's disease. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 3, p. 798–802, 2010.

CHOPRA, B., DHINGRA, A.K., KAPOOR, R. P., PRASAD, D. N. Piperine and Its Various Physicochemical and Biological Aspects: A Review. **Open Chemistry Journal**, v. 3, n. 1, p. 75–96, 2017.

CIRILLO, G., SPIZZIRRI, U. G., LEMMA, F. Functional Polymers in Food Science: from technology by biology. **Wiley**, v. 1, 2015.

COELHO, J. A. P., PALAVRA, A. M. F. Supercritical fluid extraction of compounds from spices and herbs. **High Pressure Fluid Technology for Green Food Processing**, p. 357 – 396, 2014.

COLES, R., MCDOWELI, R. D., KIRWAN, M. Food packaging technology. Blackwell: **CRC Press**, 2003.

COLOMINES, G., DOMENEK, S., DUCRUET, V., GUINAULT, A. Influences of the crystallisation rate on thermal and barrier properties of polylactide acid (PLA) food packaging films. **Internation Journal of Material Forming**, v. 1, p. 607–610, 2008.

COMMISSION DELEGATED REGULATION (UE) no 1363/2013. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32013R1363>. Acesso em 08 Sept. 2023.

COSTA, R. C., DAITX, T. S., MAULER, R. S., SILVA, N. M., MIOTTO, M., CRESPO, J. S. Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)-based nanocomposites for antimicrobial active food packaging containing oregano essential oil. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, 2020.

COUTINHO, I. T. Impregnação de polímeros com dois compostos assistida por CO₂ supercrítico: fenômenos específicos à impregnação dupla. **Dissertação de mestrado. Universidade Federal do ABC**. Santo André – SP, 2020.

CRAN, M. J., RUPIKA, L. A. S., SONNEVELD, K., Miltz, J., BIGGER, S. W. Release of Naturally Derived Antimicrobial Agents from LDPE Films. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 2, p. 126–133, 2010.

CUSSLER, E.L. Diffusion: Mass transfer in fluid systems. (3) Cambridge University Press, 2009.

DAIRI, N., FERFERA-HARRAR, H., RAMOS, M., GARRIGÓS, M. C. Cellulose acetate/AgNPs-organoclay and/or thymol nano-biocomposite films with combined antimicrobial/antioxidant properties for active food packaging use. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 508–523, 2019.

DARPENTIGNY, C., MARCOUX, P. R., MENNETEAU, M., MICHEL, B., RICOUL, F., JEAN, B., BRAS, J., NONGLATON, G. Antimicrobial Cellulose Nanofibril Porous Materials Obtained by Supercritical Impregnation of Thymol. **ACS Applied Bio Materials**, v. 3, n. 5, p. 2965–2975, 2020.

DARTORA, P. C., ROSA L., M., CAMARGO. F., M. M. Crystallization kinetics and morphology of poly(lactic acid) with polysaccharide as nucleating agent. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 134, n.3, p. 1705–1713, 2018.

DEBEAUFORT, F., VOILLEY, A. Lipid-based edible films and coatings. **Edible films and coatings for food application**, p. 135-168, 2009.

DEY, A., NEOGI, S. Oxygen scavengers for food packaging applications: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 90, n. 26–34, 2019.

DIAS, A. M. A., BRAGA, M. E. M., SEABRA, I. J., FERREIRA, P., GIL, M. H., SOUSA, H. C. Development of natural-based wound dressings impregnated with

bioactive compounds and using supercritical carbon dioxide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408 n. 1–2, p. 9–19, 2011.

DOPICO-GARCÍA, M. S., LÓPEZ-VILARIÑO, J. M., GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. V. Determination of antioxidant migration levels from low-density polyethylene films into food simulants. **Journal of Chromatography A**, v. 1018, n. 1, p. 53–62, 2003.

DOUCETTE, C. D., HILCHIE, A. L., LIWSKI, R., HOSKIN, D. W. Piperine, a dietary phytochemical, inhibits angiogenesis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 231–239, 2013.

EFRATI, R., NATAN, M., PELAH, A., HABERER, A., BANIN, E., DOTAN, A., OPHIR, A. The effect of polyethylene crystallinity and polarity on thermal stability and controlled release of essential oils in antimicrobial films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 11, p. 1–11, 2014.

EL-HADI, A. M. Increase the elongation at break of poly (lactic acid) composites for use in food packaging films. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1–14, 2017.

ESTEKI, B., GARMABI, H., MOHAMMAD R. S., THORSTEN, H. The Crystallinity Behavior of Polyethylene/Clay Nanocomposites Under the Influence of Water-Assisted Melt Blending. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 52, n. 15, 2013.

EUROPEAN Bioplastics Association. Bioplastics Market. **European Bioplastics Association**: Berlin, Germany, 2022.

FABRA, M. J., TALENS, P., CHIRALT, A. Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 676–683, 2009.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. International Fund for Agricultural Development, World Food Programme, The State of Food Insecurity in the World **Meeting the 2015 international hunger targets: Taking Stock of Uneven Progress**, 2015.

FARAH, S., ANDERSON, D. G., LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 367–392, 2016.

FDA. 2002. **Inventory of Effective Food Contact Substance (FCS) Notifications No. 178**. Disponível em: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnDetailNavigation.cfm?rpt=fcsListing&id=178>. Acesso em: 10 jan. 2021.

FECHINE, G. J. M. Polímeros biodegradáveis – tipos, mecanismos, normas e mercado mundial. E. Mackenzie. São Paulo, 2013.

FERREIRA, S. R. S., NIKOLOV, Z. L., DORAISWAMY, L. K., MEIRELES, M. A. A., PETENATE, A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v.14, n. 3, p. 235–245, 1999.

FILHO, J. G.O., RODRIGUES, J. M., VALADARES, A. C. F., ALMEIDA, A. B. de, LIMA, T. M. de, TAKEUCHI, K. P., ALVES, C. C. F., SOUSA, H. A. de F., SILVA, E. R. da, DYSZY, F. H., EGEA, M. B. Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. **Food Hydrocolloids**, v. 92, p. 267–275, 2019.

FORNARI, T., STATEVA, R. P. **High pressure fluid technology for green food processing**. Springer, 2015.

FRANCO, P., AIIAKBARIAN, B., PEREGO, P., REVERCHON, E., DE MARCO, I. Supercritical adsorption of quercetin on aerogels for active packaging applications. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 57, n. 44, p. 15105–15113, 2018.

FUERTES, G., SOTO, I., CARRASCO, R., VARGAS, M., SABATTIN, J., LAGOS, C. Intelligent Packaging Systems: Sensors and Nanosensors to Monitor Food Quality and Safety. **Journal of Sensors**, 2016.

GARCÍA-CASAS, I., CRAMPON, C., MONTES, A., PEREYRA, C., MARTÍNEZ O., E. J., BADENS, E. Supercritical CO₂ impregnation of silica microparticles with quercetin. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 143, p. 157–161, 2019.

GARCÍA-CASAS, I., MONTES, A., VALOR, D., PEREYRA, C., MARTÍNEZ O., E. J. Impregnation of mesoporous silica with mangiferin using supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 140, p. 129–136, 2018.

GARLOTTA, D. A Literature Review of Poly (Lactic Acid). **Journal of Polymers and the Environment**, v. 9, n. 2, p. 63–84, 2002.

GARRIDO-MIRANDA, K. A., RIVAS, B. L., PÉREZ-RIVERA, M. A., SANFUENTES, E. A., PEÑA-FARFAL, C. Antioxidant and antifungal effects of eugenol incorporated in bionanocomposites of poly (3-hydroxybutyrate)- thermoplastic starch. **Lwt**, v. 98, p. 260–267, 2018.

GE, H., YANG, F., HAO, Y., WU, G., ZHANG, H., DONG, L. Thermal, mechanical, and rheological properties of plasticized poly(L-lactic acid). **Journal of Applied Polymer Science**, v.127, n. 4, p. 2832–2839, 2013.

GEYER, R., JAMBECK, J. R., LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**, v. 3, p. 1-5, 2017.

GIL, N. P. Green synthesis of coordination polymers using supercritical carbon dioxide. **Universitat Autònoma de Barcelona**, p. 241, 2020.

GONDO, D., WADA, T., KANEHASHI, S., SATO, S., NAGAI, K. Effects of alcohol solvent-induced crystallization on biodegradable poly(Lactic acid) film. **Journal of Packaging Science and Technology**, v. 20, n. 6, p. 501-511, 2011.

GONI, M. L., GANAN, N. A., STRUMIA, M. C., MARTINI, R. E. Eugenol-loaded LLDPE films with antioxidant activity by supercritical carbon dioxide impregnation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 28–35, 2016.

GOODSHIP, V., OGUR, E. O. Polymer processing with supercritical fluids. **Rapra Technonology**, v. 15, n. 8, 2004.

