



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TAINARA SANTOS OLIVEIRA

BURGUENDÊ:

**QUALIDADE DE HAMBÚRGUER DE CARNE ADICIONADO
DE ÓLEO DE PALMA BRUTO HÍBRIDO UNAUÉ HIE OXG
NANOENCAPSULADO DURANTE O ARMAZENAMENTO
REFRIGERADO**

UFBA

SALVADOR

2024



TAINARA SANTOS OLIVEIRA

BURGUENDÊ:

**QUALIDADE DE HAMBÚRGUER DE CARNE ADICIONADO
DE ÓLEO DE PALMA BRUTO HÍBRIDO UNAUÉ HIE OXG
NANOENCAPSULADO DURANTE O ARMAZENAMENTO
REFRIGERADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Ciência de Alimentos (PGAli) da Universidade
Federal da Bahia, como requisito parcial para a
obtenção do título de Doutora em Ciência de
Alimentos.

Prof^a. Dr^a. Camila Duarte Ferreira Ribeiro

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Rogeria Comastri de Castro Almeida

Coorientadora

SALVADOR

2024

Dados internacionais de catalogação-na-publicação
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Oliveira, Tainara Santos.

Burguendê: qualidade de hambúrguer de carne adicionado de óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG nanoencapsulado durante o armazenamento refrigerado / Tainara Santos Oliveira. - 2024. 171 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Duarte Ferreira Ribeiro.

Coorientadora: Profa. Dra. Rogeria Comastri de Castro Almeida.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2024.

1. Alimentos - Análise. 2. Alimentos - Qualidade. 3. Carne - Conservação. 4. Acondicionamento e conservação de alimentos. 5. Óleos voláteis. 6. Compostos bioativos. 7. Nanotecnologia. 8. Palmeira oleaginosa. I. Ribeiro, Camila Duarte Ferreira. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD - 664.9

CDU - 664.9

TERMO DE APROVAÇÃO

TAINARA SANTOS OLIVEIRA

BURGUENDÊ: QUALIDADE DE HAMBÚRGUER DE CARNE ADICIONADO DE ÓLEO DE PALMA BRUTO HÍBRIDO UNAUÉ HIE OXG NANOENCAPSULADO DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Doutorado) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 25 de julho de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **CAMILA DUARTE FERREIRA RIBEIRO**
Data: 25/07/2024 23:00:57-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr^a. CAMILA DUARTE FERREIRA RIBEIRO (ORIENTADORA)

Universidade Federal da Bahia (UFBA, BA)

Documento assinado digitalmente
 **CLAUDIO VAZ DI MAMBRO RIBEIRO**
Data: 25/07/2024 21:32:58-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr. CLÁUDIO VAZ DI MAMBRO RIBEIRO (EXAMINADOR)

Universidade Federal da Bahia (UFBA, BA)

Documento assinado digitalmente
 **ALESSANDRO DE OLIVEIRA RIOS**
Data: 25/07/2024 17:00:12-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr. ALESSANDRO DE OLIVEIRA RIOS (EXAMINADOR)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS, RS)

Documento assinado digitalmente
 **LETICIA DE ALENCAR PEREIRA RODRIGUES**
Data: 25/07/2024 19:29:29-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr^a. LETÍCIA DE ALENCAR PEREIRA RODRIGUES (EXAMINADORA)

Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI CIMATEC, BA)

Documento assinado digitalmente
 **SAMANTHA SERRA COSTA**
Data: 25/07/2024 17:43:06-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr^a. SAMANTHA SERRA COSTA (EXAMINADORA)

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB, BA)

Dedico este trabalho,

*Aos meus pais, que não mediram esforços para que eu
chegasse até esta etapa da minha vida.*

Meus agradecimentos,

Agradeço aos meus pais, Valdete e Pedro, fontes inesgotáveis de amor, incentivo, paciência, dedicação e sabedoria. Sou grata por todo o esforço que fizeram para a minha formação profissional e pelo orgulho que sentem a cada conquista. Mãe, obrigada pelos ensinamentos sobre perseverança, força e fé. Pai, obrigada pelo zelo, pelas palavras de sabedoria, pela calma, pelos ensinamentos sobre compreensão e sensatez. Amo vocês infinitamente!

Às amigas Bruna Mota, Larissa Melo, Rafaela Araújo e Marcela Alves, que foram fundamentais em muitos momentos, agindo como molas propulsoras. Compreensivas, verdadeiras e, acima de tudo, AMIGAS. Em tudo transbordou a amor. Só tenho gratidão.

A todos da minha família linda, por se fazerem presentes, até nas minhas ausências. Em especial, aos meus tios, Francisco, Rosângela, Isabela e Fátima (in memoriam), e aos meus queridos primos, Gabrielle, Priscila, Iara e Matheus, que sempre estiveram presentes e torcendo por minhas vitórias.

À Maurício, que mesmo chegando na reta final, acredita, torce e vibra por cada etapa conquistada. Obrigada pelo incentivo e entusiasmo, meu amor!

À minha orientadora, Professora Camila Duarte, presente em minha vida desde a Graduação, Mestrado, Doutorado e agora, além de colega de trabalho, uma verdadeira mentora e líder na condução desse projeto. Você inspira a todos a sua volta! Obrigada pelas palavras de incentivo, oportunidades, responsabilidades conferidas a mim e todo o apoio interminável para chegarmos até aqui. Agradeço aos ensinamentos e ao compartilhamento dessa experiência.

À minha coorientadora, Professora Rogeria C. C. Almeida, que me acompanha desde a orientação do mestrado. Agradeço novamente pela confiança e oportunidade.

*Ao Grupo de Pesquisa em Alimentos, Alimentação e Saúde (GPAAS), vocês são maravilhosos. Minha gratidão à Larissa Assunção, Luis, Livia, Vanessa, Larissa Marinho, Juan e Mauro, que em muitos momentos foram grandes parceiros na condução de etapas do projeto. Em especial, meu imenso **OBRIGADA** aos que estiveram junto a mim na etapa árdua que foi a realização do teste de estabilidade: Nicolly, Agnes, Fabiane, Michelle, Alana, Isabele, Maycon, Lorena, Luisa, Júlia, Isabelle Palma, Samanta, Roberta e Karen. Sem vocês eu não teria conseguido!!!*

Ao grupo do LAPESCA, na Faculdade de Farmácia da UFBA, pela disponibilização de estrutura laboratorial, inclusive em momentos cruciais. Em especial, à Professora Carolina, por todas as orientações, suporte e disponibilidade.

Ao grupo do LABCARNE, na Escola de Veterinária da UFBA, em especial, ao Professor Carlos, Rafael, Juliana, Camila e Thiago, pelo apoio indispensável à realização das análises de microbiologia. Agradeço o suporte, acolhimento, paciência e preciosas diretrizes.

À Professora Itaciara, pelas contribuições, valiosas explicações e imensa disponibilidade.

Ao Professor Ronald Pegg e aos colegas da University of Georgia – EUA, por terem me recebido em Athens (EUA), por todo o aprendizado, pela paciência e disponibilidade na execução das análises.

Aos amigos da cidade de Athens (Georgia - Estados Unidos), Suzi, Grazi, Carol, Dani e Newton, vocês tornaram a experiência do intercâmbio mais feliz! Obrigada pelos momentos e trocas que tivemos! Serei eternamente grata ao universo por permitir o nosso encontro.

Ao SENAI, por ceder espaço para a realização de análises, e principalmente à Gabi, pela atenção e disponibilidade.

A Valdinei, pela colaboração nas análises de caracterização das nanopartículas.

A todos os professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (PGALI) da UFBA, pelos ensinamentos, trocas e aprendizados dessa caminhada.

A todos os servidores e colegas da Escola de Nutrição da UFBA, pela contribuição na realização das atividades, e em especial à Professora Mônica, pela confiança e apoio.

À Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, pela concessão do afastamento integral.

Aos avaliadores da banca, pela disponibilidade e contribuições.

À Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), pela doação do azeite de dendê híbrido.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento parcial do projeto concedido (Código Financeiro 001).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto (Processos nos. 409924/2021-0-Universal; 406734/2022 – INCT Carne).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida na modalidade Doutorado Sanduíche (nº do processo: 403104/2022-0).

E finalmente, a todos que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho. Meu muito obrigada!

"A única constante na vida é a mudança." (Heráclito)

"Coragem é a virtude que mais nos aproxima da ação." (Hannah Arendt)

"Não sabendo que era impossível, foi lá e fez." (Jean Cocteau)

"Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe." (Clarice Lispector)

RESUMO

A carne bovina é amplamente consumida devido ao seu alto valor nutricional e sabor. Hambúrgueres, por serem moídos, têm maior área de superfície exposta, o que os torna mais suscetíveis à contaminação microbiana e oxidação. Para minimizar esses problemas, antioxidantes naturais, como óleos essenciais (OEs), são explorados como alternativas aos conservantes sintéticos, que levantam preocupações toxicológicas. Entre as fontes naturais promissoras está o óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG (OPBH), devido ao seu elevado teor de antioxidantes e ácidos graxos benéficos. No entanto, OPBH e OEs enfrentam desafios de aplicação quanto à baixa solubilidade em sistemas hidrofílicos, alta sensibilidade à oxidação e alterações de sabor, e quanto à alta volatilidade de compostos e aroma específico, respectivamente. Por isso, a nanoencapsulação surge como uma alternativa promissora, que pode oferecer um sistema de preservação de compostos bioativos em nanoescala (<1000nm), alinhado ao uso de biopolímeros. Dessa forma, o objetivo geral do trabalho foi avaliar a qualidade de hambúrguer de carne bovina adicionado de OPBH nanoencapsulado com farinha de semente de jaca (FSJ) durante o armazenamento refrigerado. Inicialmente, investigou-se as aplicações da nanotecnologia em OEs (NOE), com relatos sobre os benefícios, áreas de aplicação, produtos disponíveis no mercado e solicitações de patentes associadas. A pesquisa examinou patentes de NOE nos bancos de dados Espacenet e no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) até maio de 2020, sendo encontrados 99 documentos disponíveis para *download* entre 1991 e 2019. Os resultados indicaram a liderança da China em número de patentes, o frequente uso de nanoemulsões e de quitosana, além do potencial para explorar outros OEs, como o de alecrim. Embora apresente amplas aplicações na indústria alimentícia, a NOE tem maior predominância na indústria farmacêutica/cosmética. O Brasil ainda não explorou totalmente essa tecnologia, mas incentivos públicos podem alterar esse cenário. A lacuna entre patentes e transferência de tecnologia para o setor comercial indica oportunidades significativas para melhor aproveitamento das aplicações da NOE. Posteriormente, foram desenvolvidos hambúrgueres com NP-OPBH (N-burger) foram avaliados em relação à cor, teor de carotenoides totais, oxidações lipídica e proteica, pH e crescimento de bactérias mesófilas, psicrofílicas, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp., durante 12 dias de armazenamento a 4 °C, em comparação a hambúrgueres adicionados dos mesmos constituintes na forma livre (L-burger) e controle (C-burger; sem aditivos). Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p \leq 0,05$) por meio do *software* SAS® OnDemand for Academics. NP-OPBH obtidas por homogeneização apresentaram bom tamanho ($222,10 \pm 21,15$ nm), índice de polidispersibilidade ($<0,3$), potencial zeta ($-24,22 \pm 3,53$), morfologia de gota esférica, sem rachaduras, alta eficiência do encapsulamento ($93,16\% \pm 9,43\%$), cor adequada, retenção de 100% de carotenoides e atividade antioxidante de $11,31 \pm 0,58$ e de $3,87 \pm 0,92$ mM de Trolox equivalente/mL para DPPH• e ABTS•+, respectivamente. As NP-OPBH nos hambúrgueres demonstraram capacidade de inibir o aumento da acidez ($p < 0,05$) (N-burger reduziu o pH em 7%; L-burger 8% e C-burger 19%), manutenção da cor vermelha, com menor variação de a^* ($p < 0,05$) (N-burger reduziu a^* em 35%; L-burger 48%; C-burger 43%), estabilidade no conteúdo de carotenoides, maior inibição da oxidação lipídica em relação ao C-burger ($p < 0,05$), com valor final de $1,10 \pm 0,21$ mg MDA/Kg após os 12 dias, e inibição da oxidação proteica ($p < 0,05$) em relação às demais formulações, com valor final de sulfidrilas de $1,57 \pm 0,11$ μ mol/g ($p < 0,05$), além de inibição do crescimento de bactérias mesófila e da família *Enterobacteriaceae*, em relação a C-burger e L-burger. Conclui-se que as NP-OPBH com FSJ foram eficientes na conservação de hambúrgueres de carne bovina refrigerados, podendo ser aplicadas como nanoconservante natural de alimentos, alinhando-se à demanda por produtos *clean label* e naturais.

Palavras-chave: Nanotecnologia; óleos essenciais; prospecção tecnológica; *Elaeis guineensis*; *Elaeis oleifera*; Coproduto vegetal; conservação de carne.

ABSTRACT

Beef is widely consumed due to its high nutritional value and flavor. Burgers, being ground, have a larger exposed surface area, making them more susceptible to microbial contamination and oxidation. To minimize these problems, natural antioxidants, such as essential oils (EOs), are explored as alternatives to synthetic preservatives, which raise toxicological concerns. Among the promising natural sources is the hybrid crude palm oil Unaué HIE OxG (HCPO) due to its high content of antioxidants and beneficial fatty acids. However, HCPO and EOs face application challenges such as low solubility, high sensitivity to oxidation and flavor, and high volatility of compounds and specific aroma, respectively. Therefore, nanoencapsulation emerges as a promising solution, offering a system for preserving bioactive compounds at the nanoscale (<1000nm), aligned with the use of biopolymers. Considering the above, the general objective of the study was to evaluate the quality of beef burgers added with HCPO nanoencapsulated with jackfruit seed flour (JSF) during refrigerated storage. To this end, the first study investigated the applications of nanotechnology in EOs (NEOs), demonstrating the benefits, areas of application, available market products, and associated patent filings. The research examined NEO patents in the Espacenet and National Institute of Industrial Property (INPI) databases until May 2020, finding 99 documents available for download between 1991 and 2019. Among the findings, China's leadership in the number of patents, the frequent use of nanoemulsions and chitosan, and the potential to explore other EOs, such as rosemary, stand out. However, despite being highly applicable in the food industry, NEOs have a greater prevalence in the pharmaceutical/cosmetic industry. Brazil has not yet fully explored this technology, but public incentives could change this scenario. The gap between patents and technology transfer to the commercial sector indicates significant opportunities for better utilization of NEO applications. In the second study, burgers developed with NP-HCPO (N-burger) were evaluated in terms of color, total carotenoids, lipid and protein oxidation, pH, and growth of mesophilic and psychrophilic bacteria, *Enterobacteriaceae*, coagulase-positive *Staphylococci*, and *Salmonella* sp., during 12 days of storage at 4 °C, compared to burgers added with the same constituents in free form (F-burger) and control (C-burger; no additives). Analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($p \leq 0.05$) were used to evaluate the means with the SAS® OnDemand for Academics software. NP-HCPO obtained by homogenization showed good size (222.10 ± 21.15 nm), polydispersity index (<0.3), zeta potential (-24.22 ± 3.53), spherical drop morphology without cracks, high encapsulation efficiency ($93.16\% \pm 9.43\%$), appropriate color, 100% carotenoid retention, and antioxidant activity of 11.31 ± 0.58 and 3.87 ± 0.92 mM Trolox equivalent/mL for DPPH• and ABTS•+ assays, respectively. The NP-HCPO in burgers demonstrated the ability to inhibit acidity increase ($p < 0.05$) (N-burger reduced pH by 7%; F-burger by 8% and C-burger by 19%), maintained red color with less variation in a^* ($p < 0.05$) (N-burger reduced a^* by 35%; F-burger by 48%; C-burger by 43%), stability in carotenoid content, achieve greater inhibition of lipid oxidation compared to the C-burger ($p < 0.05$) with a final value of 1.10 ± 0.21 mg MDA/Kg after 12 days, and inhibit protein oxidation ($p < 0.05$) compared to the other formulations, with a final thiol content of 1.57 ± 0.11 μ mol/g ($p < 0.05$), as well as inhibition of mesophilic bacteria growth and *Enterobacteriaceae* family, compared to C-burger and F-burger. It is concluded that NP-HCPO with JSF were effective in preserving refrigerated beef burgers and can be applied as a natural food nanopreservative, aligning with the demand for clean label and natural products.

Keywords: Nanotechnology; essential oils; technological prospecting; *Elaeis guineensis*; *Elaeis oleifera*; plant by-product; meat preservation.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	20
Figura 1 Cruzamento do híbrido interespecífico entre as palmeiras das espécies <i>Elaeis oleifera</i> x <i>Elaeis guineensis</i>	27
Figura 2 Óleo de palma bruto híbrido (azeite de dendê híbrido) Unaué HIE OxG cultivado na cidade de Una-BA	27
Figura 3 Cores da carne e formas principais da mioglobina nos músculos	38
Figura 4 Mecanismo de ação antioxidante dos flavonoides quercetina e antocianina	44
Figura 5 Estrutura química de compostos carotenoides mais comuns (licopeno, α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina e astaxantina)	45
Figura 6 Classificação de tocoferóis e tocotrienóis	47
Figura 7 Conservantes utilizados em produtos cárneos bovinos comercializados no Brasil	50
Figura 8 Diferenças entre as estruturas químicas de óleos vegetais e óleos essenciais	57
Figura 9 Estrutura de uma nanopartícula biopolimérica	63
Figura 10 Obtenção de nanopartícula polimérica por homogeneização	65
Figura 11 Jaca, semente de jaca e farinha de semente de jaca	70
CAPÍTULO II	91
Figure 1 Annual number of patent applications filed with the Espacenet and National Institute of Industrial Property (INPI). (A) The technological advancement of nanoencapsulation of EOs based on the analysis of the sum of the annual number of patent applications (B) The size of the bubble represents a quantitative amount of the number of patent applications filed in the indicated annual period	98
Figure 2 Publication of scientific articles from China and the USA on nanotechnology from the Web of Science (A) and country of origin of patent applications filed with the INPI (B) and Espacenet (C), with their respective quantitative distributions	99
Figure 3 Distribution of the depositors among the ten most deposited patents in the National Institute of Industrial Property (INPI) and Espacenet	100
Figure 4 Distribution of inventors among the ten most patents deposited in the National Institute of Industrial Property (INPI) and Espacenet	101

Figure 5	Distribution of ten International Classification Codes most used by patent documents filed with the National Institute of Industrial Property (INPI) and Espacenet	102
Figure 6	Application areas of EON from INPI and Espacenet (A), and application of EON in the food industry (B)	106
Figure 7	Word cloud indicating the terminologies associated with EON, mentioned in the patent documents from INPI and Espacenet	109
Figure 8	Types of nanomaterials mentioned in the patent documents from INPI and Espacenet	110
Figure 9	Types of widely used EOs, according to the analysis of patent documents from INPI and Espacenet	111

CAPÍTULO III **124**

Figura 1	Elaboração de nanopartículas de óleo de palma bruto híbrido com farinha de semente de jaca pelo método de homogeneização	131
Figura 2	Imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) da morfologia da NP-OPBH (escala = 200 nm)	141
Figura 3	Alterações na cor de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C)	146
Figura 4	Carotenoides totais de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C)	148
Figura 5	Oxidação lipídica de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C)	149
Figura 6	Oxidação proteica de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C)	151
Figura 7	pH de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C)	153

LISTA DE TABELAS

<i>CAPÍTULO II</i>	91
Table 1 Descriptors used for analyzing patent data for nanotechnology applied to essential oils	96
Table 2 Patent applications in EON	103
Table 3 Commercially available products developed with nanotechnology applied to oils	114
 <i>CAPÍTULO III</i>	 124
Tabela A.1 Composição centesimal de C-burguer, N-burguer e L-burguer e regulamento técnico de identidade e qualidade (RTIQ) para hambúrguer no Brasil	134
Tabela 1 Ingredientes utilizados na elaboração dos hambúrgueres de carne bovina	135
Tabela A.2 Composição centesimal da farinha de semente de jaca	139
Tabela A.3 Eficiência do encapsulamento, tamanho de partícula, PDI e potencial zeta das NP-OPBH	140
Tabela A.4 Valor de pH, parâmetros de cor e conteúdo de carotenoides totais das NP-OPBH e de seus constituintes na forma livre	142
Tabela 2 Atividade antioxidante das NP-OPBH e de seus constituintes na forma livre .	143
Tabela 3 Parâmetros de cor de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C)	145
Tabela 4 Contagem de microrganismos em amostras de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias, sob armazenamento refrigerado (4°C)	155

LISTA DE QUADROS

<i>CAPÍTULO I</i>	20
Quadro 1 Níveis máximos dos principais antioxidantes sintéticos permitidos em carnes e seus produtos processados frescos pela legislação brasileira	50
Quadro 2 Efeitos da aplicação de óleos essenciais em carnes e seus produtos	55
Quadro 3 Efeitos da aplicação de óleos comestíveis em carnes e seus produtos	59
Quadro 4 Efeitos da aplicação de nanopartículas de óleo essenciais em carnes e seus produtos	73
Quadro 5 Efeitos da aplicação de nanopartículas de óleos comestíveis em carnes e seus produtos	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-MCPD	2-monocloropropano-1,3-diol
3-MCPD	3-monocloropropano-1,2-diol
ABTS•+	2,2' azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
AEV	Azeite de oliva extravirgem
AG	Ácido graxo
AGCM	Ácidos graxos de cadeia média
ANOVA	Análise de variância
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
AZO	Azeite de oliva
BHA	Butil hidroxianisol
BHT	Butil hidroxitolueno
BPA	Ágar <i>Baird Parker</i>
BPLS	Ágar Verde Brilhante Vermelho Fenol Lactose Sucrose
CA	Solução de 1% de óleo essencial de alecrim com quitosana
Caco-2	Adenocarcinoma colorretal humano
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
C-burger	Hambúrguer controle (sem aditivos adicionados)
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CEPLAC	Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira
CIELAB	Comissão Internacional de Iluminação L*, a*, b*
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Desenvolvimento Tecnológico
CO ₂ -DC	Óleo essencial com dióxido de carbono supercrítico
CO ₂ -EAM	Óleo essencial com embalagem em atmosfera modificada contendo dióxido de carbono supercrítico
CT	Carotenoides totais
DLVO	Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeek
DPPH•	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
DTNB	5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico)

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EA0	Emulsão de hidrogel à base de azeite de oliva
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE	Eficiência do encapsulamento
EFSA	European Food Safety Authority
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EOG	Emulsão de hidrogel à base de óleo de girassol
EOL	Pré-emulsão de óleo de linhaça com proteína de soja isolada
EON	Essential oil nanotechnology
EO	Essential oil
ERN	Espécie reativa de nitrogênio
ERO	Espécie reativa de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
FSJ	Farinha de semente de jaca
GRAS	Generally Recognized as Safe
ha	Hectare
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods
IN	Instrução normativa
INPI	National Institute of Industrial Property
IP	Intellectual property
IPC	The international patent classification
L-burguer	Hambúrguer adicionado de óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG, farinha de semente de jaca e H ₂ O na forma livre
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Mb ²⁺	Desoximioglobina
MC	Ágar <i>MacConkey</i>
MDA	Malondialdeído
MMb ³⁺	Metamioglobina
NaCl	Cloreto de sódio

