

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

GIOVANA EDUARDA PEREIRA POVALUK

**AVALIAÇÃO DO USO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO DE β -CICLODEXTRINA
E EUGENOL COMO CONSERVANTE EM PRODUTOS DE CONFEITARIA**

MEDIANEIRA

2025

GIOVANA EDUARDA PEREIRA POVALUK

**AVALIAÇÃO DO USO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO DE β -CICLODEXTRINA
E EUGENOL COMO CONSERVANTE EM PRODUTOS DE CONFEITARIA**

**Evaluation of the use of inclusion complexes of β -cyclodextrin
and eugenol as a preservative in confectionery products**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Licenciado em Química, da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Tainára Orlando

Coorientador(a): Cristiane Canan

MEDIANEIRA

2025



Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

GIOVANA EDUARDA PEREIRA POVALUK

**AVALIAÇÃO DO USO DE COMPLEXOS DE INCLUSÃO DE β -CICLODEXTRINA
E EUGENOL COMO CONSERVANTE EM PRODUTOS DE CONFEITARIA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Licenciado em Química, da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 26 / junho / 2025

Tainára Orlando
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Cristiane Canan
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Róger Borges
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Daniel Walker Tondo
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

MEDIANEIRA

2025

Dedico este trabalho à minha família, por todo esforço e me proporcionar uma base de apoio.

AGRADECIMENTOS

Certamente essas palavras não serão suficientes para lembrar e agradecer a todos que fizeram parte dessa fase tão importante da minha vida. Receio que não seja possível mencionar a todos, e desde já lhes peço desculpas, saibam que cada um de vocês está presente nos meus pensamentos e na minha gratidão.

De início gostaria de agradecer a minha orientadora Prof.^a Dr.^a Tainára Orlando, por sua orientação sábia e constante nesta etapa da minha vida, que além do respeito e admiração profissional que tenho, pude ter ao meu lado alguém para me apoiar e elucidar em decisões particulares futuras.

Para minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Cristiane Canan, retribuo minha gratidão por todos os conhecimentos proporcionados e a disponibilidade de contribuir em áreas não dominadas por mim.

Aos meus colegas de faculdade, em especial ao Cristiano, a Estela e Larissa, com vocês pude dividir minha trajetória acadêmica, compartilhando momentos difíceis e, em grande maioria, momentos de felicidade, apoio e cumplicidade.

A Coordenação do Curso, pela cooperação e incentivo para a realização de todas as etapas da minha formação.

Gostaria de enfatizar, o meu reconhecimento profundo aos meus pais, Simone e Theodozio, e ao meu companheiro Emanuel, pois o apoio, cuidado e amor que sempre me proporcionaram em abundância foram fundamentais para me manter centrada em meu objetivo e sonho.

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte dessa caminhada e contribuíram para a realização desta pesquisa, deixo minha profunda gratidão.

"Os benefícios da ciência não são para os
cientistas, e sim para humanidade!"
(Louis Pasteur)

RESUMO

A utilização de aditivos sintéticos na indústria alimentícia desempenha um papel fundamental na conservação dos alimentos e na melhoria de suas características sensoriais. No entanto, alguns desses compostos estão associados a efeitos adversos à saúde, o que tem estimulado a busca por alternativas naturais que ofereçam segurança aos consumidores sem comprometer as propriedades desejáveis dos produtos. Neste trabalho, avaliou-se o uso de um complexo de inclusão formado por β -ciclodextrina e eugenol, com potencial aplicação como conservante natural para produtos de confeitaria. A síntese do complexo foi realizada pelo método de coprecipitação, conhecido por sua simplicidade e viabilidade em escala industrial. Avaliado o potencial antioxidante e antimicrobiano com aplicação em produto de confeitaria. Houve formação de um complexo de inclusão entre a β -ciclodextrina e eugenol, confirmada pelas análises de espectroscopia UV-Vis e FTIR. O complexo **β CD/EUG** apresentou cor branca, odor característico, 76% de rendimento, capacidade de sequestro de radicais livres de 1:1, para o complexo e o óleo em sua forma pura, indicando que o encapsulamento não reduz as propriedades do eugenol. Ensaio antimicrobianos demonstraram que o complexo sintetizado apresenta eficácia antifúngica, inibindo o crescimento de fungos por até 17 dias na concentração de 2M, contribuindo para a conservação dos alimentos e sugerindo a possibilidade de substituição de aditivos sintéticos. Dessa forma, comprovou-se que a β -ciclodextrina, atua como agente encapsulante, protegendo o eugenol e estabilizando suas propriedades funcionais, além de que a pesquisa reforça a importância do desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e seguras na área de alimentos, promovendo a saúde do consumidor e atendendo às exigências do mercado atual.

Palavras-chave: β -ciclodextrina; eugenol; complexo de inclusão; aditivo alimentar.

ABSTRACT

The use of synthetic additives in the food industry plays a key role in food preservation and improving sensory characteristics. However, some of these compounds are associated with adverse health effects, which has stimulated the search for natural alternatives that offer safety to consumers without compromising the desirable properties of the products. In this study, we evaluated the use of an inclusion complex formed by β -cyclodextrin and eugenol, with potential application as a natural preservative for confectionery products. The complex was synthesized using the coprecipitation method, known for its simplicity and feasibility on an industrial scale. Evaluated antioxidant and antimicrobial potential with application in confectionery products. An inclusion complex was formed between β -cyclodextrin and eugenol, confirmed by UV-Vis and FTIR spectroscopy analyses. The **β CD/EUG** complex had a white color, characteristic odor, 76% yield, and 1:1 free radical scavenging capacity for the complex and the oil in its pure form, indicating that encapsulation does not reduce the properties of eugenol. Antimicrobial tests demonstrated that the synthesized complex has antifungal efficacy, inhibiting fungal growth for up to 17 days at a concentration of 2M, contributing to food preservation and suggesting the possibility of replacing synthetic additives. Thus, it has been proven that β -cyclodextrin acts as an encapsulating agent, protecting eugenol and stabilizing its functional properties. In addition, the research reinforces the importance of developing sustainable and safe technologies in the food sector, promoting consumer health and meeting the demands of the current market.

Keywords: β -cyclodextrin; eugenol; inclusion complex; food additive.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Visão superior da estrutura da β -Ciclodextrina.....	19
Figura 2 - Estrutura molecular do eugenol	21
Figura 3 - Síntese do complexo β CD/EUG	27
Figura 4 - Etapas finais da síntese do complexo.....	32
Figura 5 - Espectro infravermelho de β CD, EUG E β CD/EUG.....	33
Figura 6 - Espectro UV-Vis de β CD, EUG E β CD/EUG.....	35
Figura 7 - Termograma TGA de β CD, EUG E β CD/EUG	36
Figura 8 - Termograma DSC de β CD, EUG E β CD/EUG	38
Figura 9 - Absorbâncias da análise de DPPH da amostra de EUG	40
Figura 10 - Absorbâncias da análise de DPPH da amostra de β CD/EUG	41
Figura 11 - Curva cinética do %DPPHSc de β CD/EUG e EUG	42
Figura 12 - Acompanhamento visual do crescimento fúngicos nos bolos.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diluição das amostras DPPH.....	29
Tabela 2 - Receita do bolo	30
Tabela 3 - Contagem de bolores e leveduras (UFC/g) das amostras de bolos .	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD	Ciclodextrina
βCD	β -Ciclodextrina
βCD/EUG	Complexo β -Ciclodextrina e Eugenol
DPPH	Método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)
EUG	Eugenol
RIC ₅₀	Concentração Inibitória Relativa
scCO ₂	Dióxido de Carbono supercrítico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1	Aditivos alimentares	16
3.2	Conservantes	17
3.2.1	Antioxidantes	18
3.2.2	Antimicrobianos	19
3.3	Ciclodextrinas	19
3.4	Eugenol	21
3.5	Complexos de inclusão	22
3.6	Complexos de inclusão de ciclodextrinas e óleos essenciais	23
3.7	Método de síntese dos complexos de inclusão	24
3.8	Métodos de caracterização química dos complexos de inclusão	25
4	METODOLOGIA	27
4.1	Síntese do complexo de inclusão	27
4.2	Caracterização dos complexos sintetizados	28
4.2.1	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .	28
4.2.2	Espectroscopia de UV-Vis.....	28
4.2.3	Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	28
4.3	Avaliação da atividade antioxidante	28
4.4	Preparação do bolo	29
4.5	Avaliação da atividade antifúngica	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1	Síntese do complexo βCD/EUG	32
5.2	Caracterização do complexo βCD/EUG	33
5.2.1	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .	33
5.2.2	Espectroscopia de UV-Vis.....	34
5.2.3	Análise termogravimétrica (TGA)	36
5.2.4	Análise por calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	37
5.3	Caracterização da atividade antioxidante	39

5.4	Produção do bolo	43
5.5	Avaliação visual do potencial antifúngico	43
5.6	Avaliação microbiológica dos bolos	45
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
	REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

Os aditivos sintéticos utilizados na produção de alimentos, consumidos no cotidiano, apresentam grande valor econômico. Substâncias aplicadas na fabricação de produtos podem conferir melhores texturas, sabores, coloração, qualidade nutricional e estabilidade dos ingredientes e do produto. Além disso, possuem propriedades capazes de prolongar o tempo de prateleira (*shelf-life*), contribuindo para a conservação dos alimentos em condições adequadas ao consumo humano, com destaque para propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Russell; Gould, 2003; Vaclavik; Christian, 2014).

Entretanto, muitos dos aditivos utilizados no setor alimentício são associados a problemas de saúde e apresentam toxicidades comprovadas. Em produtos de panificação, como pães, bolos e biscoitos, os principais agentes químicos adicionados durante a produção desses alimentos são conservantes, emulsificantes e antioxidantes (Rego; Vialta; Madi, 2020).

Desta forma, a busca por conservantes que não causem efeitos adversos à saúde torna-se cada vez mais relevante. Conservantes naturais como sal, vinagre, especiarias, mel, açúcar e óleos essenciais podem oferecer propriedades de conservação sem prejudicar a saúde, evitando alergias e reações gastrointestinais (Abdulmumeen *et al.*, 2012; Deshpande; Deshpande, 2017). Entre esses compostos, destacam-se o eugenol e o acetato de eugenila, ambos encontrados no óleo essencial do cravo-da-índia; cujas propriedades antioxidantes e antimicrobianas são documentadas por Silvestri (2010). Esses óleos já foram aplicados como conservantes de alimentos, como relatado por Schorr (2018), que realizou a aplicação de eugenol em maçãs para inibir o crescimento de fungos do gênero *Colletotrichum*, destacando ao final da avaliação, que o eugenol foi um composto que auxiliou no controle deste gênero de microrganismos.

Apesar disso, o eugenol apresenta baixa estabilidade térmica, baixa solubilidade em água e citotoxicidade em doses elevadas (Fujisawa *et al.*, 2002). Com sua instabilidade térmica, pode ocorrer a sua perda em processos que exijam a utilização de temperaturas altas, como no cozimento de alimentos. Assim, a busca por formas de aumentar sua capacidade térmica e melhorar as propriedades desses compostos é uma alternativa para ampliar sua aplicação.

Uma alternativa é utilizar os complexos de inclusão, onde uma molécula hospedeira recebe outra molécula distinta, acoplado ou encapsulando em sua matriz (Bai *et al.*, 2009). A associação desses compostos não exclui as propriedades intrínsecas de cada substância e forma novas propriedades, sendo chamadas de propriedades emergentes. Com isso, as funcionalidades dos compostos se agregam para formar característica diferentes e muitas vezes melhoradas das substâncias originais.

Uma boa opção de molécula hospedeira é a ciclodextrina, devido as suas propriedades físico-químicas, não toxicidade e disposição na formação de complexos de inclusão. Na formação de complexos de inclusão, ela pode melhorar a solubilidade e biodisponibilidade, estabilidade de compostos fotodegradáveis e redução de aromas indesejáveis (Venturini *et al.*, 2008).

Desta forma, a utilização de complexos de inclusão de eugenol em β -ciclodextrina, atribuído de propriedades antimicrobianas e antioxidantes, torna-se uma alternativa viável para conservação de produtos. Com base na demanda e possibilidade apresentada, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação conservante de complexos de inclusão formados por β -ciclodextrina e eugenol, em produtos de confeitaria.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar um complexo de inclusão de β -ciclodextrina contendo eugenol, a fim de avaliar seu potencial uso como conservante em produto de confeitaria, com base em suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

2.2 Objetivos específicos

- a) Sintetizar o complexo de inclusão entre β -ciclodextrina e eugenol por meio do método de co-precipitação;
- b) Caracterizar o complexo de inclusão sintetizado, por meio técnicas como espectroscopia UV-Vis, espectroscopia no infravermelho (IV), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC);
- c) Avaliar a propriedade antioxidante do complexo sintetizado utilizando o método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila);
- d) Aplicar o complexo de inclusão em produto de confeitaria e avaliar seu potencial antifúngico para a conservação de *cupcakes*;
- e) Realizar análise microbiológica por meio do plaqueamento de amostras obtidas a partir dos produtos tratados;
- f) Comparar a eficácia conservante do complexo com a do eugenol livre.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aditivos alimentares

Aditivos alimentares são substâncias ou misturas adicionadas aos alimentos, durante o processamento e em embalagens. Geralmente permanecem no alimento até o seu consumo, embora alguns possam ser removidos ao longo do processamento. Os principais objetivos do uso de aditivos são: aumentar o valor sensorial dos alimentos (como no caso de corantes, aromas, intensificadores de sabor, estabilizantes), prolongar o prazo de validade (através de antimicrobianos, antioxidantes, espessantes e gelificantes) e facilitar o preparo dos alimentos, conferindo praticidades ao consumidor (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009).

Na indústria de panificação, a utilização de aditivos alimentares é uma prática consolidada, com o objetivo de melhorar a qualidade sensorial, tecnológica e microbiológica dos produtos. A regulação do uso desses aditivos no Brasil é estabelecida pela Instrução Normativa nº 211, de 1º de março de 2023, a qual define as funções tecnológicas, os limites máximos permitidos e as condições específicas de uso dos aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia autorizados. Essa normativa visa assegurar a segurança do consumidor e a conformidade dos produtos com padrões técnicos estabelecidos. Entre os aditivos permitidos para produtos de panificação, encontram-se emulsificantes, conservadores, melhoradores de farinha e agentes de crescimento, cuja aplicação deve obedecer rigorosamente aos critérios estabelecidos pelo regulamento (Brasil, 2023). Os aditivos podem ser obtidos de fontes animais, vegetais, minerais ou por síntese química (Awuchi *et al.*, 2020).