GREENHALGH, D. J., WILLIAMS, A. C., TIMMINS, P. York, P. Solubility parameters as predictors of miscibility in solid dispersions. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 11, p. 1182 – 1190, 1999.

GRIJPMA, D. W., NIJENHUIS, A. J., VAN WIJK, P. G. T., PENNING, A. J. High impact strength as-polymerized PLLA. **Polymer Bulletin**, v. 29, n. 5, p. 571–578, 1992.

GROSSO, P., CEJUDO, C., SÁNCHEZ-GOMAR, I., DURÁN-RUIZ, M. C., MORENO-LUNA, R., CASAS, L., PEREYRA, C., MANTELL, C. Supercritical Impregnation of Mango Leaf Extract into PLA 3D-Printed Devices and Evaluation of Their Biocompatibility with Endothelial Cell Cultures. **Polymers**, v. 14, n. 13, 2022.

GUAN, G., ZHANG, Z., WANG, Z., LIU, B., GAO, D., XIE, C. Single-hole hollow polymer microspheres toward specific high-capacity uptake of target species. **Advanced Materials**, v. 19, n. 17, p. 2370–2374, 2007.

GUO, C., YIN, J., CHEN, D. Co-encapsulation of curcumin and resveratrol into novel nutraceutical hyalurosomes nano-food delivery system based on oligo-hyaluronic acid-curcumin polymer. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, p. 1033–1037, 2018.

HAMRAPURKAR, P. D., JADHAV, K., KUNDNANI, P. K. M., ZINE, S. Quantitative Estimation of Piperine in Piper nigrum and Piper longum Using High Performance Thin Layer Chromatography. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2011, n. 3, 2011.

HAN, H. S., SONG, K. B. Antioxidant properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) rind pectin films containing kiwifruit (*Actinidia chinensis*) peel extract and their application as chicken thigh packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 28, n. 100636, 2021.

HOSSEINI, S. F., KAVEH, F., SCHMID, M. Facile fabrication of transparent high-barrier poly(lactic acid)-based bilayer films with antioxidant/antimicrobial performances. **Food Chemistry**, v. 384, 2022.

HUANG, Z. Mass Transfer Models for Supercritical Fluid Extraction. **High Pressure Fluid Technology for Green Food Processing**, p. 77 – 115, 2014.

HUDA, M. S., DRZAL, L. T., MISRA, M., MOHANTY, A. K., WILLIAMS, K., MIELEWSKI, D. F. A study on biocomposites from recycled newspaper fiber and poly(lactic acid). **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 44, n. 15, p. 5593–5601, 2005.

HUSSAIN, Y. A., GRANT, C. S. Ibuprofen impregnation into submicron polymeric films in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 71, p. 127–135, 2012.

HWANG, S. W., SHIM, J. K., SELKE, S. E., SOTO-VALDEZ, H., MATUANA, L., RUBINO, M., AURAS, R. Poly(L-lactic acid) with added α -tocopherol and resveratrol: Optical, physical, thermal and mechanical properties. **Polymer International**, v. 61, n. 3, p. 418–425, 2012.

HWANG, S. W., SHIM, J. K., SELKE, S., SOTO-VALDEZ, H., MATUANA, L., RUBINO, M., AURAS, R. Migration of α -tocopherol and resveratrol from poly(L-lactic acid)/starch blends films into ethanol. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 4, p. 814–828, 2013.

IÑIGUEZ-FRANCO, F., AURAS, R., BURGESS, G., HOLMES, D., FANG, X., RUBINO, M., SOTO-VALDEZ, H. Concurrent solvent induced crystallization and hydrolytic degradation of PLA by water-ethanol solutions. **Polymer**, v. 99, p. 315–323, 2016.

INOKOSHI SMB, BURROW MF, KATAUMI M, Yamada T, TAKATSU T. Opacity and color changes of tooth-colored restorative materials. **Oper Dent.**, v. 21, n. 2, p. 73–80, 1996.

JAMSHIDIAN, M., TEHRANY, E. A., IMRAN, M., AKHTAR, M. J., CLEYMAND, F., DESOBRY, S. Structural, mechanical and barrier properties of active PLA-antioxidant films. **Journal of Food Engineering**, v.110, n.3, p. 380–389, 2012.

JAYASHREE, E., ZACHARIAH, T. J., GOBINATH, P. Physico-chemical properties of black pepper from selected varieties in relation to market grades. **Journal Food of Science and Technology**, v. 46, n. 3, p. 263-265, 2009.

JIN, L., WEI, W., JIANG, Y., PENG, H., CAI, J., MAO, C., DAI, H., CHOY, W., BEMIS, J. E., JIROUSEK, M. R., MILNE, J. C., WESTPHAL, C. H., Perni, R. B. Crystal structures of human SIRT3 displaying substrate-induced conformational changes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 36, p. 24394–24405, 2009.

KAPOOR, I. P. S., SINGH, B., SINGH, G., HELUANI, C. S., LAMPASONA, M. P., CATALAN, C. A. N. Chemistry and in vitro antioxidant activity of volatile oil and oleoresins of black pepper (*Piper nigrum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5358–5364, 2009.

KARSHA, P. V., LAKSHMI, O. B. Antibacterial activity of black pepper (*Piper nigrum* Linn) with special reference to its mode of action on bacteria. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, v. 1, n. 2, p. 213–215, 2010.

KAZARIAN, S. G., MARTIROSYAN, G. G. Spectroscopy of polymer/drug formulations processed with supercritical fluids: In situ ATR-IR and Raman study of impregnation of ibuprofen into PVP. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 232, n. 1–2, p. 81–90, 2002.

KHAJURIA, A., THUSU, N., ZUTSHI, U., BEDI, K. L. Piperine modulation of carcinogen induced oxidative stress in intestinal mucosa. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 189, n. 1–2, p. 113–118, 1998.

KHAKI, A., GARMABI, H., JAVADI, A., YAHYAEE, N. Effect of crystallinity, crystal polymorphism, and graphene oxide nanosheets on the barrier properties of poly (L-lactic acid). **European Polymer Journal**, v. 118, p. 53–63, 2019.

KIKIC, I., VECCHIONE, F. Supercritical impregnation of polymers. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 7, n. 4–5, p. 399–405, 2003.

KIKKAWA, Y.; M. FUJITA; H. ABE, Y. Effect of water on the surface molecular mobility of poly(lactide) thin film: atomic force microscopy study Biomacromolecules. **ACS Publications**, v. 5, n. 4, p. 1187–1193, 2004.

KIM, S.-H., LEE, Y.-C. Piperine inhibits eosinophil infiltration and airway hyperresponsiveness by suppressing T cell activity and Th2 cytokine production in the ovalbumin-induced asthma model. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, n. 3, p. 353–359, 2009.

KONG, Y., HAY, J. N. The measurement of the crystallinity of polymers by DSC. **Polymer**, v. 43, n.14, p. 3873–3878, 2002.

KREVELEN, D.W. Van, NIJENHUIS, K. Properties of polymers: their correlation with chemical structure; their numerical estimation and prediction from additive group contributions. 4. Ed. Elsevier, 2009.

KRIKORIAN, V., POCHAN, D. J. Poly (L-Lactic Acid)/Layered Silicate Nanocomposite: Fabrication, Characterization and Properties. **Chemistry of Materials**, v. 13, p. 4317–4324, 2003.

KRUIJF, N., RIJK, R. Legislative issues relating to active and intelligent packaging, p. 459 – 496, 2003.

KUMORO, A. C., SINGH, H., HASAN, M. Solubility of Piperine in Supercritical and Near Critical Carbon Dioxide. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 17, n. 6, p. 1014–1020, 2009.

LANZA, M. **Comportamento de fases dos óleos de oliva, soja e mamona em n-butano e propano e alta pressão**. 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, 2004.

LASPRILLA, A. J. R., MARTINEZ, G. A. R., LUNELLI, B. H., JARDINI, A. L., FILHO, R. M. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices - A review. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 1, p. 321–328, 2012.

LEE, D. S. Carbon dioxide absorbers for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p. 146–155, 2016.

LI, H., HUNEULT, M. A. Effect of nucleation and plasticization on the crystallization of poly(lactic acid). **Polymer**, v. 48, n. 23, p. 6855–6866, 2007.

LI, Y., LU, J., TIAN, X., XU, Z., HUANG, L., XIAO, H. Alginate with citrus pectin and pterostilbene as healthy food packaging with antioxidant property. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 193, p. 2093–2102, 2021.

LI, Z., TAN, B. H., LIN, T., HE, C. Recent advances in stereocomplexation of enantiomeric PLA-based copolymers and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 62, p. 22–72, 2016.

LOPES, S. M., JARDINI, A. L., MACIEL FILHO, R. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. **Procedia Engineering**, v. 42, p. 1402–1413, 2012.
LORENZO, M. L. Di, ANDROSCH, R. Aplicaciones Industriales Poli(Ácido Láctico), 2018.