N-burguer	Hambúrguer com adição de nanopartículas óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG e farinha de semente de jaca
NP-OPBH	Nanopartículas de óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG e farinha de semente de jaca
OC	Óleo comestível
OCA	Óleo de canola
OCT	Óleo de cártamo
OE	Óleo essencial
OEAJ	Óleo essencial de ajowan (<i>Carum copticum</i>)
OEAL	Óleo essencial de alho
OEB	Óleo essencial de <i>Bunium persicum</i> Boiss
OEC	Óleo essencial de canela
OECL	Óleo essencial de capim-limão
OECO	Óleo essencial de cominho
OECR	Óleo essencial de cravo
OECS	Óleo essencial de <i>Cinnamodendron dinisii</i> Schwanke
OEM	Óleo essencial de manjerição-do-bactriari (<i>Satureja bachtiarica</i>)
OES	Óleo essencial de segurelha <i>Satureja hortensis</i> L
OET	Óleo essencial de tomilho
OEZ	Óleo essencial de <i>Zataria multiflora</i> Boiss
OG	Óleo de girassol
OH	Óleo de chia
OL	Óleo de linhaça
OMb ²⁺	Oximoglobina
ON	Óleo de nozes
OPB	Óleo de palma bruto
OPBH	Óleo de palma bruto híbrido HIE OxG
OSB	Óleo de semente de beldroega
OT	Óleo de noz de tigre
PCA	Ágar de contagem em placas
PDI	Índice de polidispersibilidade

PG	Propil galato
pH	Potencial hidrogeniônico
PZ	Potencial zeta
R&D	Research and development
VRBG	Ágar bile vermelho violeta glicose
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
RV	Caldo <i>Rappaport-Vassiliadis</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
SDA	Secretaria de Defesa Agropecuária
SS	Ágar Salmonella-Shigella
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico
TBHQ	Terc-butil hidroquinona
TC	Solução de 1% de óleo essencial de tomilho com quitosana
TCA	Ácido tricloroacético
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
TEP	1,1,3,3-tetraetoxipropano
RTIQ	Regulamento técnico de identidade e qualidade
Trolox	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico
TT	Caldo Tetrationato
UFC	Unidade formadora de colônia
USDA	United States Department of Agriculture
WHO	World Health Organization
WIPO	World intellectual property organization
WoS	Web of Science
XLD	Xilose Lisina Desoxicolato

SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO I – Burguendê: Qualidade de hambúrguer de carne adicionado de óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG nanoencapsulado durante o armazenamento refrigerado</i>	20
1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	25
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	26
3.1 Óleo de palma bruto híbrido HIE OxG: produção, propriedades e suas aplicações	26
3.2 Hambúrguer de carne bovina e alterações na qualidade do produto ao longo do armazenamento refrigerado	30
3.2.1 Definição, produção, histórico e parâmetros de qualidade	30
3.2.2 Fatores que afetam a qualidade das carnes e seus produtos: crescimento de microrganismos, processos oxidativos, alterações de cor e pH	32
3.3 Conservantes naturais e sintéticos em carnes e produtos cárneos	42
3.3.1 Espécies pró-oxidantes e propriedades de conservação de compostos bioativos	42
3.3.2 Antioxidantes sintéticos em carnes e seus produtos e complicações associadas	48
3.3.3 Óleos essenciais e óleos comestíveis aplicados à indústria de carnes e seus produtos	52
3.4 Nanoencapsulamento de óleos essenciais e comestíveis	62
3.4.1 Farinha de semente de jaca e outros coprodutos vegetais como encapsulantes	68
3.4.2 Nanopartículas de óleos essenciais e comestíveis aplicadas na indústria de carnes e seus produtos	70
4 CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS	78
 <i>CAPÍTULO II – A Patent Data Analysis in Nanotechnology Applied to Essential Oils</i>	91
 <i>CAPÍTULO III – Propriedades de conservação do óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG nanoencapsulado em farinha de semente de jaca na vida útil de hambúrguer de carne bovina refrigerado</i>	124
 ANEXOS	167

Capítulo I

***Burguendê: Qualidade de hambúrguer de carne adicionado de óleo de palma bruto híbrido
Unaué HIE OxG nanoencapsulado durante o armazenamento refrigerado***

1 INTRODUÇÃO

A carne bovina é um alimento amplamente consumido mundialmente, com uma produção global de 60,4 milhões de toneladas em 2024 (USDA, 2024a). O alto valor nutricional, sabor e diversidade de preparo, permite que seja encontrada em diferentes cortes e formas, incluindo hambúrgueres, que são populares pela praticidade (Barbosa, 2021). No entanto, devido as etapas de moagem e aumento da área superficial exposta, o hambúrguer cru apresenta maior risco de contaminação por microrganismos e susceptibilidade a oxidação lipídica, proteica e dos pigmentos (Barbosa, 2021).

A contaminação microbiana e a oxidação lipídica são as principais causas de deterioração e consequente perda da qualidade nutricional, sensorial e alteração da textura de carnes e produtos cárneos (Botella-Martinez *et al.*, 2021). Tais alterações indesejáveis podem ser eficazmente controladas ou minimizadas por meio do uso de antioxidantes naturais (óleos essenciais, especiarias, flavonóis, catequinas, antioxidantes de alecrim, extratos de ervas), como substitutos aos conservantes sintéticos, em carne fresca/processada durante o armazenamento refrigerado, sendo, inclusive, tema de interesse para a saúde pública mundial (Mogoşanu *et al.*, 2017).

Os óleos essenciais (OEs) são metabólitos secundários de diferentes plantas aromáticas, dos quais consistem em sesqui-terpenos, terpenos e diferentes compostos oxigenados, como fenóis, aldeídos, lactonas, ésteres, cetonas, éteres fenólicos e álcoois. Na indústria, esses óleos são produtos de grande interesse, com uma ampla variedade de possíveis aplicações nos campos agrícola, cosmético, nutricional e farmacêutico, pois possuem uma vasta gama de atividades biológicas, como atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, analgésica e ação repelente, entre outras. Ainda, são reconhecidos como substâncias seguras pela *Food and Drug Administration* (Tiwari; Singh; Dubey, 2020), ampliando o interesse no seu uso como aditivos alimentares seguros e conservantes naturais.

Por sua vez, os antioxidantes sintéticos, tais como eritorbato de sódio, BHT (butil hidroxitolueno), BHA (butil hidroxianisol), PG (propil galato), TBHQ (terc-butil hidroquinona) e EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), são extensivamente utilizados na indústria alimentícia para reduzir ou inibir reações oxidativas (Pinelli, 2018; Valderrama, 2018). Contudo, preocupações sobre seus efeitos toxicológicos têm impulsionado a demanda por antioxidantes naturais, dos quais são explorados não apenas devido às propriedades antioxidantes, mas também como uma alternativa contra o surgimento de bactérias multirresistentes (Frasão, 2017; Granata *et al.*, 2018; Jemaa *et al.*, 2018).

Além disso, os consumidores têm optado por produtos alimentícios *clean label*, submetidos ao processamento mínimo e livres de conservantes sintéticos (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016). Nesse sentido, o óleo de palma bruto híbrido HIE OxG (OPBH) se destaca como alternativa para essa finalidade de aplicação devido ao teor de antioxidantes, como carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis.

O OPBH é extraído do fruto resultante do cruzamento entre as palmeiras das espécies *Elaeis guineensis* e a *Elaeis oleifera* e os seus maiores produtores são Colômbia, Equador e Costa Rica, com 12% da área total de cultivo localizada na Colômbia (Romero *et al.*, 2021). O Brasil possui uma variedade exclusiva do híbrido HIE OxG denominada de Unaué (Pinto *et al.*, 2019) e estima-se a existência 11.500 ha de área plantada no estado do Pará (Antoniassi *et al.*, 2018) e de 30.000 ha no estado da Bahia (Pinto *et al.*, 2019).

O OPBH é um dos alimentos com maior concentração de carotenoides, variando entre 500 e 10.000 µg/g, destacando-se o β- (52–60%) e α- caroteno (33–36%) (Mozzon; Foligni; Tylewicz, 2018). Quanto ao teor de tocoferóis e tocotrienóis, os valores variam de 562 a 1417 mg/kg, sendo o γ-tocotrienol o componente principal, variando de 406 a 887 mg/kg (CODEX, 2023).

Ainda, por conter no mínimo 48% de ácido oleico em sua composição, esse óleo é reconhecido como “óleo de palma com alto conteúdo de ácido oleico”, sendo comparável aos efeitos do azeite de oliva extravirgem (Mozzon; Foligni; Tylewicz, 2018). Outros principais ácidos graxos presentes neste óleo são o ácido palmítico (23% a 38%), linoleico (9% a 17%), esteárico (1,5 a 4,5%), mirístico (até 0,8%), palmitoleico (até 0,8%), linolênico (até 0,6%) e ácido láurico (até 0,6%) (CODEX, 2023).

Ao considerar a composição em ácidos graxos e antioxidantes (carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis), acredita-se que o OPBH possa apresentar atividades antimicrobiana e antioxidante promissoras. Contudo, o uso desse óleo como agente conservante e antioxidante na indústria de alimentos ainda enfrenta problemas decorrentes de características, como a baixa solubilidade em água, possibilidade de agregar atributos sensoriais aos alimentos quando adicionado em alta concentração, sensibilidade dos compostos bioativos ao oxigênio, luz e calor durante o processamento, utilização e armazenamento (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016).

Portanto, a nanoencapsulação apresenta-se como uma importante alternativa, por se tratar de uma tecnologia em rápida expansão para proteger substâncias em nanoescala (<1000nm), especialmente compostos bioativos (Silva *et al.*, 2020). O encapsulamento de óleos é viável, eficiente, além de ser uma abordagem para contornar os desafios enfrentados na sua aplicação, aumentando a biodisponibilidade, solubilidade, estabilidade química e térmica, e

diminuindo a volatilidade, além de melhorar o sistema de entrega de compostos antioxidantes presentes nos óleos (Oliveira *et al.*, 2022). Essa tecnologia não apenas atende às limitações de uso relativa aos óleos comestíveis, categoria da qual o OPBH se enquadra, como também dos óleos essenciais.

A utilização de biopolímeros como agentes carreadores para encapsulamento de substâncias, como compostos bioativos e óleos, têm atraído a atenção de pesquisadores para a concepção e desenvolvimento de nanopartículas com benefícios para a indústria de alimentos (Arabpoor *et al.*, 2021), a exemplo do uso de quitosana (Raeisi *et al.*, 2019; Upadhyay *et al.*, 2021), albedo do maracujá (Bezerra *et al.*, 2019), goma arábica e caseína (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022). Nesse contexto, o uso da farinha de semente de jaca (FSJ) como material encapsulante é mais uma opção com potencial e caráter sustentável, como demonstrado por Assunção *et al.* (2024a), devido a sua composição em proteína (8%) e amido (60-80%), com alto teor de amilose (Dong *et al.*, 2021; Suzihaque *et al.*, 2022).

A jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) é uma fruta amplamente cultivada em países tropicais como Brasil, Tailândia, Indonésia, Índia, com custos mínimos de insumos. Ela apresenta uma destacada aplicação funcional, devido ao conteúdo nutricional das suas sementes, em termos de minerais, vitaminas, flavonoides, antioxidantes, aminoácidos e fibras (Suzihaque *et al.*, 2022). No entanto, as sementes de jaca são geralmente descartadas como subprodutos durante a produção e consumo (Li *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2016).

De acordo com essas premissas, o nanoencapsulamento do OPBH com farinha de semente de jaca como encapsulante é uma alternativa para proteção dos compostos bioativos antioxidantes, além de aumento do teor de fibras, solubilidade em água e estabilidade coloidal, ampliando assim seu uso pela indústria de alimentos, tanto pelo apelo tecnológico, quanto da saúde (Arabpoor *et al.*, 2021). O emprego de nanotecnologia em OPBH foi relatado por Ricaurte *et al.* (2016), ao desenvolverem nanoemulsões de OPBH com proteína do soro do leite; por Beltrán *et al.* (2020), ao elaborarem nanolipossomas contendo OPBH, e por Assunção *et al.* (2024a) ao otimizar o nanoencapsulamento de OPBH em farinhas de semente e eixo central da jaca.

Os efeitos da aplicação de óleos nanoencapsulados no aumento da vida de prateleira de hambúrgueres, com controle na oxidação lipídica e crescimento microbiano, são majoritariamente descritos para óleos essenciais, como já relatado em hambúrguer adicionado de nanopartículas de óleo essencial de semente de cominho (Hemmatkhah; Zeynali; Almasi, 2020); óleo essencial de limão (Hasani *et al.*, 2019) e óleo essencial de *Zataria multiflora* boiss (Torab; Basti; Khanjari, 2017). No entanto, quando aplicados em hambúrguer, os óleos vegetais

são preferencialmente investigados quanto à substituição parcial de gordura, com efeitos nutricionais, especialmente na melhora do perfil lipídico do produto (Ferreira *et al.*, 2022; Heck *et al.*, 2019; Vargas-Ramella *et al.*, 2020).

Considerando o exposto, a composição de ácidos graxos e antioxidantes (como carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis) do OPBH sugere potenciais atividades antimicrobianas e antioxidantes, indicando seu uso como conservante na indústria de alimentos. Uma estratégia para mitigar desafios como instabilidade oxidativa, propriedades sensoriais e baixa solubilidade é a utilização do nanoencapsulamento. Além disso, esses fatores estão alinhados com o crescente interesse da indústria e dos consumidores em substituir antioxidantes sintéticos por naturais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ✓ Avaliar a qualidade de hambúrguer de carne bovina adicionado de óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG nanoencapsulado com farinha de semente de jaca durante o armazenamento refrigerado.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Investigar as aplicações atuais e potenciais do nanoencapsulamento de óleos essenciais, demonstrando os benefícios, áreas de aplicação, produtos disponíveis no mercado e solicitações de patentes associadas;
- ✓ Obter farinha de semente de jaca para uso como encapsulante no desenvolvimento das nanopartículas;
- ✓ Desenvolver nanopartículas de óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG utilizando farinha de semente de jaca como encapsulante (NP-OPBH);
- ✓ Caracterizar as NP-OPBH quanto à eficiência do encapsulamento, tamanho das partículas, índice de polidispersibilidade (PDI), potencial zeta (ζ), morfologia, pH, parâmetros de cor, conteúdo de carotenoides totais e atividade antioxidante;
- ✓ Elaborar hambúrguer de carne bovina incorporado das NP-OPBH e caracterizá-lo quanto à composição centesimal;
- ✓ Avaliar a estabilidade física, físico-química e microbiológica do hambúrguer de carne bovina incorporado de NP-OPBH em relação a parâmetros de cor, carotenoides totais, oxidação lipídica e proteica, pH e atividade antimicrobiana sob armazenamento refrigerado.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG: produção, propriedades e suas aplicações

O óleo extraído do mesocarpo do dendê é conhecido como óleo de palma bruto (OPB) ou azeite de dendê e tem sido consumido por diversas populações africanas há mais de 5.000 anos. Esse óleo foi trazido para a América no final do século XV através dos escravos africanos transportados que carregavam suas sementes (Souza, 2000; Trindade; Poltronieri; Furlan Júnior, 2005). Na Bahia, o azeite de dendê é um componente essencial em muitos pratos tradicionais, incluindo moquecas, vatapá, caruru, abará, xinxim de galinha e acarajé (Lody, 2009; Almeida *et al.*, 2013; Almeida *et al.*, 2017).

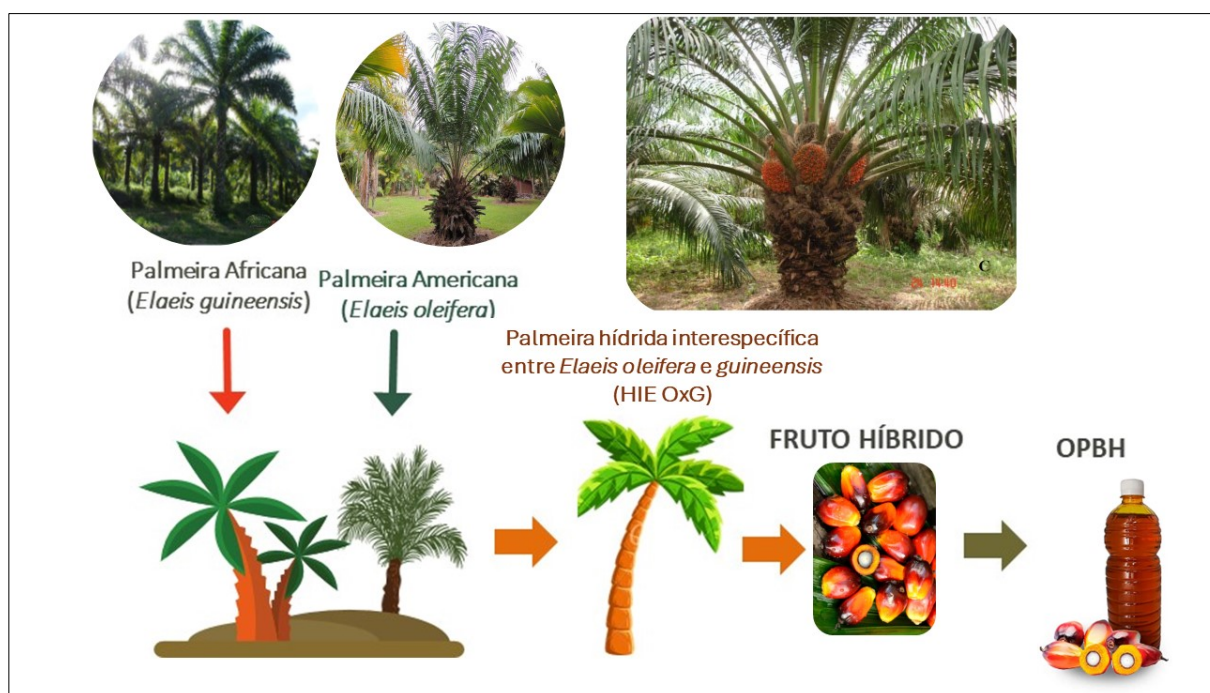
O acarajé é uma iguaria em formato de bolinho, à base de feijão fradinho, cebola ralada e sal, submetido ao processo de fritura por imersão em óleo de palma bruto e foi considerado patrimônio histórico e imaterial do país, sendo comercializado por baianas de acarajé em todo o Estado (Iphan, 2005; Almeida *et al.*, 2013; Rogério *et al.*, 2014). Além disso, na Bahia, o OPB é carregado de significados sociais e desempenha um papel central nas práticas religiosas (Candomblé), gastronômicas e culturais, reforçando a associação do estado e da cidade de Salvador à autenticidade africana, tanto para turistas, quanto para moradores locais (Castañeda, 2022).

Já o óleo de palma bruto híbrido HIE OxG (OPBH; Azeite de dendê híbrido) é extraído do fruto resultante do cruzamento Híbrido Interespecífico entre as palmeiras das espécies *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* (Figura 1) e os seus maiores produtores são Colômbia, Equador e Costa Rica, com 12% da área total de cultivo localizada na Colômbia (Romero *et al.*, 2021). A primeira cultivar da variedade HIE OxG encontrada no Brasil data de 2010, denominada de BRS Manicoré, e foi obtida a partir do cruzamento da palmeira Caiaué da origem Manicoré (Brasil), com o dendezeiro da origem La Mé (Costa do Marfim), pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (Pinto *et al.*, 2019).

Em seguida, a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) na Bahia cultivou uma variedade híbrida de dendê desenvolvida pela Embrapa Amazônia Ocidental no município de Una-BA, resultante do cruzamento entre o dendezeiro de origem africana (*Elaeis guineensis*) e o Caiaué, de procedência americana (*Elaeis oleifera*), que por ter sido desenvolvido no campo experimental da CEPLAC em Una-BA, foi batizado com o nome de Unaué (Figura 2) (EMBRAPA, 2021). Estima-se a existência de 11.500 ha de área plantada do

Unaué no estado do Pará (Antoniassi *et al.*, 2018) e de 30.000 ha no estado da Bahia (Pinto *et al.*, 2019).

Figura 1 - Cruzamento do híbrido interespecífico entre as palmeiras das espécies *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*.



Fonte: autoria própria (2024).

OPBH: óleo de palma bruto híbrido HIE OxG

Figura 2 – Óleo de palma bruto híbrido (azeite de dendê híbrido) Unaué HIE OxG cultivado na cidade de Una-BA.



Fonte: EMBRAPA (2021).

Os pesquisadores avaliaram que o híbrido, quando comparado às cultivares de dendezeiro, apresenta como vantagens menor crescimento em altura, melhor qualidade do óleo e resistência a pragas e doenças, com destaque ao Anel Vermelho, causado pelo nematoide *Bursaphelenchus cocophilus* Cobb, que é o principal problema fitossanitário nos dendezeiros baianos (EMBRAPA, 2021).

Em relação às espécies tradicionais, crioulas ou convencionais, advindas das palmeiras das espécies *Elaeis guineensis* ou *Elaeis oleifera*, observa-se que a variedade híbrida fornece um óleo bruto com melhores propriedades nutricionais, como maior quantidade de vitamina E, carotenoides e ácidos graxos insaturados, e menor teor de ácidos graxos saturados, além de melhores características agronômicas, como menor velocidade de crescimento e resistência a pragas e doenças (Pinto *et al.*, 2019).

O OPBH é um alimento notável por sua elevada concentração de carotenoides, variando entre 500 e 10.000 µg/g. Os carotenoides predominantes são o β-caroteno, representando de 52% a 60% do total, e o α-caroteno, que compõe entre 33% e 36% (Mozzon; Foligni; Tylewicz, 2018). Em termos de tocoferóis e tocotrienóis, suas quantidades variam de 562 a 1417 mg/kg, com o γ-tocotrienol sendo o mais abundante, apresentando valores entre 406 e 887 mg/kg (CODEX, 2023).

Além disso, o Codex Alimentarius 210 (2023) identifica os óleos extraídos do mesocarpo carnoso do fruto de palma híbrido OxG como "óleo de palma com alto teor de ácido oleico", por conter pelo menos 48% de ácido oleico. Outros ácidos graxos significativos nesse óleo incluem o ácido palmítico (23-38%), o ácido linoleico (9-17%), o ácido esteárico (1,5-4,5%), o ácido mirístico (até 0,8%), o ácido palmitoleico (até 0,8%), o ácido linolênico (até 0,6%) e o ácido láurico (até 0,6%) (CODEX, 2023).

O OPBH reúne diversas propriedades interessantes, incluindo a presença de polifenóis, como demonstrado por Rodríguez *et al.* (2016), que detectaram a presença de diversas substâncias já identificadas no azeite de oliva extravirgem (AEV) (ácido protocatecuico, aldeído protocatecuico, ácido vanílico, ácido p-salicílico, siringaldeído, ácido siríngico, ácido ferúlico) e mediram uma quantidade total de substâncias fenólicas (190–260 mg de equivalente de ácido gálico/kg de óleo) também comparável às quantidades fenólicas no AEV. Já os tocotrienóis ganharam atenção crescente devido à sua maior eficácia biológica do que os tocoferóis (Mozzon; Foligni; Mannozi, 2020).