Diversos tipos de aditivos são mundialmente utilizados, sendo que alguns apresentam maior ou menor toxicidade, dependendo de sua natureza e quantidade ingerida (Davidson *et al.*, 2005). Os conservantes nitritos e nitratos (utilizado em carnes) e BHA (produtos de panificação e alimentos lipídicos) podem provocar modificações no DNA, seguido de neoplasia; já os corantes artificiais eritrosina e tartrazina (comumente aplicados em doces industrializados) apresentam propriedade carcinogênica, motivando a alguns países da Europa proibam a comercialização e uso de tartrazina em seu território (Veras *et al.*, 2021).

Todos os aditivos alimentares utilizados industrialmente devem ser avaliados e aprovados por órgãos reguladores, juntamente com a quantidade de uso

recomendada, de acordo com o *Codex Alimentarius*. Cada substância possui uma IDA (Ingestão Diária Aceitável), desenvolvida por um comitê do *Codex*, especializado em Aditivos Alimentares da Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) (Honorato *et al.*, 2013).

Embora contribuam com melhorias sensoriais e de durabilidade em alimentos, os aditivos podem causar reações adversas aos consumidores. Conforme Simon (1996) apresenta, alguns compostos podem apresentar efeitos indesejáveis no organismo de quem os consomem, tais como urticária crônica, anafilaxia, problemas respiratórios, cefaleia, dores na região lombar e pescoço, náuseas e sudorese.

A Organização Mundial da Saúde publicou em 2015 informações referentes a segurança alimentar no mundo, estima-se que 600 milhões de casos de doenças anualmente após o consumo de alimentos contaminados – cerca de 420 mil vêm a óbito, e 30% das mortes ocorrem entre crianças menores de 5 anos (Pires; Devleeschauwer, 2021). Desta forma, é indispensável o uso de recursos e aditivos que garantam a qualidade e segurança dos alimentos. Neste contexto, destaca-se a relevância do desenvolvimento de conservantes naturais com ação antioxidante e antimicrobiana e, como possibilidade, o uso de óleos essenciais vêm sendo estudados como alternativas viáveis por conter as propriedades desejadas, como Cao *et al* (2009) apresenta em seu estudo sobre o uso de óleo essencial de *Mosla chinensis* Maxim, foi identificado o potencial antimicrobiano para oito cepas bacterianas e nove fúngicas, bem como a atividade antioxidante do óleo essencial superior ao extrato metanólico.

3.2 Conservantes

Conservantes alimentares são substâncias adicionadas aos alimentos com o propósito de inibir ou retardar alterações indesejáveis no produto decorrentes da ação de microrganismos, enzimas ou agentes físicos, como calor e luz. O uso desses compostos tem aumentado significativamente na indústria de alimentícia, impulsionado pela crescente demanda por produtos com maior estabilidade química e microbiológica, além de seguros ao consumo. (Tonetto *et al.*, 2008).

Em um estudo realizado por Silva (2013) na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, constatou-se que os produtos de padaria são os que mais utilizam conservantes, com 73,29% de itens analisados contendo aditivos. Dentre os

antimicrobianos mais utilizados, destacam-se, em ordem crescente de ocorrência: propionato de cálcio, propionato de sódio e sorbato de potássio.

3.2.1 Antioxidantes

As modificações que óleos e gorduras sofrem ao longo do tempo resultam de reações químicas que contribuem para a deterioração dos alimentos. Entre essas reações predomina-se a oxidação, a reversão, a hidrólise e a polimerização. Dentre elas, a oxidação é considerada como a mais relevante, sob o aspecto econômico e nutricional, pois provoca a degradação de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis. Podendo alterar o odor, sabor, textura, consistência e aparência dos alimentos (Takemoto; Filho; Godoy, 2009).

Substâncias antioxidantes são compostos capazes de retardar ou inibir a oxidação de lipídios e outras moléculas, inibindo o início ou a propagação de reações em cadeia. A atividade antioxidante dos compostos fenólicos está relacionada principalmente às suas propriedades de óxido-redução, que permitem adsorver e neutralizar radicais livres, neutralizar os oxigênios singlete e triplete além de decompor peróxidos, interrompendo a oxidação lipídica (Zheng; Wang, 2001).

O uso de antioxidantes na indústria alimentícia tem sido amplamente estudado ao longo da história. Desde o final do século XVIII, diversos pesquisadores contribuíram para entender os mecanismos de oxidação e formas de preveni-la. Atualmente, poucos antioxidantes são permitidos para o uso em alimentos, e sua escolha deve considerar a eficácia em baixas concentrações, segurança, estabilidade, impacto sensorial, compatibilidade com a matriz alimentar, além de fatores como a legislação vigente, custo e preferência por opções naturais.

Os antioxidantes mais utilizados na indústria de alimentos incluem os sintéticos BHA (butil-hidroxianisol), BHT(butil-hidroxi-tolueno), PG(propil galato) e TBHQ (terc-butilhidroquinona), - para alimentos gordurosos - e o ácido áscórbico é amplamente utilizado na indústria de carnes, bebidas, peixes e pães; além dos naturais, como os tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos de plantas (Silva *et al.*, 2019).

3.2.2 Antimicrobianos

A vida útil dos alimentos é determinada, principalmente, pela deterioração causada pela ação de microrganismos, o que reduz o tempo de prateleira e pode provocar intoxicação e infecções aos consumidores (De Melo, 2005). Como estratégia para impedir o crescimento microbiano, recursos como o tratamento térmico, desidratação, congelamento e agentes antimicrobianos, são utilizados como forma de inibir os microrganismos.

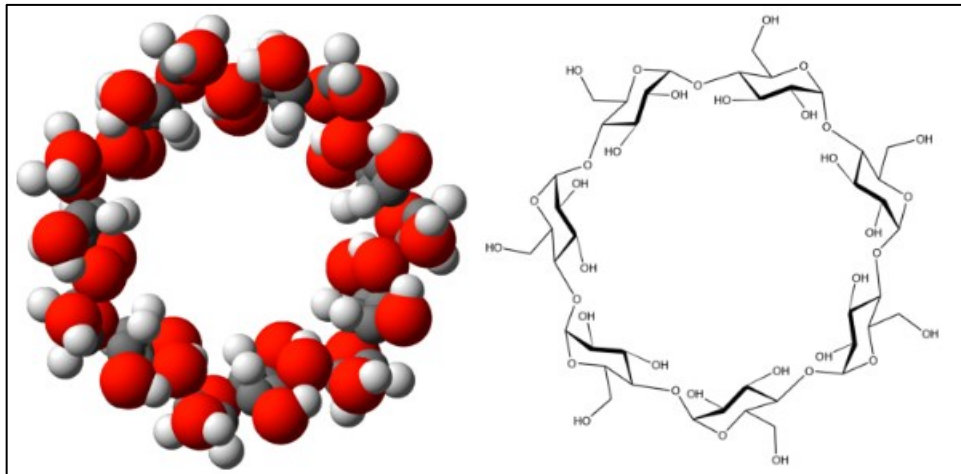
Paralelamente às técnicas tradicionais, cresce o interesse por compostos antimicrobianos naturais, inspirados nos mecanismos de defesa de animais e plantas. Exemplo incluem a lisozima (presente na clara do ovo), lactoperoxidase (enzima presente no leite) e flavonoides (compostos bioativos presente em ervas e especiarias), os quais demonstram ampla atividade contra diferentes microrganismos (Devlieghere; Vermeiren; Debevere, 2004). Na pesquisa realizada por Ernandes *et al.* (2007) foi exposto que o óleo essencial do orégano teve potencial de inibição para as cepas de bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes*.

Entre os compostos naturais com maior potencial, os compostos fenólicos de origem vegetal, se destacam pelas atividades antioxidantes e antimicrobianas. Sua ação antimicrobiana ocorre por diferentes mecanismos: a degradação da parede celular, danos à membrana citoplasmática, alterações nos lipídios da membrana e interferência nos processos de síntese de DNA, RNA e proteínas (Bassani, 2018).

3.3 Ciclodextrinas

As ciclodextrinas (CDs) são classificadas como malto-oligossacarídeos macrocíclicos, formados por unidades de glicopiranosose conectadas por ligações α - (1,4) glicosídicas (Singh *et al.*, 2002.). A produção pioneira foi descrita em 1881 pelo químico Villiers, a partir da digestão do amido com *Bacillus macerans*, em um processo de transglicosilação intramolecular, catalisado pela enzima ciclodextrina- α -glicosil-transferase (Frömming; Szejtli, 1993). A Figura 1 ilustra a estrutura da β CD.

Figura 1 - Visão superior da estrutura da β -Ciclodextrina



Fonte: Composição obtida utilizando informações provenientes de Crini (2014)

As ciclodextrinas possuem três principais estruturas, sendo α -CD, β -CD e γ -CD, as quais se caracterizam por seis, sete e oito unidades de glicopirranose, respectivamente (Loftsson, 2007). Suas estruturas apresentam hidroxilas primárias que conferem mobilidade e permitem a redução do diâmetro da cavidade, enquanto as hidroxilas secundárias são responsáveis por ligações de hidrogênio e conferem rigidez na molécula (Cid-Samamed *et al.*, 2022).

As configurações das CDs apresentam uma cavidade central hidrofóbica, sendo uma alternativa para atuarem como supramoléculas hospedeiras em complexos de inclusão; já a superfície externa é considerada hidrofílica, devido a ligações de hidrogênio intramoleculares, atribuindo para as ciclodextrinas a propriedade de solubilidade em água (Astray, 2009).

Segundo Matêncio *et al.* (2020), as ciclodextrinas manifestam alta estabilidade química e biológica, podendo ser utilizadas para eliminação de sabores e odores indesejáveis, controle de reações químicas e liberação gradual de substâncias bioativas.

As CDs são classificadas como substâncias GRAS (*Generally Recognized As Safe*) pela *Food and Drug Administration* (FDA), dos Estados Unidos (Cid-Samamed *et al.*, 2022). A β CD possui baixo perfil toxicológico por ser hidrolisada em maltose e glicose na microbiota intestinal e por amilases endógenas, o que evita seu acúmulo em tecidos e corrente sanguínea. Sua toxicidade oral aguda é considerada muito baixa, concluindo que para ser considerado uma dose letal (LD50) precisaria ser consumido acima de 3.000 mg/kg de peso corporal. Não há evidências que a β -ciclodextrina

possua propriedades carcinogênicas. Foi estabelecido um nível ingestão diária aceitável (IDA) de 5mg/kg, em 1996, e segundo parecer da EFSA (2016), não houve necessidade de revisão deste padrão.

3.4 Eugenol

O eugenol (**EUG**) é uma molécula extraída de óleos essenciais, reconhecida por seu odor característico e por aplicações que vão desde o uso em processos caseiros como repelente natural e uso para a produção de perfumes (Miranda; Souza, 2016). O cravo-da-índia (*Syzygiu aromaticum*) é a principal fonte desse composto, cuja substância de maior predominância é 4-alil-2-metoxifenol, popularmente conhecido como eugenol (Affonso *et al.*, 2012).

Quimicamente, o **EUG** é classificado como fenilpropanóide, tendo sido isolado pela primeira vez em 1929 e comercializado a partir de 1940 nos Estados Unidos (Da Silva *et al.*, 2018). Embora possa ser sintetizado em laboratório sob condições controladas, seu uso preferencial recai sobre a extração natural. Além do cravo-da-índia, o eugenol também pode ser obtido a partir de outras fontes vegetais, como gengibre, canela, cúrcuma, pimentão, manjerição, noz-moscada e folhas de tulsi (Nisar *et al.*, 2021).

Essa molécula possui propriedades, bioativas, incluindo atividade anti-inflamatória, anestésica, antitumoral e analgésica (Barboza *et al.*, 2018; Vanin *et al.*, 2014). No entanto, as características mais estudadas e utilizadas comercialmente são relacionadas a propriedade antioxidante e antimicrobiana (Devi *et al.*, 2010). Conforme previsto na *Food and Drug Administration* (FDA), é seguro utilizá-lo em concentrações de até 1500 ug.mL⁻¹ (Frohlich *et al.*, 2023).

Sua ação antimicrobiana é associada à sua natureza hidrofóbica, possibilitando a penetração no lipopolissacarídeo das membranas celulares de microrganismos. Esse processo causa escoamento do conteúdo intracelular e morte celular. Além disso, o grupo hidroxila presente na estrutura do **EUG**, pode se ligar a proteínas das bactérias, fazendo com que a ação enzimática seja cessada (Burt *et al.*, 2004). A estrutura química do eugenol é ilustrada na Figura 2.

Figura 2 – Estrutura molecular do eugenol

Fonte: Aatoria Própria (2025)

3.5 Complexos de inclusão

Os complexos de inclusão consistem na encapsulação de uma molécula hóspede no interior de uma molécula hospedeira com cavidade central, formando uma estrutura supramolecular estável. Para que ocorra a formação de um complexo de inclusão, é essencial que haja compatibilidade geométrica dos compostos envolvidos na reação, ou seja, a molécula hóspede deve possuir tamanho e forma adequados para se acomodar dentro da cavidade da (Uekama; Otagiri, 1987). Outros fatores importantes incluem a polaridade e o caráter hidrofóbico das moléculas envolvidas (Igea, 1992).

A principal força motriz para a encapsulação molecular é a substituição de moléculas de água – que apresentam alta entalpia – por moléculas hóspedes de menor entalpia. Sendo um processo energeticamente favorável, resultando em uma variação positiva de entalpia, aumento da entropia e, conseqüentemente, redução da energia total do sistema, contribuindo para a estabilidade termodinâmica do complexo formado. Além disso, interações eletrostáticas, forças de Van der Waals, interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio também desempenham um papel importante na formação e estabilização dos complexos de inclusão (Górnas *et al.*, 2009).

O encaixe espacial entre a molécula hospedeira e a substância hóspede também promove a discriminação estereosseletiva, isto é, a seletividade em função do arranjo tridimensional das moléculas. Assim as moléculas pequenas se encaixam

melhor às cavidades de moléculas como a α -ciclodextrina e a β -ciclodextrina, devido à compatibilidade de volume entre a cavidade da **CD** e a estrutura do composto encapsulado (Venturini *et al.*, 2008).