LUKIC, I., VULIC, J., IVANOVIC, J. Antioxidant activity of PLA/PCL films loaded with thymol and/or carvacrol using scCO₂ for active food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, n. 100578, 2020.

MA, S. L., LU Z. W., WU, Y. T., ZHANG, Z. B. Partitioning of drug model compounds between poly(lactic acid)s and supercritical CO₂ using quartz crystal microbalance as an in situ detector. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, n.2, p. 129–136, 2010.

MACHADO, N. D., CEJUDO-BASTANTE, C., GOÑI, M. L., GAÑÁN, N. A., CASAS-CARDOSO, L., MANTELL-SERRANO, C. Screening of the Supercritical Impregnation of *Olea europaea* Leaves Extract into Filaments of Thermoplastic Polyurethane (TPU) and Polylactic Acid (PLA) Intended for Biomedical Applications. **Antioxidants**, v. 11, n. 6, 2022.

MAK, S. L., WU, M. Y. T., TANG, W. F., Li, C. H., CHAN, T. W. A Review on Mechanical Properties Modification of Polymer with Talc Powder. **ISPCE-ASIA - IEEE** International Symposium on Product Compliance Engineering-Asia, Proceeding, 2021.

MANO, J. F., GÓMEZ RIBELLES, J. L., ALVES, N. M., SALMERÓN SANCHEZ, M. Glass transition dynamics and structural relaxation of PLLA studied by DSC: Influence of crystallinity. **Polymer**, 46, n. 19 SPEC. ISS, p. 8258–8265, 2005.

MARTÍNEZ, J. L., VANCE, S. W. Supercritical extraction plants equipment, process, and costs. In J. L. Martinez (Ed.), Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds, p. 25- 28. Boca Raton: **CRC Press**, 2008.

MASCHERONI, E., GUILLARD, V., NALIN, F., MORA, L., PIERGIOVANNI, L. Diffusivity of propolis compounds in Polylactic acid polymer for the development of anti-microbial packaging films. **Journal of Food Engineering**, V. 98, N. 3, P. 294–301, 2010.

MASMOUDI, Y., BEN AZZOUK, L., FORZANO, O., ANDRE, J. M., BADENS, E. Supercritical impregnation of intraocular lenses. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 60, p. 98–105, 2011.

MASUTANI, K., LEE, C. W., KIMURA, Y. Synthesis of stereo multiblock polylactides by dual terminal couplings of poly-L-lactide and poly-D-lactide prepolymers: A new route to high-performance polylactides. **Polymer**, v. 53, n. 26, p. 6053–6062, 2012.

MEDEIROS, G. R., FERREIRA, S. R. S., CARCIOFI, B. A. M. High pressure carbon dioxide for impregnation of clove essential oil in LLDPE films. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 41, p. 206–215, 2017.

MEDEIROS, G. R., GUIMARÃES, C., FERREIRA, S. R. S., CARCIOFI, B. A. M. Thermomechanical and transport properties of LLDPE films impregnated with clove essential oil by high-pressure CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v.139, p. 8–18, 2018.

MEGHWAL, M.; GOSWANMI, T. Piper nigrum e piperina: uma atualização. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 8, p. 1121-1130, 2013.

MENDES, A. C., PEDERSEN, G. A. Perspectives on sustainable food packaging: Is bio-based plastics a solution? **Trends in Food Science & Technology**, v. 112, p. 839–846, 2021.

MENON, A. N., PADMAKUMARI, K. P., JAYALEKSHMY, A., GOPALAKRISHNAN, M., NaRAYANAN, C. S. Essential oil composition of four popular indian cultivars of black pepper (*piper nigrum* L.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 4, p. 431–434, 2000.

MIKOS, A. G., LYMAN, M. D., FREED, L. E., LANGER, R. Wetting of poly(L-lactic acid) and poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams for tissue culture. **Biomaterials**, v. 15, n. 1, p. 55–58, 1993.

MILOVANOVIC, S., HOLLERMANN, G., ERRENST, C., PAJNIK, J., FRERICH, S., KROLL, S. Supercritical CO₂ impregnation of PLA/PCL films with natural substances for bacterial growth control in food packaging. **Food Research International**, v. 107, p. 486–495, 2018.

MILOVANOVIC, S., JANKOVIC-CASTVAN, I., IVANOVIC, J., ZIZOVIC, I. Effect of starch xero-and aerogels preparation on the supercritical CO₂ impregnation of thymol. *Starch Staerke*, v. 67, n. 1–2, p. 174–182, 2015.

MILOVANOVIC, S., STAMENIC, M., MARKOVIC, D., RADETIC, M., ZIZOVIC, I. Solubility of thymol in supercritical carbon dioxide and its impregnation on cotton gauze. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.84, p. 173–181, 2013.

MILTZ, J., RAM, A., NIR, M. M. Prospects for application of post-consumer used plastics in food packaging. **Food Additives and Contaminants**, v. 14, n. 6–7, p. 649–659, 1997.

MIRANDA-VILLA, P. P., GAÑÁN, N. A., MARTINI, R. E., GOÑI, M. L. Supercritical CO₂-assisted impregnation of polylactic acid films with R-carvone: Effect of processing on loading, mass transfer kinetics, and final properties. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 61, 2022.

MONÇÃO, C. E., BRANDÃO GRISI, C. V., MOURA FERNANDES, J., Souza, P. S., SOUZA, A. L. Active packaging for lipid foods and development challenges for marketing. **Food Bioscience**, v. 45, n. 101370, 2022.

MUSIOL, M., SIDORSKA, W., JANECZEK, H., WALACH, W., HERCOG, A., JOHNSTON, B., RYDZ, J. (Bio)degradable polymeric materials for a sustainable future – part 1. Organic recycling of PLA/PBAT blends in the form of prototype packages with long shelf-life. **Waste Management**, v. 77, p. 447–454, 2018.

MUSTAPA, A. N., MARTIN, A., SANZ-MORAL, L. M., RUEDA, M., COCERO, M. J. Impregnation of medicinal plant phytochemical compounds into silica and alginate aerogels. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 116, p. 251–263, 2016.

NAGARAJAN, V., MOHANTY, A. K., MISRA, M. Perspective on Polylactic Acid (PLA) based Sustainable Materials for Durable Applications: Focus on Toughness and Heat Resistance. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 6, p. 2899–2916, 2016.

NAGAVEKAR, N., SINGHAL, R. S. Enhanced extraction of oleoresin from *Piper nigrum* by supercritical carbon dioxide using ethanol as a co-solvent and its bioactivity profile. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n. 1, p. 1–12, 2018.

NAVARRE, N., MOGOLLÓN, J. M., TUKKER, A., BARBAROSSA, V. Recycled plastic packaging from the Dutch food sector pollutes Asian oceans. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 185, 2022.

NGUYEN, H. L., TRAN, T. H., HAO, L. T., JEON, H., KOO, J. M., SHIN, G., HWANG, D. S., HWANG, S. Y., PARK, J., OH, D. X. Biorenewable, transparent, and oxygen/moisture barrier nanocellulose/nanochitin-based coating on polypropylene for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 271, n. 118421, 2021.

NLM. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Pubchem**. Disponível em <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Piperine>. Acesso em: 30 jul. 2023.

NOFAR, M., ZHU, W., PARK, C. B. Effect of dissolved CO₂ on the crystallization behavior of linear and branched PLA. **Polymer**, v. 53, n. 15, 3341–3353, 2012.

OLIVEIRA, N. S., DORGAN, J., COUTINHO, J. A. P., FERREIRA, A., DARIDON, J. L., MARRUCHO, I. M. Gas solubility of carbon dioxide in poly(lactic acid) at high pressures. **Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics**, v. 44, n. 6, p. 1010–1019, 2006.

ORGANIZAÇÃO das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. FAO. FAOSTAT. Crops. 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data> Acesso em: 18 nov. 2021.

PAJNIK, J., LUKIĆ, I., DIKIĆ, J., ASANIN, J., GORDIC, M., MISIC, D. Application of supercritical solvent impregnation for production of zeolite modified starch chitosan polymers with antibacterial properties. **Molecules**, v. 25, n. 20, 2020.

PANDELE, A. M., CONSTANTINESCU, A., RADU, I. C., MICULESCU, F., VOICU, S. I., CIOCAN, L. T. Synthesis and characterization of PLA-micro-structured hydroxyapatite composite films. **Materials**, v. 13, n. 2, 2020.

PANNU, N., BHATNAGAR, A. Combinatorial therapeutic effect of resveratrol and piperine on murine modelo f systemic lúpus erythematosus. **Inflammopharmacology**, v. 28, n. 2, p. 401-424, 2019.

PARISOTTO, D., MALSAM, J., SCHEUTZOW, A., KRAUSE, J. M., SOLLNER, T. H. Snarepin assembly by Munc18-1 requires previous vesicle docking by synaptotagmin 1. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 37, p. 31041–31049, 2012.

