

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Encapsulação de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) em mucilagem
de chia (*Salvia hispanica L.*) para aplicação em linguiça suína frescal**

Andressa Salies Souza

Pelotas, 2024

Andressa Salies Souza

**Encapsulação de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) em mucilagem
de chia (*Salvia hispânica L.*) para aplicação em linguiça suína frescal**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra

Comitê de Orientação: Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges
Prof^a. Dr^a. Tatiana Kuka Valente Gandra
Prof^a. Dr^a. Marjana Radünz

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

S719e Souza, Andressa Salies

Encapsulação de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) em mucilagem de chia (*Salvia hispânica L.*) para aplicação em linguiça suína frescal [recurso eletrônico] / Andressa Salies Souza ; Eliezer Avila Gandra, orientador ; Caroline Dellinghausen Borges, Tatiana Kuka Valente Gandra, Marjana Radünz, coorientadoras. — Pelotas, 2024.
91 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Atividade antimicrobiana. 2. Atividade antioxidante. 3. Emulsificação. 4. Liofilização. I. Gandra, Eliezer Avila, orient. II. Borges, Caroline Dellinghausen, coorient. III. Gandra, Tatiana Kuka Valente, coorient. IV. Radünz, Marjana, coorient. V. Título.

CDD 641.1

Elaborada por Simone Godinho Maisonave CRB: 10/1733

Andressa Salies Souza

Encapsulação de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) em mucilagem de chia (*Salvia hispanica L.*) para aplicação em linguiça suína frescal

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 27/02/2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra (Orientador). Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.^a Dr.^a Caroline Dellinghausen Borges (Coorientadora). Doutora em Biotecnologia Agrícola pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.^a Dr.^a Marjana Radünz (Coorientadora). Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.^a Dr.^a Tatiane Kuka Valente Gandra (Coorientadora). Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.^a Dr.^a Elizangela Gonçalves de Oliveira. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande.

Prof.^a Dr.^a Elessandra da Rosa Zavareze. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande.

Prof.^a Dr.^a Chirle de Oliveira Raphaelli. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Agradecimentos

À Deus, pela força espiritual nos momentos mais difíceis dessa trajetória.

A minha mãe Denise pelo apoio incodicional em todas as etapas da minha vida e por ser uma grande incentivadora para que eu sempre corra atrás dos meus objetivos. Obrigada mãe, por toda a tua dedicação incansável, compreensão e amor incondicional.

Ao meu pai, irmãos e padrasto que sempre torceram por mim. Ao meu amor pelo companheirismo, compreensão e apoio durante todo esse período. À vocês, minha família, sou eternamente grata por tudo que sou, por tudo que consegui conquistar e pela felicidade que tenho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eliezer Gandra, por toda ajuda e ensinamentos durante esses dois anos de mestrado e por não me deixar desanimar nos dias ruins quando as ideias do projeto não saíam como o planejado.

As minhas coorientadoras Prof.^a. Dr^a. Caroline Borges, Prof.^a Dr.^a Marjana Radünz e Prof.^a Dr.^a Tatiana Gandra por toda ajuda prestada.

Aos demais professores do PPGNA, que de alguma forma contribuíram para o meu desenvolvimento e crescimento como pesquisadora.

A banca avaliadora, composta pela Prof. Dr^a. Elessandra, Prof. Dr^a. Elizangela e Prof. Dr^a Chirle de Oliveira Raphaelli por todas as contribuições e conselhos que com certeza enriqueceram o meu trabalho.

Aos meus colegas do laboratório LACABIM, que me auxiliaram durante meu experimento de mestrado.

Ao meu amigo Diego por estar me acompanhando nessa trajetória acadêmica desde a graduação, sendo meu companheiro de estudos, de análises no laboratório até altas horas e me fazendo dar risadas mesmo nos momentos mais difíceis. Obrigada pela amizade e companheirimo.

A Universidade Federal de Pelotas e ao PPGNA pela oportunidade de poder cursar o mestrado nessa Instituição que considero minha segunda casa, além de poder agregar mais conhecimento e qualificação na minha vida profissional e pessoal. E agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho e puderam tornar a caminhada mais leve, muito obrigado pelo carinho!

Resumo

SOUZA, Andressa Salies. **Encapsulação de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) em mucilagem de chia (*Salvia hispanica L.*) para aplicação em linguiça suína frescal.** Orientador: Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra. 2024. 91f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos). Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

O mercado de embutidos aumentou a competitividade na última década, uma vez que o consumo de produtos cárneos tem se tornado cada vez mais presente no hábito alimentar da população brasileira. Porém, esse tipo de produto contém aditivos alimentares, principalmente os conservantes nitrato e nitrito, reconhecidos pelo seu potencial carcinogênico. O óleo essencial de tomilho pode ser uma alternativa natural para substituir tais conservantes, entretanto, sua utilização direta pode interferir nas características sensoriais do produto, a fim de mascarar o forte odor e sabor do óleo essencial, a técnica de encapsulação pode ser aplicada. Estudos demonstram o uso eficiente de mucilagem de chia como material de parede para a encapsulação. Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do óleo essencial de tomilho encapsulado em mucilagem de chia aplicado em embutido cárneo como substituto parcial ou total de nitrato e nitrito de sódio. Foram produzidas três partículas com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (3,5, 7,5 e 10%) e avaliadas quanto a eficiência de encapsulação, atividade antioxidante, propriedades térmicas, morfologia e atividade antimicrobiana. As partículas com 10% de óleo essencial de tomilho apresentaram maior eficiência de encapsulação (98,25%), atividade antioxidante (25,53%), concentração mínima inibitória (0,028 para *E. coli* e 0,34 para *S. aureus*), estabilidade térmica e foi mais efetiva quanto a inibição de *Staphylococcus aureus*. Não houve influência da concentração do óleo nas partículas nos valores de rendimento. Em função dos resultados, essas partículas foram adicionadas em formulações de linguiça suína frescal, uma apenas com conservantes (FC), outra com metade da concentração dos conservantes utilizados na primeira formulação e com a adição de partículas de óleo essencial de tomilho (F1), outra apenas com as partículas (F2) e pôr fim a última sem adição de conservantes e sem partículas (F3). As linguiças foram avaliadas quanto as características físico-químicas e microbiológicas. De forma geral, a adição das partículas de óleo essencial de tomilho na formulação sem os conservantes (F2) reduziu a acidez, o índice de peróxidos e a p-anisidina da linguiça em relação a formulação sem adição de conservantes (F3) ou aquela adicionada de 50% dos conservantes e com partículas (F1). As formulações F1 e F2 aumentaram o parâmetro a^* (vermelhidão) durante o tempo de armazenamento. Além disso, a adição do óleo encapsulado na formulação (F2) propiciou um controle microbiológico quanto a *Estafilococos coagulase positiva*, *Escherichia coli*, bactérias aeróbias mesófilas e *Salmonella*. Em acordo com os resultados encontrados, conclui-se que o uso das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia demonstrou potencial para serem utilizadas em substituição a nitratos e nitritos em produtos cárneos.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana; atividade antioxidante; emulsificação; liofilização.

Abstract

SOUZA, Andressa Salies. **Encapsulation of thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) in chia mucilage for application to fresh pork sausage.** Advisor: Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra. 2024. 91f. Qualification Project (Postgraduate Program in Nutrition and Food). Faculty of Nutrition, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

The sausage market has increased competitiveness in the last decade, as the consumption of meat products has become increasingly present in the eating habits of the Brazilian population. However, this type of product contains food additives, mainly nitrate and nitrite preservatives, known for their carcinogenic potential. Thyme essential oil can be a natural alternative to replace such preservatives, however, its direct use can interfere with the sensorial characteristics of the product, in order to mask the strong odor and flavor of the essential oil, the encapsulation technique can be applied. Studies demonstrate the efficient use of chia mucilage as a wall material for encapsulation. The objective of this study was to evaluate the effect of thyme essential oil encapsulated in chia mucilage applied to meat sausages as a partial or total replacement for sodium nitrate and nitrite. Three particles were produced with different concentrations of thyme essential oil (3.5, 7.5 and 10%) and evaluated for encapsulation efficiency, antioxidant activity, thermal properties, morphology and antimicrobial activity. Particles with 10% thyme essential oil showed greater encapsulation efficiency (98.25%), antioxidant activity (25.53%), thermal stability and were more effective in inhibiting *Staphylococcus aureus*. There was no influence of the oil concentration in the particles on the yield values. Depending on the results, these particles were added to fresh pork sausage formulations, one with only preservatives (FC), another with half the concentration of preservatives used in the first formulation and with the addition of thyme essential oil particles (F1), another with just the particles (F2) and finish the last one without adding preservatives and without particles (F3). The sausages were evaluated for their physical-chemical and microbiological characteristics. In general, the addition of thyme essential oil particles in the formulation without preservatives (F2) reduced the acidity, peroxide value and p-anisidine of the sausage in relation to the formulation without added preservatives (F3) or the one added 50% of preservatives and with particles (F1). Formulations F1 and F2 increased the a^* parameter (redness) during storage time. Furthermore, the addition of the encapsulated oil in the formulation (F2) provided microbiological control against coagulase-positive *Staphylococci*, *Escherichia coli*, mesophilic aerobic bacteria and *Salmonella*. In agreement with the results found, it is concluded that the use of thyme essential oil particles in chia mucilage demonstrated the potential to be used to replace nitrates and nitrites in meat products.

Keywords: lipid oxidation; meat products; nanoparticles; nanotechnology.

Lista de figuras

Figura 1 - Fórmula estrutural de compostos terpênicos do OE do tomilho	22
Figura 2 - Eficiência de encapsulação (%) de diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (3,5, 7,5 e 10%) em partículas de mucilagem de chia.	44
Figura 3 - Atividade antioxidante (% de inibição) das partículas de mucilagem contendo diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (3,5, 7,5 e 10%) pelo método de inibição do radical DPPH.....	46
Figura 4 - Morfologia das partículas com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia	47
Figura 5 - Morfologia das cápsulas com 10% de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia	48
Figura 6 - Estabilidade térmica dos materiais pela técnica de TG/DTG.....	49
Figura 7 - Halo de inibição (cm) obtido pelo método de difusão em poços frente ao <i>S. aureus</i> em função das diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho nas partículas de mucilagem de chia	53
Figura 8 - Acidez (% de ácido oleico) das diferentes formulações da linguiça suína frescal armazenadas a 7°C por 21 dias	56
Figura 9 - Índice de peróxidos (mEq-g O ₂ kg ⁻¹ de lipídeos) das diferentes formulações da linguiça suína frescal armazenadas a 7°C por 21 dias	58
Figura 10 - Índice de p-anisidina das diferentes formulações de linguiça suína frescal armazenadas a 7°C por 21 dias	60

Lista de tabelas

Tabela 1 - Caracterização das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia	31
Tabela 2 - Caracterização da linguiça suína frescal	32
Tabela 3 - Ingredientes utilizados no produto cárneo em quatro formulações diferentes	38
Tabela 4 -Temperaturas iniciais e finais da perda de massa de cada amostra	49
Tabela 5 - Análise FTIR das vibrações molecularres do óleo de tomilho, mucilagem de chia e das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia	52
Tabela 6 - Coordenada L* das diferentes formulações linguiça suína frescal ao longo do tempo de armazenamento	61
Tabela 7 - Coordenada a* das diferentes formulações da linguiça suína frescal armazenadas a 7°C por 21 dias	62
Tabela 8 - Coordenada b* das diferentes formulações da linguiça suína frescal armazenadas a 7°C por 21 dias.....	63
Tabela 9 - Teor de umidade (%) das diferentes formulações da linguiça suína frescal armazenadas a 7°C por 21 dias	64
Tabela 10 - Contagens de estafilococos coagulase positiva nas diferentes formulações de linguiça suína frescal armazenadas a 7 °C por 21 dias	66
Tabela 11 - Contagens de bactérias mesófilas aeróbias nas diferentes formulações de linguiça suína frescal armazenadas a 7°C por 21 dias.	68

Lista de Abreviaturas e Siglas

BH	Brain Heart Infusion
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Manual Clinical and Laboratory Standards Institute
DPPH	2-2-difenil-1-picril-hidrazil
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
EE	Eficiência de encapsulação
EMB	Eosina azul de metíleno
HEA	Agar entérico Hektoen
RPM	Rotação por minuto
TBARS	thiobarbituric acid reactive species
TSB	Caldo triptona de soja
TWEEN 80	Monolaurato de Polioxietileno Sorbitana
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
OE	Óleo essencial

Sumário

1	Introdução	13
1.1	Hipóteses.....	16
1.2	Objetivos.....	17
1.2.1	Objetivo geral	17
1.2.2	Objetivos específicos	17
2	Revisão da literatura	18
2.1	Embutidos cárneos	18
2.2	Nitratos e nitritos	19
2.3	Óleos essenciais.....	20
2.4	Óleo essencial de tomilho (<i>Thymus vulgaris L.</i>)	22
2.5	Encapsulação	24
2.5.1	Encapsulação do óleo essencial de tomilho.....	26
2.6	Material de parede das partículas	27
2.7	Mucilagem de chia	28
3	Materiais e métodos	30
3.1	Material	30
3.2	Métodos	30
3.2.1	Delineamento experimental	30
3.2.2	Extração da mucilagem da chia	32
3.2.3	Encapsulação do óleo essencial	32
3.2.4	Avaliação das partículas de óleo essencial em mucilagem de chia	33
3.2.4.1.	Eficiência de encapsulação.....	33
3.2.4.2	Atividade antioxidante	34
3.2.4.3	Microscopia eletrônica de varredura	34
3.2.4.4	Análise de termogravimetria	34
3.2.4.5	Perfil espectroscópico na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	34
3.2.4.6	Rendimento da encapsulação.....	35
3.2.5	Avaliação do potencial antimicrobiano	35
3.2.5.1	Reativação dos microrganismos	35
3.2.5.2	Teste de difusão em poços	36
3.2.5.3	Mínima concentração inibitória	36
3.2.5.4	Mínima concentração bactericida	37
3.2.6	Preparação do produto cárneo e avaliações	37

3.2.6.1 Extração da gordura	38
3.2.6.2 Determinação da acidez	39
3.2.6.3 Determinação do índice de peróxidos	39
3.2.6.4 Análise de p-anisidina	40
3.2.6.5 Análise de cor	40
3.2.6.6 Teor de umidade.....	40
3.2.7 Análises microbiológicas.....	41
3.2.7.1 Análise de <i>Salmonella</i> spp.....	41
3.2.7.2 Análise de <i>Escherichia coli</i>	41
3.2.7.3 Análise de <i>Estafilococos coagulase positiva</i>	42
3.2.7.4 Análise de microrganismos mesófilos aeróbios.....	42
3.2.8 Análise estatística	43
4 Resultados e Discussão.....	44
4.1 Caracterização dos encapsulados	44
4.1.1 Eficiência de encapsulação	44
4.1.2 Atividade antioxidante	45
4.1.3 Microscopia eletrônica de varredura	47
4.1.4 Análise de termogravimetria	48
4.1.5 FTIR	51
4.1.6 Rendimento da encapsulação.....	53
4.1.7 Difusão em poços	53
4.1.8 Concentração mínima inibitória.....	54
4.1.9 Mínima concentração bactericida	55
4.2 Aplicação na linguiça suína frescal	56
4.2.1 Acidez.....	56
4.2.2 Índice de peróxidos.....	57
4.2.3 Índice de p-anisidina	59
4.2.4 Análise de cor	61
4.2.5 Teor de umidade.....	64
4.2.6 <i>Salmonella</i> spp.	65
4.2.7 <i>Escherichia coli</i>	66
4.2.8 Análise de <i>Estafilococos coagulase positiva</i>	66
Conclusão	70
Referências	71

1 Introdução

No Brasil, o elevado consumo de carne vermelha, produtos cárneos e embutidos está muito associado à cultura da população. Devido a isso, o mercado de embutidos tem crescido na última década. De acordo com Belucci (2018) a atratividade dos produtos cárneos industrializados ao consumidor é justificada pelo preço acessível, rapidez no preparo, facilidade e praticidade. A vida útil das carnes é variada, uma vez que por serem alimentos perecíveis, a sua deterioração está ligada as condições do abate e armazenamento. Diante disso, através do uso de sais de cura, como nitrato e nitrito de sódio e potássio, foi possível aumentar essa vida útil, pois os mesmos tem como objetivo atuar como conservante, inclusive inibindo o crescimento de algumas espécies de microrganismos causadores de toxinfecções e intoxicações, como, por exemplo, *Clostridium botulinum*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp (Silveira, 2019).

A aplicação desses conservantes na indústria de alimentos está relacionada a produção de alimentos seguros aos consumidores, evitando a ação de agentes biológicos (Silva, 2021). Entretanto, múltiplos estudos indicam reações adversas nos consumidores a esses aditivos, quer seja aguda ou crônica, como reações tóxicas no metabolismo que desencadeiam alergias e potencial carcinogênico, que pode ser observado a longo prazo (Módena; Meirelles; Araújo, 2008; Polônio; Peres, 2009; Silveira, 2019). Segundo Serôdio (2022), ao submeter ao aquecimento, os nitritos presentes no produto cárneo cru acabam reagindo com aminas secundárias e terciárias, podendo levar ao aparecimento de nitrosaminas. Essas nitrosaminas podem ser consideradas agentes cancerígenos para humanos de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) (IARC, 1978; Duarte, 2010), devido a serem consideradas responsáveis pelo câncer de estômago e também colorretal, que tem alta prevalência em populações que consomem regularmente embutidos cárneos (Vivian *et al.*, 2020). A legislação brasileira vigente prevê que a

soma dos nitratos e nitritos, determinados como quantidade máxima residual, não deve superar 0,015g/100g em produtos cárneos frescos (Brasil, 2023). Além disso, também são utilizados antioxidantes a fim de prevenir ou retardar as reações de oxidação da carne processada, e embora eles sejam eficazes, alguns desses conservantes são limitados nas indústrias de alimentos, em certa razão, por causa de suas substâncias que também tem potencial carcinogênico.

Em função dos problemas descritos anteriormente e de outros fatores, o mercado consumidor vem buscando gradativamente produtos naturais que proporcionem benefícios à saúde e consequentemente que reduzam o consumo de aditivos sintéticos, utilizando conservantes naturais em seu lugar. Produtos naturais extraídos de plantas, particularmente os óleos essenciais são apontados como uma possibilidade promissora para atuar como substituinte de conservantes tradicionais inativando patógenos em alimentos (Zapparoli *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais (OE) são definidos como compostos que são encontrados de forma natural em plantas, e que exercem funções biológicas referentes ao metabolismo secundário de vegetais como mecanismos de defesa. Além disso, são antimicrobianos naturais que podem conter a contaminação microbiana em alimentos, aumentando a vida útil, destruindo patógenos indesejáveis e retardando a deterioração dos produtos (Tajkarimi; Ibrahim; Cliver, 2010) Os óleos essenciais são extraídos de plantas aromáticas e especiarias que são ricas nos mesmos (Velloso; Martins; Rizzato, 2018). Dentre esses óleos, pode-se destacar o óleo essencial de tomilho. O tomilho (*Thymus vulgaris* L.), é uma planta da família Lamiaceae que compreende 150 gêneros, com cerca de 2800 espécies distribuídas em todo mundo, sendo a região do Mediterrâneo o maior centro de dispersão (Siqueira *et al.*, 2017). A sua atividade antimicrobiana e antioxidantie está relacionada ao fato de possuirem como compostos majoritários o timol, o carvacrol e γ -terpineno que podem atuar tanto como antimicrobianos devido a sua interação com a camada lipídica das membranas celulares, o que ocasiona o extravasamento do conteúdo celular bacteriano, levando a morte celular, quanto como antioxidantes onde esses mesmos compostos possuem a presença de grupos hidroxilas junto ao anel aromático que ligam-se aos radicais livres neutralizando-os (Jakiemiu *et al.*, 2010; Negahban; Saeedfar, 2015). Pesquisas já evidenciaram os benefícios de se utilizar os óleos essenciais, contudo a sua aplicação torna-se difícil devido ao fato da maioria dos seus compostos serem voláteis, o que acaba tornando difícil a aplicação na indústria de alimentos, além disso, em

função do aroma intenso, a sua aplicação direta em produtos alimentícios pode interferir significativamente nas características sensoriais do produto, por isso, encontrou-se na encapsulação uma maneira eficiente de preservar os compostos instáveis e minimizar a interferência sensorial, facilitando sua aplicação na indústria de alimentos (Moreira; Gulão, 2020; Oliveira *et al.*, 2021; Rocha; Ferreira; Gonçalves, 2022). É chamado de microencapsulação o processo no qual uma substância ativa é acondicionada dentro de um invólucro ou revestimento microscópico para proteção e/ou posterior liberação (Souza *et al.*, 2017).

De acordo com Fernandes (2016), a mucilagem de chia é denominada como uma substância translúcida, amorfa e polimérica, formada por unidades de monossacarídeos (β -D-xilose, α -D-glicose) os quais podem estar combinados com ácidos urônicos. Além da fração polissacarídica, a mucilagem é composta por proteínas e substâncias fenólicas, tendo a capacidade de se tornar viscosa na presença de água devido à presença de moléculas hidrofílicas que se combinam com a água, formando um gel transparente.

Estudos mostram que a mucilagem obtida das sementes de chia pode ser uma nova fonte de polissacarídeos, com o potencial de geração de uma mistura de diferentes polímeros para a aplicação na indústria de alimentos, inclusive como agente encapsulante (Vázquez-Ovando *et al.*, 2010; Muñoz *et al.*, 2012; Campo *et al.*, 2018; Fukase; Madrona; Bergamasco, 2018; Silva, 2021).

A liofilização é uma técnica que se baseia na desidratação do produto que foi previamente congelado e submetido posteriormente ao processo de sublimação a vácuo. Ela proporciona a preservação do núcleo, uma vez que utiliza baixas temperaturas (Bandeira, 2017). Além disso, estudos indicam que a técnica de encapsulação pode ser realizada por meio de liofilização de uma emulsão do material do núcleo com um encapsulante. Esse método gera produtos de excelente qualidade, uma vez que diminui as alterações associadas a altas temperaturas (Carvalho, 2009).

Dentro deste contexto, o estudo propôs o desenvolvimento e avaliação de partículas de óleo essencial de tomilho revestidas de mucilagem de chia e a aplicação em linguiça suína frescal, verificando ainda os efeitos desta aplicação nas características microbiológicas e físico-químicas do embutido cárneo.

1.1 Hipóteses

- a) É possível encapsular o óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia pelo método de emulsificação/liofilização;
- b) As partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia apresentam efeito antimicrobiano *in vitro* frente às bactérias *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*;
- c) A adição das partículas com óleo essencial de tomilho em embutido cárneo inibe os microrganismos *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, assim como apresenta atividade antioxidante diminuindo a rancidez oxidativa, permitindo a redução parcial ou total de nitritos e nitratos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) encapsulado em mucilagem de chia aplicado em linguiça suína frescal como substituto parcial ou total de nitrato e nitrito de sódio e do eritorbato de sódio.