3.6 Complexos de inclusão de ciclodextrinas e óleos essenciais

As ciclodextrinas são amplamente utilizadas como moléculas hospedeiras para a formação de complexos de inclusão devido à sua estrutura cônica com cavidade central. Essa configuração propicia o encapsulamento de outras moléculas em seu interior, sem ocorrer ligações covalentes entre as duas espécies (Backensfeld; Müller; Kolter, 2001).

Dentre os compostos comumente encapsulados, destacam-se os óleos essenciais, que são bons candidatos a moléculas hóspedes nos complexos de inclusão, pois o encapsulamento deles pode resultar em melhorias significativas das suas propriedades físico-químicas, como aumento da estabilidade térmica, maior solubilidade em água e melhora no perfil sensorial dos produtos nos quais são aplicados (Hill *et al.*, 2013).

Alguns trabalhos avaliaram a aplicação destes complexos de inclusão de CD com óleos essenciais obtendo resultados satisfatórios. Shen e colaboradores (2024) desenvolveram complexos de inclusão de citral/hidroxipropil- β -ciclodextrina para o revestimento de morangos. Os resultados indicaram redução efetiva da taxa de decomposição, diminuição da perda de peso, e manutenção da firmeza, pH e sólidos solúveis, prolongando assim a vida útil da fruta.

Yang *et al.* (2023) realizaram a síntese de um complexo de inclusão com óleo essencial de orégano em β -ciclodextrina, com aplicação em peças de peito de frango *in natura*, com objetivo de estender sua conservação durante o armazenamento refrigerado. O complexo de inclusão obtido apresentou excelente atividade antimicrobiana e antioxidante, somando as propriedades intrínsecas da β -ciclodextrina e do óleo essencial do orégano.

Em outro estudo, Ho *et al.* (2017), encapsularam catequina, um composto presente nas folhas de *Camellia sinensis* – utilizado para a produção de chás verde e preto – em β -ciclodextrina. A formação do complexo reduziu a perda da atividade antioxidante e a degradação da catequina, visto que a mesma possui grande

sensibilidade em contato com oxigênio, luz e pH alcalino. Os resultados demonstram a viabilidade de sua aplicação na indústria de alimentos.

3.7 Método de síntese dos complexos de inclusão

Para realizar a síntese dos complexos de inclusão há uma vasta variedade de métodos, dentre os quais se destacam: co-precipitação, amassamento, uso de dióxido de carbono supercrítico, moagem mecanoquímica, irradiação por micro-ondas, *spray-drying* e ultrassonicação (Cid-Samamed *et al.*, 2022).

Na preparação de complexos de inclusão utilizando o método de amassamento, a CD é disposta em uma superfície de porcelana e umedecida com pequena quantidade de água purificada, em seguida misturada com um pilão até obter textura de pasta. Em seguida, a substância hóspede pode ser incorporada à mistura. Ao final, o sólido é lavado com solvente orgânico compatível em pequena quantidade e devidamente seco (Wadhwa, 2017).

Conforme Banchemo (2021) apresenta o método de Dióxido de Carbono supercrítico (scCO₂), o método baseia-se na capacidade do scCO₂ promover a complexação entre o hospedeiro-hóspede em condições supercríticas. As substâncias são colocadas em um recipiente de impregnação e expostas ao scCO₂, sob temperatura e pressão controladas. O processo finaliza por rápida despressurização, induzindo a gaseificação do CO₂ e por conseguinte a sua separação do complexo formado.

No método de moagem utiliza a mecanoquímica, onde a reação ocorre em estado sólido fazendo o uso de energia mecânica. Em um almofariz, a mistura entre a ciclodextrina e a molécula hóspede recebe pulsos de energia mecânica fornecida pela moagem com um pistilo, a moagem contribui também na homogeneização dos reagentes e quebra das partículas, aumentando a superfície de contato e favorecendo as interações moleculares. Em alguns casos, pequenas quantidades de solventes podem induzir a interação dos reagentes durante a moagem. É um método considerado simples, limpo e ecológico, por não fazer o uso de muitos solventes e equipamento, com destaque para o bom desempenho em solubilidade dos produtos obtidos (Jug; Mura, 2018).

No processo de irradiação por micro-ondas, é utilizado uma mistura de CD e substância hóspede preparada em mínima quantidade de solução etanol/água, e

posteriormente submetida ao aquecimento em forno micro-ondas até a formação de um pó. Para a eliminação de resíduos da molécula hospedeira, o sólido é lavado com etanol (Jindal *et al.*, 2022). O método de irradiação por micro-ondas sobressai em comparação com os outros métodos por promover rendimento elevado e reação mais rápida, bem como a ausência de resíduos de solventes, sendo econômico e ambientalmente favorável (Hernández-Sánchez *et al.*, 2017).

O método de *spray-drying* possui três etapas: atomização da solução líquida, secagem de gotículas por corrente de ar quente e separação por corrente de ar das partículas secas. Essa técnica se restringe a reagentes de matriz veicular dispersíveis ou solúveis em água, e é amplamente utilizada em aplicações industriais por proporcionar alto rendimento e viabilidade de produção em larga escala (Watson; Lea; Bett-Garber, 2017).

Um dos métodos recentes na síntese de complexos de inclusão é a utilização de um processador ultrassônico. Uma mistura da CD com a molécula hospede são homogeneizadas e depois submetidas à sonicação. A solução resultante é posteriormente liofilizada para obtenção do complexo de inclusão (Li *et al.*, 2015; Shen *et al.*, 2024). Essa técnica apresenta como vantagens a redução do tempo reacional, maior controle de reprodutibilidade e possibilidade de produção em grande escala.

Conforme Jiang *et al.*, (2019), o método de co-precipitação se destaca por ser simples e eficiente, sendo o mais utilizado na obtenção de complexos de inclusão com CDs. Nesse processo, a CD é dissolvida em água, enquanto a substância hóspede é previamente solubilizada em etanol. As soluções são misturadas sob agitação e com resfriamento dessa mistura, ocorre a cristalização e precipitação dos complexos formados, posteriormente filtrados e secos para a separação.

3.8 Métodos de caracterização química dos complexos de inclusão

Após síntese dos complexos de inclusão, se faz necessário a caracterização da substância obtida, a fim de confirmar a formação do complexo e verificar se houve melhorias nas propriedades físico-químicas dos compostos. A literatura apresenta diversos métodos consolidados para essa finalidade, entre os quais se destacam: espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) (Williams III; Mahaguna; Sriwongjanya, 1998), espectroscopia UV/VIS (HU *et al.*, 2012), análise

termogravimétrica (TGA) (Shen *et al.*, 2024) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) (Wen *et al.*, 2004).

O método de espectroscopia FT-IR, permite a análise e comparação os espectros dos compostos puros e do complexo de inclusão. Busca avaliar a intensidade e a forma das bandas de absorção, possibilitando a identificação de interações moleculares e indicando a formação do complexo de inclusão (Williams III; Mahaguna; Sriwongjanya, 1998).

A espectroscopia UV/VIS fornece os espectros de absorbância dos compostos analisados, permitindo a comparação entre as bandas dos componentes individuais e do complexo. Alterações nas bandas pode indicar a formação do complexo de inclusão, especialmente se observadas mudanças em picos característicos (Hu *et al.*, 2012).

A análise termogravimétrica (TGA) é empregada na caracterização de materiais ao estudar o mecanismo e a cinética das reações e determinar o conteúdo orgânico de uma amostra. TGA consiste no estudo das mudanças nas propriedades físicas e químicas de compostos, estabelecendo relação entre temperatura/tempo e perda de massa e/ou degradação dos compostos. Durante a análise uma amostra do produto é submetida a constantes aumentos de temperatura, estabelecendo uma curva termogravimétrica para posterior análise (Zhu *et al.*, 2014).

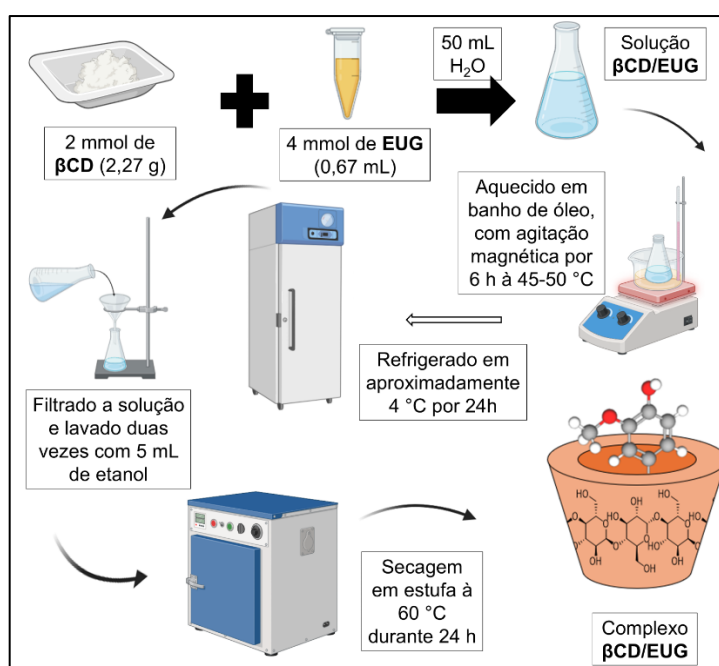
Os termogramas de calorimetria exploratória diferencial (DSC), por sua vez, são utilizados para medir as alterações de entalpia que ocorrem devido as transições nas propriedades físicas e químicas de um material em função da temperatura ou do tempo. Desta forma podendo analisar, por exemplo, temperaturas de fusão, de cristalização e de decomposição. A análise comparativa entre os termogramas do composto de inclusão e das substâncias isoladas auxilia na confirmação da formação do complexo, bem como na caracterização térmica do sistema (Wen *et al.*, 2004).

4 METODOLOGIA

4.1 Síntese do complexo de inclusão

Para a síntese do complexo de inclusão, foi utilizado a metodologia proposta por Kringel *et al.* (2017), com modificações necessárias para adequação aos reagentes e condições disponíveis. A metodologia utilizada é apresentada na Figura 3.

Figura 3 – Síntese do complexo β CD/EUG



Fonte: Autoria Própria (2025)

Para a formação do complexo de inclusão, 2 mmol de β -ciclodextrina (2,27 g) foram diluídos em 50 mL de água destilada em um erlenmeyer. Em seguida, adicionaram-se 4 mmol de eugenol (0,62 mL) à solução.

O sistema reacional foi montado utilizando um banho de óleo posicionado sobre uma chapa de aquecimento com agitação magnética, sendo o controle da temperatura realizado com auxílio de um termômetro inserido no banho. A mistura foi mantida sob aquecimento entre 45 e 50 °C, com agitação constante, durante 6 horas.

Posterior ao tempo estipulado, a solução foi refrigerada durante 24 horas em temperatura de aproximadamente 4 °C, para ocorrer a precipitação do complexo de inclusão. Após este estágio a solução foi filtrada e lavada em duas etapas com 5 mL de etanol. Por fim, o material foi seco em estufa a 60 °C, por 24 horas.

4.2 Caracterização dos complexos sintetizados

A caracterização dos complexos de inclusão obtidos foi realizada por meio das seguintes técnicas analíticas: espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia UV-Vis, análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

4.2.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho foram conduzidos em um espectrômetro de transformada de Fourier (FTIR) de modelo Spectrum 100 S/Frontier (PerkinElmer®). As medições foram realizadas na faixa espectral de 4000 a 600 cm^{-1} e para garantir uma boa relação sinal-ruído (S/R) e alta reprodutibilidade, os espectros foram obtidos com resolução de 2 cm^{-1} . Todas as análises foram realizadas com acessório ATR (Reflectância Total Atenuada).

4.2.2 Espectroscopia de UV-Vis

Para a obtenção dos espectros UV-Vis do complexo de inclusão sintetizado, a análise foi realizada em um espectrofotômetro PerkinElmer®, modelo Lambda 45. As análises foram realizadas utilizando uma solução de 4×10^{-3} mmol de analito diluído em 5 mL de etanol entre comprimentos de onda de 200 a 900 nm.

4.2.3 Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise termogravimétrica (TGA) e de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram realizadas em um analisador térmico modelo STA6000/Frontier (PerkinElmer®), com aproximadamente 5 mg da amostra adicionada em cadinho de platina e taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, dentro de uma faixa de temperatura de 50 $^{\circ}\text{C}$ a 540 $^{\circ}\text{C}$.

4.3 Avaliação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro do radical livre α , α -difenil- β -picrilhidrazil (DPPH) conforme descrito por

Kedare e Singh (2011). O princípio do método baseia-se na redução do radical DPPH, onde o elétron ímpar do átomo de nitrogênio do DPPH é reduzido a partir da ligação de um átomo de hidrogênio do agente antioxidante.

Foram preparadas cinco soluções de diferentes concentrações para cada agente antioxidante (**EUG** e **βCD/EUG**). A solução inicial foi preparada na concentração de 1 mmol L⁻¹ em etanol, em sequência diluída conforme as concentrações especificadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Diluição das amostras DPPH

Concentração	Volume da Solução inicial (mL)	Volume de etanol (mL)
1.0 mM	1,0	0,0
0.8 mM	0,8	0,2
0.6 mM	0,6	0,4
0.4 mM	0,4	0,6
0.2 mM	0,2	0,8

Fonte: Autoria Própria (2025)

Para cada diluição, uma alíquota de 0,3 mL foi adicionada a 3 mL de uma solução 1 mmol L⁻¹ de DPPH, sendo executadas os ensaios em duplicata. Posteriormente, foi medida a absorbância em espectrofotômetro do modelo Helios Alpha (ThermoSpectronic®), em comprimento de onda fixado em 515 nm.

Para a análise cinética, foi acompanhada as amostras de **EUG** e **βCD/EUG** de concentração 1.0 mM, medindo a absorbância a 515 nm a cada 5 min, durante 130 min.

4.4 Preparação do bolo

A formulação do bolo (Tabela 2) foi baseada na metodologia apresentada por Kringel *et al.* (2020), com algumas modificações. Para a avaliação da atividade conservante e da presença de bolores, foram produzidas cinco formulações de bolo, contendo diferentes concentrações molares de aditivo natural, calculadas por 100 g de farinha de trigo. As formulações foram as seguintes: Branco (sem aditivo), **βCD/EUG** 1 mol (contendo 1 mol de complexo de inclusão **βCD/EUG**), **βCD/EUG** 2 mol (contendo 2 mol de complexo de inclusão **βCD/EUG**), **EUG** 1 mol (contendo 1 mol de eugenol livre) e **EUG** 2 mol (contendo 2 mol de eugenol livre).