PASTOR, C., SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., CHIRALT, A., CHÁFER, M., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Physical and antioxidant properties of chitosan and methylcellulose based films containing resveratrol. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 272–280, 2013.

PERAKIS, C., LOULI, V., MAGOULAS, K. Supercritical fluid extraction of black pepper oil. **Journal of Food Engineering**, v. 71, n. 4, p. 386–393, 2005.

PETER, K. V. Handbook of herbs and spices, v.3, 2006.

PERAKIS, F., MARCO, L. DE, SHALIT, A., TANG, F., KANN, Z. R., KÜHNE, T. D., TORRE, R., BONN, M., NAGATA, Y. Vibrational Spectroscopy and Dynamics of Water. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 13, p.p. 7590–7607, 2016.

PILLIN, I., MONTRELAY, N., GROHENS, Y. Thermo-mechanical characterization of plasticized PLA: Is the miscibility the only significant factor? **Polymer**, v. 47, n. 13, p. 4676–4682, 2006.

PIRES, A. L. R. **Desenvolvimento de dispositivos flexíveis densos e porosos visando a liberação controlada de compostos bioativos extraídos de plantas para potencial aplicação em lesões de pele.** 2017. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2017.

PRASAD, P., KOCHHAR, A. Active Packaging in Food Industry: A Review. **IOSR Journal of Environmental Science**, v. 8, n. 5, 2014.

PRIYA, S., BATRA, U., SAMSHRITHA, R. N., SHARMA, S., CHAURASIYA, A., SINGHVI, G. Polysaccharide-based nanofibers for pharmaceutical and biomedical applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 218, p. 209–224, 2022.

QIN, Y., LI, W., LIU, D., YUAN, M., LI, L. Development of active packaging film made from poly (lactic acid) incorporated essential oil. **Progress in Organic Coatings**, v. 103, p. 76–82, 2017.

QIN, Y., WANG, Y., WU, Y., ZHANG, Y., Li, H., YUAN, M. Effect of Hexadecyl Lactate as Plasticizer on the Properties of Poly (l-lactide) Films for Food Packaging Applications. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 23, n. 3, p. 374–382, 2015.

QUILAQUEO, M., MILLAO, S., LUZARDO-OCAMPO, I., CAMPOS-VEGA, R., ACEVEDO, F., SHENE, C., RUBILAR, M. Inclusion of piperine in β -cyclodextrin complexes improves their bioaccessibility and in vitro antioxidant capacity. **Food Hydrocolloids**, v. 91, p. 143–152, 2019.

QUINTAVALLA, S., VICINI, L. (2002). Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, v. 62, n. 3, p. 373–380 apud Selvamuthukumar, M. Active packaging for various food applications. New York: **CRC Press**, 2022.

RADOVIC, M., ADAMOVIC, T., PAVLOVIC, J., RUSMIROVIC, J., TADIC, V., BRANKOVIC, Z. Supercritical CO₂ impregnation of gelatin-chitosan films with clove essential oil and characterization thereof. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**, v. 25, n. 2, p. 119–130, 2019.

RAPA, M., NITA, R. N. D., VASILE, C. Influence of plasticizers over some physico-chemical properties of PLA. **Materiale Plastice**, v. 54, n. 1, p. 73–78, 2017.

RAVINDRAN, P. N. Black pepper: *Piper nigrum*, 2000.

REBELATTO, E. A., BENDER, J. P., CORAZZA, M. L., FERREIRA, S. R. S., OLIVEIRA, V, J., LANZA, M. High-pressure phase equilibrium data for the (carbon dioxide + L-lactide + ethanol) system. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 86, p. 37–42, 2015.

REGUBALAN, B., MANIBALAN, S. Pandit, P. Polyglycolic acid-based bionanocomposites for food packaging applications. **Bionanocomposites for Food Packaging Application**, p. 153-164, 2022.

REGULAMENTO DELEGADO DA COMISSÃO (UE) no 1363/2013. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R1363&from=PL>. Acesso em 31 ago. 2023.

REN, J. Biodegradable poly (lactic acid). Synthesis, modification, processing and applications, 2010.

REN, Q., WU, M., WENG, Z., ZHU, X., LI, W., HUANG, P., WANG, L., ZHENG, W., OHSHIMA, M. Promoted formation of stereocomplex in enantiomeric poly(lactic acid)s induced by cellulose nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 276, 2022.

RESTUCCIA, D., SPIZZIRRI, U. G., PARISI, O. I., CIRILLO, G., CURCIO, M., LEMMA, F. New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. **Food Control**, v. 21, n.11, p. 1425–1435, 2010.

RHIM, J. W. Mechanical and water barrier properties of biopolyester films prepared by thermo-compression. **Food Science and Biotechnology**, v. 16, n. 1, p. 62–66, 2007.

RHIM, J. W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. **Food Science and Biotechnology**, v. 37, n. 3, p. 323-330, 2004.

ROBERTSON, G. L. The paper beverage carton: Past and future. **Food Technology**, v. 56, p. 46–52, 2002.

ROJAS, A., TORRES, A., GALOTTO, J, M., GUARDA, A., JULIO, R. Supercritical impregnation for food applications: A review of the effect of the operational variables on the active compound loading. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 8, p. 1290–1301, 2020.

ROOPA, H. PANGHAL, A., KUMARI, A., CHHIKARA, N. SEHGAL, E. RAWAT, K. Active Packaging in Food Industry. **Novel Technologies in Food Science**. P. 375-404, 2023.

ROSALES, J. M., CEJUDO, C., VERANO, L., CASAS, L., MANTELL, C., MARTÍNEZ de la Ossa, E. J. Supercritical impregnation of pla filaments with mango leaf extract to manufacture functionalized biomedical devices. **Polymers**, v. 13, n. 13, 2021.

ROY, S., RHIM, J. W. Starch/agar-based functional films integrated with enoki mushroom-mediated silver nanoparticles for active packaging applications. **Food Bioscience**, 49, 2022.

SADEGHI, S. KARIMI, M., RADFAR, I., GAVINEHROUDI, R.G., SABERI, D., HEYDARI, A. Efficient strategy for interchangeable roles in a green and sustainable redox catalytic system: IL/Pd^{II}-decorated SBA-15 as a mesoporous nanocatalyst. **New Journal of Chemistry**, v. 45, p. 6682 – 6692, 2021.

SADY, S., BŁASZCZYK, A., KOZAK, W., BORYŁO, P., SZINDLER, M. Quality assessment of innovative chitosan-based biopolymers for edible food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 30, 2021.

SALIM, M. H., KASSAB, Z., ABDELLAOUI, Y., GARCÍA- CRUZ, A., SOUMARE, A., ABLOUH, HOUSSAINE, E., EL ACHABY, M. Exploration of multifunctional properties of garlic skin derived cellulose nanocrystals and extracts incorporated chitosan biocomposite films for active packaging application. **International Journal of Biological Macromolecules**, 210, p. 639–653, 2022.

SALZER, U. J.; FURIA, T. E. The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from sesonings – A critical review. **Food Science and Nutrition**, 1977.

SAND, M. L. Method for impregnating a thermoplastic polymer. U.S. Patent, 4.598, 006, 1986.

SARJDAN, M. M. A., AZLAN, A., RAZAK, F. A. Structural, morphological, optical, and photoluminescence properties of piperine thin films deposited by spin-coating technique. **Materials Letters**, v. 302, n. 130357, 2021.

SATO, S., GONDO, D., WADA, T., KANEHASHI, S., NAGAI, K. Effects of various liquid organic solvents on solvent-induced crystallization of amorphous poly(lactic acid) film. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 129, n. 3, p. 1607–1617, 2013.

SEQUELA, R., RIETSCH, F. Tensile drawing behaviour of a linear low-density polyethylene: Changes in physical and mechanical properties. **Polymer**, v. 27, p. 4, p. 532–536, 1986.

SELVAMUTHUKUMARAN, M. Active packaging for various food applications (p. 215). New York: **CRC Press**, 2022.

SEPULVEDA, J., VILLEGAS, C., TORRES, A., VARGAS, E., RODRIGUEZ, F., BALTAZAR, S. Effect of functionalized silica nanoparticles on the mass transfer process in active PLA nanocomposite films obtained by supercritical impregnation for sustainable food packaging. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 161, 2020.

SHAHBAZI, Y. The properties of chitosan and gelatin films incorporated with ethanolic red grape seed extract and Ziziphora clinopodioides essential oil as biodegradable materials for active food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, 99, p. 746–753, 2017.

SHANGO, A. J., MKOJERA, B. T., MAJUBWA, R. O., MAMIRO, D. P., MAERERE, A. P. Pre-And postharvest factors affecting quality and safety of Pepper (*Piper nigrum* L.). **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 16, n. 31, 2021.

SHITYAKOV, S., BIGDELIAN, E., HUSSEIN, A. A., HUSSAIN, M. B., TRIPATHI, Y. C., KHAN, M. U., SHARIATI, M. A. Phytochemical and pharmacological attributes of piperine: A bioactive ingredient of black pepper. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 176, p. 149–161, 2019.