1.2.2 Objetivos específicos

Extrair a mucilagem de chia;

Encapsular o óleo essencial de tomilho utilizando mucilagem de chia pelo método de emulsificação/liofilização;

Caracterizar as partículas encapsuladas quanto à eficiência de encapsulação, rendimento, morfologia, comportamento térmico, atividade antimicrobiana e antioxidante;

Desenvolver embutido cárneo adicionado do encapsulado de óleo essencial de tomilho reduzindo total ou parcialmente nitratos, nitritos e eritorbato;

Realizar análise microbiológica de linguiça suína frescal com as partículas encapsuladas de óleo essencial de tomilho durante o armazenamento a 7 °C;

Analizar a acidez, índice de peróxidos, p-anisidina e cor do embutido cárneo adicionado do encapsulado do óleo essencial de tomilho durante o armazenamento a 7 °C.

2 Revisão da literatura

2.1 Embutidos cárneos

De acordo com o Decreto nº 9013 de 2017 (RIISPOA), embutidos são os produtos cárneos elaborados com carne ou com órgãos comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório a tripa, a bexiga ou outra membrana animal (Brasil, 2017). Nessa classe estão incluídos linguiças, copa, presunto, salame, salsicha, salsichão, mortadela, entre outros produtos, que são muito consumidos por parcela considerável da população brasileira (Oliveira, 2014).

Desde a antiguidade, o homem sempre procurou conservar a carne, preservando suas características de qualidade para manter a estocagem de alimentos iniciando-se, assim, os processos e tecnologias de transformação. Desde essa época, os seres humanos fabricam diferentes tipos de produtos cárneos embutidos, aumentando a validade comercial deste tipo de alimento, diversificando a oferta de seus derivados e atendendo as exigências do consumidor (Milani *et al.*, 2003; Oliveira; Araújo; Borgo, 2005; Lucini *et al.*, 2009).

Com a recente pandemia causada pelo coronavírus (COVID 19), o mercado de carnes teve um aumento expressivo nos preços e, consequentemente, o consumo se tornou inviável para uma parcela da população. Devido a esse fato, os hábitos de compra de frios e embutidos têm crescido cada vez mais no Brasil (Dimbarre; Cassol, 2021). Conforme o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), a aquisição domiciliar per capita anual dos brasileiros para os embutidos foi de 0,81 kg (salsicha), 0,58 kg (mortadela) e 2,15 kg (linguiça).

Segundo Tremea *et al.* (2019), a grande demanda e a necessidade de maior tempo de conservação faz com que os sais de cura, como o nitrato e nitrito de sódio e potássio, sejam amplamente utilizados no processamento de embutidos cárneos

com o propósito de conservar, intensificar ou alterar as propriedades sensoriais dos alimentos. A existência de patógenos causadores de doenças de origem alimentar como a *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, entre outros, em produtos cárneos evidencia a necessidade de se investir em técnicas para garantir a segurança do alimento. Também há o interesse em reduzir ou eliminar os microrganismos deteriorantes para aumentar a durabilidade do produto. Como em muitos alimentos refrigerados, o crescimento microbiano é o principal responsável pela deterioração da carne e dos produtos cárneos, em conjunto com as alterações biouíms e enzimáticas (Devlieghere; Vermeiren; Debevere, 2004).

Por vezes são adicionados juntamente aos embutido cárneos antioxidantes sintéticos que segundo Lorenzo *et al.* (2017) o seu uso generalizado tem potencial tóxico e cancerígeno com efeito incerto sobre a saúde humana levantando dúvidas sobre o seu consumo. Desse forma há uma procura por antioxidantes naturais obtidos de fontes vegetais os quais podem ser utilizados para controlar as reações de oxidação durante o processamento e o armazenamento dos alimentos, bem como possuem atividade antimicrobiana comprovada (Rios-mera *et al.*, 2021).

2.2 Nitratos e nitritos

Os aditivos são utilizados na produção de carnes industrializadas com o intuito de conservar, aprimorar o sabor e contribuir para a aparência geral do produto final, além de garantir uma vida útil mais longa para o mesmo. Os agentes de cura mais comumente utilizados em produtos embutidos são os sais de nitrito e nitrato. O processo de cura envolve a adição de açúcar, sal, nitrito e nitrato à carne para que assim possa conservar, melhorar o sabor e desenvolver a cor do produto (Oliveira, 2014).

A inibição do crescimento do *Clostridium botulinum* é a função mais importante desses aditivos, pois esta bactéria pode ser extremamente letal ao organismo humano causando infecções e/ou intoxicações alimentares, como por exemplo, a produção de neurotoxinas (toxina botulínica) que causa o botulismo (Iamarino *et al.*, 2015).

O nitrato em si não possui nenhuma atividade inibidora contra o *Clostridium botulinum*, porém a sua ação é manifestada após sua redução a nitrito. A formação de nitrosaminas e metamioglona tóxica são os principais efeitos adversos, sendo o seu uso discutível. Para a *World Health Organization* (WHO, 2015), há evidências

suficientes para que as carnes processadas sejam classificadas no Grupo 1 (contém agentes cancerígenos para humanos), devido a sua relação com câncer colorretal e de estômago.

Ainda que haja benefícios utilizando esses sais na conservação de alimentos, o uso desses podem trazer prejuízos à saúde da população. Isso porque o nitrito interage com a hemoglobina (Hb) oxidando-a a metahemoglobina (MeHb). Nessa reação, ao chegar na corrente sanguínea, o nitrito oxida o ferro da hemoglobina de seu estado ferroso (Fe^{2+}) para sua forma férrica (Fe^{3+}), dando origem a MeHb, a qual não é capaz de transportar o oxigênio para as células, pois não se liga de forma reversível ao oxigênio, como acontece com Hb (Adami, 2015).

A reação entre a mioglobina, pigmento da carne *in natura*, com o óxido nítrico explica a fixação da coloração vermelha. Inicialmente as enzimas bacterianas, as nitrato redutases, reduzem o nitrato de sódio a nitrito de sódio. Posteriormente, o nitrito é convertido a ácido nitroso devido a presença de condições redutoras apropriadas (ácido comumente presente nas carnes), e por fim esse é reduzido a óxido nítrico (Iamarino *et al.*, 2015). Além de sua ação antimicrobiana, o nitrato e nitrito também retardam a rancidez, devido à sua ação antioxidante, capaz de retardar a oxidação das gorduras ao formar complexo estável com o íon ferro II e impedir que este se oxide a ferro III, um potente catalisador de oxidação.

2.3 Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são compostos que estão presentes de forma natural em plantas, especialmente nas plantas usadas como temperos na rotina, as chamadas especiarias, que são as partes secas de uma planta, utilizadas de forma a conferir sabor e efeito pungente aos alimentos (Hirasa;Takemasa, 1998).

São voláteis, imiscíveis, ou muito pouco miscíveis em água, odoríferos e atuam em funções biológicas consideradas importantes à sobrevivência das plantas relacionadas ao metabolismo secundário, como mecanismos de defesa que atuam na proteção contra excesso de radiação ultravioleta, microrganismos, inseto e animais (Costa *et al.*, 2015; Millezzi *et al.*, 2016).

Na última década, esses óleos têm ganhado muito espaço em diversas pesquisas sendo considerado uma alternativa a aditivos químicos sintéticos, devido à crescente aceitação dos consumidores por serem naturais e por isso, serem

considerados conservantes “mais saudáveis”. Devido ao fato de possuírem muitos fenóis e terpenóides voláteis, podem inibir um amplo espectro de microrganismos através da perturbação da membrana citoplasmática (De Oliveira *et al.*, 2017).

Os terpenos são compostos químicos que possuem baixo peso molecular e são constituídos por unidades de isoprenoides que consistem em cinco átomos de carbono, e estes podem se agrupar para formar monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15) editerpenos (C20). Terpenos oxigenados ou terpenoides podem ser aldeídos, álcoois, cetonas, ácidos, ésteres e éteres. Em muitas vezes, os principais componentes são precursores intermediários e produtos finais de uma determinada rota biossintética, e seus teores podem variar de acordo com a época do ano ou estágio de desenvolvimento da planta (Cascaes *et al.*, 2019).

Por serem classificados como *Generally Recognized as Safe* (GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA, os óleos essenciais, tornam-se atrativos ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregados em concentrações relativamente elevadas (Pereira *et al.*, 2006). Ainda que o mesmo seja extraído do mesmo órgão e da mesma espécie vegetal, a composição química do óleo essencial pode variar significativamente, conforme, por exemplo, as épocas do ano, solos ou condições climáticas (Borges *et al.*, 2012, Lemos *et al.*, 2017).

Conhecidos pela sua ação como potenciais agentes antimicrobianos, os óleos essenciais já tiveram verificada a sua capacidade de inibir ou até mesmo eliminar bactérias como *Staphylococcus*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Typhimurium*, em níveis entre 0,2-10 µL/mL. Estudos mostraram que óleos essenciais de orégano e tomilho apresentam ação antifúngica e antimicrobiana por possuírem compostos fenólicos como eugenol, carvacol e/ou timol que são os principais responsáveis pela ação bactericida (Oussalah *et al.*, 2004; Luna, 2021). Dentre os vários fatores responsáveis por potencial eficácia biológica dos óleos essenciais em alimentos pode-se citar o pH abaixo de 4,5, a temperatura de refrigeração ou acima de 60°C, a carga microbiana baixa e outros fatores ambientais (Bajpai; Baek; Kang, 2012).

Além disso, os óleos essenciais possuem efeito antioxidantes que acontece principalmente pela presença de compostos fenólicos, entretanto há outros compostos como flavonóides e terpenóides que também apresentam uma pequena capacidade de efeito antioxidativo. Esses compostos atuam neutralizando os radicais livres,

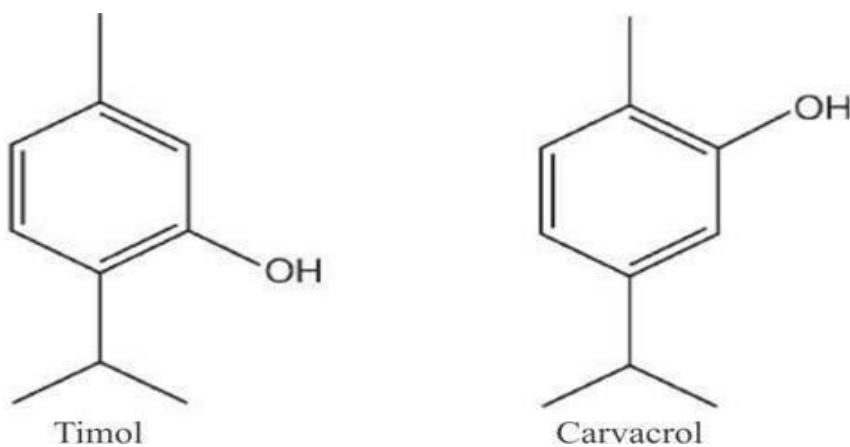
inibindo a peroxidação lipídica e outros processos mediados por radicais livres sendo capazes de proteger o corpo humano e evitar a oxidação de alimentos que são processados (Tan *et al.*, 2015).

2.4 Óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris L.*)

O tomilho (*Thymus vulgaris L.*) pertence à família Lamiaceae, composta principalmente por tomilho, sálvia, orégano, alecrim e manjericão. Esse óleo demonstrou possuir muitas atividades biológicas diferenciais incluindo atividade antibacteriana, antioxidante, antileishmanial, antifúngica, antiespasmódica, anti-inflamatória, anticancerígena e imunomoduladora (Shimada; Inagaki, 2014), em razão da presença de compostos como taninos, saponinas, terpenos, flavonoides e de demais compostos como hidrocarbonetos, álcool, ésteres, fenóis e aldeídos.

Entre os principais compostos (Mcintyre, 2011) terpeno fenólicos, estão o timol e o carvacrol (Figura 1).

Figura 1 - Fórmula estrutural de compostos terpênicos do OE do tomilho



Fonte: Adaptado de Burt (2004).

Apresenta ainda outros compostos em concentrações relevantes, como o γ -terpineno(2-31%) e o p-cimeno (10-56%) (Burt, 2004; Cunha *et al.*, 2012; Jouki *et al.*, 2014).

O timol estruturalmente é muito semelhante ao carvacrol, sendo diferenciado

apenas na posição do grupo hidroxila no anel fenólico. Tanto o carvacrol, 2-metil-5-(1-metiletil) fenol, quanto o timol, 5-metil-2-(1-metiletil)- fenol, são monoterpenos presentes em diversas plantas aromáticas e são formados a partir do γ -terpineno e do ρ -cimeno (Nostro; Papalia, 2012).

Quanto aos isômeros, eles têm fórmulas moleculares iguais a C₁₀H₁₄O e pesos moleculares de 150,22 g mol⁻¹. Porém, o carvacrol é apresentado em temperatura ambiente na forma líquida, enquanto o timol encontra-se na forma de cristais. Ambas as substâncias têm a capacidade de tornar a membrana celular permeável e de desintegrar a membrana externa de bactérias Gram-negativas, liberando lipopolissacarídeos (LPS) e aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática (Lambert *et al.*, 2001; Burt, 2004; Luna, 2021).

Foram estudadas detalhadamente as propriedades farmacológicas de diferentes extratos e dos óleos essenciais do tomilho, sendo demonstrado que o mesmo possui um grande potencial para utilização industrial (especialmente como aditivo de alimento) e para aplicações medicinais (Moreira; Gulão, 2020).

No estudo realizado por Tofiño-Rivera *et al.* (2017) na Colômbia, objetivou-se a substituição do uso de conservadores químicos na produção de linguiças artesanais por OEs de tomilho e cravo-da-india. Foi constatado pelos autores que primeiramente as espécies de *Escherichia coli*, *Salmonella spp* e *Staphylococcus aureus* foram os microrganismos mais frequentemente encontrados na contaminação desses embutidos cárneos específicos. Quanto aos principais resultados, os autores observaram que as amostras contendo OEs apresentaram inibiçã contra a *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Ainda que os conservantes químicos tenham sido considerados responsáveis por um desenvolvimento microbiano menor nos produtos finais, os embutidos que foram produzidos com os OEs se destacaram quantos aos atributos sabor e cor nas análises sensoriais conduzidas, além de também demonstrarem satisfatória conservação (Tofiño-Rivera *et al.*, 2017).

Diversos estudos apontaram que os OEs apresentaram eficiência em baixas doses contra alguns patógenos bacterianos encontrados na indústria de alimentos e em produtos cárneos (Bakkali *et al.*, 2008; Jayasena; Jo, 2013; Bellik, 2014; Han *et al.*, 2015; Noshirvani *et al.*, 2017). Além disso, pesquisas demonstraram que, a partir dessas classes, uma série de compostos possui atividade antibacteriana e antioxidante (Balção *et al.*, 2013; Ouedrhiri *et al.*, 2016).

De acordo com Gedikoğlu; Sökmen e Çivit (2019), o timol e o carvacrol são os

compostos responsáveis pela atividade antioxidante do óleo essencial de tomilho, devido a presença de grupos hidroxilas junto ao anel aromático, que ligam-se aos radicais livres. Muitos estudos têm sugerido o uso dos óleos essenciais como antioxidantes naturais para prevenção da oxidação de lipídeos em produtos alimentícios, como uma opção aos antioxidantes sintéticos (Granata et al., 2018; Radnuz, 2020; Sirena, 2023).

Devido a isso, os óleos essenciais são uma alternativa promissora aos conservantes e antioxidantes sintéticos e, portanto, tem potencial para serem usados na preparação de alimentos seguros com impacto positivo na saúde dos consumidores (Moreira; Gulão, 2020).

Porém o uso dos óleos essenciais em sua forma livre nos alimentos é dificultada pelo fato dos óleos essenciais serem substâncias instáveis à oxidação, à luz e por serem altamente voláteis. Outro fator que se pode relacionar é o seu forte odor e sabor, o que implicaria de forma direta nas características sensoriais dos alimentos, podendo até mesmo exceder o limiar de aroma aceitável pelos consumidores. Portanto, é necessário um método mais efetivo para a sua conservação, estabilização e redução da transferência de aroma através da liberação parcial dos mesmos.

2.5 Encapsulação

É chamado de encapsulação o processo pelo qual vários ingredientes alimentícios podem ser armazenados dentro de um invólucro ou revestimento microscópico para proteção e/ou posterior liberação. Mais especificamente, a encapsulação é o processo que envolve pequenas moléculas, um líquido ou um gás que esteja dentro de uma camada de revestimento ou dentro de uma matriz. Apesar de ser possível a formação de materiais encapsulados na escala macro ($>5000\text{ }\mu\text{m}$), os estudos têm se concentrado nas escalas de tamanhos micro ($0,2\text{-}5000\text{ }\mu\text{m}$) e nano ($<0,2\text{ }\mu\text{m}$), já que nas escalas de tamanho reduzido pode-se obter comportamentos biológicos, químicos e físicos diferentes, conferindo novas aplicações e funcionalidades às partículas, como maior biodisponibilidade, solubilidade e aspectos sensoriais desejáveis da partícula formada (Souza et al., 2017).

Esse tipo de técnica faz com que seja possível proteger substâncias sensíveis das condições adversas do meio, como por exemplo, a presença de oxigênio, a umidade e a luz, e com isso haja uma maior estabilização do produto, aumentando a

sua vida útil, além de ser capaz de controlar a liberação do material em condições pré-definidas (Beirão-da-Costa *et al.*, 2013).

Existem três métodos em que as técnicas são divididas: os químicos como a inclusão molecular e polimerização interfacial; os físicos, como a extrusão, *spray chilling*, liofilização e *spray-drying* e por fim os métodos físico-químicos, que são a emulsificação, a gelificação iônica e a coacervação complexa (Asbahani *et al.*, 2015). A escolha irá depender do tamanho desejado das partículas e do material de parede destas. Porém, na maioria das vezes, é necessário que essa escolha deva exibir ao menos duas características importantes: excelente propriedade de formação de filme e excelente propriedade de barreira (Salvadori *et al.*, 2019; Moreira; Gulão, 2020).

A emulsificação pode ser utilizada método de encapsulação, o qual consiste na dispersão do material do núcleo em um solvente que contém o material de parede, seguidamente da emulsificação do material em água (O/A) ou óleo (A/O), adicionando juntamente o emulsificante. O solvente pode ser removido por evaporação sob agitação, por liofilização ou pela secagem por atomização (*spray drying*). Nos últimos anos, a emulsificação tem sido um método empregado seja como técnica principal ou preliminar, combinada com liofilização, *spray drying*, gelatinização iônica, entre outras (Ribeiro; Veloso, 2021).

Já o processo de liofilização é considerado uma desidratação em baixas temperaturas, onde inicialmente a amostra ou solução passa pela etapa de congelamento, a pressão é diminuída para remoção da água presente por sublimação e por fim, para evitar o ganho de umidade, o armazenamento em local seco. A retirada do oxigênio e a utilização de baixas temperaturas faz com que seja possível controlar os efeitos oxidativos sobre os materiais a serem desidratados (Ozkan *et al.*, 2019; Jamshid *et al.*, 2020).

Uma das vantagens de se utilizar esse método consiste em preservar as propriedades nutricionais e sensoriais do produto final, além de manter as suas características funcionais, principalmente dos compostos instáveis (Ordóñez; Murad, 2005). Porém há algumas desvantagens como o alto custo energético. O longo período de secagem, mais de 20 horas, além da formação de porosidade na matriz da partícula que dependendo da aplicação não é desejável, uma vez que pode favorecer uma liberação rápida do agente ativo e expor o mesmo a interferências ambientais externas. Além disto, obtém-se com a técnica partículas irregulares, visto que após a finalização da secagem estas precisam ser trituradas ou pulverizadas para

obtê-las em pó (Ozkan *et al.*, 2019).

Em alguns casos, como na utilização de óleos, ingredientes voláteis ou sujeitos a oxidação, o uso de baixas temperaturas durante o processo de encapsulação é recomendado para evitar a ocorrência de reações indesejáveis e volatilização do produto (Moreira; Gulão, 2020).

Segundo Costa, Costa e Ribeiro (2022), métodos de emulsificação e liofilização quando combinados proporcionam uma elevada eficiência de encapsulação e a possibilidade de aplicação das cápsulas em diversas matrizes alimentares.

Portanto, a conversão de óleos essenciais líquidos para a forma de pó apresenta uma forma importante de aplicação da microencapsulação na indústria, já que possibilita a mudança da dosagem líquida para a conveniência do uso de um material sólido, além de proteger os componentes voláteis e/ou funcionais, que com baixa volatilidade e menor oxidação podem ser usados para variadas finalidades (Jafari *et al.*, 2008).

2.5.1 Encapsulação do óleo essencial de tomilho

Alguns estudos têm avaliado a encapsulação do óleo essencial de tomilho em diferentes matrizes e por diferentes técnicas. No trabalho de Gonçalves *et al.* (2017), o óleo essencial de tomilho foi encapsulado em gelatina e goma arábica através da técnica de coacervação complexa, sendo demonstrado que a atividade antibacteriana do óleo frente a bactérias Gram-postivas e Gram-negativas foi potencializada quando contido nas micropartículas.

Hu *et al.* (2018) avaliaram a encapsulação dos óleos de tomilho, canela e gengibre utilizando como material de parede a quitosana pela técnica de gelificação iônica. Observou-se para todos os óleos eficiência de encapsulação de em média 90%, sendo os compostos antimicrobianos retidos (60-70%) após 18 dias de armazenamento a 40 °C, o que indica uma ótima capacidade de liberação controlada para futuras aplicações de ação antibacteriana de maneira prolongada.

O óleo essencial de tomilho foi encapsulado em caseína-maltodextrina por *spray dryer* no estudo realizado por Moreira e Gulão (2020). De acordo com os resultados, as cápsulas contendo óleo essencial foram capazes de inibir tanto *in vitro* quanto *in situ* em amostras de hambúrguer, os seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella*

Typhimurium. Ademais, as cápsulas demonstraram uma alta estabilidade térmica e eficiência de encapsulação o que possibilitou uma maior estabilidade e proteção do óleo essencial. Quanto a análise de morfologia, o fato de as cápsulas serem porosas possivelmente permitiu a liberação do óleo essencial no produto fazendo com que obtivesse ação antimicrobiana.

Sharma (2019), encapsulou óleos essenciais comestíveis (tomilho, sálvia e alecrim) pela técnica de nanoemulsão, mostrou-se um alto benefício do uso destes como antioxidantes naturais ao invés do uso de antioxidantes sintéticos na formulação de alimentos com o objetivo de proteger da ação oxidativa.

2.6 Material de parede das partículas

Os materiais de parede que podem ser utilizados como agentes encapsulantes são vários, como: goma arábica, ágar, alginato e carragena; os carboidratos amido, amidos modificados, dextrinas e sacarose; as celuloses como carboximetilcelulose, acetilcelulose e nitrocelulose; os lipídios parafina, mono e diacilgliceróis, óleos e gorduras; os materiais inorgânicos sulfato de cálcio e silicatos; as proteínas do glúten, caseína, gelatina e albumina, etc (Favaro-Trintade; Pinho; Rocha, 2008).