Tabela 2 – Receita do bolo

Ingredientes	Quantidade
Manteiga	30 g
Açúcar	300 g
Ovo	80 g
Leite integral	480 mL
Farinha de trigo	400 g
Fermento químico	20 g

Fonte: Autoria Própria (2025)

Para preparar os bolos, os ovos e açúcar foram misturados por 1 minuto usando uma batedeira convencional. Em seguida, adicionaram-se o leite e a manteiga à mistura aerada. Os ingredientes secos foram previamente peneirados e homogeneizados. A massa base total foi dividida em cinco partes de 150 g, nas quais foram incorporados os aditivos em concentrações especificadas anteriormente. Finalizando com a incorporação do fermento químico e misturado por 30 segundos.

Cada parte de massa foi dividida em 30g em formas pequenas de papel e assadas em forno elétrico pré-aquecido por 20 minutos a 180 °C. Após estarem completamente assados, os bolos foram mantidos por 2 horas à temperatura ambiente para resfriamento, retirados das respectivas formas e acondicionados em pacotes herméticos de polietileno. Os bolos foram armazenados a temperatura ambiente, monitorados a cada 24 horas e feito registros fotográficos periódicos para avaliação visual da conservação.

4.5 Avaliação da atividade antifúngica

Para a determinação da atividade antifúngica, amostras de bolo foram coletadas nos tempos 0, 11, 13, 15 e 17 dias, dado que foi identificado um sinal de crescimento de bolores no tempo 11. A técnica seguida para a avaliação da atividade antimicrobiana foi conforme Silva *et al.* (2017), processo que os bolos, com aproximadamente 25 g, foram macerados e homogeneizados em 225 mL de água peptonada estéril a 0,1%, na proporção de 1:10. A partir dessa diluição, foram preparadas diluições seriadas em mesmo solvente, e alíquotas de 1 mL destas diluições foram inoculadas, em duplicata, em meio Ágar Batata Dextrose (PDA), acidificado na equivalência de 1:100 com ácido tartárico 10% - com intuito de inibir o crescimento de bactérias.

As placas foram incubadas a 21 °C por um período de 4 a 7 dias, com posterior contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) de bolores e leveduras. Os resultados foram registrados para comparação entre os diferentes tratamentos, permitindo a avaliação da eficácia antifúngica do eugenol livre e do complexo de inclusão **β CD/EUG**.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, serão expostos e discutidos os resultados registrados para a síntese, caracterização e avaliação dos potenciais antioxidantes e conservantes do complexo de inclusão β CD/EUG, com base nas análises físico-químicas e nos testes aplicados em um produto de panificação. As informações aqui apresentadas visam verificar a eficácia do complexo frente ao composto livre e sua viabilidade como aditivo natural.

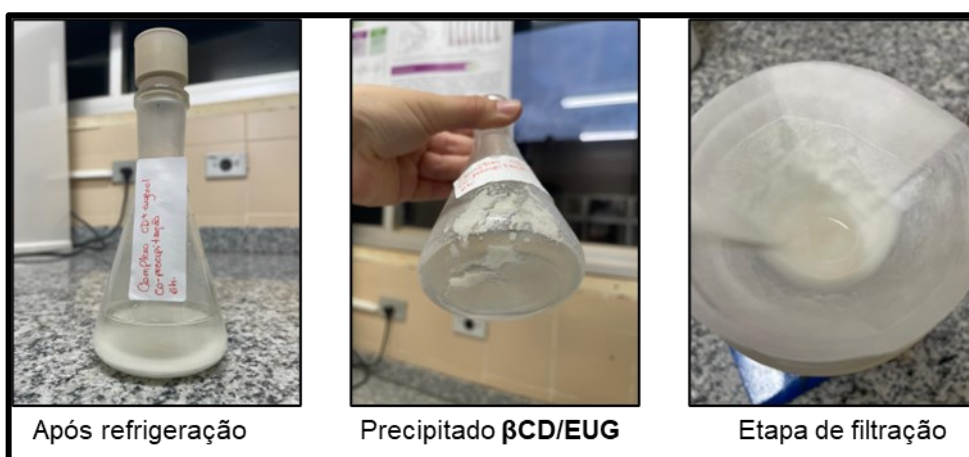
5.1 Síntese do complexo β CD/EUG

Para a síntese do complexo de inclusão, 2 mmol de β -ciclodextrina foram diluídos em 50 mL de água destilada em um erlenmeyer, e acrescentado a esta solução 4 mmol de eugenol, mantendo a proporção 1:2 a fim de favorecer a formação do complexo.

Posteriormente foi a mistura foi submetida a aquecimento em banho de óleo com agitação magnética, mantendo-se a temperatura média de 45°C por um período de 6 horas. Em seguida, a solução foi acondicionada sob refrigeração durante 24 horas em temperatura aproximada de 4 °C, observando ao final do período, a presença de um sólido precipitado.

Logo o conteúdo do erlenmeyer passou por filtração simples, com lavagem em duas etapas utilizando 5 mL de etanol 70% em cada lavagem. O sólido obtido foi seco em estufa a 60°C por 24 horas para remoção de solventes e umidade residual. As etapas finais da síntese estão documentadas na Figura 4.

Figura 4 - Etapas finais da síntese do complexo



Fonte: Autoria Própria (2025)

Consecutiva a finalização da secagem, o material sólido, de coloração branca e odor característico, foi pesado, obtendo uma massa de 1,97 g. O rendimento da reação foi estimado em aproximadamente 76%, indicando uma boa eficiência na formação do complexo β CD/EUG.

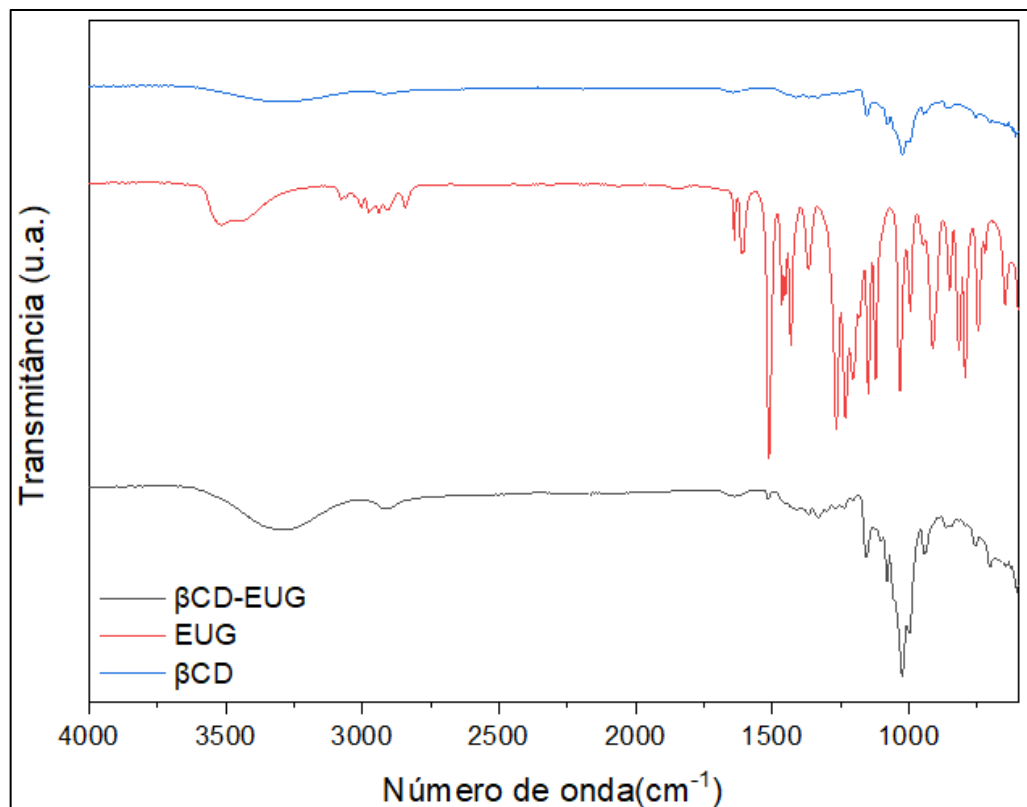
5.2 Caracterização do complexo β CD/EUG

5.2.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica analítica amplamente utilizada para identificação de grupos funcionais e análise de interações moleculares. Seu princípio consiste na absorção da radiação infravermelha pelas moléculas da amostra, induzindo transições vibracionais específicas, que resultam um espectro característico de cada substância (Stuart, 2004).

Os espectros de FTIR obtidos para a β -ciclodextrina (β CD), eugenol (EUG) e complexo de inclusão β CD/EUG, apresentam perfis distintos, como mostra a Figura 5.

Figura 5 – Espectro infravermelho de β CD, EUG E β CD/EUG



Fonte: Aatoria Própria (2025)

Na região entre 3000 e 3600 cm^{-1} , observa-se uma banda larga no espectro da βCD , atribuída ao estiramento das ligações O–H, em função da presença de múltiplos grupos hidroxila na sua estrutura (Zhan *et al.*, 2008; Cannava *et al.*, 2008). No espectro do complexo $\beta\text{CD}/\text{EUG}$, essa banda apresenta um leve alargamento e deslocamento, indicando a ocorrência de interações por ligações de hidrogênio entre o **EUG** e a βCD .

Na faixa de 2800 a 3000 cm^{-1} , o espectro do eugenol exibe bandas características do estiramento C–H de cadeias alquila e aromáticas. No entanto, no espectro do complexo, essas bandas aparecem com menor intensidade e mais suavizadas, o que sugere o encapsulamento do **EUG** na cavidade da βCD . Além disso, uma faixa entre 1650 e 1250 cm^{-1} , com banda bem definida em aproximadamente 1512 cm^{-1} , característica ao estiramento do anel aromático do **EUG**, mantém-se presente no espectro do complexo, porém com redução de intensidade e um leve deslocamento de posição, evidenciando a interação do **EUG** com a βCD (Yang; Song, 2005; Kayaci *et al.*, 2013; Celebioglu; Yildiz; Uyar, 2017).

Na região de 1000 a 1200 cm^{-1} , são verificadas bandas atribuídas às vibrações C–O–C da estrutura glicosídica da βCD . No espectro do complexo, essas bandas apresentam apenas pequenas variações de intensidade e posição, sugerindo que as interações principais ocorreram preferencialmente nas regiões de hidroxilas, sem provocar alterações significativas nas ligações C–C ou C–O–C da estrutura da βCD , conforme apresenta Wang *et al.* (2011) e Celebioglu e Uyar (2021).

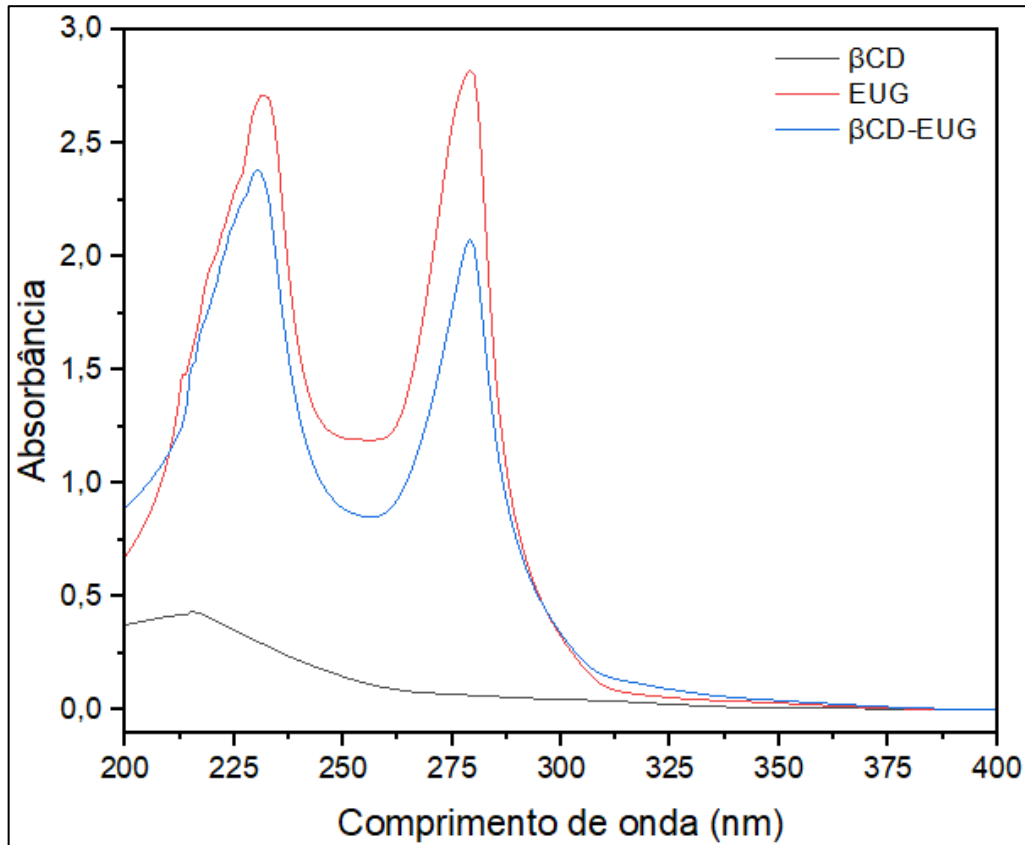
De modo geral, as mudanças observadas nas bandas características de ambos os compostos indicam que houve a formação de um complexo de inclusão, resultado de interações intermoleculares entre o **EUG** e a cavidade da β -ciclodextrina.

5.2.2 Espectroscopia de UV-Vis

A espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) é uma técnica baseada na absorção de radiação eletromagnética por moléculas que contêm elétrons π ou pares de elétrons não ligantes. Essa absorção promove transições eletrônicas entre orbitais moleculares, especialmente do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ ou $n \rightarrow \pi^*$, fornecendo informações sobre a estrutura eletrônica dos compostos e suas interações moleculares (Kemelbekov *et al.*, 2011).

Os espectros UV-Vis obtidos e expostos na Figura 6, evidencia diferenças claras entre amostras de **β CD**, **EUG** puro e o complexo **β CD/EUG**. Conforme esperado, a β -ciclodextrina, apresentou baixíssima absorção na região de 200 a 400 nm, uma vez que sua estrutura não contém anéis aromáticos e elétrons π (ligações duplas) que podem absorver energia UV (Kim, 2020).