SILVA, T. S. N.; MACHADO, D. C.; VIEZZER, C.; JÚNIOR, A. N. S.; OLIVEIRA, M. G. Effect of titanium surface roughness on human bone marrow cell proliferation and differentiation. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 24, n. 3, 2009.

SIMMONS, H., TIWARY, P., COLWELL, J. E., KONTOPOULOU, M. Improvements in the crystallinity and mechanical properties of PLA by nucleation and annealing. **Polymer Degradation and Stability**, v. 166, p. 248–257, 2019.

SISKOVÁ, A. O., MOSNACKOVÁ, K., MUSIOL, M., OPÁLEK, A., BUCKOVÁ, M., RYCHTER, P., ANDICSOVÁ, A. E. Electrospun Nisin-Loaded Poly(ϵ -caprolactone)-Based Active Food Packaging. **Materials**, v. 15, n.13, 2022.

SOUZA, A. C., DIAS, A. M. A., SOUSA, H. C., TADINI, C. C. Impregnation of cinnamaldehyde into cassava starch biocomposite films using supercritical fluid technology for the development of food active packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 830–837, 2014.

SRINIVASAN, K. Black pepper and its pungent principle-piperine: A review of diverse physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n.8, p. 735–48, 2007.

SUN, X., YANG, S., XUE, B., HUO, K., LI, X., TIAN, Y., LIAO, X., XIE, L., QIN, S., XU, K., ZHENG, Q. Super-hydrophobic poly (lactic acid) by controlling the hierarchical structure and polymorphic transformation. **Chemical Engineering Journal**, v. 397, 2020.

TAIB, N. A. A. B., RAHMAN, M. R., HUDA, D., KUOK, K. K., HAMDAN, S., BAKRI, M. K. bin, JULAIHIL, M. R. M. KHAN, A. A review on poly lactic acid (PLA) as a biodegradable polymer. **Polymer Bulletin**, v. 80, n. 2, p. 1179–1213, 2023.

TAKOOREE, H., AUMEERUDDY, M. Z., RENGASAMY, K. R. R., VENUGOPALA, K. N., JEEWON, R., ZENGIN, G., MAHOMOODALLY, M. F. A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): from folk uses to pharmacological applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 210–243, 2019.

TAO, R., SEDMAN, J., ISMAIL, A. Characterization and in vitro antimicrobial study of soy protein isolate films incorporating carvacrol. **Food Hydrocolloids**, v. 122, n. 107091, 2022.

TIAN, F., DECKER, E. A., GODDARD, J. M. Control of lipid oxidation by nonmigratory active packaging films prepared by photoinitiated graft polymerization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 31, p. 7710–7718, 2012.

TIPSRISUKOND, N., FERNANDO, L. N., CLARKE, A. D. Antioxidant Effects of Essential Oil and Oleoresin of Black Pepper from Supercritical Carbon Dioxide Extractions in Ground Pork. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4329–4333, 1998.

TIWARI, A., MAHADIK, K. R., GABHE, S. Y. Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification, and biological properties. **Medicine in Drug Discovery**, v. 7, n. 100027, 2020.

TORRES, A., ILABACA, E., ROJAS, A., RODRÍGUEZ, F., GALLOTO, M. J., GUARDA, A., VILLEGAS, C., ROMERO, J. Effect of processing conditions on the physical, chemical and transport properties of polylactic acid films containing thymol incorporated by supercritical impregnation. **European Polymer Journal**, v. 89, p. 195–210, 2017.

TORRES, A., ROMERO, J., MACAN, A., GUARDA, A., GALOTTO, M. J. Near critical and supercritical impregnation and kinetic release of thymol in LLDPE films used for food packaging. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 85, p. 41–48, 2014.

TSUJI, H., OKINO, R., DAIMON, H., FUJIE, K. Water vapor permeability of poly(lactide)s: Effects of molecular characteristics and crystallinity. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 99, n. 5, p. 2245–2252, 2006.

TSUJI, H., TAKAI, H., SAHA, S. K. Isothermal and non-isothermal crystallization behavior of poly(L-lactic acid): Effects of stereocomplex as nucleating agent. **Polymer**, v. 47, n. 11, p. 3826–3837, 2006.

TUNÇ S., DUMAN, O. Preparation of active antimicrobial methyl cellulose/carvacrol/montmorillonite nanocomposite films and investigation of carvacrol release. **LWT**, v. 44, n. 2, p. 465–472, 2011.

TVERDOKLEBOV, S. I., BOLBASOV, E. N., SHESTERIKOV, E. V., ANTONOVA, L. V., GOLOVKIN, A. S., MATVEEVA, V. G., PETLIN, D. G., ANISSIMOV, Y. G. Modification of polylactic acid surface using RF plasma discharge with sputter deposition of a hydroxyapatite target for increased biocompatibility. **Applied Surface Science**, v. 329, p. 32–39, 2015.

UNITED NATIONS. **World population prospects: summary of results**. Disponível em: <https://www.un.org/development/desa/pd/content/World-Population-Prospects-2022ls>. Acesso em: 01 ago. 2023.

UE UNIÃO EUROPÉIA. **Regulamento (UE) n° 10/2011 da Comissão relativo aos materiais e objetos de matéria plástica destinados a entrar em contato com os alimentos**. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02011R0010-20190829&from=EN>. Acesso em: 13 jun. 2023.

VIDAL, C. P., VELÁSQUEZ, E., GALOTTO, M. J., LÓPEZ DE DICASTILLO, C. Antimicrobial food packaging system based on ethyl lauroyl arginate-loaded core/shell electrospun structures by using hydrophilic and hydrophobic polymers. **Polymer Testing**, v. 93, 2021.

VILELA, C., KUREK, M., HAYOUKA, Z., ROCKER, B., YILDIRIM, S., ANTUNES, M. D. C. A concise guide to active agents for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 80, p. 212–222, 2018.

VILLEGAS, C., ARRIETA, M. P., ROJAS, A., TORRES, A., FABIA, S., TOLEDO, M. J. PLA/organoclay bionanocomposites impregnated with thymol and cinnamaldehyde by supercritical impregnation for active and sustainable food packaging. **Composites Part B: Engineering**, v. 176, 2019.

VILLEGAS, C., TORRES, A., RIOS, M., ROJAS, A., ROMERO, J., DICASTILLO, C. L. Supercritical impregnation of cinnamaldehyde into polylactic acid as a route to develop antibacterial food packaging materials. **Food Research International**, v. 99, p. 650–659, 2017.

VISHVNATH, G., K, J. U. Quantitative analysis of piperine in ayurvedic formulation by UV Spectrophotometry. **International Journal of Pharma Sciences and Research**, v. 2, n. 2, 2011.

VOGLER, E. A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 75, p. 69 – 117, 1998.

VRENTAS, J. S.; DUDA, J. L. Diffusion in polymer–solvent systems. III. Construction of Deborah number diagrams. **Polymer Physics**, 1977.

WOOD, A. B.; BARROW, M. L.; JAMES, D. J. Piperine determination in pepper (*Piper nigrum* L.) and its oleoresins—a reversed-phase high-performance liquid chromatographic method. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 3, p. 55-64, 1988.

WORAPRAYOTE, W., KINGCHA, Y., AMONPHANPOKIN, P., KRUEENATE, J., ZENDO, T., SONOMOTO, K., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W. Anti-listeria activity of poly (lactic acid)/sawdust particle biocomposite film impregnated with pediocin PA-1/AcH and its use in raw sliced pork. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, n. 2, p. 229–235, 2013.

WU, F., ZHOU, Z., LI, N., CHEN, Y., ZHONG, L., LAW, W. C. Development of poly(vinyl alcohol)/starch/ethyl lauroyl arginate blend films with enhanced antimicrobial and physical properties for active packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 192, p. 389–397, 2021.

XIAO, H. W., LI, P., REN, X., JIANG, T., YEH, J. T. Isothermal crystallization kinetics and crystal structure of poly(lactic acid): Effect of triphenyl phosphate and talc. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 118, n.6, p. 3558–3569, 2010.

XU, J. B., BARTLEY, J. P., JOHNSON, R. A. Preparation and characterization of alginate-carrageenan hydrogel films crosslinked using a water-soluble carbodiimide (WSC). **Journal of Membrane Science**, v. 218, p. 131–146, 2003.

YAN, M. R., HSIEH, S., RICACHO, N. Innovative Food Packaging, Food Quality and Safety, and Consumer Perspectives. *Processes*, v. 10, n. 4. **MDPI**, 2022.

YU, J., TANG, C., GUAN, Y., YAO, S., ZHU, Z. Sorption and Diffusion Behavior of Carbon Dioxide into Poly (l-lactic acid) Films at Elevated Pressure. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 11, p. 1296-1302, 2013.