No caso da encapsulação de óleos essenciais, a escolha do material de parede é considerada uma etapa crítica, uma vez que irá influenciar na estabilidade da emulsão antes da secagem, na retenção dos voláteis durante a secagem e na vida útil do pó após a secagem (Desai; Park, 2005; Jafari *et al.*, 2008). Devido a isso, alguns fatores devem ser levados em consideração como: disponibilidade de processo, quantidade da produção, morfologia, material do núcleo, distribuição do tamanho de partícula e orçamento.

Em alguns casos, é possível ajustar os objetivos e as expectativas originais do desenvolvimento da partícula para acomodar uma limitação de material no sentido de processamento e estabilidade de microencapsulação (Comunian *et al.*, 2017). O material também deve possuir boas propriedades a fim de ser capaz de formar filme e soluções pouco viscosas, até mesmo em altas concentrações. Ademais, o material de parede deve ser facilmente manipulado, não deve reagir com o composto ativo e deve proteger o mesmo de fatores externos.

Para algumas aplicações específicas, é desejável ainda que ele apresente comportamento de redispersão, de modo a liberar o composto ativo no momento e

local desejado (Desai; Park, 2005; Pereira *et al.*, 2018).

2.7 Mucilagem de chia

Mucilagens são considerados materiais ricos em polissacarídeos complexos e que podem ser extraídas de diferentes fontes, como algas, frutas, sementes, tubérculos e cereais, bactérias, entre outros. Dentre essas fontes está a semente de chia (*Salvia hispanica L.*), que é uma espécie de planta herbácea da família Lamiaceae, nativa do México e da Guatemala (Cuomo *et al.*, 2020). Embora a mesma não seja ainda conhecida mundialmente, a produção global da semente de chia vem aumentando em razão das suas propriedades funcionais, sendo atualmente utilizada tanto na indústria de alimentos quanto na de cosméticos.

É considerada uma importante fonte de ômega-3, além de ser conhecida por apresentar alta concentração de minerais como cálcio, fósforo, magnésio, potássio, ferro e zinco, proteínas, vitaminas, fibras dietéticas e lipídeos, dos quais 60% (m/m) se encontra na forma de ácido α-linolênico (Muñoz *et al.*, 2012; García-Salcedo *et al.*, 2018).

Denomina-se mucilagem quando o grão de chia em contato com a água libera um gel mucilaginoso transparente que circunda toda a sua superfície. Quimicamente, a mucilagem de chia é um polissacarídeo com unidades estruturais descritas como um tetrassacarídeo com uma cadeia principal composta de unidades de (1→4)-β-D-xilopiranosil-(1→4)-α-D-glicopiranossil-(1→4)-β-D-xilopiranosil com ramificação 4-O-metil-α-ácido-D-glicurônico. A proporção dos monossacarídeos β-D-xilose e α-D-glicose para 4-O-metil-α-ácido-D-glicurônico obtida por hidrólise ácida é 2:1:1, respectivamente. Possui alto peso molecular, na faixa de 0,8- 2,0 x10⁶ Da. Esse gel é produzido por células presentes no epicarpo. Quando os grãos são embebidos em água o epicarpo incha, a cutícula é rompida e o meio intracelular é expelido como mucilagem (Lin; Daniel; Whistler, 1994; Coelho; Salas-Mellado, 2014).

Devido a sua estrutura, ela possui excelente capacidade de reter água e óleo e boas propriedades emulsificantes e estabilizantes, demonstrando alto potencial de aplicação tecnológica (Lin; Daniel; Whistler, 1994; Timilsena *et al.*, 2016).

A mucilagem de chia tem sido utilizada como material de parede na encapsulação de compostos ativos diversos. A mucilagem de chia foi utilizada na encapsulação do corante da beterraba pela técnica de *spray-drying* (Fukase;

Madrona; Bergamasco, 2018). Os autores concluíram que a utilização da mucilagem de chia como agente encapsulante foi viável, visto que apresentou características similares a formulação contendo goma arábica e maltodextrina, permitindo assim, o uso de um polímero natural, em pequenas quantidades, em substituição a goma arábica.

Campo *et al.* (2018) avaliaram a mucilagem de chia como material de parede na nanoencapsulação de óleo de linhaça pela técnica de coacervação simples. De acordo com os resultados, a utilização de mucilagem de chia proporcionou partículas com alta homogeneidade e não sendo observada agregação entre estas. Ainda concluíram que a mucilagem de chia pode ser utilizada na nanoencapsulação possibilitando uma maior gama de aplicação das nanopartículas em alimentos, por se tratar de um polímero natural.

Silva (2021) obteve nanocápsulas de carvacrol utilizando a mucilagem de chia como material de parede por coacervação simples. As nanocápsulas apresentaram tamanho adequado para serem consideradas nanopartículas orgânicas, índice de polidispersidade baixo, potencial zeta negativo e alta eficiência de encapsulação; permaneceram estáveis por 21 dias e apresentaram eficiência somente contra a *Salmonella*. O autor ainda ressalta que a encapsulação de carvacrol em nanocápsulas produzidas com mucilagem de chia representa uma tecnologia promissora para o controle de microrganismos, sendo necessários mais estudos para a aplicação dessas nanocápsulas em alimentos. Devido a esses fatos torna-se interessante a aplicação deste material como material de parede para microencapsulação.

3 Materiais e métodos

3.1 Material

Foi utilizado o óleo essencial de tomilho branco (*Thymus vulgaris* L.), obtido comercialmente da empresa Ferquima, Indústria e Comércio de Óleos Essenciais, acondicionado em frasco âmbar, lacrado, com volume de total de 100 mL. A semente de chia foi obtida no comércio local da cidade de Pelotas - RS.

3.2 Métodos

3.2.1 Delineamento experimental

O delineamento proposto é totalmente casualizado, a primeira avaliação foi das partículas produzidas com três concentrações diferentes de óleo essencial de tomilho branco (*Thymus vulgaris* L.), utilizando como material de parede a mucilagem da chia pelo método de emulsão/liofilização. Foram caracterizadas quanto ao rendimento, a eficiência de encapsulação, atividade antioxidante, morfologia (MEV), comportamento térmico (TG e FTIR); mínima concentração inibitória (MCI), mínima concentração bactericida (MCB) e difusão em poços (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia

Trat.	Variáveis Independentes	Variáveis Dependentes
	Concentração de Óleo Essencial de Tomilho	Avaliações
1	Com 3,5% OE*	Eficiência de encapsulação
		Rendimento
2	Com 7,5% OE	Atividade antioxidante
		Morfologia
		TG**
		FTIR***
3	Com 10% OE	MCB****
		MCI*****
		Difusão em poços
4	OE (controle)	

4 tratamentos x 9 variáveis dependentes x 3 repetições = 108 ensaios

* OE – óleo essencial de tomilho branco (*Thymus vulgaris* L.).

** TG – análise termogravimétrica

*** FTIR – espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

**** MCB – mínima concentração bactericida

***** MCI – mínima concentração inibitória

Fonte: A Autora (2024).

Posteriormente a caracterização das partículas, foi preparada a linguiça suína frescal onde a mesma foi caracterizada quanto a qualidade microbiológica (pesquisa de *Salmonella* spp., quantificação de *Escherichia coli*, Estafilococos coagulase positiva e bactérias mesófilas aeróbias) e físico-químicas (índice de peróxidos, p-anisidina, acidez, cor e umidade) (Tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização da linguiça suína frescal

Trat.	Variáveis Independentes	Variáveis Dependentes
	Linguiça suína frescal	
1	Com adição de 100% de sais de cura recomendado para conservantes*	<u>Análises microbiológicas</u> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>E. coli</i> - ECP** - Bactérias mesófilas aeróbias
2	Com adição de 50% do de sais de cura recomendado de conservantes e com adição das partículas de óleo***	<u>Análises físico-químicas</u> - Índice de peróxidos - Acidez - p-anisidina - Umidade - Cor
3	Sem conservantes e com adição das partículas de óleo	
4	Sem conservantes e sem partículas de óleo	

4 tratamentos x 9 variáveis dependentes x 3 repetições = 108 ensaios

* Conservantes – sais de cura (nitrato e nitrito de sódio ou potássio)

** ECP – Estafilococos coagulase positiva

*** Partículas - partículas produzidas com óleo essencial de tomilho branco (*Thymus vulgaris* L.), encapsulado, utilizando como material de parede a mucilagem de chia.

Fonte: A Autora (2024).

3.2.2 Extração da mucilagem da chia

A mucilagem da chia foi obtida pelo método proposto por Dick *et al.* (2015) com modificações. Sementes de chia inteiras foram imersas em água destilada (1:40 p/v) e agitadas em agitador magnético por 2 h a 80 °C. Em seguida, a suspensão de mucilagem foi separada das sementes por centrifugação (Eppendorf AG, 22331 Hamburg, Alemanha), a 9000 g por 30 min. A mucilagem de chia foi filtrada com gaze para remover pequenas partículas. Após a mucilagem da chia foi seca em estufa a 60 °C por 24 h e armazenada em embalagens plásticas lacradas até o uso.

3.2.3 Encapsulação do óleo essencial

A encapsulação do óleo essencial de tomilho foi realizada seguindo a metodologia de Siow e Ong (2013), com algumas modificações. Primeiramente, a

mucilagem da chia moída foi dispersa em água destilada na concentração de 1% (m/v) sob agitação constante por 1 h a 60 °C. Após a emulsão entre o óleo essencial de tomilho nas concentrações de 3,5, 7,5 e 10%, a solução de chia (1%) e o emulsificante Tween 80 (2,5%) foi formada utilizando Ultra-Turrax (IKA T10, Basic) a 12000 rpm por 5 min.

A emulsão foi previamente armazenada em ultra freezer (Consul, CVU20, Brasil) para posterior liofilização (Liobras, liotop k 108, Brasil) com os seguintes parâmetros: temperatura do condensador a -100 °C, pressão abaixo de 100 µHg, permanecendo por um período de 72 h até a secagem total das amostras. Após, as partículas foram armazenadas em ultra freezer até a sua utilização.

3.2.4 Avaliação das partículas de óleo essencial em mucilagem de chia

3.2.4.1. Eficiência de encapsulação

Pesou-se 0,08 g de amostra e diluiu-se em 1 mL de etanol 70%, após centrifugou-se por 8 min/1000 rpm. Em seguida deixou-se em repouso por 24 h em temperatura de refrigeração (4 °C). Seguindo a metodologia de Rutz *et al.* (2013), utilizando uma microplaca de 96 tubos realizou-se as diluições das 3 concentrações de encapsulado de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia, após adicionou-se a solução de Folin 0,25 N. Foi feita a incubação no escuro por 3 min em temperatura ambiente. Transcorrido esse tempo adicionou-se carbonato de cálcio e incubou-se por mais 2 h, seguido da leitura em espectrofotômetro (Biochron EZ Read 400) na absorbância de 725 nm. Resultados expressos em % de eficiência de encapsulação.

$$EE (\%) = \frac{CFE}{CFOE} \times 100 \quad (1)$$

Em que:

CFE = teor de fenólicos do óleo essencial encapsulado

CFOE = teor de fenólicos do óleo essencial

3.2.4.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi realizada pelo método adaptado de Brand- Williams, Cuvelier e Berset (1995). Primeiramente, 0,5 g de amostra (partículas rompidas em Ultra-Turrax a 12000 rpm por 1 min) foram homogeneizadas em 20 mL de etanol, por 24 h em homogeneizador de soluções. Posteriormente, 0,1 mL dessa mistura foi adicionada de 3,9 mL do radical DPPH (solução de DPPH 0,06 mM). Após homogeneização, a mistura permaneceu em repouso por 100 min. Foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Jenway 6705 UV/VIS) a 515 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição.

3.2.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das partículas foi determinada através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). No microscópio, as amostras foram fixadas em um suporte metálico com auxílio de uma fita dupla-face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro. A visualização foi realizada em aumentos de 100 e 5000 vezes, com uma voltagem de excitação de 15 kV, conforme Rutz *et al.* (2013). A análise foi realizada em duplicata.

3.2.4.4 Análise de termogravimetria

As propriedades termogravimétricas foram mensuradas utilizando um Analisador Termogravimétrico (do inglês, *Thermogravimetric Analysis - TGA*) da Shimadzu (modelo TGA TA-60WS, Japão). Aproximadamente 5-10 mg de cada amostra foram acondicionados em uma cápsula de platina e aquecidos na faixa de temperaturas de 30 a 500 °C, a uma taxa de 10 °C/min, com um fluxo de nitrogênio de 50 mL/min. Uma cápsula de platina vazia foi usada como referência. O processamento dos dados foi realizado utilizando o software OriginPro 8.5.

3.2.4.5 Perfil espectroscópico na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O perfil espectroscópico das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia (3,5, 7,5 e 10% de óleo essencial) foi obtido em equipamento FTIR IRAffinity-1 (ATR, Shimadzu), resolução de 400 – 4000 cm⁻¹, uma quantidade de amostra suficiente para cobrir o prisma de seleneto de zinco (ZnSe) foi adicionada e

realizadas 60 varreduras, com apodização na função Happ-Genzel. Para aquisição dos dados, expressos em número de onda, foi utilizado o programa IRsolution versão 1.60 (Shimadzu Corporation).

3.2.4.6 Rendimento da encapsulação

O rendimento do processo de encapsulação (%) foi determinado pela seguinte equação (Equação 2):

$$RD (\%) = \frac{MSI}{MSF} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

MSI = massa total de sólidos antes da encapsulação;

MSF = massa total de sólidos após a encapsulação.

A massa total dos sólidos antes da encapsulação corresponderá a massa inicial do óleo que será determinada previamente mais a massa pesada de agente encapsulante.

3.2.5 Avaliação do potencial antimicrobiano

A avaliação do efeito antimicrobiano das partículas com óleo essencial foi realizada através de três metodologias fenotípicas: difusão em poços, concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima. Foram testados os efeitos antimicrobianos das partículas sobre as cepas padrão das espécies de bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 10832) e *Escherichia coli* (ATCC 43895). A escolha destas espécies se deu pelo fato de possibilitar o teste das partículas com óleo essencial contra modelos de bactérias Gram positivas (*S. aureus*) e Gram negativas (*E. coli*).

3.2.5.1 Reativação dos microrganismos

As bactérias utilizadas no experimento são mantidas sob congelamento em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e glicerol (propano-1,2,3-triol) na proporção 3:1 (v:v). Para realizar a reativação, uma alçada dessas bactérias foi transferida para caldo Soja Trypticaseína (TSB) e incubadas em estufa durante 24 h a 37 °C. Após uma alçada

desse crescimento foi estriada em placas de Petri com meios seletivos, sendo ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) para *E. coli* e ágar Baird-Paker para *S. aureus*, e incubadas por 24 h a 37°C, para o isolamento das colônias.

Do crescimento bacteriano nas placas de Petri, foi extraída uma alçada e ressuspendida em solução salina (NaCl 0,85%), a qual foi padronizada na concentração 0,5 na escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL $^{-1}$). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

3.2.5.2 Teste de difusão em poços

O teste de difusão em poços foi realizado de acordo com protocolo proposto pelo Manual Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (CLSI, 2005) com pequenas modificações. Antes da realização do teste, o óleo essencial e as partículas foram submetidos a teste para certificação da qualidade (ausência de contaminação) através da adição de 10 µg das partículas em 2 mL de caldo BHI e incubação por 24 h a 28 e 37 °C para observação de crescimento microbiano, o qual não foi observado em nenhuma das amostras.

Para a realização do teste de difusão em poços, a solução salina contendo o inóculo foi semeada com auxílio de um swab estéril na superfície de placas com ágar Muller-Hinton. Em seguida foram adicionados discos de papel filtro esterilizados com diâmetro de 6 mm. Após 10 µg das partículas contendo óleo essencial de tomilho foram colocadas nos poços e as placas incubadas por 24 h a 37 °C. Logo após esse período foi efetuada a medição dos halos de inibição, sendo os resultados expressos em centímetros.

3.2.5.3 Mínima concentração inibitória

A determinação da mínima concentração inibitória (MCI) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Cabral *et al.* (2009), com pequenas modificações. Foram utilizadas microplacas de 96 poços, nestes foram acrescentados 100 µL de caldo BHI previamente inoculado, após foram adicionados as partículas com o óleo essencial de forma a obter nos poços concentrações finais variando de 0,1-12 mg de cápsula.mL $^{-1}$. Foi utilizada água destilada como controle e a incubação foi por 24 h a 37 °C. Para avaliação da MCI foram utilizadas duas técnicas, na primeira, após o preparo da amostra, as placas de microtitulação foram lidas (densidade ótica) em

espectrofômetro (Biochrom EZ Read 400) entre 620 nm e 630 nm. Em seguida, foram incubadas por 24 h a 37 °C, e, após, foi realizada uma nova leitura em espectrofômetro.

A MCI foi considerada como a menor concentração em que não houve crescimento bacteriano no meio de cultura.

3.2.5.4 Mínima concentração bactericida

A determinação da mínima concentração bactericida (MCB) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Cabral *et al.* (2009), com pequenas modificações. Foram usados 10 µL do meio de cultura presente nos poços com ausência de bactérias viáveis no teste de MCI, os quais foram semeados em placas de Petri contendo Ágar TSA (Ágar Soja Trypticaseína) e incubados por 24 h a 37 °C. A MBC foi considerada como a menor concentração em que não houve crescimento bacteriano no meio de cultura.

3.2.6 Preparação do produto cárneo e avaliações

Foram produzidas 3 formulações de linguiça suína frescal, onde foi variado a concentração de conservantes e a adição de partículas do óleo essencial de tomilho:

- a) Tratamento 1: embutido cárneo tradicional adicionado dos conservantes nitrato e nitrito de sódio na concentração recomendada pela legislação brasileira para produtos cárneos (0,015g/100g) e antioxidante eritorbato (qs);
- b) Tratamento 2: embutido cárneo com metade da concentração recomendada pela legislação brasileira no teor dos conservantes nitrato e nitrito de sódio e antioxidante eritorbato e com adição de 1,5% das partículas contendo óleo essencial de tomilho;
- c) Tratamento 3: embutido cárneo sem adição dos conservantes nitrato e nitrito de sódio e antioxidante eritorbato e com a adição de 1,5% das partículas contendo óleo essencial de tomilho;
- d) Tratamento 4: embutido cárneo sem adição de conservantes e antioxidante e sem a adição das partículas contendo óleo essencial de tomilho.

O produto cárneo foi elaborado no Laboratório de Processamento de Produtor de Origem Animal do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, de acordo com as formulações (tratamentos)

descritos anteriormente e conforme apresentados na Tabela 2.

A carne e gordura suína (toucinho) foram moídos em moedor de carne (Britânia) com disco de 6 mm de diâmetro. Os demais ingredientes e aditivos (Tabela 3) passaram por uma pré-mistura antes de serem manualmente misturados à carne e a gordura, em recipientes de aço inoxidável previamente lavados e sanitizados com álcool 70%. Após a massa cárnea foi embutida em tripas naturais e posteriormente foram acondicionadas em embalagens plásticas, identificadas e armazenadas a 7 °C. As diferentes formulações foram avaliadas quanto as características físico-químicas logo após o preparo e transcorrido 21 dias.

Tabela 3 - Ingredientes utilizados no produto cárneo em três formulações diferentes

Ingrediente/aditivo	Controle (%)	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
Carne bovina magra	77,43	76,33	76,73	78,23
Toucinho	12,13	12,13	12,13	12,13
Água gelada/gelo	7,76	7,76	7,76	7,76
Sal (NaCl)	1,18	1,18	1,18	1,18
Sal de Cura (nitrito e nitrato de sódio)	0,28	0,14	-	-
Estabilizante (polifosfato)	0,26	0,13	-	-
Fixador de cor (eritorbato de sódio)	0,26	0,13	-	-
Condimento comercial de alho e cebola	0,52	0,52	0,52	0,52
Açúcar	0,18	0,18	0,18	0,18
Partículas contendo óleo essencial de tomilho (10%)	-	1,5	1,5	-

Fonte: A Autora (2024).

3.2.6.1 Extração da gordura

Foi feita a extração de gordura presente no embutido para posteriores análises, através do método de Bligh e Dyer, seguindo a metodologia proposta por Brum *et al.* (2009), com modificações. Foram pesados aproximadamente 15 g de amostra em um erlenmeyer dotado de tampa, com uma mistura de solvente consistindo em 15 mL de clorofórmio e 30 mL de metanol, homogeneizou-se em mesa agitadora por 6 minutos, após completar a homogeneização adicionou-se 15 mL de clorofórmio e novamente foi agitado por mais 2 minutos. Em seguida filtrou-se a mistura, e o resíduo foi re-homogeneizado com 15 mL de clorofórmio e agitado por 4 minutos e filtrado novamente. Os filtrados foram combinados, adicionou-se 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5% sendo agitado por mais 2 minutos. A mistura foi transferida para um

funil de decantação, deixando separar as camadas de forma natural, foi coletado a camada superior e adicionou-se 1 g de sulfato de sódio anidro e agitou-se por 2 minutos para remoção de traços de água, após filtrou-se em um funil com papel filtro. O filtrado foi colocado numa estufa a 80 °C até evaporar o solvente, a gordura foi armazenada até realização das próximas análises.

3.2.6.2 Determinação da acidez

A determinação da acidez foi realizada de acordo com a AOCS (2003), em que aproximadamente 2 g de amostra foram adicionadas em Erlenmeyer de 125 mL, juntamente de 25 mL de solução éter:álcool (2:1, v/v) e submetido a agitação. Após, 2 gotas de fenolftaleína foram adicionadas, sendo novamente agitado. A titulação foi realizada utilizando uma solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,1 mol.L⁻¹ até coloração rósea. O cálculo da acidez foi feito de acordo com a Equação 2:

$$A (\%) = \frac{(V \cdot F \cdot 56,1)}{P} \quad (3)$$

Em que:

V = volume (mL) de KOH gasto na titulação

F = fator de correção do KOH;

56,1 é o peso molecular do KOH

P = peso (g) da amostra.

3.2.6.3 Determinação do índice de peróxidos

A determinação do índice de peróxidos foi realizada de acordo com AOCS (2003). Aproximadamente 5 g de amostra foram pesadas em Erlenmeyer de 250 mL com tampa esmerilhada e adicionado de 30 mL da mistura de ácido acético:clorofórmio (3:2, v/v) e submetido a agitação. Em seguida foi adicionado 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio, deixando a amostra no escuro e agitando ocasionalmente, aguardando exatamente 1 min. Após, foi adicionado 30 mL de água destilada e 0,5 mL de solução de iodo 1%. Por fim, tiossulfato de sódio 0,1 mol.L⁻¹ foi utilizado para titular até a percepção da perda de cor azul. Uma amostra em

branco foi realizada. O cálculo do IP foi realizado de acordo com a Equação 3.

$$IP \text{ (meq. } Kg \text{ amostra-1)} = \frac{[(A-B)*N*F*1000]}{P} \quad (4)$$

Em que:

A é o volume (mL) de tiossulfato gasto na amostra;

B é o volume (mL) de tiossulfato do branco;

N é a normalidade do tiossulfato;

P é o peso (g) de amostra;

F é o fator de correção do tiossulfato.