Figura 6 – Espectro UV-Vis de β CD, EUG E β CD/EUG



Fonte: Autoria Própria (2025)

Por outro lado, o espectro do **EUG** exibiu dois picos de absorção bem definidos entre 220 e 230 nm e 270 e 280 nm, atribuídos às transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ característicos ao sistema aromático e dos grupos fenólicos presente na estrutura da molécula, também observadas por Piletti (2016).

No caso do complexo **β CD/EUG**, observam-se os mesmos picos de absorção característicos do eugenol, porém com redução significativa na intensidade de absorbância e pequenos deslocamentos em relação ao espectro do **EUG** puro. Os deslocamentos ipsocrômico (para menores comprimentos de onda, próximo a 230 nm) e batocrômico (para maiores comprimentos de onda, próximo a 280 nm) indicam que

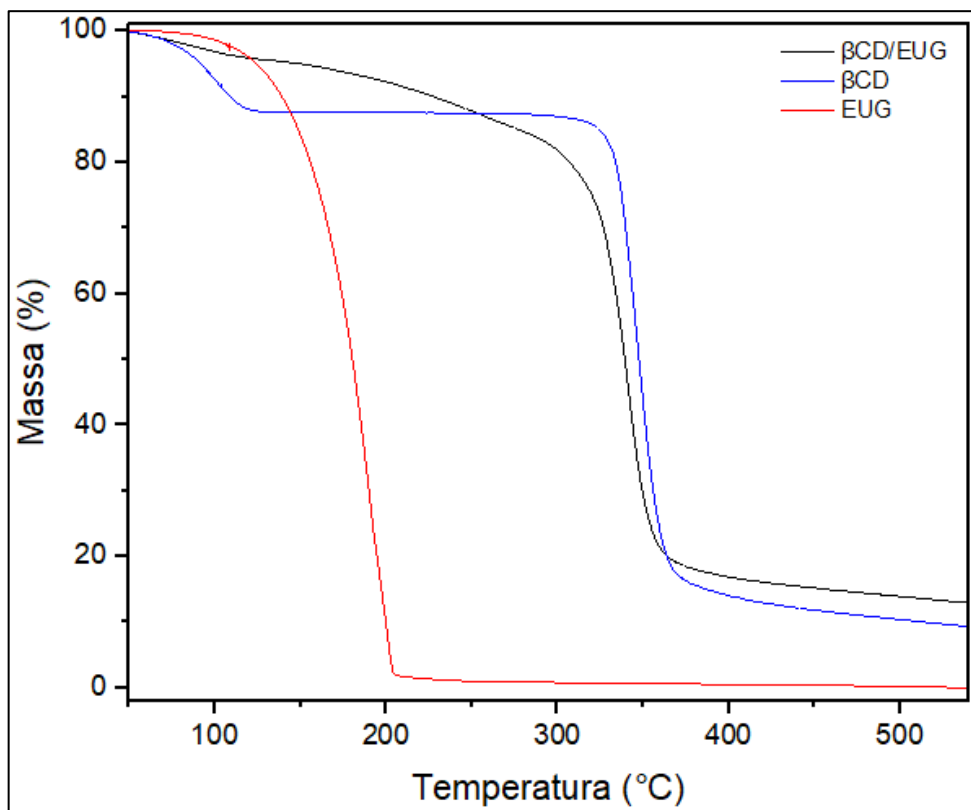
a molécula de eugenol sofreu alterações em seu ambiente eletrônico devido à formação do complexo de inclusão com a β CD.

Tais alterações são consistentes com o encapsulamento parcial do **EUG** dentro da cavidade hidrofóbica da β -ciclodextrina. A redução na intensidade de absorção pode ser atribuída à diminuição da liberdade rotacional e vibracional da molécula hóspede, conforme observado por Stancanelli *et al.* (2008). Portanto, os resultados obtidos pela espectroscopia UV-Vis corroboram os dados de FTIR e confirmam a formação do complexo de inclusão entre o eugenol e a β -ciclodextrina.

5.2.3 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) é uma técnica utilizada para o acompanhamento das variações na massa de uma amostra, em função da elevação de temperatura. Com isso, esta análise é essencial para a obtenção de dados sobre a estabilidade térmica, degradação e composição dos produtos analisados (Denari; Cavalheiro, 2012). Na Figura 7 é apresentado o termograma de TGA.

Figura 7 – Termograma TGA de β CD, EUG E β CD/EUG



Fonte: Autoria Própria (2025)

O comportamento térmico da **β CD** no termograma de TGA revelou uma etapa inicial de perda de massa, atribuída à eliminação de água adsorvida, proveniente da estrutura hidrofílica rica em grupos hidroxila, ocorrendo até a temperatura de 118 °C. No intervalo de 119 a 270 °C, não foram observadas variações significativas na massa, indicando uma boa estabilidade térmica da **β CD** nessa faixa de temperatura. A degradação térmica da **β CD** na fase sólida teve início a partir de 320 °C. Mura *et al* (2015) reportaram a decomposição dos macrociclos entre 300 °C e 375 °C, caracterizando a etapa final do processo.

A perda de massa do eugenol puro foi observada na faixa de 80 a 220 °C, condizente com sua volatilização progressiva, indicando baixa estabilidade térmica (Piletti *et al.*, 2017). Assim, quando exposto a processos que envolvem temperaturas superiores a 80 °C, o eugenol tende a volatilizar rapidamente.

O perfil térmico do complexo **β CD/EUG** apresentou três etapas distintas de perda de massa. A primeira, na faixa de 71 a 105 °C, foi atribuída à liberação da água residual do processo de síntese do complexo, comportamento similar aos resultados da **β CD** em sua forma pura. A segunda, entre 150 e 250 °C, correspondeu à eliminação do eugenol, acompanhada do colapso parcial da estrutura supramolecular do complexo. Por fim, a terceira etapa, iniciada a partir de 310 °C e estendendo-se até 350 °C, refere-se à decomposição térmica da estrutura da β -ciclodextrina, em concordância com os resultados reportados por Wang *et al.* (2011).

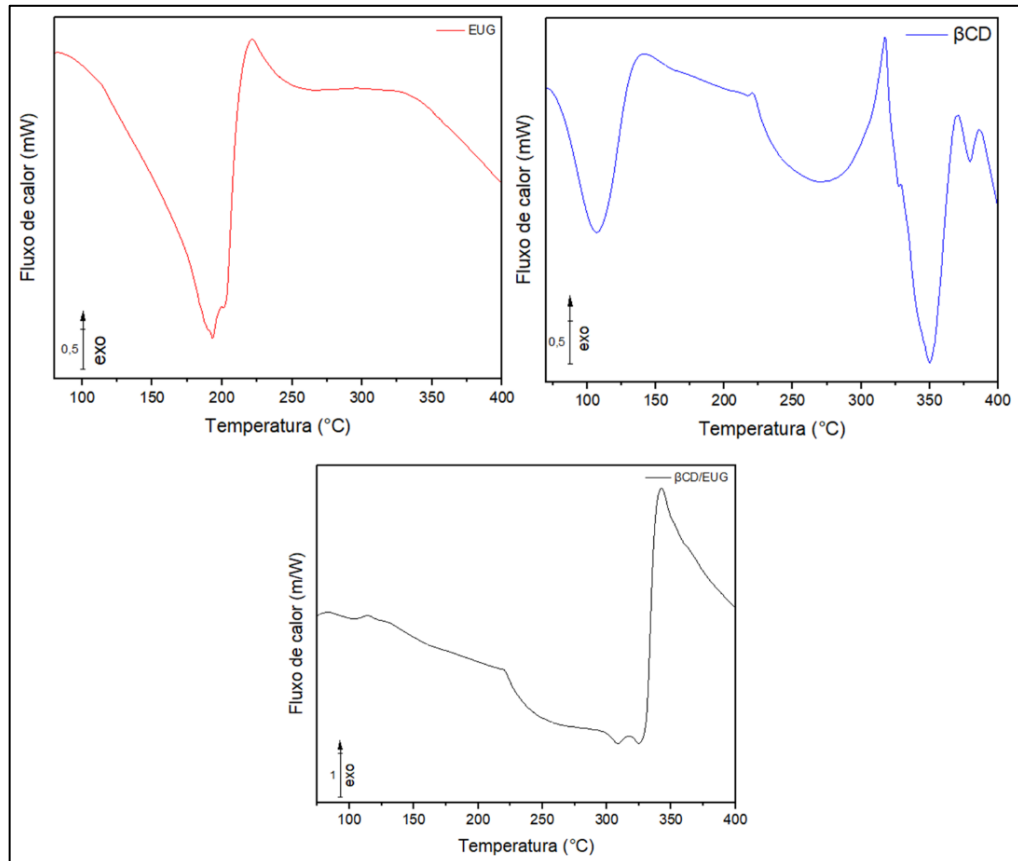
Portanto, a análise térmica evidencia que as moléculas de β -ciclodextrina apresentam maior resistência térmica em comparação às de eugenol, sendo potencialmente favorável como agente encapsulante para a proteção deste composto. A boa interação no complexo **β CD/EUG** contribui para evitar a volatilização precoce do eugenol, cuja alta volatilidade em temperatura ambiente é reduzida pelo encapsulamento na cavidade da β -ciclodextrina, promovendo maior estabilidade térmica (Woranuch; Yoksan, 2013).

5.2.4 Análise por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é uma técnica que permite a identificação de transições endotérmicas e exotérmicas, como fusão, cristalização e decomposição, além de mudanças na capacidade calorífica. As análises de DSC fornecem informações qualitativas e quantitativas em função da temperatura e do

tempo, revelando o comportamento térmico das substâncias envolvidas (Verdonck; Schaap; Thomas, 1999). A Figura 8 apresenta os termogramas obtidos para cada uma das amostras.

Figura 8 – Termograma DSC de β CD, EUG E β CD/EUG



Fonte: Autoria Própria (2025)

Complementando as observações da análise termogravimétrica, o termograma DSC da β CD apresentou um pico endotérmico amplo abaixo de 100 °C, relacionado à energia térmica requerida para a volatilização das moléculas de água adsorvidas na estrutura da β -ciclodextrina. Ocorrendo a presença de um pico endotérmico, identificado em torno de 250 °C, corresponde ao início da decomposição térmica do material, associada a ruptura das ligações (Burgos; Okio; Sinisterra, 2012).

No termograma de DSC, o EUG apresentou um pico endotérmico iniciando em 193 °C e um pico exotérmico a 220 °C, correspondente ao início do seu ponto de ebulição. Para o complexo β CD/EUG, o pico endotérmico observado entre 100 °C e 120 °C indica a liberação da água residual presente na estrutura da β -ciclodextrina. Em seguida, ocorre uma transição endotérmica mais suave, entre 250 °C e 300 °C,

que pode estar relacionada à liberação gradual do eugenol encapsulado, refletindo a proteção térmica oferecida pela β CD. Por fim, um pico exotérmico mais intenso, registrado entre 340 °C e 350 °C, marca a degradação da estrutura da β -ciclodextrina, agora influenciada pela presença do eugenol (Choi *et al.*, 2009).

5.3 Caracterização da atividade antioxidante

O eugenol é um composto fenólico cuja atividade antioxidante ocorre pela transferência de um átomo de hidrogênio do grupo fenólico para o radical livre. A aromaticidade presente no eugenol ajuda a estabilizar o radical formado, em razão de sua estrutura conjugada, o que contribui para aumentar a eficiência antioxidante dessa molécula (Bezerra *et al.*, 2017).

A atividade antioxidante do eugenol (**EUG**) e do complexo β -ciclodextrina/eugenol (**β CD/EUG**) foi avaliada em diferentes concentrações, variando de 200 a 1000 μ M. O método utilizado foi o sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), amplamente empregado para medir a capacidade antioxidante de compostos. Para comparação, foi incluída uma amostra controle (padrão negativo), contendo apenas a solução de DPPH, cuja absorvância foi de 0,941 nm. A partir das leituras de absorvância das amostras testadas (Abs_{samp}) e da amostra controle (Abs_{NC}), foi calculada a porcentagem de inibição do radical DPPH ($\%DPPH_{sca}$) de acordo com a Equação 1.

Equação 1: Cálculo da inibição do radical DPPH

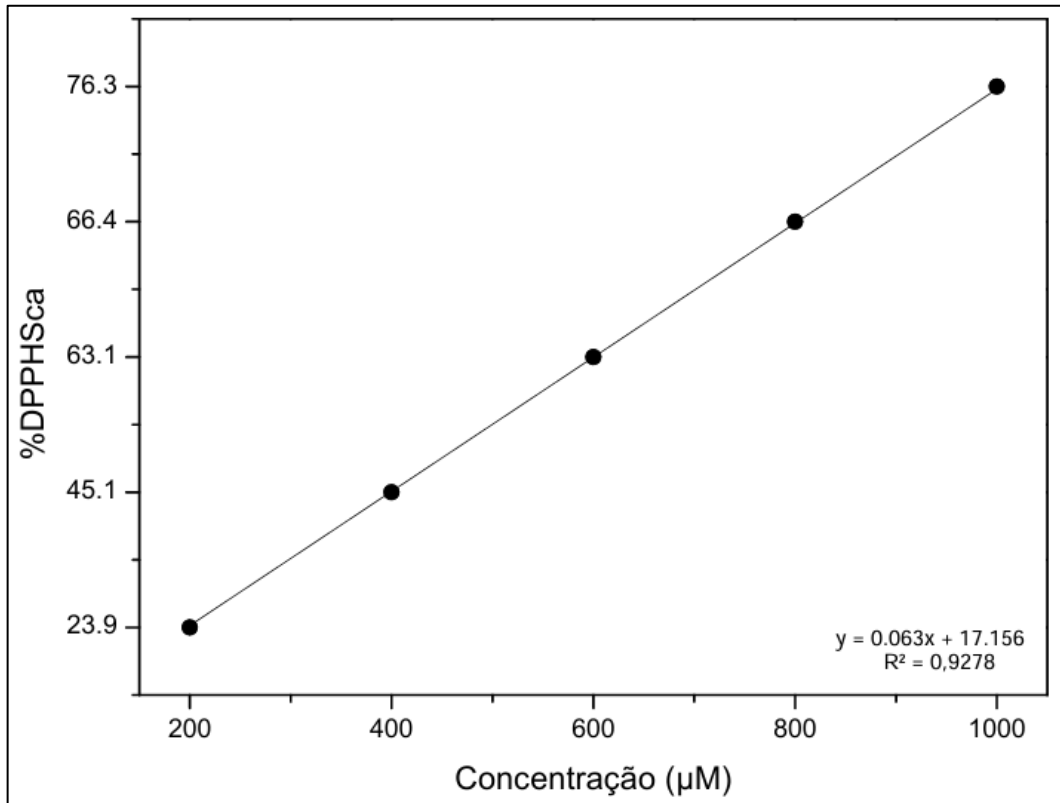
$$\%DPPH_{sca} = \left[\frac{Abs_{samp} - Abs_{NC}}{Abs_{NC}} \right] * 100 \quad (1)$$

A partir da absorvância das amostras, do padrão negativo foi calculado a porcentagem de inibição do radical DPPH pela amostra, utilizando a Equação 1. Em sequência é construída a curva de inibição em função da concentração das amostras e calculado o RIC₅₀, sendo definida como concentração necessária para reduzir 50% dos radicais DPPH (Zhang *et al.*, 2017; De Menezes *et al.*, 2021).