ZACTITI, E. M., KIECKBUSCH, T. G. Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 3, p. 462–467, 2006.

ZARAI, Z., BOUJELBENE, E., BEN SALEM, N., GARGOURY, Y., SAYARI, A. Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. **LWT**, v. 50, n.2, p. 634–641, 2013.

ZENKIEWICZ, M., RICHERT, J. Permeability of polylactide nanocomposite films for water vapour, oxygen and carbon dioxide. **Polymer Testing**, v. 27, n. 7, p. 835–840, 2008.

ZHANG, X.; GOOSEN, M.; WYSS, U. P.; PICHORA, D. J. *Macromol. Sci., Rev. Macromol. Chem. Phys*, C33 (1), v. 81, 1993.

ZHANG, Y., STURTEVANT, B., STOLPER, E. M. Dynamics of gas-driven eruptions: Experimental simulations using CO₂-H₂O-polymer system. **Journal of Geophysical Research**, v. 102, p. 3077-3096, 1997.

ZHANG, W., LU, P., QIAN, L., & XIAO, H. Fabrication of superhydrophobic paper surface via wax mixture coating. **Chemical Engineering Journal**, v. 250, p. 431–436, 2014.

ZHOU, D., SHAO, J., Li, G., SUN, J., BIAN, X., CHEN, X. Crystallization behavior of PEG/PLLA block copolymers: Effect of the different architectures and molecular weights. **Polymer**, v. 62, p. 70–76, 2015.

APÊNDICE A – Capacidade antioxidante da piperina e extrato de pimenta-do-reino

Tabela A.1- Absorbância (nm) e capacidade antioxidante (AA%) de filmes de PLLA impregnados com piperina e pimenta-do-reino sem e com 5% de cossolvente

Amostras	24h		96h	
	A _(517 nm)	AA (%)	A _(517 nm)	AA (%)
PLLA puro	0,5145	4,645 ^b ± 1,730	0,3979	9,814 ^b ± 1,609
PLLA + PP	0,5084	1,185 ^b ± 0,636	0,3511	20,421 ^b ± 1,394
PLLA + PP + 5% EtOH	0,2526	50,903 ^a ± 1,559	0,1557	64,709 ^a ± 1,479
PLLA + EPR	0,2407	53,216 ^a ± 1,427	0,1207	72,642 ^a ± 1,811
PLLA + EPR + 5% EtOH	0,0831	83,848 ^a ± 1,555	0,1065	75,861 ^a ± 0,858

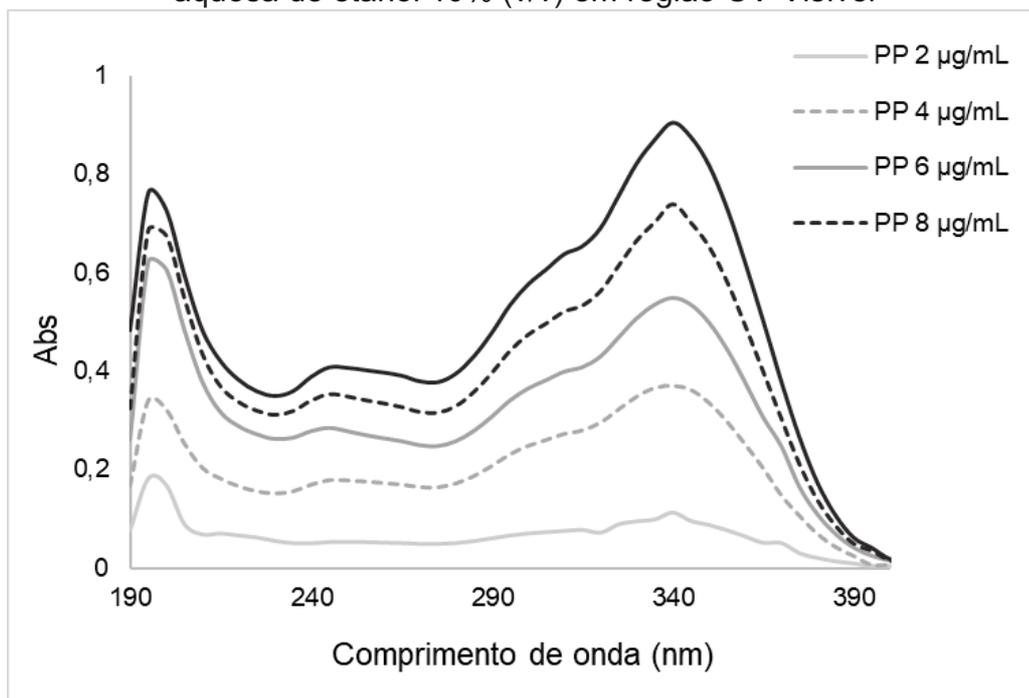
Letras iguais indicam que não há diferença estatística entre os valores ($p < 0,05$).

Fonte: elaborado pela autora (2023).

APÊNDICE B - Curvas de calibração

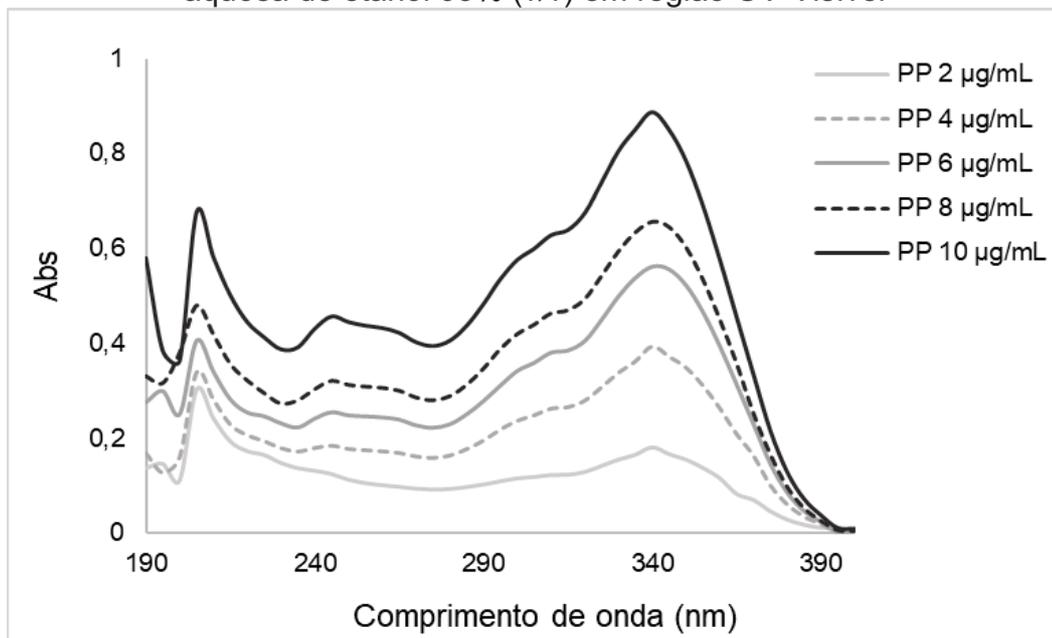
B.1 Varredura de comprimento de onda de piperina em solução aquosa de etanol 10% (v/v).

Figura B.1. Varredura de comprimento de onda de extrato da piperina em solução aquosa de etanol 10% (v/v) em região UV-Visível



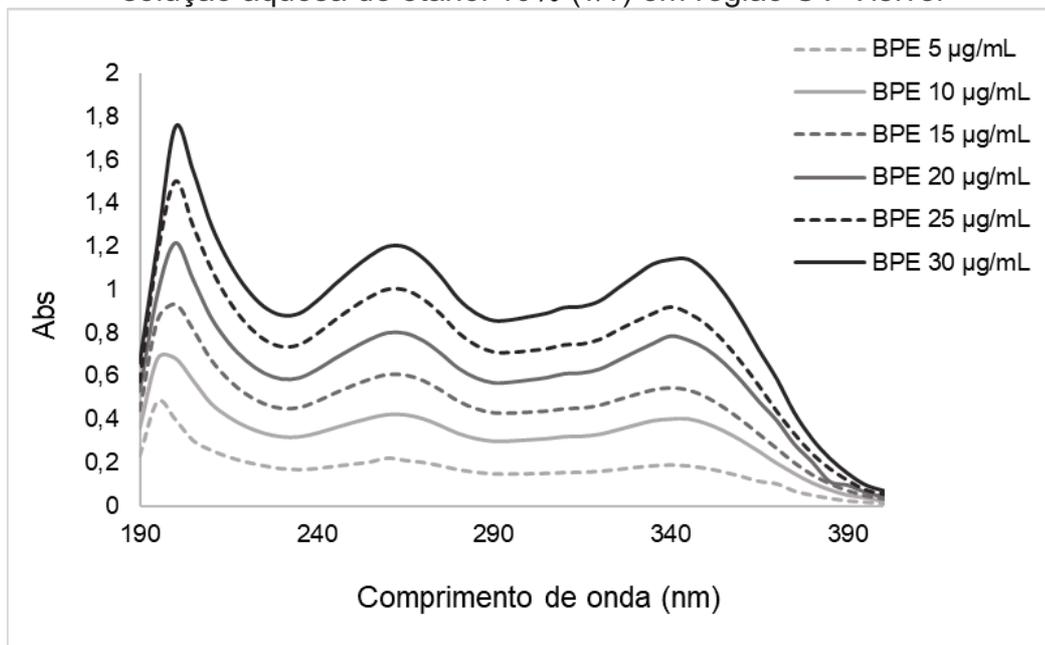
B.2. Varredura de comprimento de onda da piperina em solução aquosa de etanol 95% (v/v).