3.2.6.4 Análise de p-anisidina

Seguindo a metodologia de Costa *et al.* (2022), pesaram-se 2,0 g de cada linguíça em um balão volumétrico de 25 mL e avolumou-se com iso-octano. Mediú-se a absorbância (Ab) da solução, em espectrofotômetro (Jenway 6705 UV/VIS) no comprimento de onda de 350 nm. Foram pipetados 5 mL da solução pronta anteriormente para um tubo de ensaio e adicionado 5 mL de solvente em um segundo tubo. Adicionou-se 1 mL do reagente p-anisidina em cada tubo e agitou-se. Depois de 10 minutos foi medida a absorbância (As) da solução do primeiro tubo a 350 nm, e usou-se a solução do segundo tubo como branco.

3.2.6.5 Análise de cor

A cor das amostras foi determinada no sistema CIELAB, com o auxílio de um colorímetro, sendo utilizado um espaço de cor L*, a* e b*, em que a coordenada de L* representa a luminosidade (L*= 0 é preto e L*= 100 é claridade total), a coordenada a* expressa o grau de variação entre o vermelho (+60) e o verde (-60) e a coordenada b* expressa o grau de variação entre o azul (-60) e o amarelo (+60). A análise foi realizada em triplicata (Minolta, 2007).

3.2.6.6 Teor de umidade

A umidade foi determinada utilizando determinador rápido, com 10 g de amostra e temperatura constante (105 °C), sendo o final da análise estabelecido pela

manutenção do peso por 30 segundos. O resultado foi expresso em %.

3.2.7 Análises microbiológicas

Os produtos após elaborados de acordo com os tratamentos (formulações) foram mantidos em temperatura de refrigeração (<7 °C) por até 21 dias. A partir de cada um dos produtos foi retirada uma amostra de 25 g em 4 tempos, logo após a elaboração do produto, sete dias após a elaboração, quatorze dias após a elaboração e 21 dias após a elaboração. Essas amostras foram submetidas a avaliação frente aos microrganismos preconizados pela Instrução Normativa nº 161 (Brasil, 2022), que são *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Estafilococos coagulase positiva* e microrganismos aeróbios mesófilos.

3.2.7.1 Análise de *Salmonella* spp.

A amostra foi homogeneizada retirando a alíquota de 25 g da amostra e diluindo em 225 mL de água peptonada tamponada, sendo incubada a 37 °C, por 24 h. Após foi realizada a etapa de enriquecimento, que consiste em transferir 1 mL de caldo de pré-enriquecimento para um tubo contendo 10 mL de caldo tetratônato e 0,1 mL para um tubo contendo 10 mL de caldo *Rappaport-Vassiliadis*. Depois foi incubado o primeiro a 35 °C e o segundo a 42 °C (em banho-maria) por 24 h. Após a incubação foram semeadas de cada cultura do enriquecimento placas de ágar XLD, ágar Bismuto Sulfito e ágar *Hektoen-enteric* (HE), de modo a obter colônias isoladas que serão incubados a 35 °C por 24 h. Os resultados foram expressos como "ausência" ou "presença" de *Salmonella* spp em 25 g de alimento segundo a ISO 6579-1 (EN ISO, 2017).

3.2.7.2 Análise de *Escherichia coli*

A amostra foi homogeneizada retirando a alíquota de 25 g da amostra e diluindo em 225 mL de água peptonada 0,1%. Depois foram realizadas diluições seriadas decimais (1 mL da diluição 10⁻¹ adicionados a 9 mL de diluente, e assim por diante até diluição 10⁻³). De cada diluição do alimento, foram transferidos 1 mL para 3 tubos contendo o meio Lauryl Sulfato Triptose (LST), e foram incubados a 35 °C durante 48 h. Decorrido o tempo de incubação foram identificados e separados os tubos positivos

(com gás no interior do tubo de Durham), os demais foram dispensados. Foi transferida uma alçada de cada tubo positivo de caldo LST para outro tubo contendo caldo *Escherichia coli* (caldo EC) e incubado a 44,5 °C durante 24 h, após foram selecionados tubos positivos.

Para identificação de *E. coli*, a partir dos tubos positivos no caldo EC foram semeados com alça de platina através de estrias na superfície do ágar Levine Eosina Azul de Metileno (EMB) e incubadas a 35 °C durante 24 h. Os resultados foram expressos utilizando a tabela NMP para calcular o "Número Mais Provável" de coliformes termotolerantes e de *E. coli* por grama de alimento seguindo a ISO 7251 (ISO, 2005).

3.2.7.3 Análise de *Estafilococos coagulase positiva*

A análise foi realizada de acordo com as recomendações propostas pela American Public Health Association (APHA) (Downes; Ito, 2001), com algumas pequenas modificações. As amostras foram submetidas a diluições seriadas até a diluição 10^{-6} . Posteriormente, foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em Ágar *Baird-Parker*. Em seguida, as placas foram incubadas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 h. Após, as colônias foram enumeradas e, no mínimo, cinco colônias que apresentarem morfologia típica e cinco colônias que apresentarem morfologia atípica foram selecionadas para realização do teste de produção de coagulase livre. Os resultados foram expressos em "Unidades Formadoras de Colônias" por grama de alimento (UFC/g). Todos os testes foram realizados em triplicata.

3.2.7.4 Análise de microrganismos mesófilos aeróbios

A amostra foi homogeneizada retirando a alíquota de 25 g da amostra e diluindo em 225 mL de água peptonada 0,1%. Depois foram realizadas diluições seriadas decimais (1 mL da diluição 10^{-1} adicionados a 9 mL de diluente, e assim por diante até diluição 10^{-3}). Após a diluição foram transferidos 1 mL de cada diluição para placas de Petri contendo ágar PCA (*Plate Count Agar*), que foram incubadas invertidas a 37 °C durante 48 h. Decorrido o tempo de incubação, foram selecionadas placas contendo de 25 a 250 colônias e contadas com o auxílio de contador. Foi calculado o número de unidades formadoras de colônias de bactérias aeróbias mesófilas por grama de

amostra (UFC.g^{-1}). Os resultados foram expressos em "Unidades Formadoras de Colônias" por grama de alimento (UFC/g), conforme ISO 4833-1 (ISO, 2013).

3.2.8 Análise estatística

Foi aplicada uma análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey para verificar se existiam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as formulações utilizadas em relação a inibição microbiana e características físico-químicas.

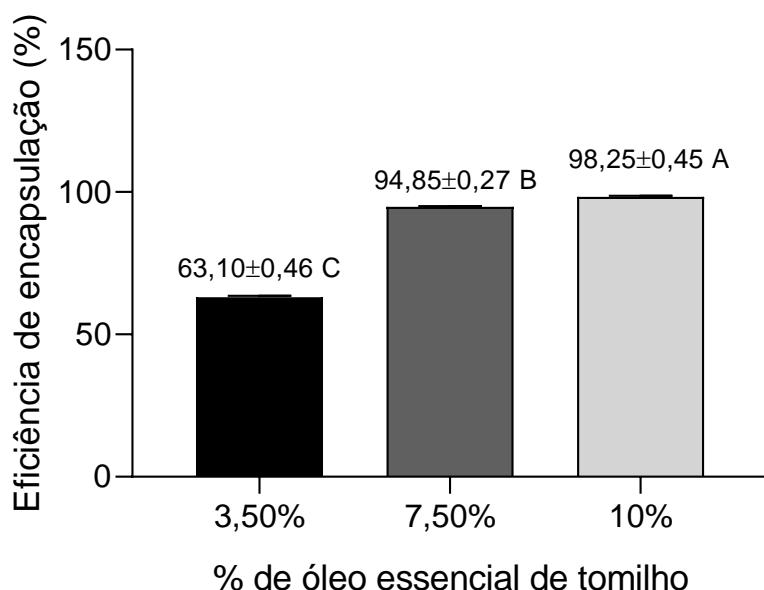
4 Resultados e Discussão

4.1 Caracterização dos encapsulados

4.1.1 Eficiência de encapsulação

Pode-se observar na Figura 2, que houve diferença significativa ($p<0,05$) de eficiência de encapsulação entre as partículas com diferentes concentrações do óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia. As partículas que continham 10% de óleo essencial de tomilho (98,25% de EE) apresentaram significativamente os maiores valores, seguidas das que continham 7,5% (94,85% de EE) e 3,5% (63,10% de EE) do mesmo óleo.

Figura 2 - Eficiência de encapsulação (%) de diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (3,5, 7,5 e 10%) em partículas de mucilagem de chia.



Médias acompanhadas por letras distintas, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).
Fonte: A Autora (2024).

A eficiência da encapsulação é um parâmetro importante para avaliar a formação de partículas e corresponde à quantificação do composto bioativo encapsulado (Campo *et al.*, 2018). São previstos elevados valores de eficiência de encapsulação quando o composto encapsulado é hidrofóbico e o agente encapsulante é hidrofílico, o que ocorre nesse caso, uma vez que a mucilagem é hidrofílica e o óleo essencial é hidrofóbico (Khayata *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2016). Possivelmente como não houve variação na concentração de mucilagem de chia e emulsificante, com o aumento da concentração do óleo, o material de parede foi capaz de aprisionar maior teor de óleo por haver sítios de ligação disponível. Entretanto na concentração de 10% o estudo da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), comprovou que uma pequena porção do óleo essencial não foi incorporado dentro da partícula, ficando alocado nos sítios externos, devido a saturação desta.

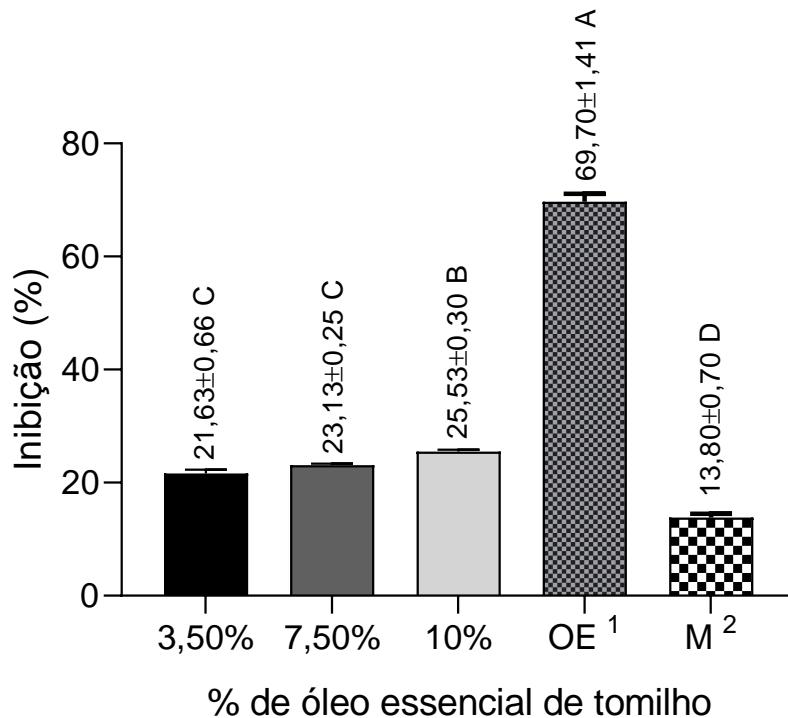
Comportamento semelhante foi observado por Vieira e Silva (2018), ao verificar que a eficiencia de encapsulação aumentou até 86,53%, com o aumento da concentração de óleo de semente de chia encapsulada em caseína, pela técnica de deposição interfacial.

Campo *et al.* (2017), encapsularam o óleo de chia utilizando como material de parede a mucilagem de chia através da técnica de coacervação complexa e sendo obtida uma alta eficiência de encapsulação (82,8%). Da mesma forma, Medina *et al.* (2018) realizaram a encapsulação do óleo de chia por *spray drying* com diferentes materiais de parede, incluindo novos materiais da semente de chia (fração rica em proteína e mucilagem de chia) e obtiveram bons resultados de eficiência de encapsulação com mucilagem de chia (96,23%).

4.1.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante (% de inibição do DPPH) das partículas com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia frente ao radical DPPH está representada na Figura 3.

Figura 3 - Atividade antioxidante (% de inibição) das partículas de mucilagem contendo diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (3,5, 7,5 e 10%) pelo método de inibição do radical DPPH



OE = óleo essencial; M = mucilagem de chia.

Médias acompanhadas por letras distintas, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P<0,05$).
Fonte: A Autora (2024).

Pode-se observar que a amostra controle (sem óleo essencial, apenas mucilagem de chia) apresentou uma capacidade de eliminação de 13,8%, enquanto a amostra contendo óleo essencial de tomilho apresentou uma capacidade de eliminação do DPPH de 69,7%. Houve influência da concentração do óleo essencial de tomilho na atividade antioxidante das partículas, visto que aquelas com 10% do óleo essencial apresentaram significativamente ($p<0,05$) os maiores valores do percentual de inibição do radical DPPH (25,53%). Não houve distinção entre os valores de atividade antioxidante das partículas com 3,5 e 7,5% ($p>0,05$)

Em um estudo realizado por Peixoto *et al.* (2023), foi analisada a atividade antioxidante de nanofibras produzidas com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (0, 30, 40 e 60%) pelos métodos de inibição dos radicais DPPH e ABTS. As amostras apresentaram capacidade de inibição de até 15% para o radical DPPH, não apresentando diferença significativa ($p>0,05$). O presente estudo

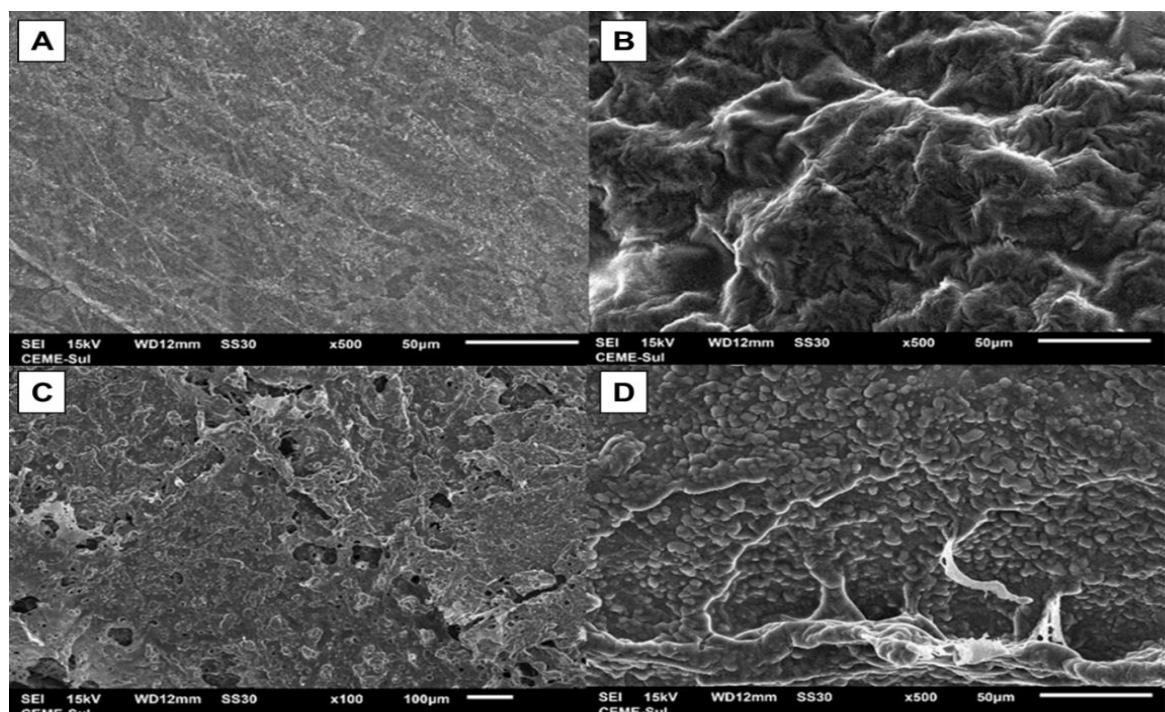
constatou uma maior atividade de inibição do radical ABTS (93%) quando comparado ao radical DPPH (15%), isso pode ser justificado pois o método ABTS é mais sensível e possui maior capacidade de sequestro do radical quando comparado ao DPPH, devido a cinética de reação mais rápida apresentada e também a uma resposta aumentada aos antioxidantes (Sousa *et al.*, 2017; Souza, 2021).

Embora as partículas tenham apresentado baixo percentual de inibição frente ao radical DPPH, as mesmas obtiveram atividade antioxidant frete a este radical. Lembrando que o óleo está protegido pelo material de parede, uma vez que na sua forma livre, este óleo pode ser degradado em determinadas condições externas e com isto, obter uma menor atividade, ou então nenhuma, quando aplicado sem o processo de encapsulação.

4.1.3 Microscopia eletrônica de varredura

A Figura 4 mostra a morfologia das partículas de mucilagem de chia com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho.

Figura 4 - Morfologia das partículas com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia

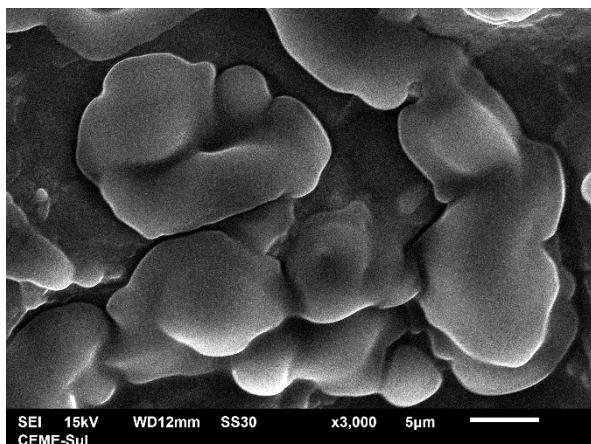


(A) mucilagem de chia; (B) partículas contendo 3,5% de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; (C) partículas contendo 7,5% de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; (D) partículas contendo 10% de óleo essencial em mucilagem de chia.

Fonte: A autora(2024).

Nas imagens pode-se observar que o aumento da concentração do óleo levou a formação de maior número de partículas, entretanto, possivelmente em função do emprego da liofilização, houve agregação destas. A figura 5 mostra a superfície irregular da partícula com 10% de óleo essencial de tomilho.

Figura 5 - Morfologia das cápsulas com 10% de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia



Fonte: A Autora (2024).

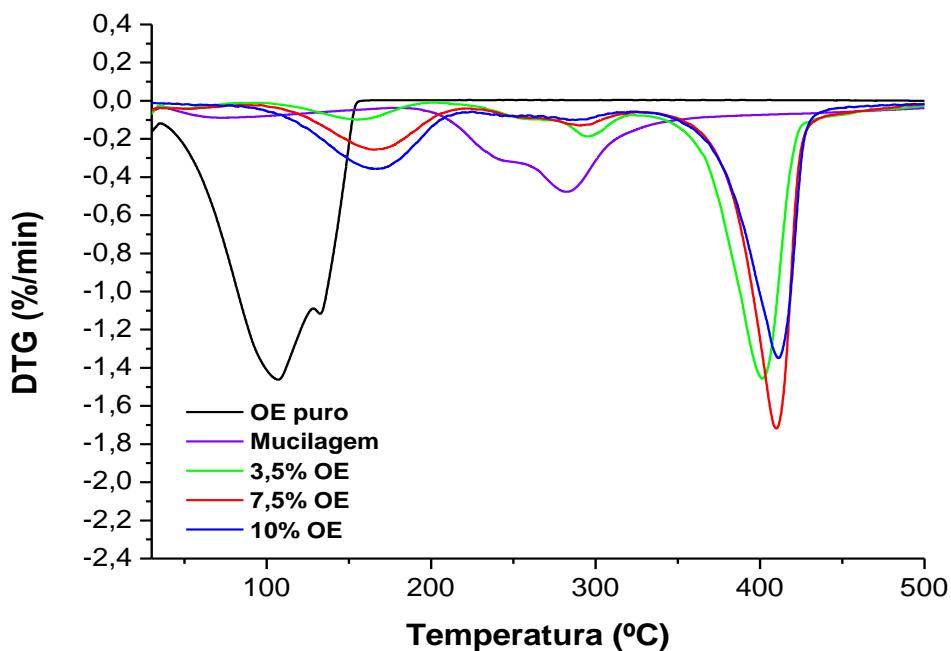
Estudos de encapsulação de diferentes compostos que utilizaram a liofilização como método de encapsulação ou de secagem obtiveram partículas irregulares de diferentes formatos (Zhang et al., 2016; Toledo, 2015). De acordo com Araújo (2009), a agregação das partículas após a liofilização pode ocorrer devido ao maior contato destas durante o congelamento (estado sólido), ou também a formação de cristais de gelo que provocam um estresse mecânico na partícula.

Ainda em outros estudos comparou-se métodos de encapsulação por *spray dryer* e liofilização onde para o primeiro encontrou-se partículas esféricas e para o segundo obteve-se partículas irregulares, por vezes com formatos folhosos. Porém a liofilização resultou em menores perdas de compostos sensíveis e maior rendimento e eficiência de encapsulação (Vitali et al., 2008; Rutz et al., 2017).

4.1.4 Análise de termogravimetria

A estabilidade térmica dos materiais foi investigada por meio da técnica de TG/DTG (Figura 6 e Tabela 4). Houveram eventos de perda de massa com o aumento da temperatura em todas as amostras, sendo o início e o fim desses eventos determinados pelo DTG.

Figura 6 - Estabilidade térmica dos materiais pela técnica de TG/DTG



Fonte: A Autora (2024).

Abaixo encontra-se a Tabela 4, com as temperaturas iniciais e finais da perda de massa de cada amostra.

Tabela 4 -Temperaturas iniciais e finais da perda de massa de cada amostra

Amostras	Evento	Temperatura (°C)			Perda de massa (Δm, %)
		Inicial (T _i)	Pico (T _p)	Final (T _f)	
Óleo essencial	Primeiro	~32	~107	~123	~75
	Segundo	~126	~134	~155	~22
Mucilagem	Primeiro	~36	~80	~173	~9
	Segundo	~190	~240	~253	~12
	Terceiro	~257	~283	~370	~35
OE 3,5%	Primeiro	~103	~155	~195	~5
	Segundo	~210	~250	~275	~5
	Terceiro	~282	~290	~320	~8
OE 7,5%	Quarto	~330	~400	~425	~53
	Primeiro	~97	~167	~217	~16
	Segundo	~223	~250	~260	~5
OE 10%	Terceiro	~267	~295	~325	~5

	Quarto	~335	~409	~445	~58
OE 10%	Primeiro	~90	~167	~217	~24
	Segundo	~223	~250	~265	~5
	Terceiro	~272	~269	~320	~4
	Quarto	~337	~412	~455	~50

Fonte: A Autora (2024).