Lucci *et al.* (2016) descobriram que o OPBH da dieta teve um efeito favorável no padrão de lipídios plasmáticos relacionado a fatores de risco cardiovascular e que esse efeito não foi estatisticamente diferente daquele do AEV. Em seguida, Ojeda *et al.* (2017) exploraram o

impacto do consumo diário de óleo bruto (AEV vs. OPBH; 25 mL/dia durante 3 meses) em adultos com idades entre 50 e 77 anos e não encontraram diferenças significativas na capacidade antioxidante plasmática e no conteúdo fenólico total.

Devido a estas descobertas interessantes, alguns autores sugeriram considerar o OPBH como o “equivalente tropical do azeite”. No entanto, deve-se evitar uma correspondência direta de consumo, pois ainda não foram realizados estudos para avaliar os efeitos nutricionais dos óleos de palma num contexto de dieta mediterrânea, onde o AEV é o principal óleo culinário (Mozzon; Foligni; Mannozi, 2020). Outro ponto de atenção é que o consumo excessivo de OPBH, através dos alimentos processados mais consumidos, deve ser cuidadosamente monitorado, pois pode envolver alterações importantes no metabolismo hepático, como já evidenciado por Spreafico *et al.*, (2018) e Sales *et al.*, (2019).

Assim como o óleo de palma bruto convencional, o OPBH possui duas frações, uma líquida (oleína/flor do dendê), onde há a presença de ácidos graxos insaturados (predominantemente oleico e linoleico) e uma sólida (estearina/bambá), que tende a precipitar, marcada pela presença de ácidos graxos saturados (predominantemente palmítico) (Antoniassi *et al.*, 2018).

O processamento do óleo de palma bruto das cultivares híbridas é um tema pouco estudado na literatura, assim como a viabilidade da sua utilização em substituição ao óleo de palma convencional pela indústria alimentícia. Isso se deve especialmente à reduzida produção de dados sobre as propriedades funcionais e tecnológicas desse óleo, já que grande parte dos estudos se concentram em aspectos genéticos, agronômicos ou nutricionais (Mozzon; Foligni; Mannozi, 2020). Nesse aspecto, Almeida *et al.* (2021) avaliaram as propriedades do OPBH e identificaram que a variedade híbrida, devido ao maior conteúdo de compostos antioxidantes, possui maior estabilidade em comparação ao óleo de palma convencional. Dados como esses são úteis para estabelecer condições operacionais para o processamento do óleo de palma de palmeira híbrida.

Nos países desenvolvidos (Europa e América do Norte), o óleo de palma é majoritariamente utilizado na sua forma refinada, inodora e amarelo-clara, enquanto apenas um quarto dos óleos de palma em todo o mundo são utilizados na forma bruta. No entanto, existem inúmeras vantagens em se utilizar óleo de palma na sua forma bruta, pois durante as etapas de refino, a água, ácidos livres, odores, constituintes insaponificáveis e fosfolipídios são removidos do óleo, causando assim uma diminuição de componentes nutricionalmente importantes, a exemplo de polifenóis e tocóis (Mozzon; Foligni; Mannozi, 2020).

Além disso, o refinamento promove a geração de novos compostos tóxicos, como cloropropanóis (3-monocloropropano-1,2-diol, 3-MCPD; 2-monocloropropano-1,3-diol, 2-MCPD), glicidol e seus ésteres de ácidos graxos. Dentre as etapas, a desodorização é associada à geração de contaminantes à base de glicerol, devido às fortes condições adotadas (Mozzon; Foligni; Mannozi, 2020). Diante dessa preocupação, desde 2016, a *European Food Safety Authority* (EFSA) tem noticiado o risco potencial do 3-MCPD e dos ésteres glicidílicos como uma preocupação para a saúde pública devido às suas atividades genotóxicas e cancerígenas (EFSA, 2016).

A utilização de óleos brutos pode evitar a exposição a contaminantes de processo e contribuir significativamente para a ingestão dietética de substâncias com propriedades antioxidantes (tocóis, polifenóis) (Mozzon; Foligni; Mannozi, 2020). O OPBH reúne diversas propriedades interessantes como melhor qualidade do óleo devido à maior porcentagem de ácido oleico que o óleo de palma convencional, vida produtiva mais longa e tronco mais curto que a palmeira africana, baixa atividade lipolítica dos tecidos das frutas, e resistência às principais doenças que afetam as palmeiras. Consequentemente, o OPBH poderia ser um substituto potencial para outros óleos vegetais ricos em ácidos graxos monoinsaturados, como óleos de girassol com alto teor de oleico (Mozzon; Foligni; Mannozi, 2020).

Ao considerar sua composição em ácidos graxos e antioxidantes (carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis), acredita-se que o OPBH possa apresentar atividades antimicrobiana e antioxidante promissoras. Contudo, o uso desse óleo como agente conservante e antioxidante na indústria de alimentos ainda enfrenta problemas decorrentes de características, como a baixa solubilidade em água, possibilidade de agregar atributos sensoriais indesejáveis nos alimentos pelo sabor marcante e característico, sensibilidade dos compostos bioativos ao oxigênio, luz e calor durante processamento, utilização e armazenamento (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016).

3.2 Hambúrguer de carne bovina e alterações na qualidade do produto ao longo do armazenamento refrigerado

3.2.1 Definição, produção, histórico e parâmetros de qualidade

A carne é um dos alimentos mais consumidos mundialmente, devido à grande variedade de técnicas de preparo a que pode ser submetida, ao seu valor nutricional e ao seu sabor (Barbosa, 2021). Por ser um produto versátil, pode ser encontrada em diferentes cortes e apresentações, incluindo os inúmeros derivados cárneos, como os hambúrgueres, que passam

de alimento coadjuvante para uma preparação popular, devido à sua praticidade para o consumidor. Além disso, essa preparação destaca-se como uma excelente fonte de proteínas de boa qualidade, além de uma interessante alternativa para o aproveitamento total das partes de uma carne (Phang; Bruhn, 2011).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de hambúrguer, por meio da portaria SDA nº 724, define a preparação como um produto cárneo industrializado, obtido de carne moída de animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado na forma de disco ou na forma oval, e submetido a processo tecnológico adequado (BRASIL, 2022a). Para as concentrações físico-químicas são permitidas no máximo 25% para gordura, no mínimo 15% de proteína e 3% de carboidratos totais (BRASIL, 2022a).

Dados da produção mundial de carne bovina em 2024 estimam uma oferta global de 60,4 milhões de toneladas, segundo a *United States Department of Agriculture* (USDA) (2024a), com previsão de aumento em 2% da produção no Brasil. O Brasil ocupa a posição de maior exportador de carne bovina do mundo nos últimos cinco anos e para 2024 existe a previsão da sua manutenção nessa posição, com expectativa de exportação de 2,9 milhões de toneladas de carne (USDA, 2024a).

O hambúrguer se popularizou na Alemanha durante o século XIX, na cidade de Hamburgo, sendo degustado cru, na forma de bolinhos e com vários temperos, sendo conhecido como “carne de Hamburgo” e com aspecto semelhante à preparação *steak tartare* (Barbosa, 2021). A partir da década de 20, surgiu nos Estados Unidos tornando-se um ícone do estilo de vida norte-americano. No Brasil, o hambúrguer surgiu nos anos 50 e ficou conhecido depois que uma famosa rede de *fast-food* começou a produzi-lo em larga escala (Nascimento; Oliveira; Nascimento, 2005).

O setor de hamburguerias tem crescido no Brasil com o surgimento de pequenos estabelecimentos e ampliação de grandes franquias, que aumentaram em torno de 30% em 3 anos. Por isso, é imprescindível observar cada estágio do processo de produção que possa colocar em risco a saúde do consumidor (Avelar, 2020). Ademais, as propriedades sensoriais são imprescindíveis e estão relacionadas a satisfação e escolha pelos consumidores, que consideram atributos como suculência, cor, textura, odor e sabor como os mais importantes (Barbosa, 2021).

Em termos de qualidade, há duas principais razões que levam a redução da vida útil e da aceitabilidade de hambúrgueres (Ghaderi-Ghahfarokhiet *al.*, 2016): oxidação dos ácidos graxos e presença de microrganismos responsáveis pela deterioração desse grupo de alimentos. O hambúrguer cru apresenta maior risco de contaminação por microrganismos devido as etapas

de moagem e aumento da área superficial exposta, e, mesmo sendo mantido sob refrigeração, microrganismos podem continuar a multiplicar-se no alimento (Barbosa, 2021).

Além disso, falhas durante o transporte da matéria-prima ou em etapas posteriores, como refrigeração, inadequação nas divisões das peças, processos sucessivos de congelamento e descongelamento, exposição ambiental, condições inadequadas de higiene, embalagens e armazenamento não-conformes, podem também contribuir para contaminações deste alimento. Ademais, ao considerar que alguns consumidores têm a preferência por consumi-lo com o ponto malpassado da carne, essa preparação pode ser considerada uma possível causadora de doenças veiculadas por alimentos (DVA) (Barbosa, 2021).

3.2.2 Fatores que afetam a qualidade das carnes e seus produtos: crescimento de microrganismos, processos oxidativos, alterações de cor e pH

Devido à disponibilidade de nutrientes, à alta umidade e pH com intervalo ótimo para o crescimento microbiano, as carnes frescas e seus produtos são alimentos altamente perecíveis e favoráveis ao crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos (Paganini, 2017). As bactérias deteriorantes podem ter o seu desenvolvimento controlado, por meio da adoção de medidas com foco na redução da contaminação advinda do processamento e aplicação de inibidores de crescimento. Por sua vez, as bactérias patogênicas são um grupo em que sua presença é limitante ao consumo e seu controle requer medidas que impeçam sua entrada desde a etapa de abate do animal e que evitem a contaminação cruzada com carcaças contaminadas (Baldin, 2016).

Os principais fatores que afetam o crescimento de microrganismos em produtos cárneos são o binômio tempo e temperatura, umidade, presença ou ausência de oxigênio, potencial óxido-redução, grau de acidez ou alcalinidade (pH), propriedades físicas da carne e competição entre microrganismos (Baldin, 2016). Associado a isso, a aplicação de processos, como refrigeração, congelamento, embalagem à vácuo ou o processamento térmico, podem não proporcionar completamente a segurança dos produtos e, por isso, compostos com ação antimicrobiana são amplamente empregados para prolongar a vida útil dos alimentos (Paganini, 2017).

As principais bactérias de deterioração associadas à carne e seus produtos são *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Brochothrix thermosphacta*, *Moraxella*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Proteus* (Jayasena; Jo, 2013). A presença dessas bactérias

deteriorantes ocasiona mudanças negativas na aparência da carne e seus produtos, produzindo odor, textura, sabor e cor indesejáveis (Paganini, 2017).

Além da deterioração microbiana, a carne e seus produtos também são propensos à contaminação por microrganismos patogênicos. Segundo Hui (2012), nove principais bactérias patogênicas estão associadas a carnes e produtos cárneos, como *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157: H7, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Yersinia enterocolitica*. Oliveira et al., (2018) relataram a ocorrência de contaminação por *L. monocytogenes* em carne de frango crua, com predominância em cortes de frango embalados para comercialização.

A Instrução Normativa - IN nº 161 (Brasil, 2022b) estabelece os padrões microbiológicos para hambúrguer de carne bovina da seguinte forma: o limite para *Staphylococcus coagulase positiva* é de 10^4 unidade formadora de colônia (UFC)/g, aeróbios mesófilos é de 10^6 UFC/g, *Escherichia coli* é de 10^2 UFC/g e determina a ausência em 25 g para *Salmonella* sp. Porém, não determina limite para a concentração de demais bactérias. Por isso, convém utilizar o critério definido pela *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) (1986), que estipula a concentração de 10^7 UFC/g para a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos como critério para determinação da vida útil e qualidade da carne permitida para consumo humano.

Tem-se observado um aumento de doenças veiculadas por alimentos relacionadas à contaminação microbiana. A *World Health Organization* (WHO) estimou, em último relatório emitido em 2015, que todos os anos ocorrem cerca de 600 milhões de casos (quase 1 em cada 10 pessoas no mundo) de doenças de origem alimentar e 420.000 mortes associadas a nível mundial (WHO, 2015). E seguindo a Resolução 73.5 da *World Health Assembly* (WHA73.5), a WHO precisará emitir um novo relatório até 2025, sobre o panorama global das doenças veiculadas por alimentos, com estimativas atualizadas (WHO, 2021). Ainda, de acordo com a *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) (CDC, 2019), a carne bovina é um alimento no qual o consumo está associado a ocorrência de surtos de doenças, já tendo sido relatado o *recall* de carne moída para estados americanos.

No Brasil, apesar da subnotificação, dados emitidos pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) demonstraram que dos 2.112 casos de surtos de origem alimentar registrados entre 2014 e 2023, 5,6% estão associados ao consumo de carne bovina (Brasil, 2024). Em relação a outros países, como EUA, o G1, em 2007, noticiou o *recall* feito pela Cargill de quase 500 mil kg de carne de hambúrguer devido a uma suspeita de contaminação por *Escherichia coli* nos EUA. Esse microrganismo é responsável por causar

sérios sintomas de infecção alimentar como diarreia e vômito e pode estar relacionado à falta de higiene na manipulação (Sofos; Geornaras, 2010).

O hambúrguer, apesar de ser um produto de baixo custo e com praticidade de consumo, é facilmente deteriorado por oxidação ou microrganismos, pois a carne moída é um dos produtos mais suscetíveis a oxidação lipídica, proteica e dos pigmentos, devido a uma maior superfície de contato com o oxigênio e porque durante o processo de moagem ocorre a ruptura das células musculares, com rompimento da membrana celular, e liberação de íons pró-oxidantes. Este processo promove a interação dos agentes oxidantes e dos ácidos graxos insaturados e, como consequência, leva à deterioração, diminuição da qualidade e do prazo de validade, além de causar riscos à saúde humana (Rosa; Matumoto-Pintro, 2015; Soladoye *et al.*, 2015).

A oxidação lipídica tem como consequência a diminuição da qualidade e da segurança dos produtos alimentares, afetando negativamente a cor, sabor, textura e os valores nutricionais do produto, com perda de vitaminas e ácidos graxos essenciais e, eventualmente, acarretando formação de compostos mutagênicos e/ou carcinogênicos (Baldin, 2016; Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016; Pinelli, 2018).

A maioria dos lipídios contém ácidos graxos, que são divididos em dois tipos, saturados e insaturados. Embora os ácidos graxos insaturados sejam mais benéficos para o organismo, sua presença nos alimentos diminui a vida útil do produto devido à maior suscetibilidade à oxidação, causada pelas duplas ligações que caracterizam sua insaturação. São essas duplas ligações que são suscetíveis a reações com as espécies reativas, iniciando assim o processo oxidativo (Fernades; Trindade; Melo, 2018).

A oxidação lipídica pode ocorrer devido à ação hidrolítica de enzimas (por exemplo, lipases), calor, altos níveis de umidade ou atividade de água, oxidação enzimática (por exemplo, através da ação da lipoxigenase), foto-oxidação (isto é, através da radiação UV) e auto-oxidação (por exemplo, por radicais livres na presença de oxigênio). Portanto, a oxidação lipídica é de grande preocupação econômica na indústria alimentícia (Fernades; Trindade; Melo, 2018).

A carne e seus derivados são altamente suscetíveis à oxidação porque as lipoproteínas membranosas liberam fosfolipídios. Os fosfolipídios são a principal fonte de ácidos graxos poli-insaturados e são a classe de lipídios que mais contribui para a deterioração oxidativa do sabor, enquanto os triglicerídeos são encontrados em todas as gorduras e óleos (Fernades; Trindade; Melo, 2018).

A oxidação lipídica é um processo complexo no qual ácidos graxos insaturados reagem principalmente com oxigênio molecular por meio de um mecanismo de cadeia de radicais livres.

Ela ocorre em três estágios principais que se desenvolvem simultaneamente, resultando em uma reação em cadeia composta por iniciação, propagação e terminação. A auto-oxidação primária é seguida por uma série de reações secundárias que levam à degradação do lipídio e ao desenvolvimento do ranço oxidativo. Os principais ácidos graxos insaturados que compõem os lipídios dos tecidos animais são o oleico, o linoleico, o linolênico e o araquidônico. Sua auto-oxidação dá origem a vários hidroperóxidos diferentes que, em conjunto com as muitas vias de decomposição envolvidas, levam a formação de muitos compostos voláteis. (Fernades; Trindade; Melo, 2018).

Dessa forma, a oxidação de ácidos graxos insaturados a partir de fosfolipídios e triacilgliceróis restringe a vida útil da carne e sua aceitabilidade (Ghaderi-Ghahfarokhiet *al.*, 2016), pois resulta no denominado ranço oxidativo (rancidez) com produção de substâncias voláteis indesejáveis como cetonas, aldeídos, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos que são responsáveis pelo sabor e odor desagradáveis (Almeida-Couto; Souza, 2018), além de alteração negativa da cor e aparência (Jayasena; Jo, 2013). Nesse contexto, a oxidação lipídica e as alterações nos pigmentos do músculo são os principais parâmetros de qualidade da carne em relação à deterioração, pois os lipídios e proteínas são alvos de espécies reativas de oxigênio (Valderrama, 2018).

Tanto os fatores intrínsecos presentes na carne, quanto os extrínsecos, influenciam a extensão e velocidade da oxidação lipídica. Esses fatores incluem o conteúdo e a atividade de pró e antioxidantes, a presença de ferro ferroso endógeno, mioglobina, enzimas, pH, temperatura, força iônica, irradiação, reação de consumo de oxigênio, área de superfície em contato com oxigênio, atividade de água e a composição de ácidos graxos da carne, que varia em função de diversos fatores, incluindo a dieta animal. Além disso, fatores como condições de processamento e armazenamento, e tipos de ingredientes desempenham papéis cruciais na determinação da taxa de desenvolvimento e dos efeitos deteriorantes potenciais da oxidação lipídica (Baldin, 2016; Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017).

A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é utilizada como um indicador para avaliar a quantidade de produtos de oxidação lipídica secundária intimamente relacionados com a qualidade sensorial da carne (Ghaderi-Ghahfarokhiet *al.*, 2016) e o valor de malondialdeído (MDA) de 1,0 mg por quilograma de carne é considerado como um limiar de percepção de ranço pelos consumidores (Mckenna *et al.*, 2005).

Um outro processo oxidativo de importância em carnes e seus produtos é a oxidação de proteínas. As proteínas são constituintes importantes da dieta humana, pois representam uma fonte importante de aminoácidos essenciais e, no caso da carne, são as principais responsáveis

pela textura (Fernades; Trindade; Melo, 2018). As três reações de modificação química de proteínas mais importantes nos alimentos são a oxidação de proteínas, glicação e lipoxidação (ou seja, a reação de produtos de peroxidação de lipídios em proteínas). Essas reações individuais de modificação de proteínas ocorrem ao mesmo tempo nos alimentos (Hellwig, 2020).

A susceptibilidade das proteínas da carne às reações de oxidação, leva a alteração das suas propriedades funcionais e, conseqüentemente, diminui a qualidade dos alimentos. A redução da qualidade nutricional ocorre por meio da perda de aminoácidos essenciais, devido à degradação de lisina, metionina e triptofano, reduzindo o valor proteico dos alimentos. Ocorre também a diminuição da biodisponibilidade, pois a formação de ligações cruzadas entre proteínas oxidadas pode diminuir a digestibilidade das proteínas, tornando os nutrientes menos acessíveis para absorção pelo corpo (Soladoye *et al.*, 2015).

Os resultados do estresse oxidativo são modificações nas cadeias laterais de aminoácidos e na cadeia proteica (atacando o esqueleto polipeptídico), fragmentação, agregação e polimerização da proteína. Esses efeitos resultam tanto em disruptões bioquímicas quanto estruturais, levando a várias questões sensoriais, tecnológicas e nutricionais nos alimentos de origem animal (Hellwig, 2020; Soladoye *et al.*, 2015). Em adição, a oxidação de proteínas em alimentos de origem animal pode ser induzida diretamente por espécies reativas de oxigênio (EROs) (sejam radicais livres ou não) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), ou indiretamente por produtos secundários da oxidação lipídica (Fernades; Trindade; Melo, 2018; Soladoye *et al.*, 2015). Dependendo de sua reatividade, as ERO reagem com biomoléculas de forma mais ou menos seletiva e, no caso das proteínas, afetam diferentes sítios das moléculas (Hellwig, 2020).

De acordo com o alvo e do agente oxidante, a oxidação de proteínas se propaga e termina de acordo a múltiplos mecanismos (Soladoye *et al.*, 2015). Esse processo promove a formação de carbonilas, resultado mais importante da oxidação proteica, além de perda de grupos sulfidríla, hidroperóxidos e sulfóxidos. Também causa fragmentação por cisão das ligações peptídicas, agregação proteica por ligação cruzada de resíduos de cisteína ou tirosina, inativação de enzimas proteolíticas e diminuição da solubilidade proteica. Isso conseqüentemente leva a uma diminuição da suculência e maciez da carne, pois a maturação e o amaciamento dependem da hidrólise de proteínas por enzimas proteolíticas, isto é, catepsinas e calpaínas (Fernades; Trindade; Melo, 2018).

Para que as proteínas cumpram suas atividades necessárias no corpo humano, é importante que estejam em um estado químico e estrutural íntegro. Na indústria de alimentos,

as alterações conformacionais sofridas por proteínas oxidadas mostram-se mais influentes na modificação da cor e textura do alimento (Soladoye *et al.*, 2015).

A eficiência da digestibilidade proteica pode ser impactada pelas modificações oxidativas que ocorrem em sítios de reconhecimento enzimático nos aminoácidos, prejudicando a ação das enzimas digestivas. Essa alteração depende do tipo de ERO que inicia a oxidação, do aminoácido-alvo, das modificações resultantes e da especificidade das enzimas digestivas. A oxidação de aminoácidos também pode afetar sua biodisponibilidade, ao tornar certos aminoácidos inadequados para absorção e síntese de proteínas (Soladoye *et al.*, 2015).

A perda de grupos sulfidrilas é um tipo de modificação que pode ser utilizada como marcador de oxidação proteica em carnes, pois aminoácidos como cisteína e metionina são muito sensíveis a quase todas as EROs, e sua perda em sistemas de carne pode refletir um dano oxidativo específico às proteínas da carne. Como resultado da oxidação de proteínas, os grupos sulfidrilas formam ligações dissulfeto inter e intramoleculares e, então, a concentração de grupos sulfidrilas diminui com o progresso das reações oxidativas (Turgut; Soyer; Işikçi, 2016). Portanto, determinar a concentração de grupos sulfidrilas é um indicador apropriado para avaliar o nível de oxidação de proteínas.

O aumento do teor de grupos sulfidrilas pode estar associado à maior exposição desse composto devido à degradação das proteínas por ação enzimática ou microbiana. Normalmente, grupos sulfidrilas estão localizados no interior da proteína devido à relativa alta hidrofobicidade da superfície. Após exposição, esses grupamentos se tornam alvos da ação de radicais livres (Souza *et al.*, 2022), e, então, a redução pode ser atribuída ao ataque direto de radicais livres aos grupos tiol no resíduo de cisteína das proteínas da carne, convertendo-os em pontes dissulfeto e outros produtos da oxidação do tiol, como ácido sulfênico, sulfínico e sulfônico e tiosulfinato (Rysman *et al.*, 2016), bem como podem ocorrer interações com o MDA, produto da oxidação lipídica, diminuindo o teor de grupos tiol livres durante o armazenamento (Souza *et al.*, 2022).