Figura B.2. Varredura de comprimento de onda de extrato da piperina em solução aquosa de etanol 95% (v/v) em região UV-Visível



B.3. Varredura de comprimento de onda do extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v).

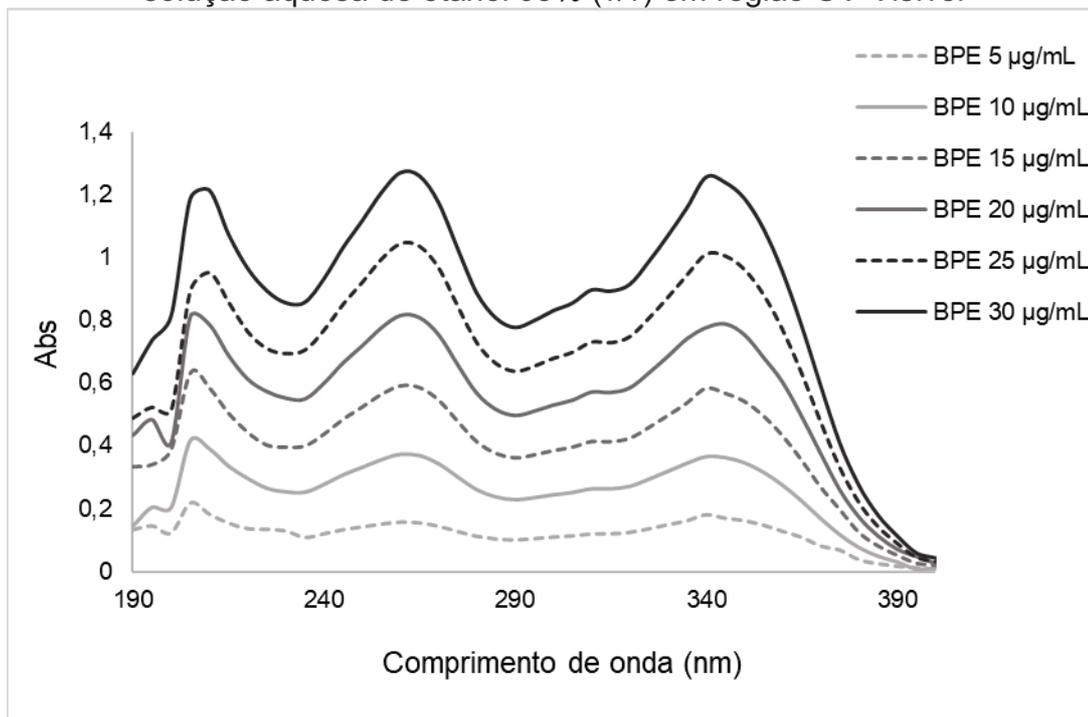
Figura B.3. Varredura de comprimento de onda de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v) em região UV-Visível



Fonte: elaborado pela autora (2023)

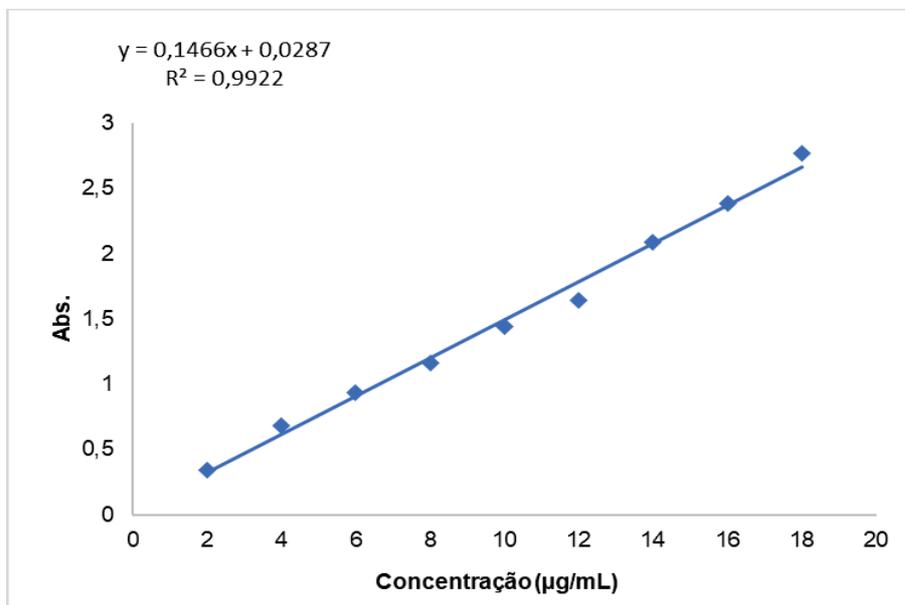
B.4. Varredura de comprimento de onda do extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 95% (v/v).

Figura B.4. Varredura de comprimento de onda de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 95% (v/v) em região UV-Visível



B.5 Curva de calibração de piperina em solução diclorometano:metanol

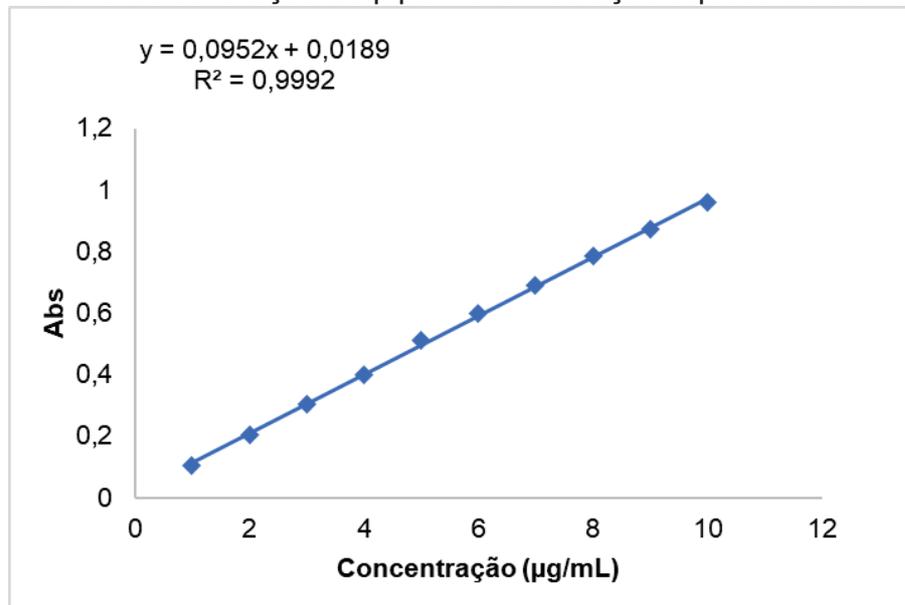
Figura B.5. Curva de calibração de piperina em solução de diclorometano:metanol (v/v)



Fonte: elaborado pela autora (2023)

B.6 Curva de calibração de piperina em solução aquosa de etanol 10% (v/v)

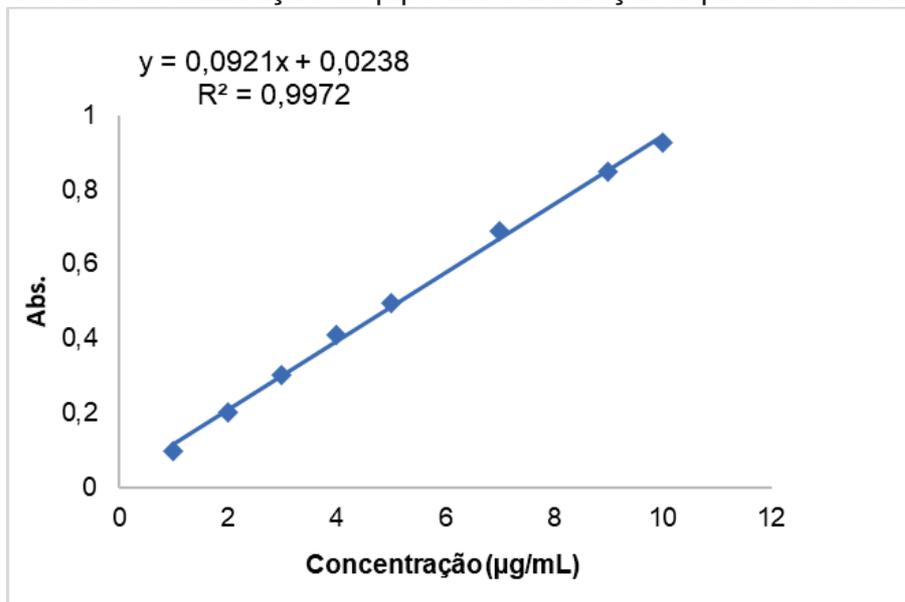
Figura B.6. Curva de calibração de piperina em solução aquosa de etanol 10% (v/v)