O óleo essencial apresentou um padrão térmico de perda de massa (Δm) em dois estágios ($T_p \sim 107^\circ\text{C}$; **Δm 75%**; $T_p \sim 134^\circ\text{C}$; **Δm 22%**, respectivamente). Esses eventos sobrepostos estão relacionados à liberação e degradação dos compostos voláteis, bem como a outros compostos (Santos *et al.*, 2023).

Para a mucilagem de chia foram observados três eventos de perda de massa. O primeiro evento ($T_p \sim 80^\circ\text{C}$; **Δm 9%**) corresponde à perda de água (Campo *et al.*, 2018). Já o segundo e o terceiro eventos ($T_p \sim 240^\circ\text{C}$; **Δm 12%**; $T_p \sim 283^\circ\text{C}$; **Δm 35%**), respectivamente) estão sobrepostos, e embora não seja possível identificar a temperatura exata em que cada fração é perdida, pois podem ocorrer simultaneamente, esses dois eventos geralmente estão associados à decomposição de proteínas, lipídios, fibras e amido (Santos *et al.*, 2023). Vale ressaltar que a mucilagem apresenta uma alta estabilidade, onde o início de sua decomposição pode variar de 500 a 700 °C (Campo *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2023).

As partículas contendo o óleo essencial de tomilho apresentaram quatro eventos de perda de massa. O primeiro evento de perda de massa está relacionado à liberação da água, à volatilização e à degradação do óleo essencial incorporado (T_p variando de 155 a 167 °C e **Δm** variando de 5 a 24 °C). O segundo e terceiro eventos (T_p 250°C; **Δm** variando de 5 a 16°C; T_p variando de 269 a 295°C; **Δm** variando de 4 a 8°C) de perda de massa das partículas estão sobrepostos e, possivelmente, referem-se à degradação das proteínas, lipídios, fibras e amido, provenientes da mucilagem (Santos *et al.*, 2023). Por fim, o quarto evento (T_p variando de 400 a 412°C; **Δm** variando de 50 a 58°C) pode estar atribuído à degradação da estrutura da partícula.

É importante destacar que as partículas demonstraram uma notável estabilidade do OE, evidenciada pelas maiores T_p e pela menor perda de massa em relação ao óleo essencial. Com isto, foi possível comprovar a encapsulação das diferentes concentrações do OE de tomilho na mucilagem de chia e a maior proteção

deste. Diante disso, as partículas apresentam uma aplicabilidade ampla, podendo ser utilizadas em diversos tipos de alimentos que passam por tratamentos térmicos. Um exemplo seria em alimentos submetidos ao processo de temperatura ultra-alta (UHT), que emprega temperaturas na faixa de 135 a 145 °C por 5 a 10 segundos (Cruz *et al.*, 2021). Além disso, essas partículas podem ser vantajosas em outras aplicações que requerem alguma combinação equivalente de tempo/temperatura, oferecendo uma solução estável e eficaz para incorporação de OE em processos térmicos.

4.1.5 FTIR

O óleo essencial de tomilho é composto majoritariamente pelos compostos thymol, para-cymene, linalool, gamma-terpinene, alpha-pinene, carvacrol, entre outros (Nascimento *et al.*, 2019), sendo assim, na análise de espectroscopia na região do infravermelho são observadas bandas características desses compostos majoritários. Banda em 3531 cm⁻¹ e 3435 cm⁻¹ referente à (ν O-H) livre e/ou (ν N-H) associado em aminas primárias e/ou aminas alifáticas e aromáticas, bandas em 2956 cm⁻¹, 2930 cm⁻¹ e 2868 cm⁻¹ (ν _sC-H; ν _aC-H) das hibridizações presentes em cadeias cíclicas e alifáticas, banda em 1613 cm⁻¹ (ν C=O) referente aos grupos carbonila de amidas, 1578 cm⁻¹ (δ _sN-H) no plano, de grupamentos aminas. Ainda foram observadas bandas em 1517 cm⁻¹ e um duplete em 1456 cm⁻¹ e 1422 cm⁻¹ (ν C=C) de anéis aromáticos presentes no thymol, p-cimene e carvacrol. Bandas em 1377 cm⁻¹ (ν C-X) de compostos halogenados, 1282 cm⁻¹ e 1230 cm⁻¹ (ν C-O) do grupamento fenil presentes no thymol, 1151 cm⁻¹ (ν C-O) de éteres alifáticos, 1080 cm⁻¹ (ν O-C-C) de éter cílico, 942 cm⁻¹ (γ O-H) fora do plano, 855 cm⁻¹ (γ C-H) fora do plano, 811 cm⁻¹ (C= γ CH) dos compostos isoprenóides e, por fim a banda 733 cm⁻¹ (ν C-X) de compostos halogenados (Picolloto *et al.*, 2022).

A mucilagem apresentou bandas largas, características desse material, em 3447 cm⁻¹ (ν O-H) atribuídas às hidroxilas inter e intramoleculares referentes aos sacarídeos, 2930 cm⁻¹ e 2880 cm⁻¹ (ν _sC-H; ν _aC-H) de metilas e metilenos que compõem as cadeias. Bandas em 1622 cm⁻¹ (ν C=O) de carboxila e 1422 cm⁻¹ (ν C-O) de álcool primário e secundário, referente ao ácido urônico presente na mucilagem, e, por fim, bandas em 1142 cm⁻¹ (δ C-OH) no plano, e, 1055 cm⁻¹ (ν O-C-C) das cadeias de alcoóis e alquiléter predominantes na estrutura da mucilagem (Gama *et al.*, 2021).

As partículas de mucilagem, quando incorporadas com o óleo de tomilho, demonstraram padrões espectrais semelhantes. Identificou-se o aparecimento de uma banda entorno de 1730 cm^{-1} , correspondente à região de vibração (C=O), além de um deslocamento de aproximadamente $\Delta\nu = 40\text{ cm}^{-1}$ da banda anteriormente observada em 1142 cm^{-1} na mucilagem. Isso sugere uma possível interação entre o grupo (C=O) do óleo de tomilho e o grupo (C-OH) da mucilagem, por meio de uma possível ligação de hidrogênio. Tal interação confirma o processo de encapsulação. Entretanto, para a partícula contendo 10% de óleo de tomilho, foram observadas as bandas duplete referentes a compostos aromáticos e bandas indicativas de compostos halogenados, sugerindo que, nessa concentração, os sítios ativos da partícula estavam saturados, resultando na interação do óleo de tomilho principalmente nas partes externas da fibra de mucilagem. Esta conclusão é suportada pela análise da região *fingerprint* ($700 < \text{cm}^{-1} < 1100$) onde a partícula contendo 10% de óleo de tomilho se assemelhou ao óleo de tomilho puro (Tabela 5).

Tabela 5 - Análise FTIR das vibrações molecular e óleo de tomilho, mucilagem de chia e das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia.

Vibração	Óleo essencial de tomilho	Mucilagem de chia	Partículas		
			3,5%	7,5%	10%
$\nu\text{OH}; / \text{NH}$	3531	3447	3428	3421	3364
	3435				
νsCH	2956	2930	2926	2921	2957
	2930				
νaCH	2868	2880	2862	2866	2868
	-		1731	1738	1717
$\nu\text{C=O}$	1613	1622	1616	1648	1616
$\delta\text{sN-H}$	1578	-	-	-	1584
	1517				
$\nu\text{C=C}_{\text{ar}}$	1456	-	1457	1460	1457
	1422				
$\nu\text{C-O}$	-	1422	-	-	-
$\nu\text{C=X}^*$	1377	-	1355	1349	1355
	1282				
$\nu\text{C-O}$	1230	-	1292	1294	1292
	1151		1241	1244	1228
$\delta\text{C-OH}$	-	1142	1107	1102	1101
$\nu\text{-O-C-C}$	1080	1055	-	-	-
	-				
$\gamma\text{O-H}$	942	-	948	949	948
$\gamma\text{C-H}$	855	-	846	874	866
	811				
$\nu\text{C-X}^*$	733	-	720	-	739

ν - estiramento, δ - deformação no plano, γ - deformação fora do plano, X^* - halogenios.

Fonte: A Autora (2024).

4.1.6 Rendimento da encapsulação

O rendimento do processo de encapsulação para as concentrações de 3,5%, 7,5% e 10% foi de 61,26%, 61,87% e 62,54%, respectivamente, não havendo diferença significativa ($p<0,5$) em nenhuma das concentrações testadas.

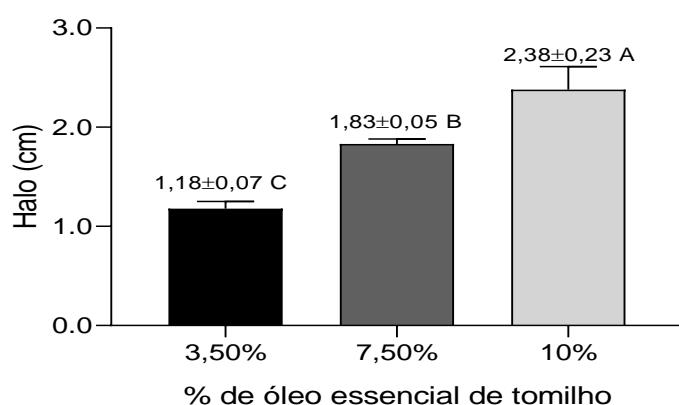
Resultado muito similar foi obtido por Gonçalves *et al.* (2023), com a encapsulação do óleo essencial de tomilho em matriz de quitosana através da coacervação complexa e obtiveram como rendimento 64,6%.

Timilsena *et al.* (2016) microencapsularam óleo de chia com mucilagem de chia em combinação com proteína da semente de chia através da coacervação complexa, e relataram alto rendimento de encapsulação (98%), superior ao obtido neste estudo.

4.1.7 Difusão em poços

Ao analisar os dados na Figura 7, pode-se observar que houve diferença significativa ($p<0,05$) nos valores de formação do halo de inibição frente ao *Staphylococcus aureus* em função das diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho nas partículas. As partículas contendo 10% de óleo essencial de tomilho promoveram significativamente o maior halo de inibição frente ao *S. aureus* (halo de 2,38 cm). Não obteve-se halo de inibição frente a bactéria *Escherichia coli* em nenhuma das concentrações.

Figura 7 - Halo de inibição (cm) obtido pelo método de difusão em poços frente ao *S. aureus* em função das diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho nas partículas de mucilagem de chia



Médias acompanhadas por letras distintas, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).
Fonte: A Autora (2024).

Resultado similar foi obtido por Silva e Rangel (2010) que avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* dos componentes do extrato etanólico de tomilho. Os autores analisaram o efeito inibitório do extrato de tomilho contra os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e assim como foi verificado neste estudo foi observada uma melhor atividade antimicrobiana sobre as cepas Gram-positivas, tendo uma ação mais efetiva contra *Staphylococcus aureus*. Esses mesmos autores relataram que *Escherichia coli* não houve a formação de halo de inibição, e sugeriram um avanço no estudo deste grupo de microrganismos, tendo em vista que este grupo é responsável por grande parte das doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (Peixoto, 2022).

Rosa *et al.* (2020) avaliaram a atividade antimicrobiana de nanopartículas de zeína carregadas com o óleo essencial de tomilho frente as bactérias *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* e *Escherichia coli*. Foi observado um maior halo de inibição para *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (0,02 a 0,04 cm) quando comparado aos demais microrganismos gram-negativos. A menor sensibilidade para bactérias Gram-negativas frente aos compostos contidos nas partículas pode ser explicada pelo fato desses microrganismos apresentarem na sua membrana, uma camada externa lipopolissacarídica (LPS) limitando a difusão dos compostos hidrofóbicos. Porém sabe-se que os óleos essenciais podem apresentar capacidade de desintegrar essa membrana externa da bactéria Gram-negativa, liberando o LPS, e assim aumentar a permeabilidade da adenosina trifosfato (ATP), na membrana citoplasmática o que altera a permeabilidade passiva da célula. Dessa forma uma alternativa é encapsular uma maior concentração de agente antimicrobiano para obter o mesmo efeito obtido nas bactérias Gram-positivas (Smith-Palmer *et al.*, 1997; Guarda *et al.*, 2011).

4.1.8 Concentração mínima inibitória

Os valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) para as partículas contendo 10% de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia foram de 0,34 mg/mL para *Sthaphylococcus aureus* e 0,028 mg/mL para *Escherichia coli*, apresentando-se inferior quando comparado com a efetividade do óleo livre para essas mesmas bactérias (0,62 e 0,075 mg/mL, respectivamente) em estudo conduzido por Velloso (2018). As demais partículas não ocasionaram a inibição dos

microrganismos. Apesar de não ter sido verificado halor de inibição de *Escherichia coli* no teste de difusão em poços, verificou-se a ação das partículas no teste de determinação da concentração mínima inibitória, inclusive com ação mais efetiva contra *Escherichia coli* do que contra *Saphylococcus aureus*, já que menores concentrações (0,028 mg/mL) foram suficientes para inibir E. Coli quando comparadas as concentrações necessárias para inibir S. Aureus (0m34 mg/mL). A provavel explicação para as diferenças de resultado entre a difusão em poços e o MIC pode estar relacionada a algum impedimento físico de liberação do óleo pelas cápsulas em contato com o ágar no teste de difusão em poços.

Golçalves *et al.* (2023), avaliaram a concentração mínima inibitória de óleo essencial de tomilho encapsulado em goma arábica para as mesmas bactérias do estudo e obteve resultados inferiores ao deste estudo (0,016 mg/mL para *Sthaphylococcus aureus* e 0,026 mg/mL para *Escherichia coli*.

4.1.9 Mínima concentração bactericida

Nenhuma das concentrações do óleo essencial de tomilho encapsulado em mucilagem de chia apresentou atividade bactericida frente as bactérias avaliadas, com isso pode-se concluir que as partículas com 10% de óleo essencial de tomilho inibem o crescimento bacteriano, mas não são capazes de causar a morte destes microrganismos, sendo necessário provavelmente um aumento da concentração de óleo presente nas partículas para obter este efeito.

Resultado diferente foi obtido por Lovison (2017), onde foram produzidas nanoemulsões de óleo essencial de orégano e avalidas quanto a atividade antimicrobiana em *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* *in vitro*, sendo obtido como resultado da mínima concentração bactericida os valores 3,67 e 3,46 mg/mL, respectivamente.

Radünz (2017) encapsulou óleo essencial de cravo-da-índia em alginato de sódio pela técnica de coacervação complexa com o objetivo de testar a atividade bactericida em diferentes tipos de microrganismos patogênicos. O óleo essencial encapsulado apresentou forte atividade antimicrobiana com potencial para controle microbiológico. Entretanto, são poucos os estudos focados na produção de um material com atividade antimicrobiana com partículas utilizando óleo essencial de tomilho e mucilagem de chia e menos ainda se considerarmos a aplicação à conservação de produtos cárneos, demonstrando o ineditismo deste estudo.

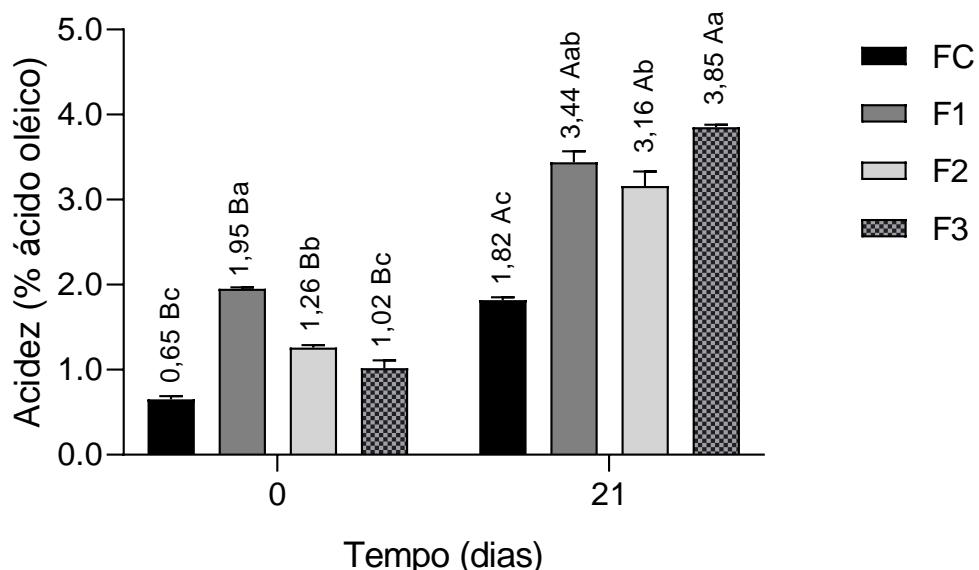
4.2 Aplicação na linguiça suína frescal

A avaliação físico-química da adição das partículas de óleo essencial de tomilho encapsulado em mucilagem de chia no embutido cárneo foi realizada em 2 tempos distintos, tempo 0 (logo após o preparo do embutido) e tempo 21 (transcorrido 21 dias após o preparo).

4.2.1 Acidez

Os resultados obtidos para a acidez das amostras de linguiça suína frescal encontram-se na Figura 8.

Figura 8 - Acidez (% de ácido oleico) das diferentes formulações do da linguiça suína frescal ao longo do tempo de armazenamento



FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% dos conservantes e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia;

A-B medias seguidas de letras maiúsculas entre os tempos, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

a-c médias seguidas de letras minúsculas distintas no mesmo tempo, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

Foi possível observar que a formulação de linguiça com adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia (F2) obteve acidez semelhante a

formulação com redução de 50% de conservantes e adicionada das partículas (F1) ($p>0,05$), em 21 dias de armazenamento. Porém inferior a formulação sem conservantes e partículas (F3).

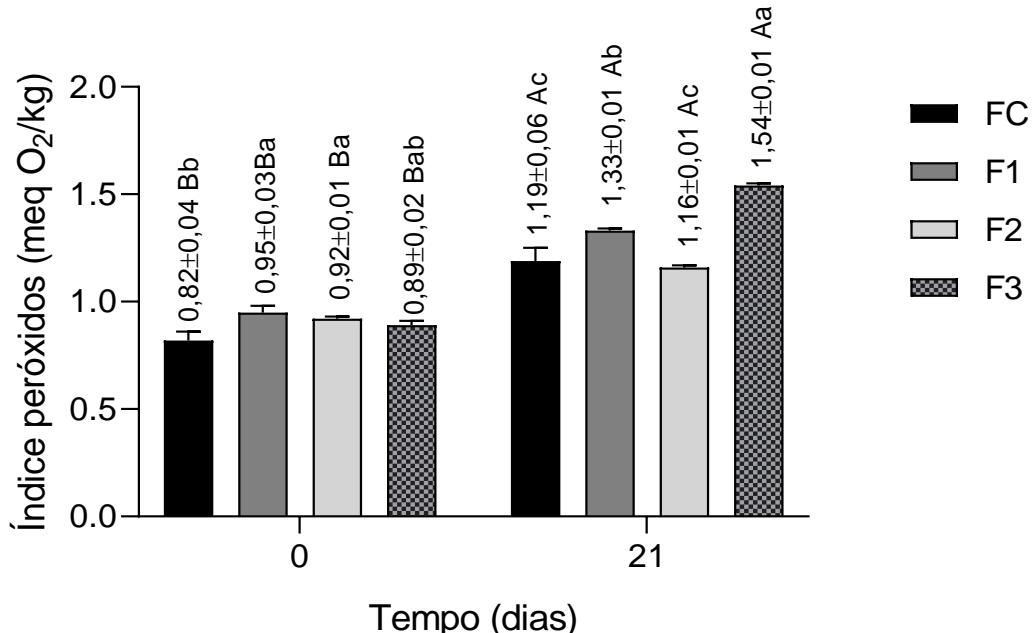
A determinação da acidez indica a proporção de ácidos graxos livres no alimento, sendo utilizada como uma estimativa da estabilidade da gordura (Gutiérrez-Guerrero *et al.*, 2019). A acidez das gorduras extraídas das diferentes formulações de linguiça suína frescal variou entre 0,65% e 3,44% de ácido oleico, houve um aumento significativo ($p< 0,05$) na acidez de todas as formulações durante o período de armazenamento, este resultado sugere que ocorreram reações de hidrólise nas gorduras, liberando ácidos graxos livres no meio (Ferreira *et al.*, 2022).

O *Codex Alimentarius* (FAO, 1999), preconiza que a banha pode apresentar valores de acidez de até 1,3 mg KOH/g de gordura (0,65% de ácido oleico), os valores reportados no estudo estão acima do limite estabelecido. Ainda assim, o resultado encontrado é menor do que o obtido por Silva (2021), em que foram analisadas 5 amostras de linguiça suína frescal em diferentes tipos de embalagem durante o período de 28 dias, os valores de acidez variaram de 1,50 a 7,0%.

4.2.2 Índice de peróxidos

Na figura abaixo (Figura 9) encontram-se os valores obtidos para o índice de peróxidos para as diferentes formulações de linguiça suína frescal durante o armazenamento a 7 °C.

Figura 9 - Índice de peróxidos (mEq-g O₂ kg⁻¹ de lipídeos) das diferentes formulações da linguiça suína frescal ao longo do tempo de armazenamento



FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% do conservante e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia;

A^B medias seguidas de letras maiúsculas distintas no mesmo tempo, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

a^c médias seguidas de letras minúsculas entre os tempos, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

Observa-se na Figura 9 que houve o aumento do índice de peróxidos durante o armazenamento em todas as formulações. A formulação padrão (FC) e a formulação sem conservantes e com adição do óleo essencial de tomilho (F2), não diferiram significativamente após os 21 dias de armazenamento ($p<0,05$), isso indica que as cápsulas com óleo essencial de tomilho tiveram o mesmo efeito satisfatório que aquelas com apenas conservantes.

O índice de peróxidos é considerado um indicador sensível para a fase inicial de oxidação e a sua presença está relacionada com a deterioração do sabor e do odor, resultado da instabilidade lipídica. O valor de peróxido representa a formação de grupos peróxido ou hidroperóxido que são instáveis e produtos iniciais da oxidação lipídica (Zambiazi, 1999).

As linguiças frescas são consideradas muito instáveis, devido a gordura suína

que pode facilmente se oxidar durante o armazenamento (Sebranek *et al.*, 2005). Esta oxidação pode acarretar no desenvolvimento de ranço e ter impacto nos valores nutricionais, além de afetar aspectos sensoriais como a cor e sabor do produto (Gulen; Turp, 2018).