Na determinação mencionada anteriormente, o reagente de Ellman, ou 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzólico) (DTNB) é usado como um agente de derivatização para formar uma ligação dissulfeto com grupos tiol livres e liberar um íon tiolato (ânion dianião TNB), assumindo-se que a estequiometria do tiol proteico e do TNB formado seja na proporção de 1:1. O ânion dianião TNB é colorido e possui absorbância máxima em 412 nm, sendo usado para avaliar a concentração de tióis (Hellwig, 2020; Soladoye *et al.*, 2015).

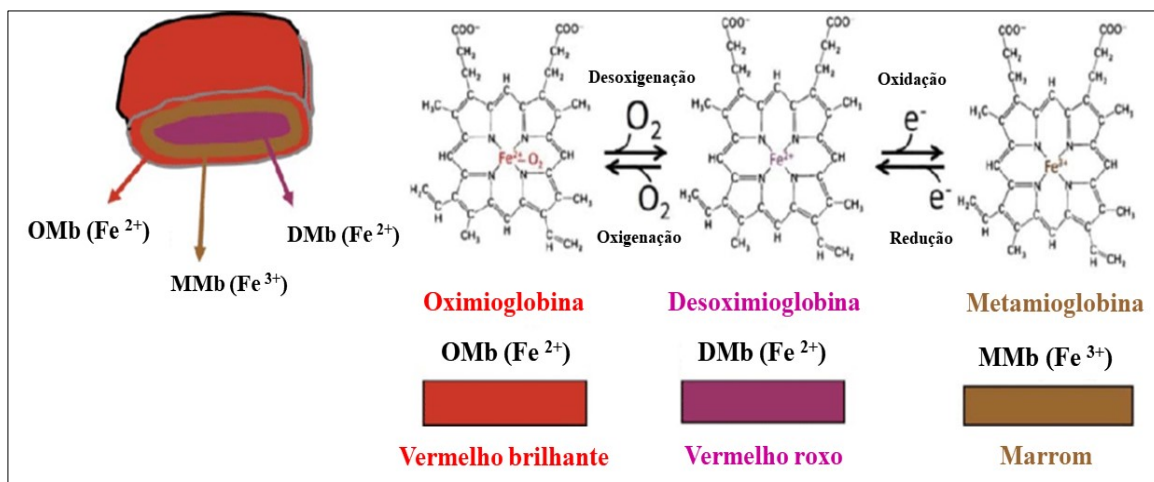
Além das oxidações lipídicas e proteicas, a cor da carne e a sua aparência são indicadores de frescura e salubridade que influenciam as decisões do cliente em selecionar ou

rejeitar produtos (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016). Muitos fatores determinam ou influenciam a cor da carne ou, mais adequadamente, todas as suas tonalidades, como por exemplo qualidade do abate, perfil metabólico do músculo, espécie animal, idade do animal, ambiente, tipo e quantidade de pigmentos presentes no músculo, tipos de fibras que compõem o músculo e com isso determinam o grau de dispersão da luz e profundidade de penetração, além das gorduras intramusculares e da desidratação da superfície, que conferem diferentes graus de brilho, afetando a dispersão e reflexão da luz (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; Hui *et al.*, 2012).

O pigmento mais influente na cor da carne é a mioglobina, que contribui com a cor a depender do seu estado redox e concentração (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017). A mioglobina é uma proteína globular cujo papel é armazenar oxigênio (O_2) no músculo. É composta por uma cadeia única polipeptídica conhecida como globina (apoproteína) e um grupo heme prostético de ligação ao O_2 , contendo um átomo de ferro em seu núcleo (Hui *et al.*, 2012). Esse grupo heme confere à mioglobina e seus derivados cores distintas baseadas nas alterações de estrutura química do átomo de ferro (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017).

Como observado na Figura 3, existem três formas principais de mioglobina nos músculos, a desoximioglobina (Mb^{2+}), oximioglobina (OMb^{2+}), e metamioglobina (MMb^{3+}), cada uma conferindo uma cor diferente à carne (Hui *et al.*, 2012).

Figura 3 – Cores da carne e formas principais da mioglobina nos músculos.



Fonte: Adaptado de Bak *et al.* (2019).

OMb (Fe^{2+}): Oximioglobina; DMb (Fe^{2+}): Desoximioglobina; Metamioglobina: MMb (Fe^{3+}); O_2 : oxigênio.

A desoximioglobina é uma mioglobina de ferro (II) de alto *spin* roxo, que possui o sexto local de coordenação do ferro heme vago, e a oximioglobina é uma mioglobina de ferro (II) oxigenado de baixo *spin* vermelho brilhante, que liga uma molécula de oxigênio no sexto local

de coordenação do ferro heme, devido à sua alta afinidade por oxigênio (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017).

Na presença de O_2 , o ferro da deoximioglobina se mantém na forma $2+$ (Fe^{2+}), que é o estado de oxidação mais baixo, conferindo uma cor vermelho-púrpura escura ao tecido (Hui *et al.*, 2012). A oxigenação de desoximioglobina à oximioglobina pode ser observada quando algumas partes da carne, aparecendo escuras, são expostas à atmosfera após remoção de filme de embalagem, que causa redução temporária na concentração local de O_2 , e passam a apresentar tonalidade de vermelho brilhante (Hui *et al.*, 2012).

Por sua vez, a oxidação da oximioglobina (Fe^{2+}) para metamioglobina (Fe^{3+}) é responsável pela descoloração da carne durante o armazenamento. Isso determina uma mudança na cor da carne para marrom e sua extensão está relacionada à proporção de metabioglobina formada. O escurecimento da carne produz uma reação de rejeição no consumidor. O principal mecanismo para a oxidação da mioglobina está associado à ocorrência da chamada reação de Fenton, em que o ferro ferroso (Fe^{2+}) pode reagir com o oxigênio molecular para produzir ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), com oxidação concomitante para ferro férrico (Fe^{3+}) (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; Hui *et al.*, 2012). A formação de metabioglobina é frequentemente caracterizada por um processo de auto-oxidação, que pode ser intensificado por pH ácido, temperatura, aumento de radicais livres no músculo *post mortem*, crescimento microbiano ou durante o processamento da carne (Hui *et al.*, 2012).

Como mencionado, o estado de oxidação do ferro e o tipo de molécula ligada confere à carne uma grande variedade de tonalidades possíveis, de marrom escuro a vermelho brilhante; no entanto, algumas cores menos comuns, como verde, também podem aparecer, como no caso da contaminação bacteriana (Hui *et al.*, 2012). Outros componentes da carne, incluindo sistemas redutores enzimáticos e não enzimáticos, podem acelerar a oxidação convertendo o ferro da forma férrica inativa para o estado ferroso ativo (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; Hui *et al.*, 2012).

Tem sido sugerido que a mioglobina tem uma relação próxima com a oxidação lipídica. Acredita-se que a formação de metamioglobina pela oxidação de mioglobina predominantemente em músculo escuro acelere a oxidação lipídica e leve à geração de maiores quantidades de hidroperóxido. A oxidação lipídica na carne fresca é influenciada pela oxidação da oximioglobina, já que a oxidação da oximioglobina resulta na produção de duas espécies conhecidas como pró-oxidantes, nomeadamente metamioglobina e H_2O_2 (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017).

O processo *post mortem*, especialmente devido à queda de pH, inativa os sistemas enzimáticos redutores e estimula a autooxidação catalisada por ácido dos estados de ferro (II) para o estado de ferro (III) da mioglobina, resultando no acúmulo de metamioglobina em carnes. Nesse sistema, a mioglobina se torna catalisadora da peroxidação lipídica por meio de mecanismos que envolvem processos de transferência de elétrons de um e dois elétrons. A concentração de ferro ferroso e sua capacidade de ser ativo na reação de oxidação lipídica são um fator chave causando diferenças na oxidação lipídica entre as espécies, de forma que em geral carnes escuras tendem a ter mais ferro reativo (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017).

A embalagem influencia a cor da carne, devido ao diferente grau de permeabilidade aos gases, à umidade no filme de embalagem e ao tipo de mistura de gases introduzida, nos casos de embalagem de atmosfera modificada. A função dos diversos tipos de embalagem não é apenas estender a vida útil dos produtos, mas também manter uma boa aparência, controlar a transpiração e preservar ou realçar as tonalidades mais desejáveis da cor da carne. Em embalagens à vácuo, a carne fresca adquire uma cor escura e arroxeada devido à privação de O₂. No entanto, uma vez que a carne é desembalada e exposta novamente à atmosfera, a cor se converte para vermelho em pouco tempo devido à rápida formação de oximioglobina (Hui *et al.*, 2012).

A escala colorimétrica mais comumente usada hoje em dia para avaliar as alterações de cor em produtos cárneos é a CIE L*, a*, b* (Comissão Internacional de Iluminação). A escala de cor CIELAB é organizada em forma de cubo, uma espécie de espaço tridimensional no qual a cor pode ser colocada e depende de três parâmetros de cor, expressos como L*, a* e b*. O valor de L* expressa a luminosidade, com 0 associado ao preto (absorção completa da luz) e 100 ao branco (reflexão completa). O a* indica o nível de tons de vermelho (ou tons de verde), uma vez que as duas cores são complementares, variando de -60 (verde puro) a 60 (vermelho puro). Por fim, o b* indica tons de amarelo (ou tons de azul), também variando de -60 (azul puro) a 60 (amarelo puro) (Hui *et al.*, 2012; Rosa; Matumoto-Pintro, 2015).

Quanto ao pH da carne e seus produtos, as alterações mais importantes têm início no processo de atividade residual *post mortem*, com formação de ácido láctico que se concentra na carne, devido à interrupção da circulação. Esse ácido contribui para o processo de diminuição do pH até que seu valor seja tão baixo quanto possa inibir as atividades enzimáticas ou o esgotamento do reservatório de glicogênio (Hui *et al.*, 2012).

Quando o reservatório de glicogênio é esgotado antes do abate, como acontece em animais muito ativos ou em animais estressados por longos períodos, o pH final da carne geralmente é mais alto. Um pH *post mortem* alto determina uma maior solubilidade das

proteínas, que ligam uma maior quantidade de água (Hui *et al.*, 2012). Em geral, uma aparência mais pálida do que o normal em carnes está associada a um pH mais baixo e uma aparência mais escura a um pH mais alto. A diminuição excessivamente rápida do pH, associada a temperaturas inadequadas, determina a precipitação prematura de proteínas musculares, que tendem a se agregar, causando perda de água e o desprendimento de miofibrilas das membranas celulares (Hui *et al.*, 2012).

Em geral, quanto menores os valores de pH, mais forte o efeito pró-oxidante lipídico em alimentos à base de músculos. A rápida formação das formas oxidadas de proteínas hêmicas (metamioglobina) também pode contribuir para a rápida oxidação do músculo em valores de pH ácidos. Um aumento na solubilidade do ferro com a diminuição do pH também pode aumentar as taxas de oxidação (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017). Assim, em um ambiente oxidante e ácido, carnes com alto teor de mioglobina e ferro e ricas em ácidos graxos insaturados podem apresentar uma tendência ao escurecimento (Hui *et al.*, 2012).

Além da capacidade das várias formas de mioglobina de catalisar a oxidação lipídica em um ambiente ácido, Hui *et al.* (2012) destacaram que elementos de transição, entre eles o ferro, podem catalisar a decomposição de peróxidos, gerando radicais livres, que por sua vez oxidam ácidos graxos insaturados.

Apesar da literatura (Pabast *et al.*, 2018; Sayadi; Mojaddar Langroodi; Jafarpour, 2021; Verma *et al.*, 2016) indicar que durante o armazenamento refrigerado de carne crua há uma tendência de aumento do pH devido à ação de enzimas endógenas ou microbianas, como protease e lipase, resultando em um aumento na concentração de bases voláteis ao longo de armazenamentos prolongados (HADIAN *et al.*, 2017), o baixo pH durante o armazenamento pode ser devido a uma acidificação do meio causada pelo crescimento de bactérias lácticas, que geralmente ocorre quando a carne é conservada em embalagem a vácuo (Al-Juhaimi *et al.*, 2018; Vergara; Cózar; Rubio, 2021).

Nos produtos cárneos, devido à maior fragmentação das carnes, com aumento da área de exposição e presença natural de microrganismos, a indústria de alimentos utiliza a refrigeração, congelamento, e atmosfera modificada, além da adição de conservantes/antioxidantes, geralmente sintéticos, para controle das oxidações e aumento da vida útil (Baldin, 2016; Pinelli, 2018).

A definição de antioxidante é utilizada para qualquer composto que seja capaz de retardar ou prevenir a oxidação do substrato. Os antioxidantes neutralizam o estresse oxidativo, protegendo as biomoléculas essenciais do dano oxidativo. Eles podem reagir esgotando o oxigênio molecular, removendo íons metálicos pró-oxidativos, extinguindo EROs dotadas de

alta reatividade, como o radical ânion superóxido ou peróxido de hidrogênio, eliminando radicais iniciadores de cadeia como hidroxila $\text{HO}\bullet$, alcóxila $\text{RO}\bullet$ ou peróxila $\text{ROO}\bullet$ (Pisoschi *et al.*, 2018).

3.3 Conservantes naturais e sintéticos em carnes e produtos cárneos

3.3.1 Espécies pró-oxidantes e propriedades de conservação de compostos bioativos

Radicais livres são átomos ou moléculas que possuem um número ímpar de elétrons, isto é, um ou mais elétrons desemparelhados, na camada mais externa, o que torna essas espécies instáveis e altamente reativas. Eles são formados ao doar um elétron desemparelhado (oxidação) ou ao receber um elétron de outra molécula (redução). Os próprios radicais atingem estabilidade após a reação, mas a molécula atacada se torna um radical livre, criando assim uma reação em cadeia (Fernades; Trindade; Melo, 2018).

Existem muitos tipos de radicais livres, sendo os mais relevantes em sistemas biológicos aqueles derivados do oxigênio (O_2) e do óxido nítrico ($\text{NO}\bullet$). As espécies reativas podem ter natureza não radicalar, por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio *singlet* ($^1\text{O}_2$) e o ânion peroxinitrito (ONOO^-), ou natureza radicalar, como o radical hidroxila ($\text{HO}\bullet$), o ânion radical superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) e o radical hidroperoxila ($\text{HOO}\bullet$). A formação dessas espécies reativas depende da presença de ácidos graxos insaturados, pigmentos heme, íons metálicos de transição e enzimas oxidativas e são formadas nos alimentos por irradiação e foto-oxidação (Fernades; Trindade; Melo, 2018; Hellwig, 2020; Soladoye *et al.*, 2015). As EROs são consideradas as mais relevantes porque podem mediar danos celulares em concentrações aumentadas. O ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroperoxila (HO_2), o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), que se origina do H_2O_2 , o oxigênio *singlet* ($^1\text{O}_2$) e o radical alcóxi ($\text{RO}\bullet$) são exemplos de espécies reativas derivadas do metabolismo do O_2 molecular (Fernades; Trindade; Melo, 2018).

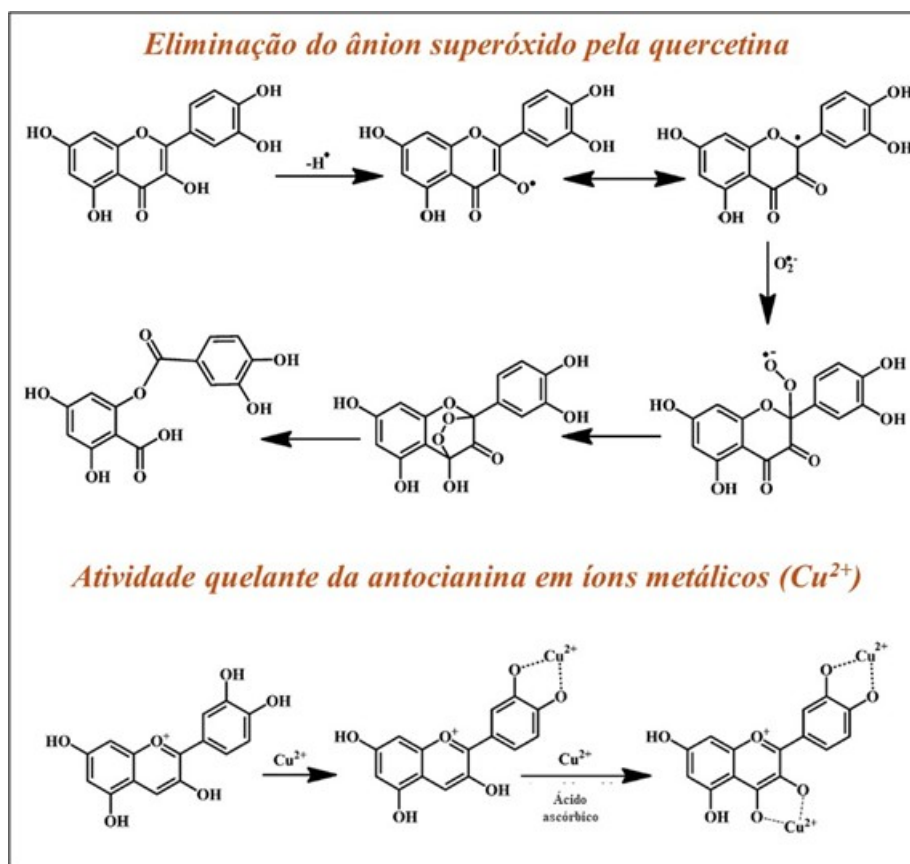
Quando espécies reativas são produzidas em uma concentração muito maior do que os sistemas antioxidantes conseguem eliminar adequadamente, ocorre estresse oxidativo devido ao desequilíbrio no sistema celular. Assim, macromoléculas biológicas como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, podem ser danificadas pela oxidação, causando inúmeras alterações orgânicas e comprometendo a viabilidade celular. Esse processo pode ocorrer em sistemas biológicos vivos ou em alimentos ricos em gorduras ou lipídios, isto é, produtos de origem animal (Fernades; Trindade; Melo, 2018).

Um antioxidante é uma molécula capaz de inibir a oxidação de outras moléculas. Em termos de alimentos, um antioxidante é qualquer substância natural ou sintética que, em baixas concentrações, pode prevenir, inibir ou retardar a deterioração de substratos oxidáveis, como lipídios e proteínas, causada pela ação do O₂ atmosférico, controlando assim o processo de oxidação (Fernades; Trindade; Melo, 2018; Gulcin, 2020).

Os antioxidantes podem ser classificados de acordo com o seu mecanismo de ação na reação em cadeia de oxidação ou de acordo com sua origem. Quanto ao seu papel na reação em cadeia de oxidação, eles podem ser classificados como primários, por serem inibidores da quebra da cadeia, ou secundários, por serem preventivos (Fernades; Trindade; Melo, 2018). Como compostos primários, os antioxidantes transferem átomos de hidrogênio ou doam elétrons para inibir ou eliminar os radicais livres que foram formados durante as etapas de iniciação ou propagação, inativando assim os radicais, uma vez que essa reação termina a cadeia de oxidação ao formar compostos estáveis (Fernades; Trindade; Melo, 2018). Como compostos secundários, os antioxidantes atuam através de ações que retardam a taxa de oxidação, como a complexação de íons metálicos como o ferro e cobre) que catalisam a oxidação, substituição de hidrogênio por antioxidantes primários, captura de oxigênio e desativação de ¹O₂ através de enzimas como glicose oxidase, superóxido dismutase e catalase, absorção de radiação ultravioleta, e decomposição de hidroperóxidos (Bayraktar *et al.*, 2017; Fernades; Trindade; Melo, 2018).

Dentre o grupo de antioxidantes naturais, os compostos fenólicos possuem uma representação importante. Esses metabólitos secundários de plantas possuem estrutura de ciclos benzênicos, sendo as principais classes os ácidos fenólicos e cumarinas (o que incluem ácidos hidroxil benzoicos, ácidos hidroxil cinâmicos, cumarinos, estilbenos), flavonoides (incluindo flavonóis, flavonas, isoflavonas, pro-antocianidinas, antocianinas) e ligninas. Tais compostos são instáveis na presença de calor e luz e, principalmente, têm baixa biodisponibilidade, em decorrência de sua baixa solubilidade (Rezaei; Fathi; Jafari, 2019). O mecanismo antioxidante exercido por esses compostos está exemplificado na Figura 4.

Figura 4 - Mecanismo de ação antioxidante dos flavonoides quercetina e antocianina.



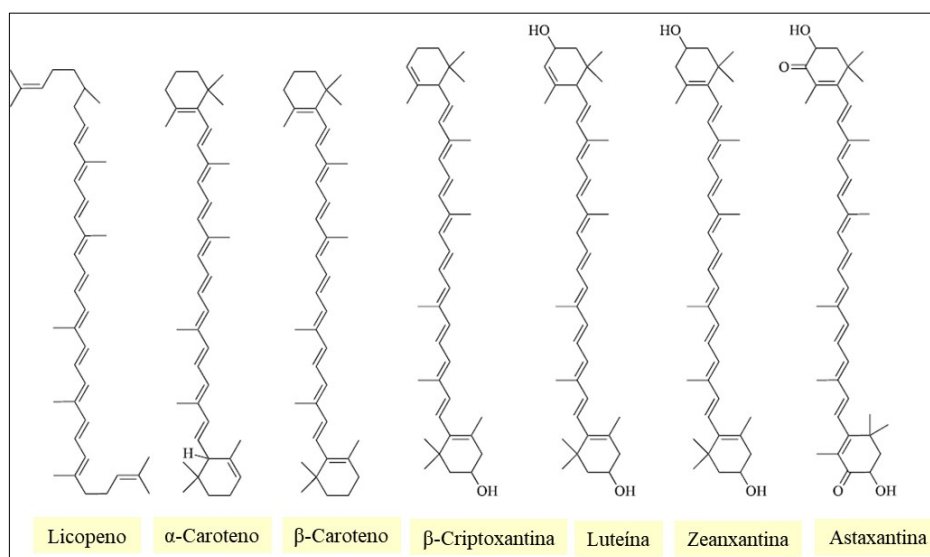
Fonte: Adaptado de Nimse e Pal (2015).

Por causa de seus grupos hidroxila fenólicos, esses compostos inibem ou atrasam a oxidação de lipídios e outras moléculas pela rápida doação de um átomo de hidrogênio ou um elétron para radicais livres em uma reação de terminação, e com isso, suprimem a formação de novos radicais livres, como as EROs superóxido e peróxil. Podem participar também da eliminação de carbonilas derivadas de lipídios, que são geradas quando os lipídios são oxidados na presença de outros componentes alimentares, por exemplo, proteínas, monossacarídeos (Bayraktar *et al.*, 2017; Olmedo; Grosso, 2019). Outra propriedade que contribui para a capacidade antioxidante de compostos fenólicos é a alta tendência para quelar íons metálicos pró-oxidantes de transição, que são responsáveis pelo início da degradação lipídica, além de prender espécies reativas de oxigênio (Bayraktar *et al.*, 2017).

Por sua vez os terpenos, principais compostos presentes em óleos essenciais, usam um mecanismo antioxidante que aumenta a reação de terminação. Na presença de um lipídio insaturado, tanto o lipídio quanto o terpeno são co-oxidados, e os dois radicais reagem, resultando na cessação das suas atividades auto-oxidativas e, assim, aumentam a taxa de terminação da cadeia oxidativa (Olmedo; Grosso, 2019).