Fonte: elaborado pela autora (2023)

B.7 Curva de calibração da piperina em solução aquosa de etanol 95% (v/v)

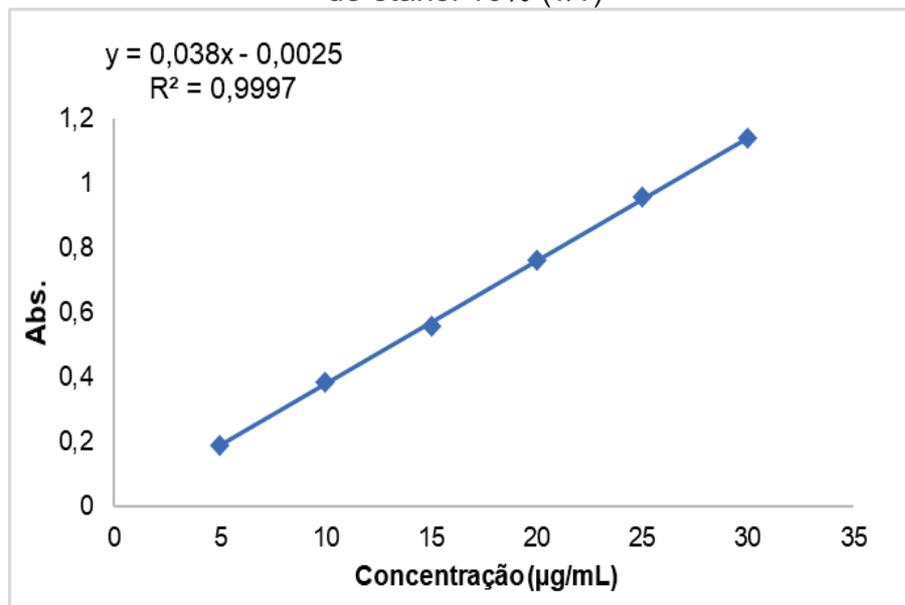
Figura B. 7. Curva de calibração de piperina em solução aquosa de etanol 95% (v/v)



Fonte: elaborado pela autora (2023)

B.8 Curva de calibração de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v)

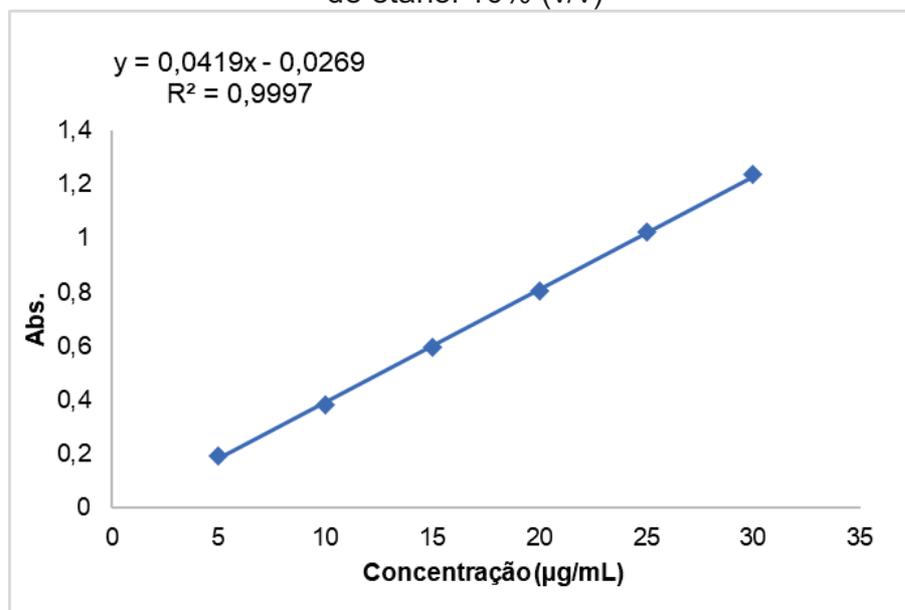
Figura B. 8. Curva de calibração de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v)



Fonte: elaborado pela autora (2023)

B.9 Curva de calibração de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 95% (v/v)

Figura B. 9. Curva de calibração de extrato de pimenta-do-reino em solução aquosa de etanol 10% (v/v)



Fonte: elaborado pela autora (2023)

APÊNDICE C - Migração de PP e EPR em meios simulantes de alimentos

Tabela C.1 - Quantidade liberada de PP e EPR em meios simulantes de etanol 10 e 95% (v/v)

		Migração de piperina e extrato de pimenta-do-reino (%)												
Piperina		Tempo (h)												
Meio simulante	Amostras	1	2	3	4	5	6	7	8	12	24	48	72	96
10% EtOH	PP	-0,5360 ± 0,0019	-0,5393 ± 0,0011	-0,5133 ± 0,0019	-0,5263 ± 0,0016	-0,5296 ± 0,0002	-0,5101 ± 0,0017	-0,5296 ± 0,0012	-0,5555 ± 0,0003	-0,5718 ± 0,0016	-0,5360 ± 0,0031	-0,5198 ± 0,0021	-0,5685 ± 0,0007	-0,5166 ± 0,0014
	PP + 5% EtOH	1,7513 ± 0,043	3,7318 ± 0,1368	5,1185 ± 0,1934	6,3871 ± 0,2469	7,5284 ± 0,2892	8,6269 ± 0,3266	9,5726 ± 0,3634	9,6722 ± 0,3135	11,5513 ± 0,3933	16,6184 ± 0,5789	17,4993 ± 0,4695	17,9299 ± 0,4335	18,5781 ± 0,4375
	95% EtOH	-0,0248 ± 0,0277	0,5054 ± 0,0484	0,6757 ± 0,0540	0,9790 ± 0,0630	1,2415 ± 0,0728	1,5200 ± 0,0782	1,5182 ± 0,0758	1,8623 ± 0,0920	2,8555 ± 0,1145	6,1988 ± 0,1834	16,4629 ± 0,4007	24,6288 ± 0,6576	32,4062 ± 0,8214
	PP + 5% EtOH	38,3517 ± 1,4802	43,7085 ± 1,4373	45,8675 ± 1,2305	48,3070 ± 0,9969	51,3623 ± 0,7043	56,3381 ± 0,2278	58,7171 ± 0	58,7171 ± 0	58,7171 ± 0	58,7171 ± 0	58,7171 ± 0	58,7171 ± 0	58,7171 ± 0
Extrato de pimenta-do-reino														
10% EtOH	EPR	0,0996 ± 0,0019	0,1786 ± 0,0014	0,1985 ± 0,0009	0,2752 ± 0,0046	0,2964 ± 0,0015	0,2885 ± 0,0024	0,2964 ± 0,0031	0,3295 ± 0,0041	0,3798 ± 0,0053	0,5651 ± 0,0074	1,0031 ± 0,0244	4,1186 ± 0,1893	4,1186 ± 0,02885
	EPR + 5% EtOH	14,7151 ± 0,5984	17,8151 ± 0,6936	20,4809 ± 0,7863	23,8103 ± 0,9076	29,0813 ± 1,1139	33,8558 ± 1,3025	38,6516 ± 1,4908	41,3142 ± 1,6104	45,5922 ± 1,7546	50,8452 ± 1,8510	47,9910 ± 1,6209	46,8342 ± 1,5960	50,5634 ± 1,6871
	95% EtOH	5,3433 ± 0,0247	7,7774 ± 0,0329	9,8296 ± 0,0569	11,6224 ± 0,0627	13,4283 ± 0,0709	15,2531 ± 0,0726	16,9162 ± 0,0828	17,6464 ± 0,0386	25,1294 ± 0,0430	48,1527 ± 0,5505	59,5842 ± 1,3063	62,2194 ± 1,4235	75,3154 ± 2,041
	EPR + 5% EtOH	46,6057 ± 0,8016	64,8670 ± 1,1116	84,5099 ± 1,4673	84,5099 ± 1,2377	86,3231 ± 1,8148	85,8505 ± 1,7997	86,6743 ± 1,8164	41,8456 ± 0,6906	40,8315 ± 0,8116	41,3516 ± 0,6545	35,9843 ± 0,5326	35,8203 ± 0,5181	36,4553 ± 0,5224

Fonte: elaborado pela autora (2023)