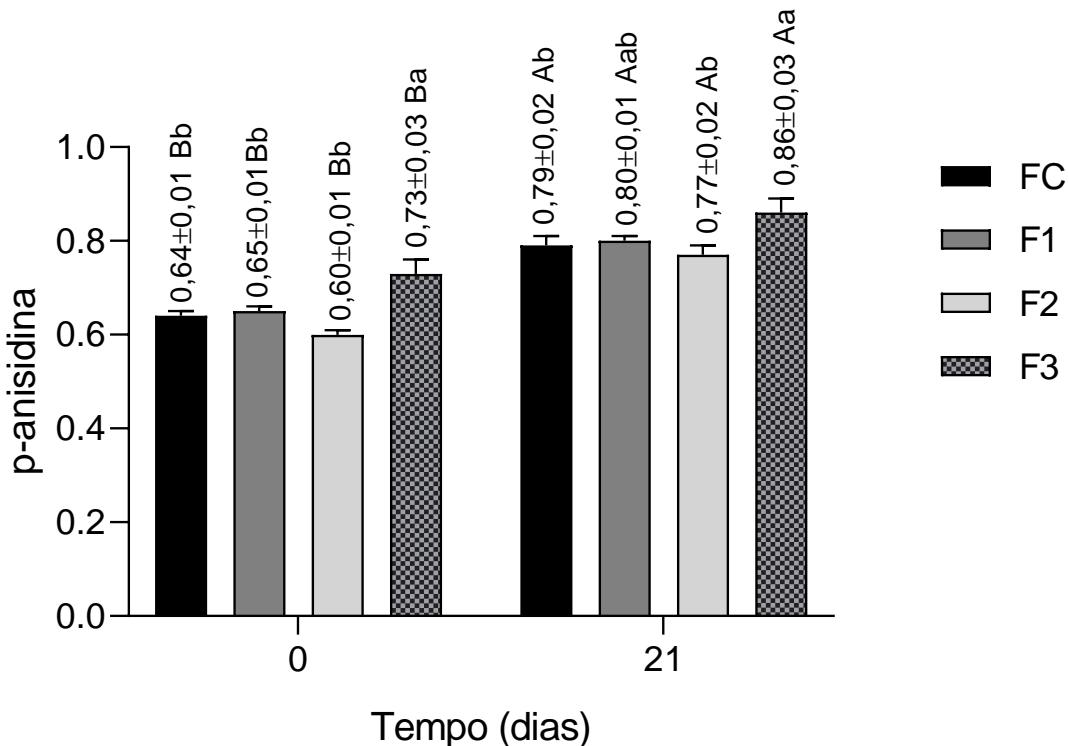
Sirena (2023), observou redução do índice de peróxidos de amostras de linguiça frescal suína adicionadas de partículas de óleo essencial de canela e cravo revestidas com caseína e maltodextrina, assim como da amostra adicionada de conservantes em 32 dias de armazenamento. Por outro lado, houve aumento dos peróxidos na amostra sem conservantes.foi produzida uma mistura de óleo essencial de canela e óleo essencial de cravo, onde essa mistura foram encapsuladas utilizando caseína e maltodextrina como materiais de parede. Posteriormente essas cápsulas foram aplicadas em linguiça frescal suína.

4.2.3 Índice de p-anisidina

O índice de p-anisidina fundamenta-se na reação de produtos secundários da degradação de lipídios, sobretudo compostos aldeídicos, como a p-anisidina. É um método que visa complementar a informação obtida com as determinações do índice de peróxido, em que os produtos primários de oxidação são detectados (Gouveia *et al.*, 2014).

Como demonstrado na Figura 10, houve aumento significativo do índice de p-anisidina em todas as formulações testadas ($p<0,05$). Porém não houve diferença significativa entre as formulações FC, F1 e F2 ($p>0,05$) aos 21 dias de armazenamento, indicando que as partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia teve o mesmo efeito do conservante diminuindo a oxidação dos lipídeos, visto que os valores foram inferiores aos obtidos com a formulação sem conservantes e partículas (F3).

Figura 10 - Índice de p-anisidina das diferentes formulações de linguiça suína frescal ao longo do tempo de armazenamento



FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% do conservante e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia;

^{a-b} medias seguidas de letras maiúsculas entre os tempo, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

^{a-c} médias seguidas de letras minúsculas distintas no mesmo tempo, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

A legislação não estabelece limites para este parâmetro, contudo, considera-se que valores inferiores a 10, indicam que a amostra lipídica não apresenta teor expressivo de compostos secundários de oxidação (Silva *et al.*, 1999).

Angioletti e colaboradores (2018) avaliaram o efeito antimicrobiano e antioxidante de óleos essenciais na carne bovina refrigerada. Os autores obtiveram como resultado que os óleos essenciais de manjericão, alho, gengibre, sálvia, alecrim e tomilho são capazes de reduzir a oxidação lipídica em carne bovina, armazenada a 4 °C. Ademais, os óleos essenciais de orégano, manjericão e alho também podem diminuir a oxidação proteica, além do que o óleo essencial de tomilho e alho reduzem a oxidação dos pigmentos. No estudo conduzido por Soncu *et al.* (2020) foi utilizada

quitosana enriquecida com óleo essencial de tomilho em embutidos fermentados durante armazenamento a 4°C, sendo observado retardo da oxidação lipídica.

O bom resultado desempenhado pelo óleo essencial de tomilho pode ser explicado pelas propriedades antioxidantes do mesmo que podem inibir e/ou reduzir a oxidação nos alimentos através da suspensão das reações em cadeia de oxidação, ou seja, quando os antioxidantes são submetidos a interações com os radicais livres, os quais são formados por um ou mais elétrons desemparelhados, independentes e altamente reativos, os antioxidantes transferem um átomo de hidrogênio aos radicais livres e, consequentemente, os estabiliza, tornando-os de baixa reatividade e, por consequência, há a interrupção da cadeia lipoperoxidativa (Alonso, 2022).

4.2.4 Análise de cor

O parâmetro luminosidade (L^*), é um atributo que varia entre 0 e 100, e quanto maior essa variável, mais claro é o produto. Na Tabela 6 pode-se observar que houve um aumento significativo da luminosidade na formulação com redução dos conservantes adicionada partículas (F1) e na formulação sem conservantes e adicionada das partículas (F2) durante o decorrer dos 21 dias. Não houve influência dos valoes devido a presença das partículas visto que as formulações F1, F2 e F3 não diferiram significativamente ao término do armazenamento. Possivelmente os maiores valores de luminosidade estejam relacionados ao teor de umidade.

Tabela 6 - Coordenada L^* das diferentes formulações linguiça suína frescal armazenadas a 4°C por 21 dias.

Formulação ¹	Tempo (dias)	
	0	21
FC	38,38 ± 3,05 Ab	36,16 ± 3,94 Ab
F1	45,04 ± 2,61 Ba	45,96 ± 2,43 Aa
F2	47,85 ± 0,25 Ba	50,81 ± 0,44 Aa
F3	47,23 ± 2,30 Aa	48,04 ± 0,03 Aa

¹ FC= formulação padrão com 100% de conservantes; FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% do conservante e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia. A-B medias seguidas de letras maiúsculas distintas na linha, diferem estatisticamente pelo teste t ($p<0,05$).

^{a-c} médias seguidas de letras minúsculas na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

Scarpa *et al.* (2009) avaliaram a aceitação de produtos comerciais curados e observaram que a luminosidade foi o atributo de cor que mais influenciou no quesito de aceitação do produto. Os autores também observaram que houve uma preferência por amostras mais claras. Ainda Garcia-Esteban *et al.* (2003) relata que o parâmetro luminosidade é o que melhor informa a intensidade visual da cor rósea e que governa a qualidade da carne e dos produtos cárneos.

Em estudo de Pereira (2021), partículas de uma blenda de óleos essenciais (tomilho, orégano e cravo) foram revestidas em proteínas (soro de leite, soja e ervilha) em combinação com goma arábica e adicionadas em linguiças frescas armazenadas por 15 dias. O autor constatou que no tratamento com maior quantidade de encapsulado da blenda de óleos essenciais e no controle houve aumento da clareza ao longo dos dias de armazenamento. Neste caso, nas amostras referidas houve maior acúmulo de exsudado na superfície das amostras relacionados a desnaturação das proteínas ou alterações físico-químicas. Esses fatores fizeram com que a luminosidade das amostras aumente.

Um dos parâmetros de cor mais importantes para produtos cárneos é o que expressa a tendência ao vermelho (a^*), uma vez que estes produtos apresentam a características de serem avermelhados. Na tabela abaixo (Tabela 7) encontram-se os valores de a^* das diferentes formulações.

Tabela 7 - Coordenada a^* das diferentes formulações da linguiça suína frescal armazenadas a 4°C por 21 dias.

Formulação ¹	Tempo (dias)	
	0	21
FC	7,33 ± 0,33 Aab	8,03 ± 0,33 Ab
F1	7,29 ± 0,10 Bab	10,13 ± 0,76 Aa
F2	7,76 ± 0,21 Ba	9,98 ± 0,22 Aa
F3	6,81 ± 2,30 Ab	7,67 ± 0,52 Ab

¹ FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% do conservante e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia;

A-B medias seguidas de letras maiúsculas distintas na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey($p<0,05$).

a-c médias seguidas de letras minúsculas na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

Em relação a esse parâmetro, como os valores foram positivos, foi possível observar que todas as amostras tenderam ao vermelho, o que era esperado pela cor natural da carne. Houve um aumento da vermelhidão durante o período de armazenamento das formulações com metade dos conservantes mais as partículas (F1) e sem conservantes, adicionado das partículas (F2), obtendo com estas formulados os maiores valores ($p<0,05$). Esse fenômeno pode ser explicado devido a liberação dos óleos das partículas durante o armazenamento, o que proporcionou a redução do ferro ao íon ferroso, intensificando a cor vermelha (Hussain *et al.*, 2021). Vários autores têm estudado a cor de carne e produtos cárneos e tem relatado que a oxidação causa uma diminuição no valor a^* , relacionada com a formação e o acúmulo de metamioglobina (Renerre, 2000; Shan *et al.*, 2009; Kim; Cho; Han, 2013).

Produtos primários da oxidação lipídica, como os hidroperóxidos e outros radicais livres são conhecidos por oxidar o íon ferroso (Fe^{2+}) de oximioglobina em íon férrico (Fe^{3+}) componente da metamioglobina. Da mesma forma, os produtos secundários da oxidação lipídica (por exemplo, aldeídos insaturados) também podem acelerar a formação de metamioglobina em produtos cárneos. Logo, conclui-se que a utilização das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia evitou a oxidação lipídica não permitindo a diminuição do parâmetro a^* , e isso se explica pela presença de compostos fenólicos presentes no óleo essencial que são os principais responsáveis por retardar a oxidação lipídica nos alimentos, pois são compostos por propriedades redox que os tornam quelantes de metal, doadores de hidrogênio, agente redutor e supressor de oxigênio singlete. Esses fenômenos relatados confirmam a liberação das microcápsulas (Hussain *et al.*, 2021)

As variações na coordenada b^* das diferentes formulações de linguiça suína frescal armazenadas a 7 °C por 21 dias estão representadas na Tabela 8.

Tabela 8 - Coordenada b^* das diferentes formulações da linguiça suína frescal armazenadas a 4°C por 21 dias.

Formulação¹	Tempo (dias)	
	0	21
FC	$7,33 \pm 0,33$ Aab	$8,03 \pm 0,33$ Ab
F1	$7,29 \pm 0,10$ Bab	$10,13 \pm 0,76$ Aa
F2	$7,76 \pm 0,21$ Ba	$9,98 \pm 0,22$ Aa
F3	$6,81 \pm 2,30$ Ab	$7,67 \pm 0,52$ Ab

¹ FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% do conservante e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição das

partículas de óleo essencial de tomilho; A^B medias seguidas de letras maiúsculas distintas na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey($p<0,05$). ^{a-c} médias seguidas de letras minúsculas na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

Todas as amostras apresentaram valores positivos de b^* , indicando uma tendência para amarelo. As amostras que não continham as partículas de óleo essencial (FC e F3), mantiveram a cor, sem diferença significativa nos calores no tempo 0 e em 21 dias. Já as formulações sem os conservantes e com adição das partículas (F2) e a com metade de conservantes e adicionadas de partículas (F1) apresentaram aumento significativo para o parâmetro b^* . Esse resultado provavelmente pode ser explicado devido ao fato das partículas serem amareladas, atribuindo um aumento dessa cor aos embutidos que foram produzidos com as mesmas.

4.2.5 Teor de umidade

O teor de umidade das linguiças frescas suínas produzidas variaram entre 58,39% e 65,20% (Tabela 9), estando todas dentro do que preconiza a legislação vigente para embutidos frescais (máximo 70%) (Brasil, 2000).

Tabela 9 - Teor de umidade (%) das diferentes formulações da linguiça suína frescal armazenadas a 4°C por 21 dias.

Formulação ¹	Tempo (dias)	
	0	21
FC	58,39±0,63 Bc	62,73±0,37 Ab
F1	62,80±0,53 Ba	64,52±0,60 Aab
F2	59,73±0,43 Bb	65,20±1,14 Aa
F3	59,83±0,43 Bb	63,59±0,39 Aab

¹ FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% do conservante e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição de partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia;

A^B medias seguidas de letras maiúsculas distintas na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey($p<0,05$).

^{a-c} médias seguidas de letras minúsculas na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

Observa-se que houve o aumento da umidade ao longo do período de armazenamento em todas as formulações. Apenas houve diferença significativa de umidade entre a linguiça com formulação padrão e aquela sem a presença dos

conservantes e adicionada de partículas, possivelmente pelo material de parede ser hidrofílico.

Huang *et al.* (2021) e Vafania; Fathi e Soleimanian-Zad (2019) encontraram valores de umidade similares ao encontrado nesse trabalho, entretanto concluíram que a adição do óleo essencial em embutidos cárneos não teve um efeito significativo quando relacionado ao teor de umidade.

Kluge; Francisco (2022) avaliaram a umidade em linguiças toscanas adicionadas de óleo essencial de cravo-da-índia, sendo obtido resultado de 56,55%, menor do que o obtido nesse estudo.

4.2.6 *Salmonella* spp.

Ao analisar os dados obtidos observou-se que todas as amostras de linguiça frescal não apresentaram crescimento de *Salmonella* em todos os tempos de armazenamento, estes resultados vão ao encontro do estipulado pela legislação, Brasil (2022), que estabelece a ausência em 25 g de amostra, indicando boas condições higiênico-sanitárias das matérias-primas utilizadas e dos produtos acabados.

Resultado semelhante foi obtido por Gottardo (2021), ao avaliar a presença de *Salmonella* em formulações de salame do tipo italiano adicionados de cápsulas de óleo essencial de orégano revestidas com alginato de sódio. Já no estudo de Cavalin e colaboradores (2018) houve a prevalência de 18,2% de contaminação por *Salmonella* das 46 amostras de linguiça suína (suína fresca, toscana e calabresa) produzidas e comercializadas na região de Londrina, Paraná.

Segundo Perlin *et al.* (2015), é possível controlar a presença de bactérias como *Salmonella* sp. com a implementação das BPF, obtendo um controle regular da qualidade das matérias-primas, dos ingredientes, dos insumos, dos manipuladores envolvidas na produção, distribuição e comercialização dos produtos.

Deve-se ressaltar que essa análise é de suma importância uma vez que em derivados suínos, os surtos de salmonelose tem apresentado destaque, sendo a linguiça o representante de maior risco devido às características inerentes a este alimento, que são favoráveis ao crescimento de microrganismos (Castagna *et al.*, 2004).

4.2.7 *Escherichia coli*

Não foi detectada a presença de *Escherichia coli* nas diferentes formulações de linguiça frescal, indicando novamente boas condições higiênico-sanitárias das matérias-primas utilizadas e dos produtos acabados.

Santurio (2015), analisou a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de orégano, canela e tomilho sobre o patógeno *Escherichia coli* inoculado em massa de linguiça toscana. Nos 30 dias de armazenamento da massa de linguiça Toscana, houve uma redução na contagem de *Escherichia coli* com adição dos óleos essenciais em diferentes concentrações. Os óleos essenciais de canela e tomilho foram eficientes no controle de coliformes a partir da concentração de 1600 µg.mL⁻¹, enquanto que o óleo essencial de orégano foi eficiente desde a concentração de 200 µg.mL⁻¹.

Gottardo (2021), encapsulou o óleo essencial de orégano em alginato de sódio para aplicação em salame tipo italiano. Quando analisado microbiologicamente, não foi encontrado *Escherichia coli* em nenhuma das amostras, estando de acordo com o preconizado na legislação brasileira.

Peixoto (2022) produziu membranas de nanofibras de zeína e óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) para aplicação em bandejas com carnes, onde observou-se que frente à bactéria *E. coli* as nanofibras contendo 30 e 40 e 60% de concentração de óleo essencial de tomilho e nanofibras de zeína foram as mais efetivas na inibição e não diferiram estatisticamente entre si ($p>0,05$). Entretanto, se diferenciaram ($p<0,05$) das amostras sem nanofibras, em que as contagens de *E. coli* foram maiores.

4.2.8 Análise de *Estafilococos coagulase positiva*

Abaixo (Tabela 10) encontram-se os resultados das contagens de *Estafilococos coagulase positiva* nas diferentes formulações de linguiça suína frescal durante o armazenamento.

Tabela 10 - Médias das contagens de estafilococos coagulase positiva (log.UFC/g) nas diferentes formulações de linguiça suína frescal armazendas a 7°C por 21 dias.

Formulação¹	Tempo (dias)			
	0 (log.UFC/g)	7 (log.UFC/g)	14 (log.UFC/g)	21 (log.UFC/g)
FC	2,35 ±0,10 Bab	3,66±0,05 Ab	2,49±0,19 Bb	2,33±0,35 Bb
F1	2,25 ± 0,24 Cb	3,60±0,17 Ab	2,87±0,23 Bb	2,35±0,10 BCb
F2	2,59 ± 0,11 Bab	3,50±0,17 Ab	2,90±0,05 Bb	2,20±0,17 Cc
F3	2,69 ± 0,08 Ca	4,08±0,08 Ba	5,03±0,10 Aa	5,08±0,08 Aa

¹ FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% do conservante e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia;

A^B medias seguidas de letras maiúsculas distintas na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey($p<0,05$). ^{a-c} médias seguidas de letras minúsculas na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

Passados os 21 dias de armazenamento observou-se que a formulação sem conservantes e com adição das partículas (F2), diferiu significativamente das demais apresentando o menor valor de contagem de *Estafilococos coagulase positiva* (2,20 log.UFC/g), sinalizando que o uso das partículas foi eficiente para o controle microbiológico, podendo ser utilizado como um conservante em embutidos frescais.

As formulações com conservantes (FC), com metade dos conservantes adicionadas de partículas (F1) e sem conservantes e com partículas (F2), apresentaram aumento na contagem de *Estafilococos coagulase positiva* no tempo sete, porém após este período houve uma queda nas contagens, demonstrando provavelmente a ação tanto dos conservantes como da liberação gradual do óleo a partir das partículas.

A única formulação em que houve um aumento das contagens em todos os tempos de armazenamento foi a formulação sem conservantes e sem partículas (F3), o que era esperado uma vez que não há nenhuma substância atuando a favor do controle microbiológico.

Não há legislação para o parâmetro estipulado para *Estafilococos coagulase positiva* para linguiça frescal, entretanto existe para hambúrgueres e almôndegas onde é estabelecido como limite máximo 4 log.UFC/g (4 log). Logo, comparando a esse, apenas a formulação F3 não esteve dentro do limite estabelecido.

Radünz *et al.* (2020) avaliaram o potencial antioxidante e antimicrobiano *in vitro* e *in situ* de encapsulado de óleo essencial de tomilho em produto cárneo tipo hambúrguer, verificaram que o encapsulado apresentou potencial para atuar como conservante em hambúrgueres.

4.2.9 Análise de microrganismos mesófilos aeróbios

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados para a análise de

microrganismos mesófilos nas diferentes formulações do embutido frescal suíno durante o armazenamento.

Tabela 11 - Contagens de bactérias mesófilas aeróbias (log.Ufc/g) nas diferentes formulações de linguiça suína frescal armazenadas a 7°C por 21 dias.

Formulação¹	Tempo (dias)			
	0 (log.UFC/g)	7 (log.UFC/g)	14 (log.UFC/g)	21 (log.UFC/g)
FC	2,53 ±0,20 Bb	2,68±0,33 Ba	2,78±0,40 Bb	3,60±0,10 Ab
F1	2,87 ± 0,11 Ab	2,96±0,13 Aa	2,97±0,28 Ac	3,11±0,08 Ac
F2	2,56 ± 0,22 Bb	2,73±0,12 Ba	3,02±0,04 Bb	3,58±0,13 Ab
F3	3,01 ± 0,02 Ca	3,30±0,32 Ca	4,10±0,17 Ba	4,91±0,08 Aa

¹ FC= formulação padrão com 100% de conservantes; F1= formulação com redução de 50% do conservante e adição das partículas com óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F2= formulação com redução total dos conservantes e adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia; F3= formulação com redução total dos conservantes e sem adição das partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia;

A-B medias seguidas de letras maiúsculas distintas na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey($p<0,05$). ^{a-c} médias seguidas de letras minúsculas na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Fonte: A Autora (2024).

Não houve diferença significativa nas contagens de microrganismos mesófilos no tempo zero entre as formulações padrão (FC), com 50% de conservantes e com partículas (F1) e sem conservantes e com partículas (F2). Trascorrido uma semana, não houve aumento significativo nas contagens.

A formulação com adição de metade dos conservantes e adicionada de partículas (F1) não apresentou diferença significativa nas contagens de microrganismos mesófilos entre os tempos de armazenamento (0,7,14 e 21 dias), indicando uma boa eficiência quanto ao controle do crescimento destes microrganismos. A formulação sem conservantes com adição de partículas (F2) e a formulação com conservantes (FC) mantiveram-se sem crescimento significativo até os 14 dias de armazenamento, tendo um pequeno aumento na contagem na última semana. Após os 21 dias essas mesmas formulações não apresentaram diferença significativa, indicando a possível substituição dos conservantes pelas partículas com óleo essencial. Ademais os produtos cárneos só apresentam alterações deteriorativas visíveis como odor desagradável e fenômenos superficiais como muco e limo em concentrações acima de 10^6 UFC (6 log), valor esse que não foi atingido em nenhuma formulação desse estudo.

Lages *et al.* (2021) avaliaram o efeito da adição conjunta de óleo essencial de tomilho e de suco de beterraba em pó em embutido cárneo durante o tempo de 1, 7 e

15 dias. Observou-se a viabilidade de utilização do óleo essencial de tomilho com metade da concentração recomendada de conservante pela legislação, promovendo um controle microbiológico contra as bactérias aeróbias mesófilas.

Schug (2022) analisou a adição conjunta de nanoemulsões com óleo essencial de tomilho e extrato de beterraba em linguiça frescal. Na contagem de bactérias mesófilas aeróbicas para as três formulações realizadas verificou-se que não houve diferença significativa ($p<0,05$) ao decorrer do tempo de armazenamento.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que as partículas com 10% de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia apresentaram maior eficiência de encapsulação (98,25%), uma atividade antioxidante de 25,53% e concentração mínima inibitória de 0,028 para *E. coli* e 0,34 para *S. aureus*. Ademais obteve-se estabilidade térmica e foram mais efetivas quanto a inibição de *Staphylococcus aureus*.