Os carotenoides são destacados antioxidantes naturais, sendo reconhecidos como lipídios de uma classe de hidrocarbonetos tetraterpenoides que podem ser divididos em duas categorias principais, de acordo com sua estrutura química: os carotenos, que não são oxigenados, como o β -caroteno, α -caroteno e licopeno e as xantofilas, e os que são oxigenadas, como a luteína, zeaxantina, fucoxantina e β -criptoxantina (Figura 5).

Figura 5 – Estrutura química de compostos carotenoides mais comuns (licopeno, α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina e astaxantina).



Fonte: Adaptado de Gulcin (2020).

Os carotenoides mais importantes quantitativamente na dieta humana são o β -caroteno, licopeno, luteína, β -criptoxantina, zeaxantina e astaxantina (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; Gulcin, 2020; McClements; Öztürk, 2021). Esses compostos de origem vegetal são corantes naturais lipossolúveis amplamente distribuídos na natureza, com pronunciada atividade antioxidante. São abundantes em frutas e hortaliças amarelos/laranjas, folhosos verdes escuros e algas, sendo os principais pigmentos responsáveis pelas cores de hortaliças e frutas. Sua cor é devida às muitas duplas ligações carbono conjugadas. Cada dupla ligação reduz a energia necessária para que os elétrons façam a transição para estados de energia mais altos, permitindo que a molécula absorva comprimentos de onda visíveis progressivamente mais longos. Os carotenoides são amplamente empregados na indústria alimentícia por sua forte coloração e devido ao seu potencial antioxidante (Gulcin, 2020).

O padrão característico de ligações simples e duplas alternadas na espinha dorsal dos carotenoides permite que eles absorvam energia em excesso de outras moléculas, enquanto a natureza dos grupos terminais específicos nos carotenoides pode influenciar sua polaridade. O

primeiro pode explicar as propriedades antioxidantes dos carotenoides biológicos, enquanto o último pode explicar as diferenças nas maneiras como os carotenoides individuais interagem com as membranas biológicas (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; Gulcin, 2020).

Como mecanismo de ação antioxidante, são reconhecidos como neutralizadores de oxigênio *singlet* ($^1\text{O}_2$), protegendo ácidos graxos contra a foto-oxidação. Isso resulta em carotenoides excitados que dissipam a energia recém-adquirida por meio de uma série de interações rotacionais e vibracionais, retornando assim ao estado não excitado e permitindo que eles extingam mais espécies de radicais. Essa situação pode ocorrer enquanto os carotenoides tiverem duplas ligações conjugadas (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; Gulcin, 2020).

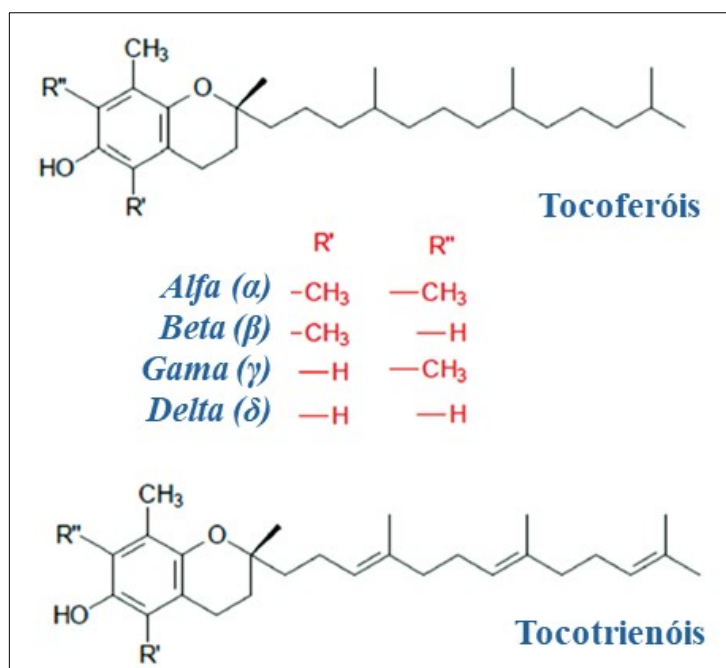
O β -caroteno tem função de provitamina A, uma vez que é convertido em vitamina A no corpo humano através de vias metabólicas. A luteína e a zeaxantina retardam a progressão de cataratas relacionadas à idade e ajudam a melhorar a função cognitiva e a saúde cardiovascular (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; McClements; Öztürk, 2021).

Entre os óleos vegetais, o óleo de palma bruto é a fonte mais rica de carotenoides, especialmente β - e α -carotenos. A cor vermelho-alaranjada escura do fruto do óleo de palma se deve à alta concentração de carotenoides e antocianinas (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017).

Outra categoria de reconhecidos antioxidantes naturais são os tocóis (tocoferóis e tocotrienóis). Esses compostos são definidos como monofenólicos que constituem uma série de benzopiranois (ou metiltocois). Ocorrem nos tecidos vegetais, como folhas verdes e alimentos gordurosos, a exemplo de óleos vegetais, sementes, nozes e gema de ovo, sendo antioxidantes lipossolúveis (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; Gulcin, 2020). São compostos por oito isoformas ou isômeros de cromanol, com quatro tocoferóis (α -, β -, γ - e δ -tocoferóis) e quatro tocotrienóis (α -, β -, γ - e δ -tocotrienóis), como apresentado na Figura 6.

Os tocoferóis incluem um grupo 6-cromanol e uma cadeia fital apolar, tendo o prefixo α -, β -, γ - ou δ -, dependendo do número e posição dos grupos metil ligados aos anéis croman. O grupo croman confere atividade antioxidante aos tocoferóis, mas a cauda fital não tem influência. Todos apresentam um anel cromanol, com um grupo -OH que pode doar um átomo de hidrogênio para reduzir radicais livres e uma cadeia lateral hidrofóbica que permite a penetração em membranas biológicas (Gulcin, 2020). Os tocotrienóis têm um sistema de ligação dupla de trieno conjugado na cadeia lateral de fitila, enquanto os tocoferóis não têm. A substituição metílica afeta a bioatividade da vitamina E, exercida pelos tocoferóis, bem como sua atividade antioxidante *in vitro* (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017; Gulcin, 2020).

Figura 6 - Classificação de tocoferóis e tocotrienóis.



Fonte: Adaptado de McClements e Öztürk (2021).

R': radical 1; R'': radical 2.

Geralmente se assume que o radical resultante do tocoferol reage com o ácido ascórbico (Vitamina C) na interface lipídica/água, regenerando a molécula de tocoferol. Alimentos à base de carne que contêm concentrações relativamente altas de α -tocoferol demonstram maior estabilidade lipídica e de oximioglobina (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017). O poder doador de hidrogênio dos tocoferóis em gorduras, óleos e lipoproteínas segue a ordem $\delta > \beta \approx \gamma > \alpha$ -tocoferol (Gulcin, 2020).

Devido ao seu caráter lipofílico, os tocoferóis estão localizados nas membranas ou com os lipídios de armazenamento, onde estão imediatamente disponíveis para interagir com os hidroperóxidos lipídicos. Eles reagem rapidamente de maneira não enzimática para eliminar os radicais peroxil lipídicos, ou seja, as espécies carregadoras de cadeia que propagam a peroxidação lipídica. Em sistemas modelo *in vitro*, todos os tocoferóis ($\alpha > \gamma > \beta > \delta$) e tocotrienóis são bons antioxidantes (Banerjee; Verma; Siddiqui, 2017).

O α -tocoferol é um antioxidante hidrofóbico e essa característica cria dificuldades para estudos experimentais. Isso revigora o uso de análogos de α -tocoferol que permitem a capacidade de trabalhar em soluções homogêneas e aquosas, além de ter uma atividade antioxidante significativa. Entre eles, o trolox, no qual a cauda poliisoprenóide do α -tocoferol foi substituída por um grupo carboxila, tem a precedência de ser moderadamente solúvel em

água. Nessa molécula, o grupo carboxila fornece a propriedade de solubilidade em água, enquanto o efeito antioxidante é fornecido pelo grupo cromanol (Gulcin, 2020).

Em termos de propriedades antimicrobianas, a presença de ácidos graxos de cadeia média (AGCM) em óleos vegetais se associa a inativação de microrganismos. Esses ácidos monocarboxílicos saturados e não ramificados estão presentes especialmente em óleos de coco e palma (Hovorková; Laloučková; Skřivanová, 2018). O grupo de AGCM é constituído pelo ácido capríco (C6:0, ácido hexanóico), ácido caprílico (C8:0, ácido octanóico), ácido cáprico (C10:0, ácido decanóico) e ácido láurico (C12:0, ácido dodecanóico). Dentre esse grupo, o OPBH possui até 0,6% de ácido láurico em sua composição (CODEX, 2023). Os AGCM são usados há muito tempo na preservação de rações, especialmente em silagem (Hovorková; Laloučková; Skřivanová, 2018).

Os ácidos graxos (AGs) podem atravessar a membrana celular bacteriana e, com isso, causar alterações conformacionais na estrutura da membrana plasmática, o que afeta a permeabilidade da membrana e interrompe o transporte de elétrons, importante para a sobrevivência da célula microbiana (Hovorková; Laloučková; Skřivanová, 2018).

Compostos jacalina e artocarpina, que são lectinas presentes na composição de farinha de semente de jaca, demonstraram ter atividade antimicrobiana (Hajj *et al.*, 2022). Ainda, atividade de inibição contra microrganismos patogênicos e deteriorantes, a exemplo de *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus*, já foi relatada para coprodutos de jaca (Barberis *et al.*, 2018).

3.3.2 Antioxidantes sintéticos em carnes e seus produtos e complicações associadas

Dados sobre a utilização de métodos ou aditivos alimentares para prolongar a vida útil de carnes e ampliar sabor possuem registros desde os homens pré-históricos, com o emprego de técnicas como defumação, submersão em água do mar, até séculos depois com o uso de especiarias e do açúcar na preservação de frutas (USDA, 2015).

Os aditivos alimentares são definidos pela *Food and Drug Administration* (FDA) como qualquer substância usada na produção, processamento, tratamento, embalagem, transporte ou armazenamento de alimentos, aplicados para melhorar a segurança, frescor, valor nutricional, sabor, textura e aparência (USDA, 2015). No Brasil, a Resolução de Diretoria colegiada nº 778, define aditivo alimentar como todo ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento (Brasil, 2023a).

No entanto, apesar do uso de aditivos alimentares ter se tornado bem proeminente nos últimos anos, devido ao aumento da produção de alimentos processados, o mercado consumidor tem sido mais exigente quanto ao uso de aditivos alimentares seguros, buscando alternativas livres de compostos químicos artificiais e com perfil biodegradável (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016; Granata *et al.*, 2018). Isso pressiona os sistemas alimentares a se tornarem mais inovadores e sustentáveis na produção e processamento de alimentos nutritivos e seguros, uma vez que essas características são percebidas pelos consumidores como sinônimos de saúde e são fatores determinantes para a aceitação dos alimentos (Granata *et al.*, 2018).

Os antioxidantes sintéticos atuam na redução ou inibição de reações oxidativas e os mais utilizados em alimentos são eritorbato de sódio, BHT (butil hidroxitolueno), BHA (butil hidroxianisol), PG (propil galato), TBHQ (terc-butil hidroquinona) e EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). Este último atua como um agente quelante, podendo se ligar a metais redutores contribuindo para o processo (Pinelli, 2018; Valderrama, 2018).

BHT e BHA são antioxidantes que retardam a rancidez em gorduras, salsichas e carnes secas, enquanto o PG é comumente aplicado para prevenir a rancidez em produtos com gorduras processadas ou salsichas de porco, podendo ser utilizado em combinação com antioxidantes como BHA e BHT (USDA, 2015).

Diferentes países têm seus próprios sistemas regulatórios de alimentos e legislação, que incluem os aditivos alimentares permitidos e seus limites máximos (Fernades; Trindade; Melo, 2018). O Quadro 1 apresenta os limites máximos dos principais antioxidantes sintéticos permitidos para uso em carne e produtos cárneos no Brasil, segundo a Instrução Normativa N^o 211, que estabelece as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso para os aditivos alimentares e os coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos (Brasil, 2023b).

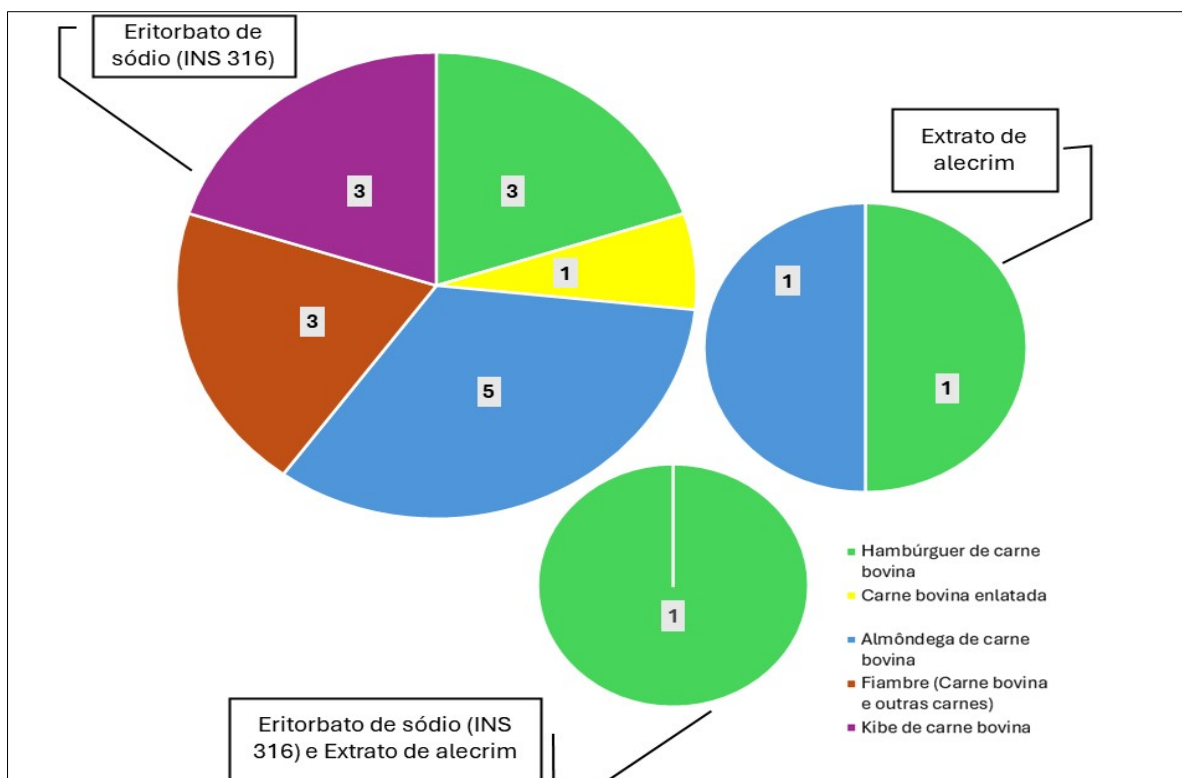
Quadro 1 - Níveis máximos dos principais antioxidantes sintéticos permitidos em carnes e seus produtos processados frescos pela legislação brasileira.

Antioxidante sintético (Níveis máximos - mg/Kg)					Referência
Eritorbato de sódio (316)	BHA (320)	PG (310)	BHT (321)	TBQH (319)	
<i>Quantum satis</i>	1000	1000	Não mencionado	Não mencionado	(Brasil, 2023b).

BHT: butil hidroxitolueno, BHA: butil hidroxianisol, PG: propil galato, TBHQ: terc-butil hidroquinona; *Quantum satis*: concentração mínima do aditivo alimentar ou do coadjuvante de tecnologia suficiente para obtenção do efeito desejado.

Em um levantamento realizado em junho de 2024 (Figura 7), foram identificados os tipos de conservantes empregados nos produtos cárneos bovinos das principais marcas comercializadas no Brasil. Esses dados foram coletados em sites eletrônicos de vendas de produtos alimentícios das redes *Pão de açúcar*, *Carrefour*, *Atacadão*, *RedeMix*, *Mercantil Rodriguez*, *Gbarbosa* e nas unidades físicas das redes *Assaí Atacadista* e *Atacarejo*, além dos *websites* das principais marcas, *Seara*, *Sadia*, *Perdigão*, *Aurora*.

Figura 7- Conservantes utilizados em produtos cárneos bovinos comercializados no Brasil.



Fonte: autoria própria (2024).

Conforme apresentado na Figura 7, o eritobato de sódio (INS 316) é o aditivo alimentar com função conservante/antioxidante preferível ao uso em carnes e seus produtos nas marcas comercializadas no Brasil. Os 15 produtos encontrados com esse aditivo em sua formulação estão distribuídos em almôndega de carne bovina (5), hambúrguer de carne bovina (3), kibe de carne bovina (3), Fiambre (3), carne bovina entalada (1). Em apenas 01 hambúrguer de carne bovina houve a combinação de INS 316 com extrato de alecrim e em outros dois produtos, 01 hamburger de carne bovina e 01 almôndega de carne bovina, observou-se a utilização exclusiva de conservante natural (extrato de alecrim). Esses dados apoiam a discussão quanto à supremacia do uso de aditivos sintéticos em carnes e seus produtos e ao mesmo tempo o surgimento de opções alternativas a esse cenário, em menor quantidade, porém com possibilidade de expansão.

O eritorbato de sódio é o sal de sódio do ácido eritórbito, um produto químico de grau alimentício altamente refinado, intimamente relacionado com a vitamina C, sintetizado a partir do açúcar e utilizado como fixador de cor na preparação de carnes curadas (USDA, 2015). É um estereoisômero do ascorbato de sódio e exibe atividade antioxidante através da captura de oxigênio *singlet*, doação de hidrogênio e como agente redutor (Carocho; Morales; Ferreira, 2018).

Quanto à segurança de uso, há evidências sugerindo que níveis muito altos de antioxidantes, incluindo o Eritobato de sódio, poderiam potencialmente contribuir para o desenvolvimento de certos cânceres, embora esse risco seja considerado mínimo em condições dietéticas típicas. É importante notar que as agências reguladoras estabeleceram níveis de ingestão diária aceitáveis para garantir a segurança do consumidor (Carocho; Morales; Ferreira, 2018).

No entanto, apesar dos antioxidantes sintéticos terem sido introduzidos na indústria de alimentos desde 1940, com ampla aplicação, seu uso pode estar relacionado a efeitos toxicológicos (Moraes-Lovison, 2017). O surgimento de relatórios de adversidades toxicológicas associadas a muitos desses antioxidantes tem aumentado a demanda por novas fontes de antioxidantes naturais, como flavonóis, catequinas, antioxidantes do alecrim e extratos de ervas (Pinelli, 2018).

Um outro ponto é quanto a utilização de compostos naturais extraídos de plantas como alternativa contra bactérias multirresistentes. A sanitização de alimentos por produtos químicos, como derivados de cloro, iodóforos, ácido peracético e compostos de amônio quaternário, por nem sempre serem suficientes potencializam a promoção de resistência bacteriana, o que

impulsiona a descoberta de potenciais fontes de antimicrobianos naturais, sobretudo no campo da ciência de alimentos (Frasão, 2017; Granata *et al.*, 2018; Jemaa *et al.*, 2018).

Diante da atual tendência do mercado em utilizar conservantes seguros como forma de controle de microrganismos, tem-se intensificado o emprego de óleos essenciais para a conservação de alimentos e controle fitossanitário em substituição aos conservantes químicos clássicos utilizados, uma vez que o uso destes conservantes de forma indiscriminada surge como fator de indução para o aparecimento de cepas microbianas cada vez mais resistentes (Granata *et al.*, 2018; Jemaa *et al.*, 2018; Pinelli, 2018).

O extrato de alecrim possui muitos polifenóis em sua composição, com grande poder antioxidante. Devido à sua segurança, é considerado um aditivo *Quantum Satis*, o que significa que pode ser adicionado aos alimentos na quantidade necessária para realizar a tarefa tecnológica pretendida. O extrato de alecrim é um exemplo de como compostos de fontes naturais podem ser usados com segurança para conservar alimentos, mesmo em sinergia com outros antioxidantes sintéticos, abrindo caminho para a busca de outras fontes naturais de antioxidantes alimentares (Carocho; Morales; Ferreira, 2018).

A identificação e utilização de antimicrobianos e antioxidantes naturais, como os presentes em óleos essenciais ou outros extratos de plantas, sua caracterização quanto à segurança, especificidade e eficácia, mas também a aplicação de sistemas de entrega eficazes, representam objetivos fundamentais para a indústria de alimentos (Pisoschi *et al.*, 2018). Em paralelo, tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos de plantas, como alecrim e sálvia, estão entre os antioxidantes naturais mais usados (Baldin, 2016).

3.3.3 Óleos essenciais e óleos comestíveis aplicados à indústria de carnes e seus produtos

Os óleos essenciais (OEs) são metabólitos secundários de diferentes plantas aromáticas biossintetizadas em diferentes partes da planta como células epidérmicas e tricomas glandulares e, devido aos seus altos limites de toxicidade, são reconhecidos como substâncias seguras (*Generally Recognized as Safe* - GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA) (Tiwari; Singh; Dubey, 2020), as quais são consideradas inofensivas sob condições prescritas de uso e estão isentas do processo de teste e aprovação da FDA (USDA, 2015).

O mercado global de óleos essenciais foi avaliado em US\$ 8,8 bilhões em 2022 e deverá crescer em 11,8%, atingindo um valor de US\$ 15,3 bilhões até 2027 (Markets and Markets, 2022). Além disso, seus compostos, como os fenólicos e terpenos estão associados a efeitos antioxidantes e antimicrobianos (Olmedo; Grosso, 2019).

Os hidrocarbonetos são os principais constituintes dos óleos essenciais e consistem em sesqui-terpenos, terpenos e diferentes compostos oxigenados, como fenóis, aldeídos, lactonas, ésteres, cetonas, éteres fenólicos e álcoois. Esses compostos são geralmente classificados quimicamente em dois grupos, (a) o grupo principal contendo terpenos e terpenóides e (b) o segundo grupo contendo compostos aromáticos e alifáticos (Rezaei; Fathi; Jafari, 2019). Alguns desses constituintes são amplamente conhecidos, a exemplo do cimenol, geraniol, carvacrol, timol, vanilina, gingerol, ar-turmerona, mentol, α -pineno, 1,8-cineol, eugenol, linalol, trans-anetol, lomoneno (Rezaei; Fathi; Jafari, 2019).

As propriedades antimicrobianas desses óleos também têm sido relatadas contra uma ampla gama de microrganismos. Em sua maioria, exibem maiores propriedades inibitórias contra bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas, devido à barreira de lipopolissacarídeo presente na membrana externa de bactérias Gram-negativas (Khorshidian *et al.*, 2018).

Devido à hidrofobicidade dos seus componentes, estudos sugerem que os OEs exercem ação antimicrobiana ao penetrar nas membranas microbianas, causando vazamento de íons e conteúdos citoplasmáticos e, com isso, acabam por inibir as propriedades funcionais da célula, além de promover a interrupção de mecanismos de transporte molecular, levando à inativação, especialmente causada por terpenos (Yang *et al.*, 2021). Já compostos como cumarinas podem reduzir a respiração de microrganismos. Isso demonstra que não apenas um único composto seria responsável por atividade antimicrobiana, mas também a combinação de compostos pode aumentar a bioatividade em ação sinérgica (Pinelli, 2018).