Para a determinação do valor de RIC₅₀, foi utilizada a equação da reta gerada pela regressão linear dos dados de $\%DPPH_{sca}$ em função da concentração da amostra, como apresentado na Figura 9 para os dados do **EUG**. Após a aplicação da equação da reta (reta ($y = 0,063x + 17,156$; $R^2 = 0,9278$), obteve um RIC₅₀ de 521,3

μM , resultado que indica a concentração necessária para eliminar 50% dos radicais livre do DPPH. Conforme trata Mastelic *et al.* (2008), o **EUG** possui proporção de redução do DPPH de 1:1.

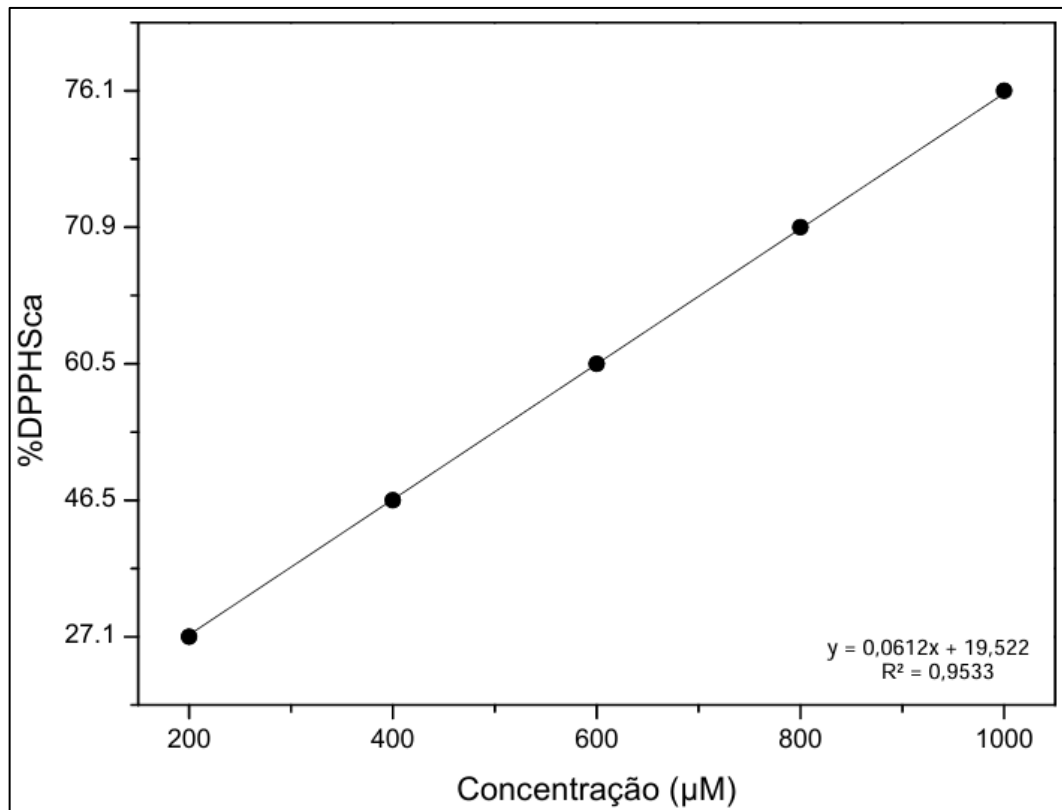
Figura 9 – Absorbâncias da análise de DPPH da amostra de EUG



Fonte: Autoria própria (2025)

Comparativamente ao eugenol livre, o complexo **$\beta\text{CD}/\text{EUG}$** demonstrou a preservação da atividade antioxidante (Figura 10), após a aplicação da equação da reta ($y = 0,0556x + 26,902$; $R^2 = 0,9533$) resultou em um valor de RIC_{50} de 498 μM para a redução de metade dos radicais livre do DPPH. A encapsulação do **EUG** em **β/CD** apresentou estabilidade na eficiência antioxidante, em relação ao eugenol livre.

Figura 10 – Absorbâncias da análise de DPPH da amostra de β CD/EUG

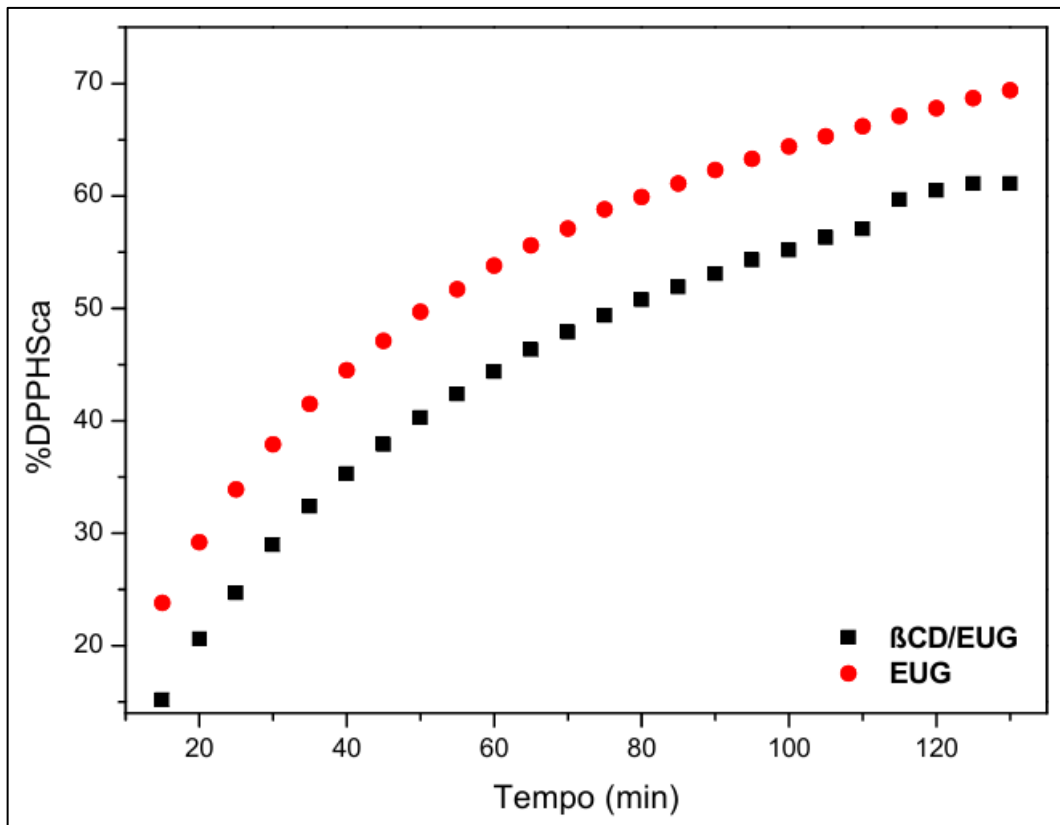


Fonte: Autoria própria (2025)

A sutil diferença entre as concentrações mínimas de redução pode ser atribuída à maior solubilidade conferida pela β CD, facilitando a dispersão do eugenol no meio reacional. Além disso, o encapsulamento oferece proteção contra degradação e volatilização, preservando a capacidade do composto de neutralizar radicais livres.

A Figura 11 apresenta a curva cinética do percentual de sequestro do radical DPPH (%DPPH_{Sca}) em função do tempo, obtida através de medição em comprimento de onda 515 nm a cada 5 minutos, por 130 minutos, comparando a atividade antioxidante do **EUG** e do complexo **β CD/EUG** na concentração 1 μ M.

Figura 11 – Curva cinética do %DPPH_{Sca} de β CD/EUG e EUG



Fonte: Autoria Própria (2025)

Observou-se que ambas as amostras apresentaram perfis cinéticos bastante semelhantes ao longo do tempo. O percentual de sequestro do radical DPPH aumenta rapidamente nos primeiros minutos e tende a estabilizar após cerca de 100 minutos para ambos os sistemas. Os valores obtidos para o complexo β CD/EUG são ligeiramente inferiores aos observados para o eugenol livre, mas essa pequena diferença observada pode ser por variações no experimento realizados em cada amostra. Esses resultados indicam que o encapsulamento do eugenol na β -ciclodextrina não alterou a cinética de ação antioxidante. Isso sugere que o eugenol, mesmo quando encapsulado, mantém uma boa disponibilidade para reagir com os radicais livres DPPH no meio reacional, apresentando cinética de ação similar ao composto livre.

Em resumo, os dados obtidos demonstram que a complexação do eugenol com β -ciclodextrina não interferiu sua atividade antioxidante do EUG. No trabalho realizado por Ferreira *et al.* (2013) foi observado o fato de que os complexo de inclusão de β CD possuíam mais atividade antioxidante do que os óleos essenciais em sua

forma livre, entretanto neste trabalho foi verificado que não houve alteração significativa de RIC₅₀, mantendo a proporção 1:1.

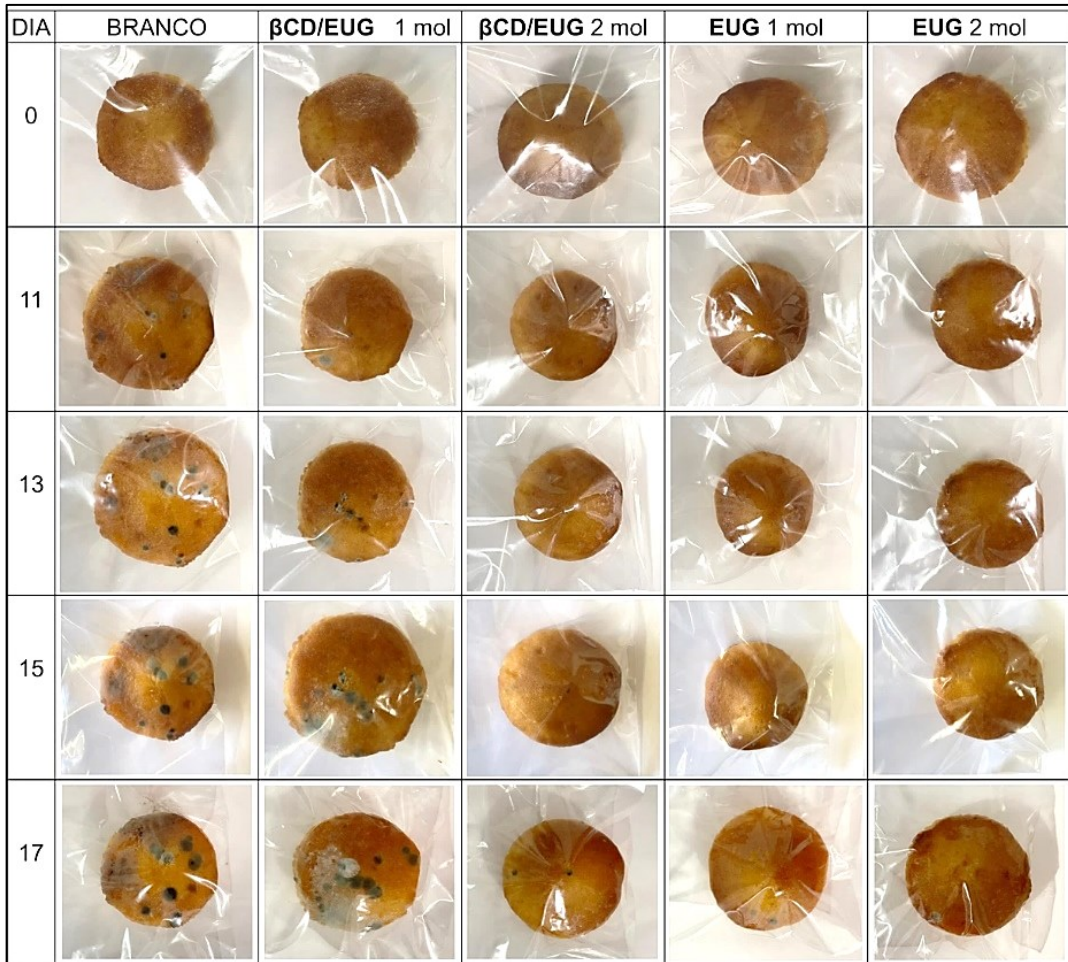
5.4 Produção do bolo

Para a produção das formulações foi utilizada uma massa base com ovos, açúcar, manteiga, leite, ovo, farinha de trigo e fermento. Após o preparo da massa, foi dividida em cinco porções de 150 g em recipientes diferentes, e incorporados os aditivos, em respectiva quantidade conforme calculado as concentrações partir de 100g de farinha de trigo. As formulações seguiram as seguintes quantidades: BRANCO (sem aditivo), **EUG** 1 mol (0,075 g de eugenol), **EUG** 1 mol (0,15 g de eugenol), **βCD/EUG** 1 mol (0,6 g de complexo) e **βCD/EUG** 2 mol (1,19 g de complexo). Os bolos foram assados em porções individuais de 30 g por 20 minutos a 180 °C, resfriados em temperatura ambiente, embalados hermeticamente e armazenados a temperatura ambiente.

5.5 Avaliação visual do potencial antifúngico

Inicialmente foi realizado o acompanhamento qualitativo da ação antifúngica das diferentes formulações contendo eugenol, em sua forma pura ou complexado com **βCD**, em bolos armazenados por um período de 17 dias. Conforme documentado na Figura 12.