Não houve influência da concentração do óleo nas partículas nos valores de rendimento. De forma geral, a adição das partículas com 10% de óleo essencial de tomilho na formulação de linguiça suína frescal sem os conservantes (F2) reduziu a acidez, o índice de peróxidos e a p-anisidina da linguiça em relação a formulação sem adição de conservantes (F3) ou aquela adicionada de 50% dos conservantes e com partículas (F1). As formulações padrão (F1) e sem conservantes e com partículas (F2) aumentaram o parâmetro a^* (vermelhidão) durante o tempo de armazenamento. Além disso, a adição do óleo encapsulado na formulação (F2) propiciou um controle microbiológico quanto a Estafilococos coagulase positiva, *Escherichia coli*, bactérias aeróbias mesófilas e *Salmonella*.

De acordo com os resultados encontrados, conclui-se que a aplicação dessas partículas em embutido frescal teve efeito similar quando comparado aos conservantes químicos sintéticos do ponto de vista microbiológico e físico-químico durando o período de armazenamento. Sendo assim, torna-se viável o uso dessas partículas de óleo essencial de tomilho em mucilagem de chia em embutidos frescais preservando suas características microbiológicas e físico-químicas tendo potencial para substituição de nitrato e nitrito em embutidos cárneos.

Referências

- ADAMI, Fernanda Scherer. **Teor de nitrato e nitrito e análise microbiológica em linguiças e queijos.** 2015. 66f. Tese (Doutorado em Ambiente e Desenvolvimento) - UNIVATES, Lajeado, 2015. Disponível em: <https://www.univates.br/bdu/items/123e13fc-c6b5-432a-af77-a1b7e29ac82f/full>. Acesso em: 17 abr. 2023.
- ALONSO, Laila. **Óleos essenciais como alternativa natural para a conservação de alimentos.** 2022. 101f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Uberlândia. Patos de Minas, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/36602#:~:text=Os%20%C3%B3leos%20essenciais%20t%C3%AAm%20sido,a%20quantidade%20de%20%C3%B3leo%20adicionada..> Acesso em: 28 nov. 2023.
- ANGIOLETTI, B.; BERTOLI, S.; HOFFMANN, T.; RATTO, G.; KREBS, C. Óleos essenciais com efeito antioxidante e antimicrobiano aplicados em revestimento de carne bovina: uma revisão. **International Journal of Nutrology**, v. 11, p. S24-S327, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0038-1674909>. Disponível em: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0038-1674909>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- AOCS – American Oil Chemists Society. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society.** 5.ed. Urbana, USA: AOCS, 2003. Disponível em: <https://www.aocs.org/attain-lab-services/methods?SSO=True>. Acesso em: 10 mar. 2023.
- ARAÚJO, Raquel Silva. **Desenvolvimento, caracterização e liofilização de nanopartículas e encapsulamento de antibiótico de uso veterinário.** 2009. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2009. Disponível em: <https://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/2164>. Acesso em: 17 out. 2023.
- ASBAHANI, A. E.; et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p.220-243, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517314009661>. Acesso em: 09 abr. 2023.
- BAJPAI, V. K.; BAEK, K. H.; KANG, S. C. Control of Salmonella in foods by using essential oils: a review. **Food Research International**, v. 45, p. 722-734, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.01.011>.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.052>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996911002912>. Acesso em: 15 mar. 2023.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17996351/>. Acesso em: 10 maio 2023.

BALCÃO, V. M.; et al. Nanoencapsulation of bovine lactoferrin for food and biopharmaceutical applications. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 2, p. 425–431, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X13000532>. Acesso em: 18 maio 2023.

BANDEIRA, Silmara Tavares. **Sistema microencapsulado contendo óleo essencial de citrus e processo de obtenção**. 2017. 52f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2017. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/858>. Acesso em: 16 nov. 2022.

BEIRÃO-DA-COSTA, S.; et al. Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p.199-206, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X1300091X>. Acesso em: 07 abr. 2023.

BELLIK, Y. Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. 40–44, 2014. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60311-X](http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60311-X). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4027350/>. Acesso em: 19 maio 2023.

BELUCCI, Elisa Rafaela Bonadio. **Influência da adição de betalaína em linguiça toscana com diferentes níveis de nitrito de sódio sobre as propriedades tecnológicas e sensoriais**. 2018. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2018. Disponível em: https://www.oasisbr.ibict.br/vufind/Record/BRCRIS_0132cae3690afa0a0285b3339af71576. Acesso em: 05 nov. 2022.

BLANCO, Michelle Abreu. **Avaliação da incorporação de nanopartículas de quitosana ao cimento endodôntico AH PLUS™**. 78 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <https://www.metalmat.ufrj.br/index.php/br/pesquisa/producao-academica/dissertacoes/2011/350--328/file>. Acesso em: 15 nov. 2023.

BORGES, A. M.; PEREIRA, J.; CARDOSO, M. G.; ALVES, J. A.; LUCENA, E. M. P.

Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.) **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 656-665, 2012.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400013>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/5x5GKYVmttwKtkSdXXwbMwm/>. Acesso em: 10 abr. 2023.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT- Food Scienctie and Techonology**, v. 28, p. 25-30, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643895800085>. Acesso em: 12 abr. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 83 de 21 de novembro de 2003. Dispõe sobre os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne moída de bovino. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, 2003. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/copy_of_suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-carneos-e-seus-derivados-1. Acesso em: 21 nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 4 de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha. **Diário Oficial da União**, Brasília, 05 abril de 2000, Seção 1, p. 6-10, 2000. Disponível em: https://www.agais.com/normas/carne/carnes_linguica.htm#:~:text=INSTRU%C3%87%C3%83O%20NORMATIVA%20N%C2%BA%204%2C%20DE%2031%20DE%20MAR%C3%87O%20DE%202000&text=1%C2%BA.,Art. Acesso em: 01 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 mar. 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/mpa/legislacao/legislacao-geral-da-pesca/decreto-no-9-013-de-29-03-2017.pdf/view>. Acesso em: 15 fev. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instrução normativa nº 161 de 01 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 2022, p. 235, 06 jul. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880>. Acesso em: 28 mar. 2023.

BRUM, A. A. S.; et al. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Revista Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 849-854, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400005>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/bVRjZz6Qz7DRHhGksbrrfVt/?lang=pt>. Acesso em: 19 abr. 2023.

BURT, S. 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: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160504001680>. Acesso em: 10 abr. 2023.

CABRAL, I. S. R., PRADO, A., BEZERRA, R. M. N., ALENCAR, S. M., IKEGAKI, M., ROSALEN, P. L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, p.1523-1527, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/Vq7VYxwtFSPDJRLs7y7TtXH/>. Acesso em: 11 abr. 2023.

CAMPO, C.; et al. Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de óleo de linhaça utilizando mucilagem de chia como material de parede. Simpósio de Segurança Alimentar, 2018, Gramado, RS. **Anais [...]**. Gramado, RS: UFRGS, 2018. 5p. Disponível em: https://www.schenautomacao.com.br/ssa/envio/files/106_arqnov.pdf. Acesso em: 14 nov. 2022.

CARVALHO, Joana Sanches Roque de. **Encapsulamento de óleo essencial de *Origanum virens* L. em matrizes de gelatina e gelatina/sacarose**. 2009. 90f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009. Disponível em: [https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/1938/1/Encapsulamento%20de%20%C3%93leo%20Essencial%20de%20*Origanum%20Virens%20L.%20em%20Matrizes%20de%20Gelatina%20e%20Gelatina-Sacarose.pdf*](https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/1938/1/Encapsulamento%20de%20%C3%93leo%20Essencial%20de%20<i>Origanum%20Virens%20L.%20em%20Matrizes%20de%20Gelatina%20e%20Gelatina-Sacarose.pdf)

. Acesso em: 05 dez. 2022.

CASCAES, M. M.; et al. Microencapsulamento de óleos essenciais: conceitos e aplicações. In: VOIGT, C. L. (org.). **Produção do Conhecimento na Engenharia Química**. Pará: Atenas Editora, 2019. p. 22-35.

CASTAGNA, S. M. F.; et al. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 2, p. 141-147, 2004. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/19828>. Acesso em: 10 dez. 2023.

CAVALIN, P. B. B.; SARMIENTO, J. J. P.; KOBAYASHI, R. K. T.; NAKAZATO, G.; OCAÑA, A. N.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Pesquisa de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* diarreogênica em linguiças suínas frescas. **Semina: Ciências Agrárias**, [S. l.], v. 39, n. 4, p. 1533–1546, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1533>. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/32068>. Acesso em: 11 dez. 2023.

CLSI – Manual Clinical and Laboratory Standards Institute. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão**, v. 5, n.1, 2005. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/metodo_ref_testes_diluicao_modulo4.pdf. Acesso em: 18 ago. 2022.

COELHO. M. S.; SALAS-MELLADO, M. M. Revisão: Composição química,

propriedades funcionais e aplicações tecnológicas da semente de chia (*Salvia hispanica* L.) em alimentos. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 259-268, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.1814>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/JmqNPjQdX87rG9Cgqq3SWMf/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 10 fev. 2023.

COFRADES, S. et al. Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 3, p. 230–236, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0808-y>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-003-0808-y>. Acesso em: 01 dez. 2023.

COMUNIAN, T. A.; et al. Development of functional yogurt containing free and encapsulated echium oil, phytosterol and sinapic acid. **Food Chemistry**, v. 237, p. 948–956, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.06.071>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814617310518>. Acesso em: 18 mar. 2023.

COSTA, C. D.; COSTA, H. S.; ALBUQUERQUE, T. G.; RAMOS, F.; CASTILHO, M. C.; SANCHES-SILVA, A. Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 336-354, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224415001521>. Acesso em: 15 mar. 2023.

COSTA, P. V. C.; COSTA, C. K. M.; RIBEIRO, J. S. Encapsulação de corantes naturais por emulsificação. In: MEDEIROS, J. A.; NIRO, C. M. (org.). **Pesquisas e Atualizações em Ciências dos Alimentos**. São Paulo: Agron Food Academy, 2022. p. 549-559. Disponível em: <https://agronfoodacademy.com/9786599539657-62/>. Acesso em: 18 mar. 2023.

CRUZ, E. P. D.; FONSECA, L. M.; RADÜNZ, M.; SILVA, F. T. D.; GANDRA, E. A.; ZAVAREZE, E. D. R.; BORGES, C. D. Pinhão coat extract encapsulated in starch ultrafine fibers: Thermal, antioxidant, and antimicrobial properties and in vitro biological digestion. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 7, p. 2886-2897, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15779>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34057206/>. Acesso em: 11 nov. 2023.

CUNHA, A. P.; NOGUEIRA, M. T.; ROQUE, O. R.; BARROSO, J. M. G. **Plantas aromáticas e óleos essenciais: composição e aplicações**. 1^a ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2012. 678p.

CUOMO, F.; IACOVINO, S.; MESSIA, M. C.; SACCO, P.; LOPEZ, F. Protective action of lemongrass essential oil on mucilage from chia (*Salvia hispanica*) seeds. **Food Hydrocolloids**, v. 105, p. 105860, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105860>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X20301028#:~:text=B%y%20means%20of%20an%20accelerated,phenomena%20on%20the%20chia%20mucilage>. Acesso em: 09 abr. 2023.

DE OLIVEIRA, J. M.; et al. Clove and rosemary essential oils and encapsulated active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. **Meat Science**, v. 130, p. 50-57, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.002>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28431295/>. Acesso em: 18 mar. 2023.

DESAI, K. G. H; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DOI: <https://doi.org/10.1081/DRT-200063478>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/DRT-200063478>. Acesso em: 15 mar. 2023.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEIREN, L.; DEBEVERE, J. New preservation technologies: possibilities and limitations. **International Dairy Journal**, v. 14, n. 4, p. 273–285, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.07.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694603001754>. Acesso em: 16 mar. 2023.

DICK, M.; COSTA, T. M. H.; GOMAA, A.; SUBIRADE, M.; RIOS, A. O.; FLÓRES S. H. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 198–205, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.040>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715004464>. Acesso em: 10 mar. 2023.

DIMBARRE, A.; CASSOL, J. **Alta no preço da carne altera hábitos de consumo**. Ponta Grossa, 6 dez. 2021. Disponível em: <https://periodico.sites.uepg.br/index.php/todas-as-noticias/240-economia/2510-alta-no-preco-da-carne-altera-habitos-de-consumo>. Acesso em: 5 jan. 2023.

DOWNES, F. P.; ITO, H. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001, 676 p. Disponível em: <https://ajph.aphapublications.org/doi/book/10.2105/MBEF.0222>. Acesso em: 14 mar. 2023.

DUARTE, Marjorie Toledo. **Avaliação do teor de nitrito de sódio em linguinças do tipo frescal e cozida comercializadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2010, 87f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/28823>. Acesso em: 10 jan. 2023.

EN ISO – European Standard. EN ISO 6579-1: 2017. **Microbiology of the food chain – Horizontal method for detection and enumeration and serotyping of Salmonella: Detection of Salmonella spp.**, 2017. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/56712.html>. Acesso em: 21 abr. 2023.

FAO - Food and Agriculture Organization. **Codex Standard for Fats and Oils from Animal Sources**, Section 3. Codex Standard for Named Animal Fats (CODEX-STAN 211 - 1999). Italy: FAO, 1999. Disponível em:

<https://www.fao.org/3/y2774e/y2774e05.htm>. Acesso em: 20 nov. 2023.

FAVARO-TRINDADE, C.; PINHO, S.; ROCHA, G. Revisão : Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 103–112, 2008. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001697625>. Acesso em: 18 maio 2023.

FERNANDES, Sibele Santos. **Produção de mucilagem de chia (*Salvia hispânica L.*) em produtos alimentícios**). 2016. 137f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, 2016. Disponível em: <https://www.repositorio.furg.br/handle/1/10169?show=full>. Acesso em: 25 mar. 2023.

FUKASE, O. F.; MADRONA, G. S.; BERGAMASCO, R. de C. Avaliação da mucilagem de chia como agente encapsulante do corante da beterraba. 27º Encontro Anual de Iniciação Científica, 2018, Maringá, PR. **Anais** [...]. Maringá, PR: Universidade Estadual de Maringá, 2018. 4p. Disponível em: http://www.eaic.uem.br/eaic2018/technico/ensalamento_visualizar_impressao.php?tipo=EAIC&or. Acesso em: 15 mar. 2023.

GAMA, L. A.; SPADETTO, C.; FRANCISCO, C. S.; DA SILVA FILHO, E. A. Supressão de material particulado de minério de ferro utilizando mucilagem de chia (*Salvia hispanica L.*). **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 2, p. 383-394, 2021. Disponível em: <https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.sqb.org.br/rvq.sqb.org.br/pdf/v13n2a08.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2023.

GARCIA-ESTEBAN, M.; ANSORENA, D.; GIMENO, O.; ASTIASARAN, I. Optimization of instrumental colour analysis in dry-cured ham. **Meat Science**, v. 63, n. 3, p. 287-292, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00084-0](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00084-0). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174002000840>. Acesso em: 29 nov. 2023.

GARCÍA-SALCEDO, Á. J.; TORRES-VARGAS, O. L.; DEL REAL, A.; CONTRERAS-JIMÉNEZ, B.; RODRIGUEZ-GARCIA, M. E. Pasting, viscoelastic, and physicochemical properties of chia (*Salvia hispanica L.*) flour and mucilage. **Food Structure**, v. 16, p. 59–66, 2017, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2018.03.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213329117301351>. Acesso em: 07 maio. 2023.

GEDIKOĞLU, A.; SÖKMEN, M.; ÇIVIT, A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. **Food Science & Nutrition**, v. 7, p. 5, p. 1704-1714, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1007>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31139383/>. Acesso em: 18 maio 2023.

GONÇALVES, N. D.; PENA, F. de L.; SARTORATTO, A.; DERLAMELINA, C.; DUARTE, M. C. T.; ANTUNES, A. E. C. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*)

essential oil used as a natural preservative in bakery product. **Food Research International**, v. 96, p. 154-160, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996917300947>. Acesso em: 26 mar. 2023.

GONÇALVES, N. D. et al. Encapsulação de óleo essencial de tomilho para aumento da atividade antimicrobiana. IV Simpósio de Alimentos e Nutrição, 2023, Campinas. **Anais eletrônicos** [...]. Campinas: Galoá, 2023. Disponível em: <https://proceedings.science/sian/trabalhos/encapsulacao-de-oleo-essencial-de-tomilho-para-aumento-da-atividade-antimicrobia?lang=pt-br>. Acesso em: 14 nov. 2023.

GOTTARDO, Franciele Maria. **Microencapsulação de óleos essenciais de orégano e canela combinados com ação sobre Listeria monocytogenes em produto cárneo**. 2021. 58f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Passo Fundo, 2021. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UPF-1_153f8846b91e61865de82ae3e8f6452f. Acesso em: 14 dez. 2023.

GOUVEIA, H. et al. Avaliação de produtos secundários de oxidação em biodiesel de óleo de fritura adicionado de antioxidantes. XXIV Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas. 2014, Pelotas. **Anais eletrônicos** [...]. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2014. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2015/CA_02022.pdf. Acesso em: 25 nov. 2023.

GRANATA, G.; et al. Essential oils encapsulated in polymer-based nanocapsules as potential candidates for application in food preservation. **Food Chemistry**, v. 269, p. 286–292, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.140>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30100436/>. Acesso em: 10 abr. 2023.

GUARDA, A.; RUBILAR, J. F.; MILTZ, J.; GALOTTO, M. J. The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. **International Journal of Food Microbiology**, v. 146, p. 144–150, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.011>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21411168/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

GULEN, C. S.; TURP, Y. The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. **Meat Science**, v. 140, p. 158–66, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.012>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29551571/>. Acesso em: 23 nov. 2023.

GUTIÉRREZ-GUERRERO, M. C. G. et al. Modification of lard's thermal properties to improve its functionality: potential cocoa butter substitute. **Biotecnia**, v. 21, n. 1, p. 29-36, 2019. Disponível em: <http://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/810>. Acesso em: 23 nov. 2023.

HAN, J. H.; PATEL, D.; KIM, J. E.; MIN, S. C. Microbial inhibition in mozzarella cheese using rosemary and thyme oils in combination with sodium diacetate. **Food**

Science and Biotechnology, v. 24, n. 1, p. 75–84, 2015.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0012-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-015-0012-4>. Acesso em: 30 maio 2023.

HIRASA, K.; TAKEMASA, M. **Spice Science and Technology**, New York: Marcel Dekker Inc., 1998. 223p.

HU, J.; ZHANG, Y.; XIAO, Z.; WANG, X. Preparation, and properties of cinnamon-thyme-ginger composite essential oil nanocapsules. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 85-92, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.058>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669018304771>. Acesso em: 28 mar. 2023.

HUANG, L.; et al. Thyme essential oil and sausage diameter effects on biogenic amine formation and microbiological load in smoked horse meat sausage. **Food Bioscience**, v. 40, p. 100885, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100885>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429221000109>. Acesso em: 02 dez. 2023.

IAMARINO, L.; OLIVEIRA, M.; ANTUNES, M.; RODRIGUES, R.; ZANIN, C.; SCHMILE, M.; LIMA, A. Nitritos e nitratos em produtos cárneos enlatados e/ou embutidos. **Gestão em Foco**, v. 7, p. 1-6, 2015. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/22nitritos_nitratos.pdf. Acesso em: 28 mar. 2023.

IARC – International Agency for Research on Cancer. **IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some N-Nitroso Compounds**. IARC; Lyon, France: 1978. Disponível em: <https://publications.iarc.fr/35>. Acesso em: 15 nov. 2022.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018**. Rio de Janeiro, RJ: IBGE, 2020. 65p. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/saude/24786-pesquisa-de-orcamientos-familiares-2.html>. Acesso em: 10 mar. 2023.

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 7251: 2005**. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli*, 2005. Disponível em: <https://www.en-standard.eu/bs-iso-7251-2005-a1-2023-microbiology-of-food-and-animal-feeding-stuffs-horizontal-method-for-the-detection-and-enumeration-of-presumptive-escherichia-coli-most-probable-number-technique/>. Acesso em: 15 mar. 2023.

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 4833-1: 2013**. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique, 2013. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/53728.html>. Acesso em: 15 mar. 2023.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; BHANDARI, B.; HE, Y. Nano particle encapsulation of fish oil by spray drying. **Food Research International**, v. 41, n. 2, p. 172– 183, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.11.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996907001925>. Acesso em: 14 maio 2023.

JAKIEMIU, E. A. R.; SCHEER, A. P.; OLIVEIRA, J. S.; CÔCCO, L. C.; YAMAMOTO, C. I.; DESCHAMPS, C. Study of composition and yield of Thymus vulgaris L. oil essential. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 683-688, 2010. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-471232>. Acesso em: 21 dez. 2022.

JAMSHIDI, A.; CAO, H.; XIAO, J.; SIMAL-GANDARA, J. Advantages of techniques to fortify food products with the benefits of fish oil. **Food Research International**, v. 137, p. 109353, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109353>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996920303781>. Acesso em: 18 maio 2023.

JAYASENA, D. D.; JO, C. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 34, n. 2, p. 96–108, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.09.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224413002033>. Acesso em: 18 maio 2023.

JOUKI, M.; MORTAZAVI, S.; TABATABAEE, F.; KOCHEKI, A. Characterization of antioxidant-antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 537-46, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.077>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24274540/>. Acesso em: 18 jan. 2023.

KHAYATA, N. et al. Preparation of vitamin E loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method: From laboratory scale to large scale using a membrane contactor. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 423, n. 2, p. 419–427, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.12.016>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22197757/>. Acesso em: 18 abr. 2023.

KIM, S. J.; CHO, A. R.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 112-120, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.060>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713512002940>. Acesso em: 01 dez. 2023.

KLUGE, Gustavo Gall; FRANCISCO, Rafael de Oliveira. **Aplicação de óleo essencial de cravo-da-Índia como conservante natural em produto cárneo**. 2022. 44f. Trabalho de conclusão de curso (TCC) - Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Medianeira, 2022. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/bitstream/1/30766/3/oleoessencialconservanteclarneo.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2023.

KUMAR, D. D. et al. Function Formulation and characterization of nanoencapsulated curcumin using sodium caseinate and its incorporation in ice cream. **Food & Function**, 2016. v. 7, p. 417–424. DOI: <https://doi.org/10.1039/c5fo00924c>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26501983/>. Acesso em: 17 maio 2023.

LAGES, Letícia Zarnott. **Desenvolvimento de embutido cárneo utilizando óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris L.*) e suco de beterraba em pó (*Beta vulgaris L.*, cultivar Early Wonder)**. 2021. 138f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021. Disponível em: https://guaiaca.ufpel.edu.br/bitstream/handle/8610/Dissertacao_Leticia_Zarnott_Lages.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 16 dez. 2024.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 453-462, 2001. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11556910/>. Acesso em: 16 abr. 2023.

LEMOS, M. F.; PACHECO, H. P.; GUIMARÃES, A. C.; FRONZA, M.; ENDRINGER, D. C.; SCHERER, R. Seasonal variation affects the composition and antibacterial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris*. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p.543-548, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092666901630752X>. Acesso em: 10 mar. 2023.