Já estão disponíveis no mercado alguns conservantes alimentares contendo óleos essenciais com funções antimicrobianas e antioxidantes. O “DMC base natural” é um conservante de produtos alimentares constituído por mistura de 50% de óleos essenciais extraídos do alecrim, sálvia e citrinos e 50% de glicerol. É produzido pela DOMCA S.A, na Espanha (Pinelli, 2018). GuardianTM Rosemary Extract 201 e GuardianTM Green Tea Extract 20S são conservantes naturais com propriedades antioxidantes extraídos a partir das folhas, respectivamente, de *Rosmarinus officinalis* e *Camellia sinensis*. Estes fazem parte da linha de extratos naturais da Danisco S/A, uma empresa europeia. Entre as produtoras de óleos essenciais no Brasil, pode-se destacar a Ferquima, Raros e Dierberger, que produzem óleos essenciais com fins alimentícios, farmacêuticos, cosméticos e perfumaria (Pinelli, 2018).

Os componentes bioativos antioxidantes encontrados nos OEs participam da composição de formulações mais seguras e inovadoras usadas como conservante verde ou *clean label* em indústrias de alimentos. Aproximadamente 300 tipos diferentes OEs pertencentes a famílias *Zingiberaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Piperaceae*

e *Cyperaceae* estão sendo comercialmente usados nas indústrias (Tiwari; Singh; Dubey, 2020). Já foi relatado que o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* tem propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias, principalmente devido à presença de monoterpenos como 1,8-cineol, cânfora e α -pineno (Silva-Flores *et al.*, 2019). Outros estudos envolvendo a aplicação de óleos essenciais em carnes e seus produtos com efeito conservante estão apresentados no Quadro 2, evidenciando o potencial antioxidante e antimicrobiano desses compostos.

Quadro 2 - Efeitos da aplicação de óleos essenciais em carnes e seus produtos.

Carne ou produto cárneo	Óleo essencial (OE) e propriedades avaliadas	Forma de aplicação e concentração do OE	Highlights	Referência
Hambúrguer de carne bovina crua	Óleo essencial de canela (<i>Cinnamomum verum</i>) Atividade antimicrobiana	OE livre 0,31 µL/g	• Redução das contagens de <i>Aspergillus flavus</i> inoculado na carne em 9 dias de armazenamento refrigerado e redução dos níveis de aflatoxinas em 8 dias de armazenamento.	(Bakr <i>et al.</i> , 2024)
Hambúrguer de carne bovina crua	Óleo essencial de endro/dill (<i>Anethum graveolens</i>) Atividades antioxidante e antimicrobiana	OE livre 0,15 µL/g	• Inibição da oxidação lipídica e proteica e potencial antimicrobiano contra <i>Enterobacteriaceae</i>, bactérias aeróbias mesófilas, e mais fortemente contra bactérias do ácido lático, em 3 dias de armazenamento refrigerado.	(MUJOVIĆ <i>et al.</i> , 2024)
Carne de cordeiro crua	Óleo essencial de segurelha (<i>Satureja hortensis</i> L.) (OES) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Revestimento comestível Solução de 1,5% de OES com mucilagem de semente de <i>Lepidium sativum</i>	• Inibição do crescimento de células totais, de bactérias psicrófilas, <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, fungos e leveduras para 12 dias de armazenamento refrigerado. • Inibição da oxidação lipídica e extensão da vida de prateleira da carne para 12 dias de armazenamento refrigerado.	(FARAHANI <i>et al.</i> , 2024)
Carne de coelho cozida em <i>Sous Vide</i>	Óleo essencial de tomilho selvagem (<i>Thymus serpyllum</i>) Atividade antimicrobiana	OE Livre 50 µL/g	• Inibição de <i>Salmonella enterica</i> inoculada durante 7 dias de armazenamento refrigerado e aumento das contagens de bactérias totais e coliformes.	(KAČÁNIOVÁ <i>et al.</i> , 2024)
Hambúrguer de carne bovina crua	Óleo essencial de funcho/erva-doce (<i>Foeniculum vulgare</i>) Atividades antioxidante e antimicrobiana	OE livre 0,150 µL/g	• Redução da oxidação lipídica e proteica, do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, bactérias do ácido lático e <i>Enterobacteriaceae</i> em 3 dias de armazenamento refrigerado. • Inibição eficiente no crescimento de <i>Escherichia coli</i> e discreta para <i>Listeria monocytogenes</i>, ambas inoculadas em 3 dias de armazenamento refrigerado.	(MUJOVIĆ <i>et al.</i> , 2023)
Carne de peito de frango cru	Óleo essencial de alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) Atividade antimicrobiana	OE livre, OE com dióxido de carbono supercrítico (CO ₂ -DC) e OE com embalagem em atmosfera modificada contendo dióxido de carbono supercrítico (CO ₂ -EAM)	• Inibição no crescimento de <i>E. coli</i> em CO₂-DC ou CO₂-EAM, em relação ao OE ou tratamentos aplicados individualmente. • Inibição no crescimento de bactérias psicrófilas em CO₂-EAM, em relação ao OE ou tratamento aplicados individualmente. • Ausência de inibição no crescimento de <i>Listeria innocua</i> e de bactérias mesófilas.	(SANTI <i>et al.</i> , 2023)

		50 µL/g		
Salsicha de carne bovina crua	Óleo essencial de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i> , L.) Atividade antimicrobiana	OE livre 950mg/g	• Inibição contra <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva e bactérias aeróbias mórfilas em 15 dias de armazenamento refrigerado. • Ausência de inibição contra coliformes termotolerantes em 15 dias de armazenamento refrigerado.	(LAGES <i>et al.</i> , 2021)
Lombo de porco marinado cru	Blend de óleo essencial de orégano, alecrim e zimbro (<i>Origanum vulgare</i> L.; <i>Rosmarinus officinalis</i> ; <i>Juniperus communis</i> L.) Atividades antioxidante e antimicrobiana	OE livre 48mg/g (Orégano 12mg/g; alecrim 18mg/g e zimbro 18mg/g)	• Aumento dos valores de amarelamento (a*) e ausência de variação para luminosidade (L*) e vermelhidão (a*) em 15 dias de armazenamento refrigerado. • Menores taxas para força de cisalhamento em 3 dias de armazenamento refrigerado. • Maior nível de aceitação geral ao final dos 15 dias (>60%). • Ausência de inibição contra bactérias aeróbias mesófilas, do ácido láctico, leveduras, <i>Pseudomonas</i> spp., coliformes totais e <i>Brochothrix thermosphacta</i> ao final do armazenamento. • Inibição contra <i>Listeria monocytogenes</i> e ausência de inibição contra <i>Salmonella enteritidis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> (cepas inoculadas) ao final do armazenamento.	(SIROLI <i>et al.</i> , 2020)
Salsicha fermentada de carne bovina (Salsicha turca ou “sucuk”)	Óleos essenciais de tomilho (<i>Thymus zygis</i>) e alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Revestimento comestível Solução de 1% de OE de tomilho (TC) ou OE de alecrim (CA) com quitosana	• Ausência de inibição no crescimento fúngico e de bactérias aeróbias, ácido láctico, cocos Gram⁺ Catalase⁺ e <i>Enterobacteriaceae</i> durante 3 meses de armazenamento refrigerado. • Inibição da oxidação lipídica ao final do armazenamento, sem diferença estatística entre TC e CA. • TC e CA apresentaram atributos sensoriais aceitáveis ao final do armazenamento, com destaque para maior score de odor nas salsichas com CA.	(SONCU <i>et al.</i> , 2020)
Salsicha fermentada de carne suína	Óleo essencial de zimbro (<i>Juniperus communis</i> L.) Atividades antioxidante e antimicrobiana	OE livre combinado com nitrito de sódio (75 mg/kg) 0,10 µL/g	• Inibição da oxidação lipídica ao final do armazenamento a 15°C por 225 dias. • Ausência de inibição no crescimento de aeróbias mesófilas e bactérias ácido lácticas. • A adição de OE impactou negativamente no sabor.	(TOMOVIĆ <i>et al.</i> , 2020)

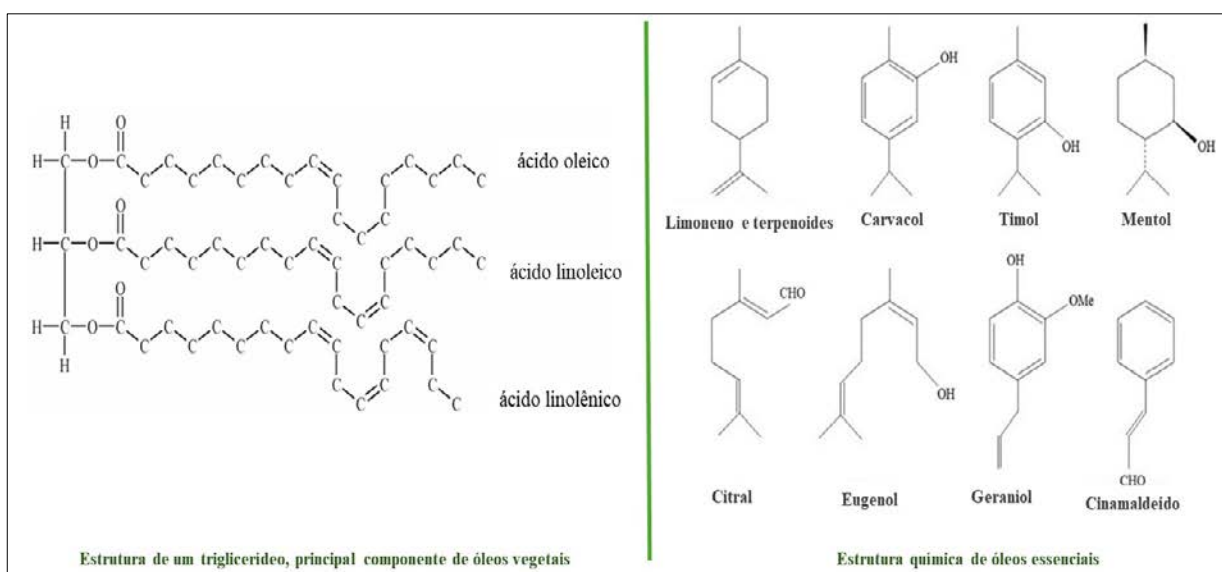
Fonte: autoria própria (2024).

OE: Óleo essencial; OES: Óleo essencial de segurelha (*Satureja hortensis* L.); CO₂-DC: OE com dióxido de carbono supercrítico; CO₂-EAM: OE com embalagem em atmosfera modificada contendo dióxido de carbono supercrítico; TC: Solução de 1% de OE de tomilho com quitosana; CA: Solução de 1% de OE de alecrim com quitosana.

Diante dos dados apresentados no Quadro 2, observa-se que a indústria de alimentos tem buscado explorar as propriedades conservantes (antioxidante e antimicrobiana) de óleos essenciais aplicados em carnes e seus produtos, podendo ser utilizados diretamente nas formulações ou como revestimento comestível, em diferentes concentrações. O desfecho antimicrobiano é bem explorado, assim como a propriedade antioxidante lipídica e de proteção aos pigmentos (cor).

Os óleos comestíveis, diferentemente dos óleos essenciais, são compostos principalmente por glicerídeos de ácidos graxos (Figura 8), podendo conter pequenas quantidades de outros lipídios, como fosfolipídios, matéria insaponificável ou ácidos graxos livres (CODEX, 2023; FERREIRA; NUNES, 2019; SALES *et al.*, 2023). Quanto à origem, são classificados como de origem animal, comumente extraídos de peixes, e produzidos em países como Peru, Vietnã, Chile e Estados Unidos, ou de origem vegetal, apenas extraídos de fontes vegetais, normalmente sementes e frutas, amplamente produzidos em países como Indonésia, China, Malásia e Brasil (Bakry *et al.*, 2016; CODEX, 2023; EUMOFA, 2021).

Figura 8 – Diferenças entre as estruturas químicas de óleos vegetais e óleos essenciais.



Fonte: Adaptado de Dupain *et al.* (2007) e Kashyap *et al.* (2022).

Os óleos comestíveis desempenham um papel crucial na dieta humana, pois além de fornecer calorias, são fontes de ácidos graxos insaturados, incluindo os essenciais, tais como como ácidos linoleico, linolênico e araquidônico e ainda são veículos para vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), oferecendo diversos benefícios à saúde (FERREIRA; NUNES, 2019). Os ácidos graxos insaturados presentes nesses óleos possuem propriedades anti-inflamatórias e ajudam a manter a integridade das membranas celulares. As vitaminas

lipossolúveis, por sua vez, desempenham um papel vital em uma série de processos biológicos, como a regulação do crescimento celular, a saúde óssea, a visão e a coagulação sanguínea. A vitamina E, por exemplo, exerce um efeito antioxidante, ajudando a proteger as células do estresse oxidativo, enquanto a vitamina K é essencial para a coagulação sanguínea adequada (HU *et al.*, 2019).

Enquanto os óleos animais são geralmente usados na aquicultura e em nutracêuticos, os óleos vegetais são usados para a cocção de alimentos e representam em torno de 90% da produção de óleo do mundo destinado ao consumo humano. Na indústria, tem aplicações desde a formulação de produtos como bolos, biscoitos, pães, margarinas e laticínios, até o uso em frituras (BAKRY *et al.*, 2016; EUMOFA, 2021; FERREIRA; NUNES, 2019). Os óleos vegetais mais produzidos no mundo são o óleo de palma (80,3 milhões de toneladas), soja (65,39 milhões de toneladas), canola (34,02 milhões de toneladas) e óleo de girassol (21,74 milhões de toneladas) (USDA, 2024b). A produção total de óleos vegetais deve ultrapassar 228 milhões de toneladas em 2024/25, com destaque para o óleo de soja, palma e canola.

Como pode ser verificado no Quadro 3, os óleos comestíveis, especialmente os vegetais, têm sido usados na indústria como substitutos parciais de gordura animal em produtos à base de carne, ofertando produtos com perfis de ácidos graxos nutricionalmente equilibrados e teor reduzido de colesterol. Ao contrário da gordura animal, os óleos vegetais são fluidos, portanto, difíceis de imobilizar. Uma abordagem comum para produzir uma massa de carne estável é adicionar óleos pré-emulsionados, pois reologicamente esses óleos, quando estabilizados com uma membrana proteica, podem ser facilmente incorporados na matriz de carnes moídas, onde as gotículas de óleo são estabilizadas por interações proteína-proteína e funcionam como preenchedores para melhorar as propriedades viscoelásticas dos produtos (Hui *et al.*, 2012).

Quadro 3 - Efeitos da aplicação de óleos comestíveis em carnes e seus produtos.

Carne ou produto cárneo	Óleo comestível (OC) e propriedades avaliadas	Forma de aplicação e concentração do OC	Highlights	Referência
Hambúrguer de carne bovina crua	Óleo de semente de beldroega (OSB) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Revestimento comestível Filme à 3% de OSB com proteína de soja isolada	• Inibição do crescimento de <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Bacillus cereus</i> durante 15 dias de armazenamento refrigerado; • Inibição da oxidação lipídica ao final do armazenamento refrigerado.	(Hamed <i>et al.</i> , 2024)
Hambúrguer de carne bovina crua	Óleo de semente de pimentão doce (<i>Capsicum annuum</i> L.) Atividade antioxidante	OC livre 1,6g/g	• Inibição da oxidação lipídica em 10 dias de armazenamento refrigerado.	(Eskander <i>et al.</i> , 2023)
Hambúrguer de carne bovina cozida	Óleo de nozes (ON) Óleo de cártamo (OCT) Melhoria do valor nutricional	OCT livre e ON livre Substitutos de 50% da gordura adicionada aos hambúrgueres	• Redução do teor de ácidos graxos saturados e aumento do conteúdo de ácidos graxos insaturados para as amostras contendo ON ou OCT, com maior conteúdo de insaturados para OCT cozidas no forno ao final dos 60 dias de armazenamento congelado à -20°C; • Aumento dos níveis de vitamina E nas amostras contendo ON ao final do armazenamento congelado à -20°C; • Maior inibição da oxidação, menor dureza, maior rendimento de cocção e melhores escores de avaliação sensorial para amostras contendo OCT.	(Fadiloglu <i>et al.</i> , 2023)
Hambúrguer de carne de cabra	Azeite de oliva (AO) ou óleo de girassol (OG) Melhoria do valor nutricional	Emulsão de hidrogel à base de 37,3% de AO (EAO) ou de OG (EOG) Substitutos de 4% da gordura	• Redução do teor de gordura saturada e melhora do perfil lipídico para ambas as formulações, com destaque para as amostras contendo EAO. • Maior valor de b* para amostras contendo EAO. • Inibição da oxidação lipídica, durante 3 dias de armazenamento refrigerado, para hambúrgueres cozidos contendo emulsão de hidrogel, sem diferença estatística entre EAO e EOG.	(Ferreira <i>et al.</i> , 2022)
Carne bovina moída	Óleo de farelo de arroz preto Atividades antioxidante e antimicrobiana	OC livre 0,4mL/g	• Inibição da oxidação lipídica ao final de 6 dias de armazenamento refrigerado; • Inibição da contagem de bactérias mesófilas ao final do armazenamento.	(Panatuk; Uriyapongson; Uriyapongson, 2022)
Salsicha de carne de carneiro	Óleo de linhaça (OL)	Pré-emulsão de OL com proteína de soja isolada (1:2) (EOL)	• Maior valor de a* para amostras contendo EOL em relação ao controle em 60 dias de armazenamento à -18°C.	(Lima <i>et al.</i> , 2022)

	Melhoria do valor nutricional	Substituto de 40% da gordura	• Maior promoção da oxidação lipídica em comparação ao controle ao final do armazenamento.	
Carne de frango moída	Óleo de palma bruto (OPB) Atividade antimicrobiana	Matérias insaponificáveis do OPB 90mg/g	• Inibição da contagem de bactérias mesófilas e psicrófilas ao final de 45 dias de armazenamento à -18°C.	(Zangana; Jasim Al-Bahadly, 2021)
Hambúrguer de carne de veado	Óleo de noz de tigre (OT), óleo de chia (OH) e óleo de linhaça (OL) Melhoria do valor nutricional	OCs livres Substituto de 100% da gordura	• Redução no teor de ácidos graxos (AG) saturados em todos os tratamentos; • Aumento no teor de AG poli-insaturados, conteúdo de ômega-3 e redução da razão n-3/n-6 para as formulações contendo OL; • Aumento no teor de AG monoinsaturados para as formulações contendo OT; • Boa aceitação global para as amostras com adição de OT ou OL e reduzida para as amostras contendo OH; • Aumento da oxidação lipídica em todos os tratamentos, porém mais pronunciada nas amostras contendo OH ao final de 18 dias de armazenamento refrigerado; • Ausência de diferenças significativas em textura entre os tratamentos e a amostra controle.	(Vargas-Ramella <i>et al.</i> , 2020)
Hambúrguer de carne bovina	Blend de óleo de chia e óleo de linhaça Melhoria do valor nutricional	Emulsão de hidrogel à base de 25% do blend de óleos (12,5% de cada óleo) Substituto de 60% da gordura	• Redução em ~25% do conteúdo total de lipídio e >30% de AG saturados; • Aumento do teor de ômega-3; • Aumento da oxidação lipídica (amostras cruas e cozidas); • Ausência de alteração nos parâmetros L*, a*, b* nas amostras cruas e aumento de b* para amostras cozidas; • Manutenção de rendimento, umidade e diâmetro, e maior dureza, mastigabilidade e retenção lipídica; • Boa aceitação sensorial geral;	(Heck <i>et al.</i> , 2019)
Salsicha não fermentada de carne bovina (Salsicha Frankfurt)	Óleo de palmiste (semente de palma) Melhoria do valor nutricional	OC livre Substituto de 100% da gordura	• Aumento no teor de ácido caprílico, cáprico, láurico e mirístico e uma diminuição nos níveis de ácido palmítico, palmitoleico, esteárico e oleico; • Aumento da oxidação lipídica após fabricação e ao fim de 30 dias de armazenamento refrigerado; • Ausência de impacto nos conteúdos de umidade, gordura, proteína, cinzas e nas propriedades sensoriais; • Redução na qualidade da textura;	(Kiliç; Özer, 2019)

			•Boa aceitação sensorial geral.	
Salsicha fermentada de carne bovina (Salsicha turca ou “sucuk”)	Óleo de palmiste (semente de palma) Melhoria do valor nutricional	OC livre Substituto de 100% da gordura	•Redução do conteúdo total de lipídio e proteína; •Aumento no teor de ácido caprílico, cáprico, láurico e mirístico e diminuição de ácido palmitoleico, esteárico, oleico e linoleico; •Baixo impacto no aumento da oxidação lipídica após 30 dias de armazenamento refrigerado; •Aumento nos valores de a* e b* ao final da fermentação; •Redução na qualidade da textura.	(Kiliç; Özer, 2017)
Carne bovina e fígado moídos	Óleo de palma refinado Melhoria do valor nutricional	OC livre Substituto de 20% da gordura	•Manutenção de capacidade de retenção de água, rendimento e textura similares ao controle; •Boa aceitação sensorial geral, sem diferença com o controle.	(Mbougoueng; Chofo; Ndjouenkeu, 2017)

Fonte: autoria própria (2024).

OC: óleo comestível; OSB: óleo de semente de beldroega; ON: óleo de nozes; OCT: óleo de cártamo; AO: azeite de oliva; OG: óleo de girassol; EAO: emulsão de hidrogel à base de AO; EOG: emulsão de hidrogel à base de OG; OL: óleo de linhaça; EOL: pré-emulsão de OL com proteína de soja isolada; OPB: óleo de palma bruto; OT: óleo de noz de tigre, OH: óleo de chia; AG: ácidos graxos.

Como verificado no Quadro 3, o emprego de óleos comestíveis, especialmente vegetais, na indústria da carne e seus produtos se concentra no objetivo de melhoria do valor nutricional, com substituição parcial ou total da gordura animal, atingindo assim melhor perfil lipídico, ao aumentar o teor de ácidos graxos insaturados e reduzir o conteúdo de ácidos graxos saturados. No entanto, essas alterações encontram limites no comprometimento da textura do produto ou aumento do processo de oxidação lipídica, pois os ácidos graxos insaturados são mais suscetíveis à ação de agentes oxidantes. Diferentemente desse foco de interesse, alguns estudos também têm investigado as propriedades conservantes de óleos, a exemplo do óleo de semente de beldroega, óleo de semente de pimentão doce (*Capsicum annuum L.*) e óleo de farelo de arroz preto. No Brasil, a Portaria SDA Nº 724 (Brasil, 2022a) permite a adição de óleos vegetais como ingredientes opcionais à formulação de hambúrgueres.

Os óleos comestíveis e essenciais configuram entre o grupo de nutrientes, alimentos hidrofóbicos ou compostos que são pouco solúveis. Por isso, uma série de fatores limitam a aplicação desses ingredientes em alimentos, incluindo baixa estabilidade devido à sensibilidade ao oxigênio, luz e temperatura, baixa solubilidade, e baixa biodisponibilidade (Rezaei; Fathi; Jafari, 2019). Além disso, óleos essenciais, óleo de peixe, óleo de palma bruto, além de alguns outros óleos possuem propriedade de sabor marcante que limita sua adição direta em formulações de alimentos devido à sua influência sobre a qualidade sensorial dos alimentos (Rezaei; Fathi; Jafari, 2019).