Figura 12 – Acompanhamento visual do crescimento fúngicos nos bolos



Fonte: Autoria Própria (2025)

Observa-se que o grupo controle (BRANCO), sem aditivos, apresentou crescimento fúngico visível no 11º dia, com progressão intensa até o 17º dia, evidenciando alta suscetibilidade à deterioração microbiana, diferente das demais amostras tratadas com eugenol puro.

Em contrapartida, o bolo contendo o complexo β CD/EUG a 1 mol demonstrou retardamento no aparecimento de fungos, com início de contaminação visível a partir do tempo 13 dias. Logo, a formulação com β CD/EUG a 2 mols foi eficaz em inibir o crescimento fúngico até 15 dias de avaliação, momento em que foi perceptível a presença de focos de crescimento de bolor. De forma semelhante, os bolos tratados com eugenol puro, tanto na concentração de 1 mol quanto de 2 mols, apresentaram sinais visíveis de contaminação fúngica ao 15º dia de observação.

Esses resultados sugerem que o complexo **β CD/EUG** em concentração de 2 mols a cada 100 g de farinha é capaz de retardar em 4 dias o surgimento de colônias visíveis de bolores, sendo um aditivo natural promissor para atividade antifúngica.

5.6 Avaliação microbiológica dos bolos

A atividade antifúngica foi avaliada após armazenamento em temperatura ambiente por até 17 dias. Em intervalos determinados (0,11, 13, 15 e 17 dias), as amostras foram coletadas, diluídas em água peptonada tamponada 0,1 % e semeadas em meio de cultura para o crescimento de fungos. Após o período de incubação, foi realizada a contagem das colônias e o cálculo das unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de amostra exposto na Tabela 3.

Tabela 3 - Contagem de bolores e leveduras (UFC/g) das amostras de bolos

Tempo (dias)	Branco	β CD/EUG (1 mol)	β CD/EUG (2 mol)	EUG (1 mol)	EUG (2 mol)
11	$<10^1$	$8,6 \times 10^2$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
13	$<10^1$	$7,5 \times 10^4$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
15	$8,4 \times 10^1$	$5,75 \times 10^4$	$<10^1$	$<10^1$	$1,5 \times 10^5$
17	$4,9 \times 10^5$	$3,9 \times 10^6$	$<10^1$	$1,22 \times 10^5$	$2,58 \times 10^4$

Fonte: Autoria Própria (2025)

O objetivo do experimento foi analisar a eficácia antimicrobiana do eugenol na forma livre e complexado, nas concentrações de 1 e 2 mols. A formulação utilizada na produção das amostras foi definida a partir de testes preliminares, visando garantir a padronização e a reprodutibilidade dos resultados. Todas as amostras foram produzidas seguindo os mesmos procedimentos, cuidados e condições de manipulação e embalagem.

Nos primeiros 11 dias de armazenamento, todos os tratamentos, com exceção do **β CD/EUG** 1 mol, apresentaram contagens de bolores e leveduras inferiores a 10^1 UFC/g, indicando excelente atividade antifúngica inicial. A presença de contaminação no bolo adicionado de **β CD/EUG** 1 mol ($8,6 \times 10^2$ UFC/g), sugere uma possível liberação inicial do composto bioativo a partir do complexo de inclusão ou a contaminação da amostra pelo ambiente em que ficou exposta antes da embalagem (2 horas após retirada do forno).

Em análise ao processo realizado, verificou-se que na divisão das massas, não foram utilizados os mesmos utensílios em todas as formulações, ou seja, não se pode descartar a possibilidade de contaminação externa, especialmente por fungos presentes no ambiente, materiais e matérias primas. Fato observado por Morassi *et al.* (2018), visto que em sua pesquisa apresentou contagens fúngicas em farinha de trigo e no ar do ambiente de processamento chegando a $2,56 \log \text{ UFC/m}^3$, destacando também que a contaminação pós-assamento é preocupante e requer o desenvolvimento de estratégias eficazes para garantir a estabilidade microbiológica, podendo ser através de formulações inovadoras.

Aos 13 e 15 dias de armazenamento, observou-se um aumento na contagem de bolores e leveduras para o **β CD/EUG 1 mol**, chegando a $7,5 \times 10^4 \text{ UFC/g}$ e $5,75 \times 10^4 \text{ UFC/g}$, respectivamente. Já o tratamento com **EUG 2 mol** apresentou contagem de $1,5 \times 10^5 \text{ UFC/g}$ no tempo 15 dias de armazenamento, superior a amostra controle, um indicativo de perda progressiva da eficácia antimicrobiana, possivelmente relacionada à degradação ou volatilização do eugenol e à saturação do sistema frente ao crescimento microbiano. No 17º dia, todas as amostras exibiram crescimento microbiano acentuado, chegando a $3,9 \times 10^6 \text{ UFC/g}$ no tratamento **β CD/EUG 1 mol** e $4,9 \times 10^5 \text{ UFC/g}$ no grupo controle. Embora o tratamento com **EUG 2 mol** tenha apresentado contagem relativamente menor ($2,58 \times 10^4 \text{ UFC/g}$), esse valor ainda representa uma perda significativa da ação antifúngica.

Porém, destaca-se que para **β CD/EUG 2 mol**, não foi detectado crescimento para nenhum dos tempos analisados, nas condições em que a análise foi realizada, apesar de ter sido observada a presença de uma colônia de bolor em um dos bolos. Isto sugere que o meio usado, o ágar batata dextrose (PDA), pode não ter sido adequado para o desenvolvimento dos bolores e leveduras porque nem todos os gêneros fúngicos têm boa adaptação ao amido da batata como fonte de carbono (Weststeijn; Okafor, 1971).

De maneira geral, os resultados sugerem que o eugenol exerce ação antimicrobiana eficaz nas fases iniciais, especialmente na forma livre, mas seu efeito diminui ao longo do tempo, possivelmente devido à sua instabilidade térmica e alta volatilidade (Alabrahim *et al.*, 2024).

Esses achados corroboram estudos anteriores que relatam a eficácia inicial do eugenol como agente antimicrobiano, mas também apontam limitações quanto à

sua estabilidade e durabilidade de ação (Ribeiro-Santos *et al.*, 2017; Hyldgaard; Mygind; Meyer, 2012).

O estudo de compostos naturais com atividade antimicrobiana tem ganhado destaque, principalmente pela necessidade de encontrar alternativas mais seguras e eficazes diante do aumento da resistência microbiana (Burt, 2004).

A complexação com β -ciclodextrina mostrou um mecanismo de liberação prolongada do eugenol, conferindo maior estabilidade e ação duradoura, conforme relatado em estudos com inclusão molecular e liberação controlada. Estudos como o de Seo *et al.* (2010) demonstram que a encapsulação de eugenol em **β CD** promove liberação gradual e reduz volatilização, com eficiência de retenção de até aproximadamente 90 % após liofilização.

As moléculas de β -ciclodextrina, por possuírem características hidrofílicas, favoreceram a solubilização do eugenol em meio aquoso, o que contribuiu para a potencialização de seu efeito antimicrobiano (Hill *et al.*, 2013). A complexação com **β CD** e **EUG** se mostrou promissora, mas com possibilidades de otimização para garantir um perfil de liberação mais eficaz e contínuo.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstraram que a síntese do complexo de inclusão **βCD/EUG** foi bem-sucedida, alcançando um rendimento reacional de 76% por meio da metodologia de co-precipitação. A caracterização confirmou a formação do complexo, e a análise antioxidante revelou que o eugenol, mesmo complexado, manteve o potencial antioxidante da molécula livre. Mostrando que as propriedades do eugenol são preservadas com a complexação. Na aplicação prática em cupcakes, observou-se que a adição do complexo em concentração de 2 mols por 100 g de farinha foi eficaz em retardar o crescimento visível de bolores por até 4 dias, além de inibir o crescimento fúngico por até 17 dias, conforme evidenciado nas análises microbiológicas.

A interpretação desses resultados indica que a complexação do eugenol com β -ciclodextrina proporciona maior estabilidade e prolonga a ação antifúngica e antioxidante do ativo, devido à capacidade da **βCD** de reduzir a volatilização e melhorar a solubilidade do eugenol na matriz alimentar. Esse comportamento potencializa o desempenho do eugenol como conservante natural em produtos de confeitaria, sem comprometer sua atividade funcional.

Dessa forma, o presente trabalho contribui para a área de desenvolvimento de aditivos alimentares naturais, apresentando uma alternativa viável e de fácil aplicação para substituir conservantes sintéticos em produtos de panificação. Além disso, os resultados obtidos servem como base inicial para futuras pesquisas que possam aprimorar a formulação, otimizar as condições de uso e ampliar o espectro de aplicação do complexo **βCD/EUG** no setor alimentício.

REFERÊNCIAS

- ABDULMUMEEN, Hamid A. *et al.* Food: Its preservatives, additives and applications. **International Journal of Chemical and Biochemical Sciences**, v. 1, n. 2012, p. 36-47, 2012. DOI:10.13140/2.1.1623.5208
- AFFONSO, Raphael S. *et al.* Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012. DOI: 10.5935/1984-6835.20120012
- ASTRAY, Gonzalo *et al.* A review on the use of cyclodextrins in foods. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 7, p. 1631-1640, 2009. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2009.01.001
- AWUCHI, Chinaza Godswill *et al.* Food additives and food preservatives for domestic and industrial food applications. **Journal of Animal Health**, v. 2, n. 1, p. 1-16, 2020.
- BACKENSFELD, Thomas; MÜLLER, Bernd W.; KOLTER, Karl. Interaction of NSA with cyclodextrins and hydroxypropyl cyclodextrin derivatives. *International journal of pharmaceuticals*, v. 74, n. 2-3, p. 85-93, 1991. DOI: 10.1016/0378-5173(91)90225-D.
- BAI, Lei *et al.* Inclusion complexation, encapsulation interaction and inclusion number in cyclodextrin chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 9-10, p. 1276-1284, 2009. DOI: 10.1016/j.ccr.2008.08.011
- BANCHERO, Mauro. Supercritical carbon dioxide as a green alternative to achieve drug complexation with cyclodextrins. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 6, p. 562, 2021. DOI: 10.3390/ph14060562
- BARBOZA, Joice Nascimento *et al.* An overview on the anti-inflammatory potential and antioxidant profile of eugenol. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, n. 1, p. 3957262, 2018. DOI: 10.1155/2018/3957262
- BASSANI, Juliana Sedlacek. **Uso de especiarias como aditivos naturais na produção de hambúrguer bovino**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2018.
- BELITZ, Hans-Dieter; GROSCH, Werner; SCHIEBERLE, Peter. Food additives. **Food chemistry**, p. 429-466, 2009. DOI: 10.1007/978-3-540-69934-7_9
- BEZERRA, Daniel Pereira *et al.* The dual antioxidant/prooxidant effect of eugenol and its action in cancer development and treatment. **Nutrients**, v. 9, n. 12, p. 1367, 2017. DOI: 10.3390/nu9121367
- BRASIL. Ministério da Saúde (Brasil). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Legislação. Instrução Normativa Nº 211, de 1º de março de 2023**. Estabelece as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso para os aditivos alimentares e os coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos. Brasília, DF: Casa Civil, 2023. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 02 jun. 2025.

BURGOS, Ana E.; OKIO, C. K. Y. A.; SINISTERRA, Rubén D. Preparação do composto de associação entre citrato de ródio (II) e β -ciclodextrina. **Química Nova**, v. 35, n. 4, p. 762-765, 2012.

BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022

CANNAVA, Carmela *et al.* Physicochemical characterization of coumestrol/ β -cyclodextrins inclusion complexes by UV–vis and FTIR-ATR spectroscopies. **Vibrational Spectroscopy**, v. 48, n. 2, p. 172-178, 2008. DOI: 10.1016/j.vibspec.2007.12.013

CAO, Li *et al.* Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 801-805, 2009. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.12.064

CELEBIOGLU, Asli; YILDIZ, Zehra Irem; UYAR, Tamer. Electrospun crosslinked poly-cyclodextrin nanofibers: Highly efficient molecular filtration thru host-guest inclusion complexation. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 7369, 2017. DOI: doi.org/10.1038/s41598-017-07547-4

CELEBIOGLU, Asli; UYAR, Tamer. Electrohydrodynamic encapsulation of eugenol-cyclodextrin complexes in pullulan nanofibers. **Food Hydrocolloids**, v. 111, p. 106264, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106264

CID-SAMAMED, Antonio *et al.* Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. **Food Chemistry**, v. 384, p. 132467, 2022. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132467

CHOI, Mi-Jung *et al.* Physical and light oxidative properties of eugenol encapsulated by molecular inclusion and emulsion–diffusion method. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 148-156, 2009. DOI: 10.1016/j.foodres.2008.09.011

CRINI, Gregorio. A history of cyclodextrins. **Chemical reviews**, v. 114, n. 21, p. 10940-10975, 2014.

DAVIDSON, P. Michael; SOFOS, John N.; BRANEN, A. Larry. **Antimicrobials in food**. CRC press, 2005

DA SILVA, Francisco Felipe Maia *et al.* Eugenol derivatives: synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and antioxidant activities. **Chemistry Central Journal**, v. 12, p. 1-9, 2018. DOI: 10.1186/s13065-018-0407-4

DENARI, Gabriela Bueno; CAVALHEIRO, Éder Tadeu Gomes. Princípios e aplicações de análise térmica. **São Carlos: IQSC**, p. 40, 2012.

DE MENEZES, Bryan Brummelhaus *et al.* A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV–Vis spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 1157, p. 338398, 2021. DOI: 10.1016/j.aca.2021.338398

DESHPANDE, ALPANA; DESHPANDE, BHAGYASHREE. Food additives and preservation: A review. **Indian Journal of Sciences and Research**, v. 13, p. 219-225, 2017.

DEVI, K. Pandima *et al.* Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. **Journal of ethnopharmacology**, v. 130, n. 1, p. 107-115, 2010. DOI: 10.1016/j.jep.2010.04.025

DEVLIEGHERE, Frank; VERMEIREN, Lieve; DEBEVERE, Johan. New preservation technologies: possibilities and limitations. **International dairy journal**, v. 14, n. 4, p. 273-285, 2004. DOI: 10.1016/j.idairyj.2003.07.002

DE MELO, Nathália Ramos; SOARES, Nilda de Fátima Ferreira; GONÇALVES, Maria Paula Junqueira C. NISINA: UM CONSERVANTE NATURAL PARA ALIMENTOS/NISIN: A NATURAL FOOD ADDITIVE. **Revista ceres**, v. 52, n. 304, 2005.