LIN, K. Y.; DANIEL, J. R.; WHISTLER, R. L. Structure of chia seed polysaccharide exudate. **Carbohydrate Polymers**, v. 23, n. 1, p. 13–18, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(94\)90085-X](https://doi.org/10.1016/0144-8617(94)90085-X). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/014486179490085X#:~:text=A%20tentative%20structural%20unit%20proposed,%CE%B2%2Dxylopyranosyl%20units>. Acesso em: 10 fev. 2023.

LOVISON, Marília Moraes. **Óleo essencial de orégano nanoemulsionado: produção, caracterização físico-química, atividade antimicrobiana e antioxidante in vitro e aplicação em patê de frango**. 2017. 152f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74132/tde-16082017-164553/pt-br.php>. Acesso em: 22 nov. 2023.

LUCINI, M. A.; DE FARIÑA, L. O.; FALCONI, F. A.; DRUNKLER, D. A. Evaluation of the technological quality of natural pork casings used for manufacture of Toscana sausage. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 3, p. 831-836, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000300023>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/QkGYn7bmJ7dfShjdtYvfWLv/abstract/?lang=en&form=at=html>. Acesso em: 15 nov. 2022.

LUNA, Pâmela Barcelar Ferreira Gomes da Silva de. **Efeito do óleo essencial de tomilho nas propriedades do poli (butíleno adipato co-tereftalato)**. 2021. 79f.

Dissertação (Mestrado em Ciências de Materiais) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/44536>. Acesso em: 24 nov. 2022.

MCINTYRE, A. **Guia Completo de Fitoterapia**: um curso estruturado para alcançar a excelência profissional. São Paulo: Pensamento, 2011. 256p.

MEDINA, U. U.; JULIO, L. M.; CAMPOS, M. R. S.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Development and characterization of spray-dried chia oil microcapsules using by-products from chia as wall material. **Powder Technology**, v. 334, p. 1-8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.04.060>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0032591018303413>. Acesso em: 15 ago. 2023.

MENDES, L.; MENDES, F.; RIBEIRO, L.; COSTA, J.; NASCIMENTO, M.; FURTADO, R.; MOREIRA, R. Influência de parâmetros do spray-dryer no processo de microencapsulação do óleo essencial de alecrim. Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 25, 2016, Gramado. **Anais**[...] Gramado: SBCTA-RS, 2016. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1059809/1/AAC16013.pdf>; Acesso em: 23 de novembro de 2023.

MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; PAZ, P. B.; BELLÉ, M.; TERRA, N. N. Bioproteção de linguiça de frango. **Food Science and Technology**, v. 23, n. 2, p. 161-166, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000200010>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/CGKRbq6ZzYRhCSsnWdVjMgb/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

MILLEZZI, A. F.; ROSSONI, D. F.; CANO, I. A.; PICCOLI, R. H. Sensibilidade de bactérias patogênicas em alimentos a óleos essenciais de plantas medicinais e condimentares. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 30, n. 254/255, p. 117-122, 2016. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/06/836655/separata-117-122.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2023.

MINOLTA, K. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. Japan: Minolta Co. Ltd., 2007. 59 p. Disponível em: https://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/pdf/color_communication.pdf. Acesso em: 15 mar. 2023.

MÓDENA, S. F.; MEIRELLES, L. R.; ARAÚJO, M. R. Os nitritos são importantes na gênese do adenocarcinoma associado ao esôfago de Barrett? **ABCD - Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 21, n. 3, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-67202008000300006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abcd/a/4yfRsXjDT43GtNs8jLycgt/#:~:text=CONCLUS%C3%83O%3A%20A%20ingest%C3%A3o%20de%20nitrito,associado%20ao%20es%C3%B4fago%20de%20Barrett>. Acesso em: 15 jan. 2023.

MOREIRA, A.; GULÃO, E. Encapsulação de óleos essenciais para aplicação em alimentos: uma revisão. Congresso Internacional da Agroindústria, 2020, Recife, PE. **Anais** [...]. Recife, PE: Instituto IDV, 2020. 19p. Disponível em:

<https://ciagro.institutoidv.org/ciagro/uploads/1880.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2023.

MUÑOZ, L. A.; COBOS, A.; DIAZ, O.; AGUILERA, J. M. Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 1, p. 216– 224, 2012.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.037>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877411004560>. Acesso em: 18 abr. 2023.

NEGAHBAN, M.; SAEEDFAR, S. Essential Oil Composition of *Thymus vulgaris* L. **Russian Journal of Biological Research**, v. 3, n. 1, p. 35-38, 2015.

DOI: <https://doi.org/10.13187/ejbr.2015.3.35>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/276391075_Essential_Oil_Composition_of_Thymus_vulgaris_L. Acesso em: 24 fev. 2023.

NOSHIRVANI, N.; et al. Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 36-45, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.015>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X16309870>. Acesso em: 17 maio 2023.

NOSTRO, A.; PAPALIA, T. Antimicrobial Activity of Carvacrol: Current Progress and Future Prospectives. **Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery**, v. 7, p. 28-35, 2012. DOI: <https://doi.org/10.2174/157489112799829684>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22044355/>. Acesso em: 15 abr. 2023.

OLIVEIRA, M. J.; ARAÚJO, W. M. C.; BORGO, L. A. Quantificação de nitrito e nitrito em linguiças do tipo frescal. **Food Science and Technology**, v. 25, n. 4, p. 736-742, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400018>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/3ccLnVh5wvskZVGntNFs6xj/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 24 jan. 2023.

OLIVEIRA, Estela Mesquita Diegues de. **Nitrito, nitrito e sorbato em produtos cárneos consumidos no Brasil**. 2014. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2014. Disponível em: https://portal.unisepo.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/22nitritos_nitratos.pdf. Acesso em: 21 fev. 2023.

OLIVEIRA, C. ; ALVARENGA, G. F.; VENÂNCIO, A. H.; BALDUINO, B. A.; CARDOSO, M. das G. Utilização dos óleos essenciais nos alimentos: uma revisão. Congresso Internacional da Agroindústria, 2021, Recife, PE. **Anais** [...]. Recife, PE: Instituto IDV, 2021. 17p. Disponível em: <https://ciagro.institutoidv.org/ciagro2021/uploads/703.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2023.

ORDÓÑEZ, J. A. P.; MURAD, F. **Tecnologia de alimentos**, v.1. Porto Alegre: Artmed, 2005. 280p.

OUEDRHIRI, W.; et al. Mixture design of *Origanum compactum*, *Origanum majorana* and *Thymus serpyllum* essential oils: Optimization of their antibacterial effect.

Industrial Crops and Products, v. 89, p. 1–9, 2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.049>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669016302795>. Acesso em: 18 maio 2023.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SALMIÉRI, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5598-5605, 2004.

DOI: <https://doi.org/10.1021/jf049389q>. Disponível em:

<https://www.repositorio.furg.br/handle/1/10169?show=full>. Acesso em: 15 fev. 2023.

OZKAN, G.; FRANCO, P.; MARCO, I. DE; XIAO, J.; CAPANOGLU, E. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks, and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494-506, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814618313669>. Acesso em: 15 fev. 2023.

PEIXOTO, Eduarda Caetano. **Membranas de nanofibras de zeína e óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) com potencial antimicrobiano para aplicação em bandejas com carnes**. 2022. 93f. Dissertação de Mestrado.

Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022. Disponível em:

<https://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/9817>. Acesso em: 16 set. 2023.

PEREIRA, M. C.; et al. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000400020>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cagro/a/GttKGg3rYZzzhVBFJ5t9mm/#:~:text=V%C3%A1rios%20estudos%20t%C3%AAm%20comprovado%20o,CHAO%20%26%20YOUNG%2C%202000>). Acesso em: 30 mar. 2023.

PEREIRA, K. C.; et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: Revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. 1-9, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.08317>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/bjft/a/grd6gfXLgGSqTqqwcGGkxYb/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 09 abr. 2023.

PEREIRA, Lívio Antônio Silva. **Óleos essenciais encapsulados em matrizes coacervadas e potencial antimicrobiano para aplicação em alimentos**.

2021.102f. Tese (Doutorado em Engenharia de Biomateriais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021. Disponível em:

http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/46795/2/TESE_%c3%93eos%20essenciais%20e%20encapsulados%20em%20matrizes%20coacervadas%20e%20potencial%20antimicrobiano%20para%20aplica%c3%a7%c3%a3o%20em%20alimentos.pdf. Acesso em: 29 nov. 2023.

PERLIN, G. O.; PEREIRA, L. F.; FERREIRA, B. P. M.; MARTINS, L. A. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. em embutidos cárneos registrados em Serviço de Inspeção Municipal–SIM em 2012 de três municípios do Estado do Paraná. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 1, p. 43-49, 2015. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/bvs-vet/?q=Embutidos%20c%C3%A1rneos>. Acesso em: 15 dez. 2023.

PICOLLOTO, A.; et al. Estabilidade térmica e vaporização do óleo essencial de tomilho. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, [S. I.], v. 11, p. 175–189, 2022. DOI: <https://doi.org/10.19177/rgsa.v11e02022175-189>. Disponível em: https://portaldeperiodicos.animaeducacao.com.br/index.php/gestao_ambiental/article/view/12419. Acesso em: 11 nov. 2023.

POLÔNIO, M. L. T; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 8, p. 1653- 1666, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009000800002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/grd6gfXLgGSqTqqwcGGkxYb/>. Acesso em: 20 nov. 2022.

RADÜNZ, Marjana. **Óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.): extração, encapsulação, potencial antimicrobiano e antioxidante**. 2017. 148f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2017. Disponível em: <https://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/3949>. Acesso em: 22 nov. 2023.

RADÜNZ, M.; et al. Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products. **International Journal of Food Microbiology**. v. 330, p. 108696, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108696>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160520301902>. Acesso em: 18 mar. 2023.

RENERRE, M. Review e biochemical basis of fresh meat color. International Congress of Meat Science and Technology, 45, 2000, Yokohama. **Anais** [...]. Yokohama: 2000. p. 344-352. Disponível em: <https://www.vgls.vic.gov.au>. Acesso em: 29 nov. 2023.

RIBEIRO, J. S., VELOSO, C. M. Microencapsulation of natural dyes with biopolymers for application in food: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 112, p. 106374, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106374>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X20318518>. Acesso em: 08 mar. 2023.

ROCHA, R. R. da; FERREIRA, W. de M.; GONÇALVES, K. A. M. Benefícios proporcionados pelo uso de óleos essenciais sobre o sistema nervoso central e sua atividade antimicrobiana: uma revisão literária. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 229-236, 2022. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n1-016>. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/42227>. Acesso

em: 21 fev. 2023.

RODRIGUES, Regina D. **Efeitos do cloreto de sódio, lactato de sódio e de suas combinações sobre as qualidades microbiológicas, sensoriais e físico-químicas da carne bovina moída.** 2015. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária, Porto alegre: UFRGS, 2015. Disponível em: https://www.oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UFRGS-2_f3a8fe6f61eae38dc640037d05947b92. Acesso em: 10 dez. 2023.

ROSA, Cleonice Gonçalves da. **Síntese e caracterização de nanopartículas de zeína carregadas com óleos essenciais para aplicação em filmes nanocompósitos de poli (óxido etileno).** 2016. 132f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/167473>. Acesso em: 21 nov. 2023.

RUTZ, J. K.; *et al.* Microencapsulation of purple Brasilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p.1256-1265, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.058>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24053801/>. Acesso em: 10 mar. 2023.

SALVADORI, N.; ACOSTA, B. S.; NESSLER, M. A. dos S.; GRAEFF, T.; SILVA, M. N. da. Estudo sobre técnicas de encapsulação para óleos essenciais. III Simpósio em saúde e alimentação da Universidade Federal da Fronteira Sul, 2019, Chapecó, SC. **Anais** [...]. Chapecó, SC: UFFS, 2019. 5p. Disponível em: <https://portaleventos.ufffs.edu.br/index.php/SSA/article/view/11097>. Acesso em: 09 mar. 2023.

SANTOS, F.; FIGUEIRÉDO, R.; QUEIROZ, A.; PAIVA, Y.; DE ARAUJO, A.; LIMA, T.; CARVALHO, A.; LIMA, M.; MACEDO, A.; CAMPOS, A. Physical, chemical, and thermal properties of chia and okra mucilages. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 148, p. 7463-7475, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10973-023-12179-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10973-023-12179-0#citeas>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SANTURIO, Deise Flores. **Uso de óleos essenciais de especiarias para controle de coliformes em linguiça toscana.** 2015. 62f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2015. Disponível em:<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/3409/SANTURIO%2c%20DEISE%20FLORES.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 16 dez. 2023.

SCARPA, M. B. O. *et al.* Caracterização de presuntos e apresuntados comerciais: avaliação sensorial e instrumental da cor. Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes, v. 5, 2009, São Paulo. **Anais**[...]. Campinas: ITAL, 2009. Disponível em: <https://ital.agricultura.sp.gov.br/v-congresso-brasileiro-de-ciencia-e-tecnologia-de-carnes>. Acesso em: 28 nov. 2023.

SCHUG, Tamires. **Desenvolvimento de embutido cárneo utilizando nanoemulsão de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e extrato de**

beterraba (*Beta vulgaris* L.). 2023. 131f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023. Disponível em: <https://guaiaca.ufpel.edu.br/>. Acesso em: 20 dez. 2023.

SEBRANEK, J. G.; SEWALT, V. J.; ROBBINS, K. L.; HOUSER, T. A. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Science**, v. 69, n. 2, p. 289-296, 2005.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.010>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22062821/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SHAN, B.; CAI, Y. Z.; BROOKS, J. D.; CORKE, H. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 11, p. 1879-1885, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3667>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.3667>. Acesso em: 01 dez. 2023.

SHARMA, S.; CHENG, S. F.; BHATTACHARYA, B.; CHAKKARAVARTHI, S. Efficacy of free and encapsulated natural antioxidants in oxidative stability of edible oil: Special emphasis on nanoemulsion-based encapsulation. **Trends in Food Science and Technology**, v. 91, p. 305–318, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.030>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418305867>. Acesso em: 10 jun. 2023.

SHIMADA, A.; INAGAKI, M. Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory activity of ursolic acid isolated from *Thymus vulgaris*. **Food Science and Technology Research**, v. 20, n. 3, p. 711-714, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.3136/fstr.20.711>. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/fstr/20/3/20_711/_html/-char/en. Acesso em: 04 abr. 2023.

SILVA, F. A. M.; FERNANDA, M.; BORGES, M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000100016>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/KbCWvQcH3SKPN7HGYKPjxxv/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SILVA, T.; RANGEL, E. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico do tomilho (*Thymus vulgaris* L.) *in vitro*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. VII, n. 2, p. 48- 58, 2010. DOI: <https://doi.org/10.5216/ref.v7i2.11859>. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/REF/article/view/11859>. Acesso em: 23 nov. 2023.

SILVA, Caroline Marques Maders. **Encapsulação de carvacrol em nanocápsulas de mucilagem de chia e linhaça visando a inibição de *Salmonella* e *Staphylococcus aureus***. 2021. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – URGs, Porto Alegre, 2021. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/241314>. Acesso em: 20 dez. 2022.

SILVEIRA, Mônica Adriana. **Nitrosaminas e câncer: efeitos biológicos da carne**

curada. 2019. 29f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia Bioquímica) – Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2019. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/directbitstream/14d04ddb-21ab-41d3-925f-f4b1e95b0f8a/3049624.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2022.

SIOW, L.; ONG, C. Effect of pH on garlic oil encapsulation by complex coacervation. **Journal of Food Process Technology**, v. 4, n. 1, p. 199, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000199>. Disponível em: <https://www.walshmedicalmedia.com/open-access/effect-of-ph-on-garlic-oil-encapsulation-by-complex-coacervation-32952.html>. Acesso em: 10 mar. 2023.

SIQUEIRA, M. F. F.; LUZ, E. I. da; GARCIA, M. O.; ROSA, J. F.; CERESER, N. D.; CONCEIÇÃO, R. C. S. da. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho frente a isolados de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus coagulase* positivos. XXVI Congresso de Iniciação Científica, 2017, Pelotas, RS. **Anais** [...]. Pelotas, RS: 3ª Semana Integrada UFPEL, 2017. 4p. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2017/CA_03080.pdf. Acesso em: 20 fev. 2023.

SIRENA, Janier Teresinha. **Encapsulação, caracterização e aplicação de óleos essenciais em linguiça frescal**. 2023. 99f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – o Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim. Erechim, 2023. Disponível em: https://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/5007.pdf. Acesso em: 05 nov. 2023.

SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p. 118-122, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.1998.00303.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9569693/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SONCU, D. E.; ÖZDEMİR, N.; ARSLAN, B.; KÜÇÜKKAYA, S.; SOYER, A. Contribution of surface application of chitosan–thyme and chitosan–rosemary essential oils to the volatile composition, microbial profile, and physicochemical and sensory quality of dry-fermented sausages during storage. **Meat Science**, v. 166, p. 108127, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108127>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174019307582>. Acesso em: 25 nov. 2023.

SOUZA, L. DE S.; MADALENA, D. A.; PINHEIRO, A. C.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; RAMOS, Ó. L. Micro- and nano bio-based delivery systems for food applications: In vitro behavior. **Advances in Colloid and Interface Science**, 243, 23-45, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.02.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001868617300489>. Acesso em: 11 mar. 2023.

SOUZA, M. E. A. O.; *et al.* Determination of the antioxidant capacity of pineapple peel powder extract by applying different extraction techniques. **Research, Society**

and Development, [S. I.], v. 10, n. 10, p. 1-11, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18574>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/18574>. Acesso em: 10 nov. 2023.

TAJKARIMI, M. M.; IBRAHIM, S. A.; CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, v. 21, n. 9, p. 1199–1218, 2010.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/222993397_Antimicrobial_herb_and_spice_compounds_in_food. Acesso em: 28 fev. 2023.

TIMILSENA, Y.; ADHIKARI, R.; KASAPIS, S.; ADHIKARI, B. Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p.128-136, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.035>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861715008917>. Acesso em: 10 fev. 2023.

TOFIÑO-RIVERA, A.; ORTEGA-CUADROS, M.; HERRERA-HINOJOSA, B. K.; FRAGOSO-CASTILLA, P.; PEDRAZA-CLAROS, B. Conservación microbiológica de embutido carnico artesanal con aceites esenciales *Eugenia caryophyllata* y *Thymus vulgaris*. **Revista BioAgro**, v. 15, p. 30-41, 2017.

DOI: <https://dx.doi.org/10.18684/bsaa>. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S169235612017000400030&script=sci_arttext. Acesso em: 21 maio 2023.

TOLEDO, Antonio Matias Navarrete de. **Encapsulação do óleo essencial de laranja em nanopartículas de quitosana: desenvolvimento e avaliação da citotoxicidade in vitro do produto final**. 2015. 66f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015. Disponível em:

https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=2395127. Acesso em: 11 out. 2023.

TREMEA, E.; STEFFLER, B.; RODRIGUES, J.; BATTISTI, S.; ACOSTA, B. S.; NESSLER, M. A. dos S.; SILVA, M. N. da. Carne vermelha e seus derivados: relação com as doenças crônicas não transmissíveis. III Simpósio em saúde e alimentação da Universidade Federal da Fronteira Sul, 2019, Chapecó, SC. **Anais** [...]. Chapecó, SC: UFFS, 2019. 6p. Disponível em:

<https://portaleventos.uffs.edu.br/index.php/SSA/article/view/11094>. Acesso em: 15 mar. 2023.

VAFANIA, B.; FATHI, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S. Nanoencapsulation of thyme essential oil in chitosan-gelatin nanofibers by nozzle-less electrospinning and their application to reduce nitrite in sausages. **Food and Bioproducts Processing**, v. 116, p. 240–248, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.06.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960308519302706>. Acesso em: 03 dez. 2023.

VÁZQUEZ-OVANDO, J. A.; ROSADO-RUBIO, J. G.; CHEL-GUERRERO, L. A.;

BETANCUR-ANCONA, D. A. Dry processing of chía (*Salvia hispanica L.*) flour: chemical characterization of fiber and protein. **CyTA - Journal of Food**, v. 8, n. 2, p. 117-127, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476330903223580>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/216837401_Dry_processing_of_chia_Salvia_hispanica_L_flour_Chemical_characterization_of_fiber_and_protein. Acesso em: 21 mar. 2023.

VELLOSO, C.; MARTINS, M. D.; RIZZATTO, M. L. Ação antifúngica de óleos essenciais em filmes biodegradáveis frente a bolores termorresistentes isolados de tomates. **Cogitare**, v.1, n. 1, p. 31-46, 2018. Disponível em: <https://ojs.ifsp.edu.br/index.php/cogitare/article/view/696>. Acesso em: 14 fev. 2023.

VIEIRA, M.; SILVA, S. Desenvolvimento, caracterização e estabilidade de nanocápsulas de caseína contendo óleo de chia (*Salvia hispanica L.*). **Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências da Saúde, v. 19, n. 3, p. 651-662, 2018. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFN-1_a012a48ee6665d3603d520449e8f5475. Acesso em: 10 out. 2023.

VITALI, L., LARANJEIRA, M. C., GONÇALVES, N. S., FÁVERE, V. T. Spray-dried chitosan microspheres containing 8-hydroxyquinoline-5 sulphonic acid as a new adsorbent for Cd (II) and Zn (II) ions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, n. 2, p. 152-157, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.10.020>. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/30502>. Acesso em: 17 nov. 2023.

VIVIAN, P. G.; MELLO, G.; PORTO, R.; TIMM, C. D.; GANDRA, E. A.; FREITAG, R. A. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de *Origanum vulgare* (orégano) e *Ocimum basilicum* (manjericão) e sua aplicação em massa para embutido cárneo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 62143-62156, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/index.php/BRJD/article/download/15612/12842>. Acesso em: 14 nov. 2022.

WHO. World Health Organization. **The carcinogenicity of the consumption of red meat and processed meat**. International Agency for Research on Cancer, Lyon: WHO, 2015. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/cancer-carcinogenicity-of-the-consumption-of-red-meat-and-processed-meat>. Acesso em: 17 mar. 2023.

ZAMBIAZI, R. **Tecnologia de óleos e gorduras**. Pelotas: UFPel, 2009.

ZAPPAROLI, A.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana de óleos essenciais cítricos orgânicos frente a microrganismos de importância em alimentos. In: Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão do IFC Campus Concórdia, 2018, Concórdia - SC. **Anais [...]**. Concórdia, SC: Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão do IFC Campus Concórdia, 2018. Disponível em: <https://publicacoes.ifc.edu.br/index.php/micti/article/view/884>. Acesso em: 16 nov. 2022.

ZHANG, Z. et al. Protein encapsulation in alginate hydrogel beads: Effect of pH on microgel stability, protein retention and protein release. **Food Hydrocolloids**, 58,

2016. 308-315. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.03.015>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X16300935>. Acesso em: 06 nov. 2023.