Recentemente, diferentes tecnologias de encapsulamento têm sido recomendadas como impulsionadoras para a melhoria da bioeficácia desses óleos (Tiwari; Singh; Dubey, 2020). Por isso, a nanoencapsulação é uma alternativa para controlar essas limitações, aumentando a solubilidade e biodisponibilidade. Essa tecnologia atua também protegendo os componentes instáveis, como os compostos bioativos, contra condições desfavoráveis durante o processamento, armazenamento e transporte para aumentar sua qualidade e estabilidade, bem como melhorar sua bioatividade, além de permitir uma liberação controlada de compostos e ainda mascarar sabores indesejados em alimentos (Rezaei; Fathi; Jafari, 2019).

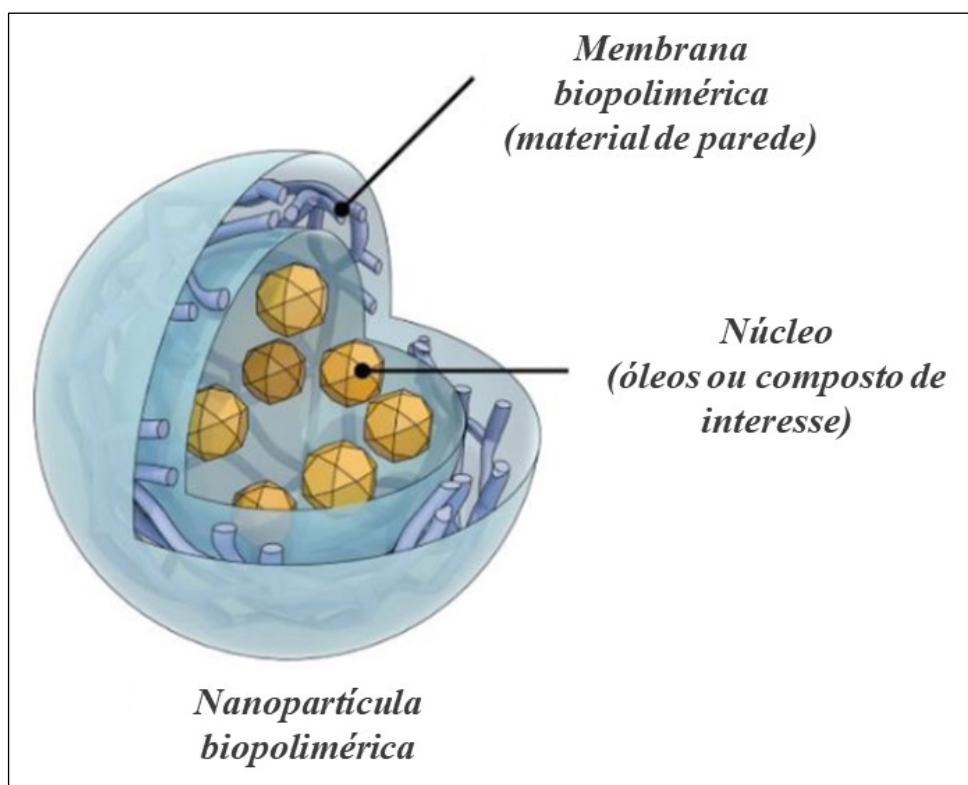
3.4 Nanoencapsulamento de óleos essenciais e comestíveis

O nanoencapsulamento é um método onde um ou mais ingredientes são imobilizados em alguma forma de matriz ou parede. Essa tecnologia permite o aprisionamento de material de interesse (por exemplo, óleos) no interior de uma cobertura protetora polimérica na faixa nano, ou seja, 10-1000 nm. O material encapsulado é denominado como núcleo, fase interna ou

agente ativo, enquanto as substâncias encapsulantes são conhecidas como material de parede, agente transportador, fase externa, cápsula, material carreador ou matrizes (Bayraktar *et al.*, 2017; Tiwari; Singh; Dubey, 2020). Nanopartículas deste tipo podem ser lipofílicas ou hidrofóbicas, dependendo dos materiais incorporados e do método utilizado para obtê-las (González-Reza *et al.*, 2020).

As nanopartículas com material de parede (Figura 9) são um sistema de entrega inteligente, que favorecem o aumento da estabilidade física e a biodisponibilidade de compostos bioativos (vitaminas, antioxidantes, proteínas e lipídios, bem como carboidratos) (Arabpoor *et al.*, 2021; Pisoschi *et al.*, 2018), por isso ganhou interesse nos domínios farmacêutico e alimentar (Arabpoor *et al.*, 2021; Pisoschi *et al.*, 2018). Nesse sistema, proteção a fatores ambientais agressivos e liberação controlada do composto do núcleo são alcançados (Pisoschi *et al.*, 2018). A redução do tamanho da partícula melhora as propriedades de entrega, solubilidade e a biodisponibilidade do nutraceutico, inclusive em comparação ao microencapsulamento, já que as propriedades de entrega podem ser aprimoradas em razão da maior área de superfície por unidade de volume alcançada em um nanossistema (Bayraktar *et al.*, 2017).

Figura 9 – Estrutura de uma nanopartícula biopolimérica.



Fonte: Adaptado de Bayraktar *et al.* (2017).

Essa tecnologia adicionou uma nova dimensão às indústrias de alimentos ao aumentar a bioeficácia de óleos, que quando na forma de nanoestruturas aumentam a solubilidade, a capacidade de entrega direcionada, a liberação de componentes ativos em longa ação e, com isso, aumentam as propriedades a longo prazo e diminuem o impacto negativo no sabor dos alimentos (González-Reza *et al.*, 2020; Tiwari; Singh; Dubey, 2020; Yang *et al.*, 2021).

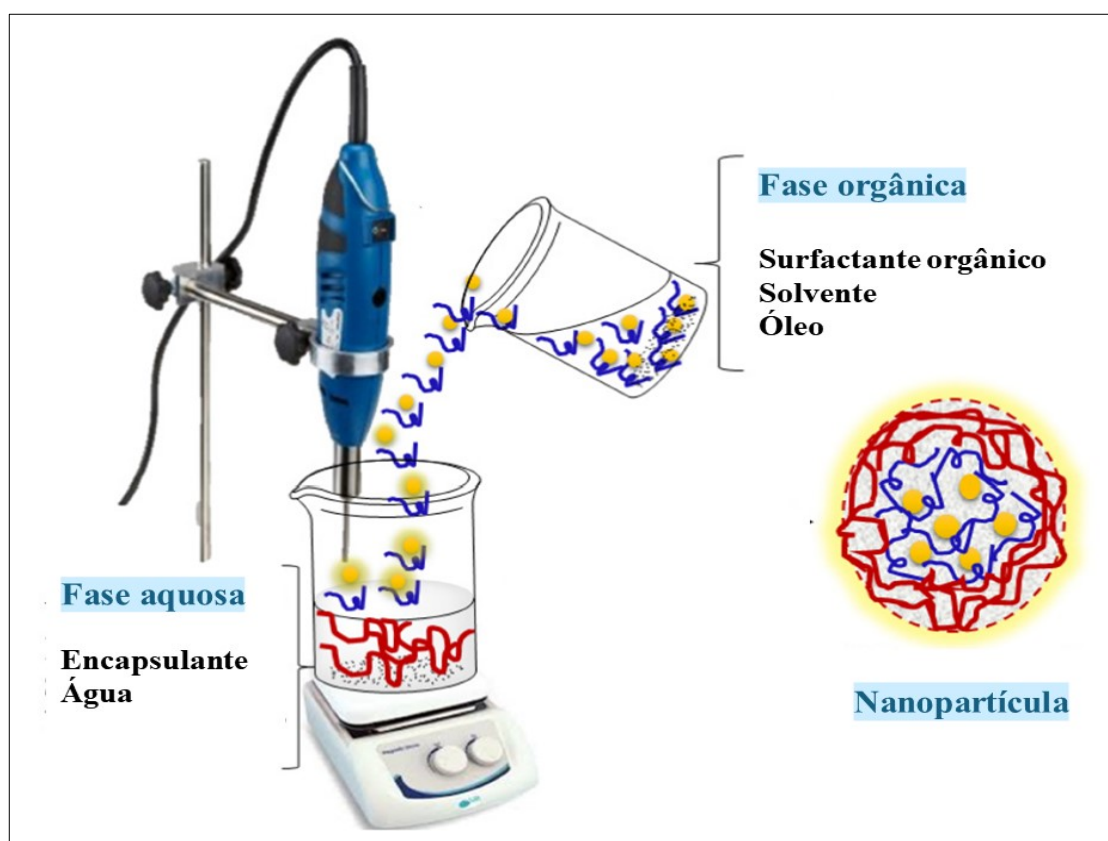
No que se refere a utilização da nanotecnologia e aos estudos com óleos comestíveis e óleos essenciais, nanopartículas foram desenvolvidas contendo óleo de peixe nanoencapsulado (Ghorbanzade *et al.*, 2017; Ilyasoglu; El, 2014), super oleína de palma (Ricaurte *et al.*, 2016), óleo de palma bruto (Donato *et al.*, 2020), óleo de palma bruto e suas frações de estearina e oleína (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022), óleo de semente de chia (Campo *et al.*, 2017) e OEs de diferentes plantas (Ghaderi-Ghahfarokhiet *et al.*, 2016; ILYASOGLU; EL, 2014) para diferentes fins.

O emprego da nanotecnologia em óleo de palma bruto híbrido tem sido relatado na literatura para a obtenção de nanopartículas com boas características. Ricaurte *et al.*, (2022) desenvolveram nanofibras à base de gelatina carregadas de OPBH para aplicação como revestimentos comestíveis; Beltrán *et al.*, (2020) otimizaram a obtenção de nanopartículas de OPBH encapsuladas em lipossomas, conferindo alta capacidade de atuar como transportadores de biocompostos hidrofóbicos e hidrofílicos na indústria alimentícia; Ricaurte *et al.*, (2018) desenvolveram nanopartículas de OPBH com *whey* e gelatina por microfluidização, que apresentaram boas propriedades físicas, permitindo seu uso e incorporação em diferentes matrizes alimentares.

Quanto à variedade Unaué HIE OxG do OPBH, Assunção *et al.*, (2024a) otimizaram o desenvolvimento de nanopartículas desse óleo, encapsuladas com diferentes coprodutos de jaca (farinha de sementes e farinha do eixo), as quais foram obtidas em escala nanométrica (<250 nm), distribuição monodispersa, boa uniformidade e estabilidade, além de alta eficiência de encapsulamento (> 86%) e de retenção de carotenoides totais (>85%). Essas nanopartículas demonstraram potencial para uso sustentável na indústria alimentícia, sendo veículos de compostos bioativos. Em outro estudo, Assunção *et al.*, (2024b) verificaram que essas mesmas nanopartículas possuem atividade antioxidante celular superior ao OPBH na forma livre, sem induzir efeitos citotóxicos em células diferenciadas de adenocarcinoma colorretal humano (Caco-2). Isso aponta a segurança biológica e benefícios potenciais para proteger as células epiteliais intestinais, sugerindo que nanopartículas de OPBH são sistemas de entrega promissores para futuras aplicações.

Diferentes são as tecnologias que podem ser empregadas para obtenção de nanopartículas encapsuladas por polímeros biodegradáveis e as interações derivadas são várias, como atração eletrostática, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, etc. (Pisoschi *et al.*, 2018). Dentre essa diversidade de métodos, técnicas como homogeneização, nanoprecipitação e gelificação iônica são amplamente utilizadas para encapsulamento de óleos (Tiwari; Singh; Dubey, 2020). Na homogeneização (Figura 10), a fase orgânica (composta usualmente por surfactante orgânico, solvente e óleo) é gotejada lentamente em fase aquosa, contendo solução do encapsulante em água, e em seguida o solvente sofre evaporação (Campo *et al.*, 2017; Sales *et al.*, 2023).

Figura 10 – Obtenção de nanopartícula polimérica por homogeneização.



Fonte: Adaptado de Kedia e Dubey (2018).

Em teoria, as características ideais associadas ao sucesso na obtenção de nanopartículas são o menor tamanho, a maior carga superficial e o menor índice de polidispersidade (PDI) (Ghaderi-Ghahfarokhiet *et al.*, 2016). Sendo que, o diâmetro médio geralmente é aumentado em razão do inchaço sofrido pelas nanopartículas poliméricas à medida que há incremento de óleo à formulação (Arabpoor *et al.*, 2021; Froiio *et al.*, 2019).

O PDI é um outro parâmetro muito importante que deve ser avaliado na obtenção de nanopartículas. Valores de PDI menores que 0,2 são considerados ideais, enquanto valores de PDI maiores que 0,5 são indicativos de uma distribuição de tamanho muito ampla (Granata *et al.*, 2018). Quanto à eficiência do encapsulamento, os principais fatores que afetam esse parâmetro em óleo encapsulado são o tipo de material da parede, as propriedades do material do núcleo (concentração e volatilidade), características do encapsulado (sólido total, viscosidade e tamanho da gota) (Hussein *et al.*, 2017).

Por sua vez, a avaliação do potencial zeta (PZ) fornece informações úteis sobre a estabilidade de nanosuspensões aquosas contra fenômenos desagradáveis como precipitação ou floculação (Granata *et al.*, 2018). Um dos usos mais populares do potencial zeta é relacioná-lo com a estabilidade de sistemas dispersos, em que os parâmetros adotados para considerar um sistema estável ou instável têm sido de $\pm 0-10$ (muito instável), $\pm 10-20$ (relativamente estável), $\pm 20-30$ (moderadamente estável) e ± 30 mV (altamente estável) (Cano-Sarmiento *et al.*, 2018).

Isso porque, de acordo à Teoria eletrostática Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeek (DLVO), existe um balanço de equilíbrio entre as forças atrativas de Van Der Waals e a repulsão elétrica por causa da carga superficial líquida. Uma carga elétrica mais alta na superfície das nanopartículas impedirá a agregação devido às fortes forças repelentes entre as partículas. Foi relatado que valores absolutos de PZ acima de 30 mV forneceriam boa estabilidade, enquanto PZ de ~ 20 mV forneceria apenas estabilidade de curto prazo, enquanto os valores de ~ 5 mV indicam agregação rápida (Shetta; Kegere; Mamdouh, 2019).

No entanto, apesar desses parâmetros ideais, valores de PZ <30 mV já foram relatados para nanopartículas na literatura, demonstrando estabilidade, devido à ausência de agregação. Além dos efeitos do potencial zeta, a estabilização estérica proporcionada pelo uso de surfactantes hidrofílicos, como o Tween 20 ou Tween 80, ao envolverem o polímero ou biopolímero encapsulante, parecem exercer efeito crucial na inibição da coalescência inicial das nanopartículas, contribuindo para a estabilidade do sistema (Antonioli *et al.*, 2020; Granata *et al.*, 2018; Shetta; Kegere; Mamdouh, 2019).

Os solventes utilizados no preparo das nanopartículas devem ser miscíveis em água, por isso, a acetona é um dos mais utilizados. Porém, este solvente é considerado tóxico, e o álcool de cereais surge como alternativa por ser considerado seguro (*Generally Recognized As Safe - GRAS*) para uso em alimentos. Além disso, devido à crescente demanda pelo consumo de alimentos cada vez mais naturais, saudáveis e sustentáveis, é crescente o interesse da população mundial pela produção de alimentos em que sejam mínimos os impactos ambientais gerados (Klettenhammer *et al.*, 2020).

O uso de nanopartículas está associado a uma série de parâmetros como nível de segurança, meio ambiente e regulação, e que o impacto dos materiais nanométricos na saúde humana e no meio ambiente deve ser cuidadosamente considerado. Nesse ponto há uma variação entre os países quanto aos aspectos regulatórios relativos aos alimentos elaborados com nanotecnologia. Na Comunidade Europeia, a partir de 2020, foram incluídos os nanomateriais em sua norma REACH (*Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals*), enquanto nos Estados Unidos a regulação é feita de forma setorializada, sendo a *Food and Drug Administration* o órgão responsável por avaliar o uso de nanotecnologia em alimentos (Brasil, 2019).

No Brasil, a RDC nº 839 de 2023 trouxe modernizações quanto às regras, fluxos e procedimentos para a comprovação de segurança e autorização de uso de novos alimentos e novos ingredientes, incluindo aqueles elaborados com nanomateriais (Brasil, 2023). Essa RDC determina que a oferta de alimentos elaborados com nanomateriais deve preceder de comprovação de segurança quanto ao consumo, envolvendo desde a caracterização detalhada da composição química elementar, morfologia, estrutura de partículas, distribuição do número-tamanho das partículas, propriedades de superfície, até a realização de estudos toxicológicos específicos para nanomateriais, incluindo estudos de citotoxicidade/viabilidade celular, estudos de indução de estresse oxidativo, estudos de toxicinética, estudos de genotoxicidade, estudos subcrônicos, entre outros (Brasil, 2023c).

O impacto das nanopartículas na saúde humana (nanotoxicidade) é influenciado por sua composição química, tamanho, massa e propriedades de superfície. Ainda, Pisoschi *et al.* (2018), indicam que nanopartículas elaboradas de materiais biopoliméricos provaram possuir a melhor compatibilidade com células e tecidos, atraindo maior atenção dos pesquisadores, devido às suas potencialidades terapêuticas e à maior estabilidade nos fluídos biológicos durante o armazenamento (Holkem *et al.*, 2015).

Na elaboração de nanopartículas tem-se utilizado uma variedade de biopolímeros como material encapsulante, tais como macromoléculas naturais (quitosana, alginato, gelatina, celulose etc.), biopolímeros sintéticos, a exemplo de poli (ácido láctico), poli (láctico-co-ácido glicólico), polihidroxibutirato, bem como composto derivado desses materiais. No entanto, nanopartículas biopoliméricas podem ser sintetizadas a partir de biopolímeros de produtos alimentícios (Pisoschi *et al.*, 2018).

Pesquisas dedicadas à síntese e aplicação de biopolímeros biodegradáveis começaram no início dos anos trinta, com o ácido polilático. No entanto, associadas a desvantagens como alto custo e facilidade para a ocorrência de hidrólise (Pisoschi *et al.*, 2018). Outros biopolímeros

empregados são aqueles à base de alimentos, como proteínas ou polissacarídeos, produzindo várias nanoestruturas que encapsulam ingredientes funcionais (Pisoschi *et al.*, 2018).

3.4.1 Farinha de semente de jaca e outros coprodutos vegetais como encapsulantes

Um aspecto essencial do desenvolvimento de sistemas nanoencapsulados é a compatibilidade entre o encapsulante e os componentes principais. Se as substâncias do núcleo puderem solubilizar o material da parede, é uma indicação de que as formulações com tais materiais serão nanoemulsões em vez de nanocápsulas (Antonioli *et al.*, 2020). Nesse sentido, diferentes polímeros à base de polissacarídeos (celulose, amido, dextrina, quitosana, alginato, goma arábica) e proteínas (albumina, caseína, zeína) têm sido amplamente utilizados para encapsulamento com certas vantagens quanto à solubilidade em água, biocompatibilidade e biodegradabilidade (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022; Raeisi *et al.*, 2019; Tiwari; Singh; Dubey, 2020; Upadhyay *et al.*, 2021).

A utilização de biopolímeros como agentes carreadores para encapsulamento de substâncias, como compostos bioativos e óleos, tem atraído a atenção de pesquisadores para a concepção e desenvolvimento de nanopartículas com benefícios para a indústria de alimentos (Arabpoor *et al.*, 2021). Dentre os diversos encapsulantes que podem ser utilizados na obtenção de nanopartículas, vem crescendo o interesse pelo uso dos materiais mais sustentáveis e alternativos aos sintéticos, o que demonstra um potencial para a utilização de encapsulantes obtidos de coprodutos de vegetais (frutas e hortaliças), a exemplo de mucilagem de vegetais, farinhas de semente e eixo de jaca, albedo de maracujá e de tegumento do feijão caupi, dentre outros (Assunção *et al.*, 2024a; Bezerra *et al.*, 2019; Campo *et al.*, 2017).

A aplicabilidade de coprodutos vegetais em nanotecnologia é mais uma alternativa ao direcionamento de descartes alimentares, dos quais a geração implica na baixa eficiência na utilização dos recursos ambientais, contribui para dietas pouco saudáveis e está envolvida no aquecimento global, esgotamento dos recursos naturais, interrupção dos ciclos biogênicos de nitrogênio e fósforo usados na agricultura como fertilizantes e poluição ambiental. Alinhado a essas questões, a redução das perdas e desperdícios de alimentos é importante para diminuir os custos de produção, aumentar a eficiência do sistema alimentar e contribuir para a sustentabilidade ambiental. Dados revelam que cerca de 35% das frutas e hortaliças são perdidas durante o processamento e embalagem, enquanto nos grupos dos cereais e leguminosas esse valor é cerca de 15% (FAO, 2023).

Dentre as farinhas de coprodutos vegetais, um estudo sobre farinha de albedo do maracujá amarelo (*Passiflora edulis Sims f. Flavicarpa*) como encapsulante na produção de nanopartícula, por meio da evaporação de solvente e homogeneização, como uma alternativa à aplicação de compostos bioativos em alimentos, demonstrou bons resultados de eficiência de encapsulamento, morfologia, estabilidade físico-química e antioxidante (Bezerra *et al.*, 2019).

Além de farinhas de coprodutos vegetais, as mucilagens de vegetais também se destacam como fonte de material de parede biodegradável, devido a sua disponibilidade, biodegradabilidade potencial e alta capacidade de hidratação (Prajapati *et al.*, 2013). Campo *et al.* (2017) produziram nanopartículas contendo óleo de semente de chia (*Salvia hispanica* L.) utilizando a mucilagem da semente como material de parede, obtendo nanopartículas com alta estabilidade e eficiência do encapsulamento. A mucilagem da semente de chia é um heteropolissacarídeo aniônico com alta viscosidade, mesmo em baixa concentração (Timilsena *et al.*, 2016), além de ser uma ótima fonte de fibra e excelente capacidade de retenção de óleo e água.

Devido a tendência cada vez maior na indústria de alimentos pela produção mais sustentável, através do uso de insumos geralmente destinados ao descarte, evitando assim o desperdício de alimentos, além de agregar qualidade nutricional, a farinha a semente de jaca torna-se uma alternativa de coproduto natural para uso como material de parede no nanoencapsulamento, devido ao seu potencial e caráter sustentável, inclusive já demonstrado por Assunção *et al.* (2024a), considerando a sua composição em proteína (8%) e amido (60-80%), com alto teor de amilose (Dong *et al.*, 2021; Suzihaque *et al.*, 2022).

Ainda, Hosseini & Jafari (2020) afirmam que melhores resultados de encapsulamento são obtidos quando empregada uma combinação de proteínas e polissacarídeos em comparação à forma individual, composição essa encontrada na farinha de semente de jaca. De forma que, a encapsulação de compostos lipídicos em amilose, carboidrato também presente nessa farinha, tem demonstrado resultados promissores, associados a estrutura helicoidal deste nanocarreador biopolimérico (Rezaei; Fathi; Jafari, 2019).

A jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) (Figura 11) é uma fruta tropical amplamente cultivada em regiões como Brasil, Tailândia, Indonésia, Índia, com custos mínimos de insumos, conhecida pelo seu valor funcional significativo, especialmente das suas sementes (18% a 25% do peso seco do fruto), que possuem destacada aplicação funcional em conteúdo de minerais, vitaminas, flavonoides, antioxidantes, aminoácidos e fibras. Apesar disso, as sementes são frequentemente descartadas, gerando subprodutos durante a produção e consumo (Li *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2016), de forma que a exploração científica das suas propriedades

antioxidantes e nutricionais, por ser limitada na literatura especializada, requer mais estudos nesse campo (Kamal *et al.*, 2023).