EFSA PANEL ON FOOD ADDITIVES AND NUTRIENT SOURCES ADDED TO FOOD (ANS) *et al.* Re-evaluation of β -cyclodextrin (E 459) as a food additive. **Efsa Journal**, v. 14, n. 12, p. e04628, 2016. DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4628

ERNANDES, F. M. P. G. *et al.* Atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais em microrganismos isolados do meio ambiente. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 193-206, 2007.

FERREIRA, Fabricia da R. *et al.* Antioxidant activity of the mangiferin inclusion complex with β -cyclodextrin. **LWT-Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 129-134, 2013. DOI: 10.1016/j.lwt.2012.09.032

FROHLICH, Paula Cassiana *et al.* Antioxidant compounds and eugenol quantification of clove (*Syzygium aromaticum*) leaves extracts obtained by pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 196, p. 105865, 2023. DOI: 10.1016/j.supflu.2023.105865

FRÖMMING, Karl-Heinz; SZEJTLI, József. **Cyclodextrins in pharmacy**. Springer Science & Business Media, 1993.

FUJISAWA, Seiichiro *et al.* Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity. **Toxicology**, v. 177, n. 1, p. 39-54, 2002. DOI: 10.1016/S0300-483X(02)00194-4

GÓRNAS, Paweł *et al.* Beta-cyclodextrin complexes with chlorogenic and caffeic acids from coffee brew: Spectroscopic, thermodynamic and molecular modelling study. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 190-196, 2009. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.09.048

HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, Pilar *et al.* Optimization of a method for preparing solid complexes of essential clove oil with β -cyclodextrins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 2, p. 420-426, 2017. DOI: 10.1002/jsfa.7781

HILL, Laura E.; GOMES, Carmen; TAYLOR, T. Matthew. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. **LWT-Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 86-93, 2013. DOI: 10.1016/j.lwt.2012.11.011

HYLDGAARD, Morten; MYGIND, Tina; MEYER, Rikke Louise. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 12, 2012. DOI: 10.3389/DMICB.2013.00012

HO, Siyin *et al.* Cyclodextrin encapsulated catechin: Effect of pH, relative humidity and various food models on antioxidant stability. **LWT-Food Science and Technology**, v. 85, p. 232-239, 2017. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.07.028

HONORATO, T. C.; SILVA, E. B.; PEREIRA, T. P.; NASCIMENTO, K. de O. do. Food additives: applications and toxicology. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 01–11, 2013.

HU, Liandong *et al.* Investigation of inclusion complex of cilnidipine with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Carbohydrate polymers**, v. 90, n. 4, p. 1719-1724, 2012. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.07.057

IGEA, Soledad Anguiano. Incorporación de principios activos líquidos a dispersiones sólidas y complejos de inclusión con ciclodextrinas. 1992. Tese de Doutorado. Universidade de Santiago de Compostela. 1992.

JIANG, Longwei *et al.* Physicochemical properties of catechin/ β -cyclodextrin inclusion complex obtained via co-precipitation. **CyTA-Journal of Food**, v. 17, n. 1, p. 544-551, 2019. DOI: 10.1080/19476337.2019.1612948

JINDAL, Rajeev *et al.* Cyclodextrin mediated controlled release of edaravone from pH-responsive sodium alginate and chitosan based nanocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 202, p. 11-25, 2022. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.001

JUG, Mario; MURA, Paola Angela. Grinding as solvent-free green chemistry approach for cyclodextrin inclusion complex preparation in the solid state. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 189, 2018. DOI: 10.3390/pharmaceutics10040189

KAYACI, Fatma; ERTAS, Yelda; UYAR, Tamer. Enhanced thermal stability of eugenol by cyclodextrin inclusion complex encapsulated in electrospun polymeric nanofibers. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 34, p. 8156-8165, 2013.

KEDARE, Sagar B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of food science and technology**, v. 48, p. 412-422, 2011. DOI: 10.1007/s13197-011-0251-1

KEMELBEKOV, U. *et al.* IR, UV and NMR studies of β -cyclodextrin inclusion complexes of kazcaine and prosidol bases. **Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry**, v. 69, p. 181-190, 2011. DOI: 10.1007/s10847-010-9829-x

KIM, Ji-Sang. Study of flavonoid/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexes by UV-Vis, FT-IR, DSC, and X-Ray diffraction analysis. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 25, n. 4, p. 449, 2020. DOI: 10.3746/pnf.2020.25.4.449

KRINGEL, Dianini Hüttner *et al.* Production, characterization, and stability of orange or eucalyptus essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of food science**, v. 82, n. 11, p. 2598-2605, 2017. DOI: 10.1111/1750-3841.13923

KRINGEL, Dianini Hüttner *et al.* Free and encapsulated orange essential oil into a β -cyclodextrin inclusion complex and zein to delay fungal spoilage in cakes. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 5, p. e14411, 2020. DOI: doi.org/10.1111/jfpp.14411

LI, Shanshan *et al.* Effect of preparation processes and structural insight into the supermolecular system: Bisacodyl and β -cyclodextrin inclusion complex. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 224-232, 2016. DOI: 10.1016/j.msec.2015.08.036

LI, Wenzhao *et al.* Preparation and characterization of inclusion complex of benzyl isothiocyanate extracted from papaya seed with β -cyclodextrin. **Food chemistry**, v. 184, p. 99-104, 2015. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.091

LOFTSSON, Thorsteinn; DUCHENE, Dominique. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International journal of pharmaceutics**, v. 329, n. 1-2, p. 1-11, 2007. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.10.044

MASTELIC, Josip *et al.* Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 11, p. 3989-3996, 2008.

MIRANDA, Lucas Alves; SOUZA, Pedro Henrique da Silva. Extração do eugenol a partir do cravo da Índia para produção de perfume. In: **Congresso de Interdisciplinaridade do Noroeste Fluminense**. 2016. Disponível em: <<https://anais.eventos.iff.edu.br/index.php/coninfitaperuna/article/view/1069>>. Acesso em: 23 de agosto de 2025.

MORASSI, Letícia LP *et al.* Fungi in cake production chain: Occurrence and evaluation of growth potential in different cake formulations during storage. **Food research international**, v. 106, p. 141-148, 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.12.075

MURA, Paola. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 113, p. 226-238, 2015. DOI: 10.1016/j.jpba.2015.01.058

NISAR, Muhammad Farrukh *et al.* Pharmacological properties and health benefits of eugenol: A comprehensive review. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2021, n. 1, p. 2497354, 2021. DOI: 10.1155/2021/2497354

PILETTI, Raquel *et al.* Obtenção e caracterização de microcápsulas de eugenol e de óleo de alho duplamente revestidas para aumento da estabilidade térmica. 2016. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

PILETTI, R. *et al.* Microencapsulation of eugenol molecules by β -cyclodextrine as a thermal protection method of antibacterial action. **Materials Science and Engineering: C**, v. 75, p. 259-271, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2017.02.075

PIRES, Sara M.; DEVLEESSCHAUWER, Brecht. Estimates of global disease burden associated with foodborne pathogens. In: **Foodborne infections and intoxications**. Academic Press, 2021. p. 3-17. DOI: 10.1016/B978-0-12-819519-2.00020-7

RIBEIRO-SANTOS, Regiane *et al.* Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in food science & technology**, v. 61, p. 132-140, 2017. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.11.021

RUSSELL, Nicholas J.; GOULD, Grahame W. (Ed.). **Food preservatives**. Springer Science & Business Media, 2003.

REGO, Raul A.; VIALTA, Airton; MADI, L. F. C. Pães industrializados: nutrição e praticidade com segurança e sustentabilidade. **ITAL Alimentos Industrializados**, v. 1, p. 14, 2020. Disponível em: <https://ital.agricultura.sp.gov.br/paes-industrializados/2/>. Acesso em: 20 de abril de 2025.

SCHORR, R.R. Estudos visando o desenvolvimento de novo fungicida como alternativa de controle de fitopatógenos da maçã baseada em substâncias de baixa toxicidade. 94f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica). Universidade Federal do Paraná, 2018.

SHEN, Dan *et al.* Ultrasonic preparation of citral/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex: Application as a potential antifungal preservative in strawberry storage. **Food Control**, v. 155, p. 110046, 2024. DOI: 10.1016/j.foodcont.2023.110046

SIMON, Ronald A. Adverse reactions to food and drug additives. **Immunology and allergy clinics of North America**, v. 16, n. 1, p. 137-176, 1996. DOI: 10.1016/S0889-8561(05)70240-X

SILVESTRI, Jandimara Doninelli Fior *et al.* Chemical composition and antioxidant and antibacterial activities of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata* Thunb). **Revista Ceres**, v. 57, p. 589-594, 2010. DOI: 10.1590/S0034-737X2010000500004

SILVA, Adson Storck da. Quais os conservantes mais utilizados em alimentos comercializados na maior rede de supermercados do Brasil?. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2013.

SILVA, E. de S. *et al.* Conservação de alimentos pelo uso de aditivos: uma revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, Curitiba**, v. 37, n. 2, p. 18-29, 2019.

SINGH, Mamata; SHARMA, Rohit; BANERJEE, U. C. Biotechnological applications of cyclodextrins. **Biotechnology advances**, v. 20, n. 5-6, p. 341-359, 2002. DOI: 10.1016/S0734-9750(02)00020-4

STANCANELLI, Rosanna *et al.* UV–vis and FTIR-ATR characterization of 9-fluorenon-2-carboxyester/(2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 47, n. 4-5, p. 704-709, 2008. DOI: 10.1016/j.jpba.2008.02.018

STUART, Barbara H. **Infrared spectroscopy: fundamentals and applications**. John Wiley & Sons, 2004.

UEKAMA, Kaneto; OTAGIRI, Masaki. Cyclodextrins in drug carrier systems. **Critical reviews in therapeutic drug carrier systems**, v. 3, n. 1, p. 1-40, 1987.

TAKEMOTO, Emy; TEIXEIRA FILHO, José; GODOY, Helena Teixeira. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. **Química Nova**, v. 32, p. 1189-1194, 2009. DOI: 10.1590/S0100-40422009000500020

TONETTO, A. *et al.* **O uso de aditivos de cor e sabor em produtos alimentícios**. 2008. Curso de Especialização (Especialização em Atividade Física Adaptada e Saúde professor doutor Luzimar Teixeira)–Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

VANIN, Adriana B. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of clove essential oil and eugenyl acetate produced by enzymatic esterification. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 174, p. 1286-1298, 2014. DOI: 10.1007/s12010-014-1113-x

VACLAVIK, Vickie A. *et al.* Food additives. **Essentials of Food Science**, p. 343-366, 2014.

VENTURINI, Cristina de Garcia *et al.* Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Química Nova**, v. 31, p. 360-368, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000200032

VERAS, Felipe Eduardo Lages *et al.* Intoxicação com aditivos alimentares. **RevInter**, v. 14, n. 1, 2021. DOI: 10.22280/revintervol14ed1.413. Disponível em: <<https://research.ebsco.com/c/bdwnrh/viewer/pdf/umhc2chvbj>>. Acesso em: 05 de junho de 2025.

VERDONCK, Els; SCHAAP, Ko; THOMAS, Leonard C. A discussion of the principles and applications of Modulated Temperature DSC (MTDSC). **International journal of pharmaceuticals**, v. 192, n. 1, p. 3-20, 1999. DOI: 10.1016/S0378-5173(99)00267-7

WADHWA, Geetika *et al.* Essential oil–cyclodextrin complexes: An updated review. **Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry**, v. 89, p. 39-58, 2017. DOI: 10.1007/s10847-017-0744-2

WANG, Ting *et al.* Release characteristics and antibacterial activity of solid state eugenol/ β -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry**, v. 71, p. 207-213, 2011. DOI: 10.1007/s10847-011-9928-3

WATSON, Michael A.; LEA, Jeanne M.; BETT-GARBER, Karen L. Spray drying of pomegranate juice using maltodextrin/cyclodextrin blends as the wall material. **Food science & nutrition**, v. 5, n. 3, p. 820-826, 2017. DOI: 10.1002/fsn3.467

WEN, Xianhong *et al.* Preparation and study the 1: 2 inclusion complex of carvedilol with β -cyclodextrin. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 34, n. 3, p. 517-523, 2004. DOI: 10.1016/S0731-7085(03)00576-4

WESTSTEIJN, G.; OKAFOR, N. Comparison of cassava, yam and potato dextrose agars as fungal culture media. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 77, p. 134-139, 1971.

WILLIAMS III, Robert O.; MAHAGUNA, Vorapann; SRIWONGJANYA, Mongkol. Characterization of an inclusion complex of cholesterol and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceuticals**, v. 46, n. 3, p. 355-360, 1998. DOI: 10.1016/S0939-6411(98)00033-2

WORANUCH, Sarekha; YOKSAN, Rangrong. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: I. Thermal stability improvement of eugenol through encapsulation. **Carbohydrate polymers**, v. 96, n. 2, p. 578-585, 2013. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.08.117

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food safety**. 2024. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>>. Acesso em 07 de junho de 2025.

YANG, Xiaoxi *et al.* Alginate-based edible coating with oregano essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complex for chicken breast preservation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 251, p. 126126, 2023. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126126

YANG, Yan; SONG, Le Xin. Study on the inclusion compounds of eugenol with α -, β -, γ -and heptakis (2, 6-di-O-methyl)- β -cyclodextrins. **Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry**, v. 53, p. 27-33, 2005. DOI:10.1007/s10847-005-0247-4

ZHAN, Hao *et al.* Molecular microcapsules and inclusion interactions of eugenol with β -cyclodextrin and its derivatives. **European Food Research and Technology**, v. 227, p. 1507-1513, 2008. DOI: 10.1007/s00217-008-0873-3

ZHANG, Liang-Liang *et al.* Comparison study on antioxidant, DNA damage protective and antibacterial activities of eugenol and isoeugenol against several foodborne pathogens. **Food & nutrition research**, v. 61, n. 1, p. 1353356, 2017. DOI: 10.1080/16546628.2017.1353356

ZHENG, Wei; WANG, Shioh Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

ZHU, Guangyong *et al.* Study of production and pyrolysis characteristics of sweet orange flavor- β -cyclodextrin inclusion complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, p. 75-80, 2014. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.01.060