Figura 11 – Jaca, semente de jaca e farinha de semente de jaca.



Fonte: autoria própria (2024).

Segundo a Anvisa (Brasil, 2005), farinhas são os produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas, podendo sofrer previamente processos tecnológicos adequados considerados seguros para a produção de alimentos. A designação da farinha deve ser seguida do nome comum da espécie vegetal utilizada.

Especificamente para a farinha da semente de jaca verde não existe legislação referente à classificação de acordo ao processo tecnológico de fabricação, granulometria, cor e qualidade. A qualidade das farinhas pode ser avaliada por diversas características como umidade, material mineral, lipídios, proteínas e biocompostos, como fenólicos totais e antocianinas (Brasil, 2005).

3.4.2 Nanopartículas de óleos essenciais e comestíveis aplicadas na indústria de carnes e seus produtos

As principais aplicações e finalidades de nanopartículas de óleos essenciais estão desde a atividade antimicrobiana e antioxidante, até a busca pela conservação de propriedades sensoriais e de compostos bioativos (Ghaderi-Ghahfarokhiet *et al.*, 2016; Ilyasoglu; El, 2014). Como demonstrado no Quadro 4, a aplicação dessas nanopartículas na indústria de carnes e seus produtos é diversa, incluindo pesquisas que envolvem desde hambúrguer de carne bovina (Bakheet *et al.*, 2024; Bakr *et al.*, 2024; Radünz *et al.*, 2020), hambúrguer de carne de peru (Shahabi *et al.*, 2024), carne de frango em tiras (Sagar *et al.*, 2022), filé de peito de peru

(Keykhosravy *et al.*, 2022), carne bovina moída (Amiri; Rahimi, 2019; Xavier *et al.*, 2021), até carne de camarão (Aboutorab *et al.*, 2021) e salsicha (Esmaeili *et al.*, 2020).

Como observado no Quadro 4, as aplicações com foco na extensão de vida de prateleira desses produtos não se restringem à adição direta das nanopartículas à formulação, mas também consideram a utilização de revestimentos comestíveis, seja por imersão ou adição de filme de cobertura. A inibição da oxidação lipídica é o principal efeito antioxidante pesquisado para as nanopartículas de OEs aplicadas em carnes e seus produtos. No entanto, a investigação da prevenção à oxidação proteica e de pigmentos também é foco de interesse.

Os estudos do Quadro 4 apontaram que, em geral, nanopartículas de óleos essenciais são mais eficientes do que a utilização dos OEs na forma livre para controle/inibição de processos oxidativos e efeito antimicrobiano, além de não conferirem propriedades sensoriais negativas aos produtos.

No que se refere à utilização de nanopartículas de óleos comestíveis no desenvolvimento de novos produtos cárneos, diversos estudos utilizam diferentes tipos de carne tratadas com nanotecnologia, a fim de aumentar o valor nutricional ou obter melhorias tecnológicas, incluindo carne de peixe (Joe *et al.*, 2012), hambúrguer de carne bovina (Ghoturi *et al.*, 2023; Hanula *et al.*, 2022a, 2022b), lombo de cordeiro (Hasani-Javanmardi; Fallah; Abbasvali, 2021; Jafarinia; Fallah; Dehkordi, 2022) e peito de frango (Pirastehfard; Fallah; Habibian Dehkordi, 2021).

Com base nos estudos apresentados no Quadro 5, a inclusão de nanopartículas de óleos comestíveis aos produtos cárneos pode ocorrer diretamente à formulação ou como revestimento comestível. O interesse na aplicação desses óleos varia em relação à melhoria nutricional (substitutos de gordura) ou quanto aos efeitos conservantes dos compostos ativos presentes no óleo. Um desafio apontado por esses estudos está em evitar a promoção da oxidação lipídica, mais pronunciada quando ocorre a substituição da gordura animal pelas nanopartículas de óleos comestíveis, devido ao alto conteúdo de ácidos graxos insaturados adicionados à formulação.

Alguns desses estudos investigaram o efeito da aplicação de nanopartículas de óleos comestíveis sozinhas e combinadas com óleo essencial, demonstrando que o uso de nanotecnologia e óleos comestíveis é viável, não apenas para alcançar efeitos de melhoria de valor nutricional, como também com foco na ação antioxidante e antimicrobiana e que, quando combinadas com óleos essenciais, esse potencial protetor e extensor de vida de prateleira é mais pronunciado. Esses resultados são verificados nos estudos conduzidos em carne de lombo de cordeiro pelos pesquisadores Hasani-Javanmardi; Fallah e Abbasvali (2021), que empregaram óleo de girassol e óleo essencial de cominho, e pelo trabalho conduzido por Jafarinia; Fallah e

Dehkordi (2022), que combinaram os efeitos de azeite de oliva e óleo essencial de ajowan (*Carum copticum*). Também na pesquisa realizada por Pirastehfard; Fallah e Habibian Dehkordi, que avaliaram os efeitos de óleo de canola e óleo essencial de manjerição-do-bactriari (*Satureja bachtiarica*) em peito de frango (Quadro 5).

Quadro 4 - Efeitos da aplicação de nanopartículas de óleo essenciais em carnes e seus produtos.

Carne ou produto cárneo	Óleo essencial (OE) e propriedades avaliadas	Forma de aplicação e concentração do OE	Highlights	Referência
Hambúrguer de carne bovina	Óleo essencial de canela (OEC) (<i>Cinnamomum verum</i>) Atividade antimicrobiana	Adição de nanopartícula de OEC com quitosana e pectina 0,156 µL/ g	• Maior inibição no crescimento de <i>Aspergillus flavus</i> em relação ao controle e as amostras contendo OEC livre, inclusive com ausência de contagens até o 9º dia de armazenamento refrigerado. • Maior redução nos níveis de aflatoxina (68,2%) do que OEC livre (40,9%). • Boa aceitação sensorial.	(Bakr <i>et al.</i> , 2024)
Hambúrguer de carne bovina	Óleo essencial de capim-limão (OECL) (<i>Cymbopogon citratus</i>) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Adição de nanoemulsão de OECL 1,5 mL/g	• Ausência de efeito inibitório para aeróbias mesófilas ao longo do armazenamento de 4 meses sob congelamento. • Inibição no crescimento de fungos, <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> ao final do armazenamento. • Maior inibição da oxidação lipídica ao final do armazenamento. • Aumento nas propriedades de cocção ao final do armazenamento. • Boa aceitação sensorial geral, sabor, aroma, textura.	(Bakheet <i>et al.</i> , 2024)
Hambúrguer de carne de peru	Óleo essencial de cominho (OEEO) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Revestimento comestível Solução de nanopartícula a 1% de OEEO e goma tragacanto-quitosana	• Inibição de microrganismo patogênicos durante o armazenamento refrigerado durante 20 dias de armazenamento refrigerado. • Maior inibição do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, psicrofílicas e coliforme em relação as amostras contendo OEEO livre. • Maior inibição da oxidação lipídica ao final do armazenamento. • Preservação da cor, textura e teor de umidade. • Boa aceitação sensorial geral, sabor, aroma, textura.	(Shahabi <i>et al.</i> , 2024)
Carne de frango em tiras	Óleo essencial de canela (OEC), Óleo essencial de cravo (OEER) e Óleo essencial de tomilho (OET) Atividade antimicrobiana	Revestimento comestível Solução de nanopartículas à 3% de OEs e quitosana	• Extensão da vida útil microbiana (aeróbias mesófilas, fungos, psicrofílicas e coliformes) para 20 dias, versus 10 dias para amostra controle ao longo de 20 dias de armazenamento refrigerado (OEC>OEER>OET).	(Sagar <i>et al.</i> , 2022)
Filés de peito de peru	Óleos essenciais de <i>Zataria multiflora</i> Boiss (OEZ) e <i>Bunium persicum</i> Boiss (OEB).	Revestimento comestível	• Inibição da oxidação lipídica, com destaque para as amostras contendo OEZ, ao final dos 20 dias de armazenamento refrigerado. • Inibição da oxidação proteica para ambos os tratamentos.	(Keykhosravi <i>et al.</i> , 2022)

	Atividade antioxidante	Solução de nanopartícula à 1% de OEZ ou OEB com quitosana	• Redução da qualidade organoléptica por conferir sabor desagradável.	
Carne bovina moída	Óleo essencial de <i>Cinnamodendron dinisii</i> Schwanke (OECS) Atividade antioxidante	Revestimento comestível Filme à 3,69µl/mL de nanopartícula de OECS e zeína	• Inibição da oxidação lipídica e da mioglobina (manutenção da cor vermelha) ao longo de 12 dias de armazenamento refrigerado.	(Xavier <i>et al.</i> , 2021)
Carne de camarão	Óleo essencial de açafrão Atividade antioxidante	Revestimento comestível Solução de nanoemulsão à 5% de óleo essencial de açafrão	• Inibição da oxidação lipídica ao final de 14 dias de armazenamento refrigerado	(Aboutorab <i>et al.</i> , 2021)
Hambúrguer de carne bovina	Óleo essencial de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>) (OET) Atividade antimicrobiana	Adição de nanopartículas de OET e caseína-maltodextrina 10mg/g	• Inibição do crescimento de coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> durante 14 dias de armazenamento refrigerado	(Radünz <i>et al.</i> , 2020)
Salsichas	Óleo essencial de alho (OEAL) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Revestimento comestível Filme à 2% de nanopartícula de OEAL com quitosana	• Inibição do crescimento de bactérias aeróbias, psicrófilas e do ácido láctico ao longo de 50 dias de armazenamento refrigerado à vácuo • Inibição da oxidação lipídica ao final do armazenamento. • Ausência de propriedades sensoriais melhores do que as amostras contendo OEAL na forma livre.	(Esmaeili <i>et al.</i> , 2020)
Carne bovina moída	Óleo essencial de <i>Zataria multiflora</i> (OEZ) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Revestimento comestível Filme à 1% de nanoemulsão de (OEZ)	• Inibição do crescimento microbiano. • Inibição da oxidação lipídica e proteica ao longo de 20 dias de armazenamento refrigerado. • Ausência de alterações negativas quanto ao sabor, odor, cor e aceitabilidade geral. • Ausência de diferenças significativas nas propriedades sensoriais em comparação com as amostras contendo o óleo livre.	(Amiri <i>et al.</i> , 2019)

Fonte: autoria própria (2024).

OE: óleo essencial; OEC: óleo essencial de canela; OECL: óleo essencial de capim-limão; OECS: óleo essencial de cominho; OEC: óleo essencial de canela; OECR: óleo essencial de cravo; OET: óleo essencial de tomilho; OEZ: óleo essencial de *Zataria multiflora* Boiss; OEB: óleo essencial de *Bunium persicum* Boiss; OECS: óleo essencial de *Cinnamodendron dinisii* Schwanke; OEAL: óleo essencial de alho.

Quadro 5 - Efeitos da aplicação de nanopartículas de óleos comestíveis em carnes e seus produtos.

Carne ou produto cárneo	Óleo comestível (OC) e propriedades avaliadas	Forma de aplicação e concentração do OC	Highlights	Referência
Hambúrguer carne bovina	Óleo de peixe Melhoria do valor nutricional	Nanopartícula à base de 10% de óleo de peixe Substituto da gordura*	• Redução do total de calorias • Inibição da oxidação lipídica e proteica • Aumento da capacidade de retenção de água e eficiência de cozimento durante o armazenamento refrigerado* • Melhores parâmetros para textura e cor • Maior pontuação em textura, sabor, cheiro, cor e aceitação geral	(Ghoturi <i>et al.</i> , 2023)
Hambúrguer carne bovina	Óleo de cártamo Melhoria do valor nutricional	Hidrogel à base de nanopartículas de óleo de cártamo (45%) e <i>blend</i> de farinha de konjac e alginato de sódio, enriquecido com extrato de açaí Substituto de 100% da gordura (95mg/g)	• Promoção da oxidação lipídica durante 8 dias de armazenamento refrigerado • Melhoria da mastigabilidade e dureza, • Ausência de alteração na cor • Aumento do teor de ácidos graxos poli-insaturados • Redução do índice aterogênico e do índice de trombogenicidade • Aumento na razão hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmico do hambúrguer	(Hanula <i>et al.</i> , 2022a)
Hambúrguer carne bovina	Óleo de açaí Melhoria do valor nutricional	Hidrogel liofilizado à base de nanopartículas de óleo de açaí (31%) e <i>blend</i> de farinha de konjac e alginato de sódio Substituto de 50% da gordura	• Promoção da oxidação lipídica durante 7 dias de armazenamento refrigerado em relação ao controle • Maior estabilidade na cor (a*, vermelho) ao final do armazenamento em relação ao controle • Aumento no teor de ácidos graxos poli-insaturados e redução dos saturados • Redução do índice aterogênico e do índice de trombogenicidade • Aumento na razão hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmico do hambúrguer • Melhoria no rendimento e parâmetros de textura • Boa aceitação sensorial, sem diferença significativa em relação ao controle	(Hanula <i>et al.</i> , 2022b)
Carne de lombo de cordeiro	Azeite de oliva (AZO) e óleo essencial de ajowan (<i>Carum copticum</i>) (OEAJ)	Revestimento comestível Solução de nanopartícula à base	• Inibição do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, psicotróficas, <i>Enterobacteriaceae</i> e bactérias do ácido láctico durante 16 dias de armazenamento refrigerado, para ambos os tratamentos, com maior inibição nas amostras AZO + 2% de OEAJ. • Inibição do conteúdo de nitrogênio volátil total formado, oxidação lipídica e proteica, inibição da formação de metamioglobina e deterioração da cor ao	(Jafarinia; Fallah; Dehkordi, 2022)

	Atividades antioxidante e antimicrobiana	de AZO e a base de AZO + 2% de OEAJ	final do armazenamento para ambos os tratamentos, com maior inibição nas amostras AZO + 2% de OEAJ. • Boa aceitação sensorial até 12 dias de armazenamento para amostras AZO e até 16 dias para amostras AZO+2% OEAJ	
Carne de lombo de cordeiro	Óleo de girassol (OG) e óleo essencial de cominho (OEEO) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Revestimento comestível Solução de nanopartícula à base de OG e a base de OG + 1% de OEC	• Inibição do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, psicotróficas, <i>Enterobacteriaceae</i> e bactérias do ácido láctico durante 20 dias de armazenamento refrigerado, para ambos os tratamentos, com maior inibição nas amostras OG + 1% de OEC • Inibição do conteúdo de nitrogênio volátil total formado, oxidação lipídica e proteica, inibição da formação de metamioglobina e deterioração da cor ao final do armazenamento para ambos os tratamentos, com maior inibição nas amostras OG + 1% de OEC • Boa aceitação sensorial até 16 dias de armazenamento para amostras OG e até 20 dias para amostras OG + 1% de OEC	(Hasani-Javanmardi; Fallah; Abbasvali, 2021)
Carne de peito de frango	Óleo de canola (OCA) e óleo essencial de manjerição-do-bactriari (<i>Satureja bachtiarica</i>) (OEM) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Revestimento comestível Solução de nanopartícula à base de OCA e a base de OCA + 2% de OEM	• Inibição do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, psicotróficas, <i>Enterobacteriaceae</i> e bactérias do ácido láctico durante 16 dias de armazenamento refrigerado, para ambos os tratamentos, com maior inibição nas amostras OCA + 2% de OEM • Inibição do conteúdo de nitrogênio volátil total formado para OCA + 2% de OEM e ausência de efeito para amostras OCA ao final do armazenamento • Inibição da oxidação lipídica e proteica, ao final do armazenamento para ambos os tratamentos, com maior inibição nas amostras OCA + 2% de OEM • Boa aceitação sensorial até 12 dias de armazenamento para amostras OCA e até 16 dias para amostras OCA + 2% de OEM	(Pirastehfard; Fallah; Habibian Dehkordi, 2021)
Filé de peixe cavala (<i>Scomberomorus guttatus</i>)	Óleo de girassol (OG) Atividades antioxidante e antimicrobiana	Adição de nanopartícula à base de 64% de OG 0,1mL/g	• Menor redução no conteúdo total de carboidratos, proteínas e gorduras durante 3 dias de armazenamento à 20°C • Inibição do crescimento bacteriano heterotrófico, de bactérias produtoras de sulfeto de hidrogênio e de bactérias produtoras de ácido láctico ao final do armazenamento • Inibição do conteúdo de nitrogênio volátil total formado e inibição da oxidação lipídica ao final do armazenamento. • Melhor manutenção das propriedades organoléptica (48 horas), em comparação às amostras controle e tratadas com antibióticos	(Joe <i>et al.</i> , 2012)

Fonte: autoria própria (2024)

OC: óleo comestível; AZO: azeite de oliva; OEAJ: óleo essencial de ajowan (*Carum copticum*); OG: óleo de girassol; OEEO: óleo essencial de cominho; OCA: óleo de canola; OEM: óleo essencial de manjerição-do-bactriari (*Satureja bachtiarica*)

*dado não informado pelos autores.

4 CONCLUSÃO

A substituição de antioxidantes sintéticos pelos naturais é uma ferramenta promissora para controlar a oxidação lipídica e a contaminação microbiana em carne e seus produtos, especialmente em hambúrgueres, que por serem moídos, têm maior área de superfície exposta, tornando-os mais suscetíveis a essas condições. Além disso, os consumidores têm pressionado os sistemas alimentares a ofertarem produtos mais naturais no mercado. Entre os antioxidantes naturais, óleos essenciais são explorados como alternativas aos conservantes sintéticos, que levantam preocupações toxicológicas. Uma outra fonte natural promissora é o óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG, devido ao seu elevado teor de antioxidantes e ácidos graxos benéficos. Contudo, tanto o OPBH quanto os OEs, enfrentam desafios de aplicação que podem ser contornados com o uso de nanotecnologia. Nesse aspecto, a nanoencapsulação surge como uma solução promissora, oferecendo um sistema de entrega controlado de compostos em nanoescala. Ao considerar o exposto no referencial teórico, pode-se concluir que o óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG tem potencial para ser aplicado como conservante *clean label* eficaz na indústria de alimentos, pois os desafios de solubilidade limitada e sensibilidade à oxidação podem ser contornados por meio da nanotecnologia. Ainda, a nanoencapsulação também beneficia a utilização de óleos essenciais, ampliando sua aplicação industrial ao proporcionar a preservação de compostos bioativos e minimizar os efeitos relativos ao sabor marcante desses óleos.

REFERÊNCIAS

- ABOUTORAB, M. *et al.* Nano-emulsion of saffron essential oil by spontaneous emulsification and ultrasonic homogenization extend the shelf life of shrimp (*Crocus sativus L.*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 2, p. 1–9, 2021.
- AL-JUHAIMI, F. Y. *et al.* Effect of Argel (*Solenostemma argel*) leaf extract on quality attributes of chicken meatballs during cold storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 5, p. 1797–1805, 2018.
- ALMEIDA-COUTO, J.M.F.; SOUZA, B. F. B. Avanços tecnológicos aplicados na produção e conservação da carne de frango. **UNINGÁ Review**, v. 33, n. 3, p. 1–9, 2018.
- ALMEIDA, D. T.; CURVELO, F. M.; COSTA, M. M.; VIANA, T. V.; LIMA, P.C. Oxidative stability of crude palm oil after deep frying akara (Fried Bean Paste). **Food Science and Technology-Brazil**, v.38, p. 142–147, 2017. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.02217>.
- ALMEIDA, D. T., NUNES, I. L., CONDE, P. L., ROSA, R.P.S., ROGÉRIO, W. F. & MACHADO, E. R. A quality assessment of crude palm oil marketed in Bahia, Brazil. **Grasas Y Aceites**, v. 64, n. 4, p. 387-394, 2013. <http://dx.doi.org/10.3989/gya.118412>.
- ALMEIDA, E. S. *et al.* Thermal and physical properties of crude palm oil with higher oleic content. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 11, n. 15, 2021.
- AMIRI, E. *et al.* Combined antioxidant and sensory effects of corn starch films with nanoemulsion of *Zataria multiflora* essential oil fortified with cinnamaldehyde on fresh ground beef patties. **Meat Science**, v. 153, p. 66–74, 2019.
- AMIRI, S.; RAHIMI, A. Poly(ϵ -caprolactone) electrospun nanofibers containing cinnamon essential oil nanocapsules: A promising technique for controlled release and high solubility. **Journal of Industrial Textiles**, v. 48, n. 10, p. 1527–1544, 2019.
- ANTONIASSI, R. *et al.* **Comunicado Técnico 229 - Óleo de palma de alto oleico produzido no Brasil no ano de 2016**. Rio de Janeiro, RJ: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), 2018.
- ANTONIOLI, G. *et al.* Poly(lactic acid) nanocapsules containing lemongrass essential oil for postharvest decay control: In vitro and in vivo evaluation against phytopathogenic fungi. **Food Chemistry**, v. 326, p. 126997, 2020.
- ARABPOOR, B. *et al.* Multifunctional coating composed of *Eryngium campestre L.* essential oil encapsulated in nano-chitosan to prolong the shelf-life of fresh cherry fruits. **Food Hydrocolloids**, v. 111, p. 106394, 2021.
- ASSUNÇÃO, L. S. *et al.* Optimization and Characterization of Interspecific Hybrid Crude Palm Oil Unaué HIE OxG Nanoparticles with Vegetable By-Products as Encapsulants. **Foods**, v. 13, n. 4, p. 523, 2024a.
- ASSUNÇÃO, L. S. *et al.* Nanoencapsulation of hybrid crude palm oil Unaué HIE OxG with jackfruit by-products as encapsulants : a study of cellular antioxidant activity and cytotoxicity in Caco-2 cells. **Food Chemistry**, p. 139009, 2024b.
- AVELAR, V. **Os perigos no preparo do hambúrguer**. Disponível em:

<<https://foodsafetybrazil.org/o-perigo-no-preparo-do-hamburguer/>>. Acesso em: 1 jun. 2024.

BAK, K. H. *et al.* Effect of high pressure treatment on the color of fresh and processed meats: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 2, p. 228–252, 2019.

BAKHEET, D. B. M. *et al.* Enhancing Beef Burger Properties Using Lemongrass Oil Nanoemulsion. **Assiut Veterinary Medical Journal (Egypt)**, v. 70, n. 181, p. 179–203, 2024.

BAKR, J. G. *et al.* Impact of using cinnamon (*Cinnamomum verum*) essential oil and its pectin-chitosan nano-emulsion on survival of *Aspergillus flavus* and total aflatoxin inhibition in beef burger patties. **Food Control**, v. 159, p. 110294, 2024.

BAKRY, A. M. *et al.* Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 143–182, 2016.

BALDIN, J. C. **Avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante do extrato de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) microencapsulado adicionado em linguiça frescal e mortadela**. 2016. 100 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

BANERJEE, R.; VERMA, A. K.; SIDDIQUI, M. W. **Natural Antioxidants: Applications in Foods of Animal Origin**. Toronto: Apple Academic Press Inc., 2017.

BARBERIS, S. *et al.* Natural Food Preservatives Against Microorganisms. In: GRUMEZESCU, A. M.; HOLBAN, A. M. (Eds.). **Food Safety and Preservation: Modern Biological Approaches to Improving Consumer Health**. [s.l.] Elsevier Inc., 2018. ch. 20, p. 621–658.

BARBOSA, A. D. **Avaliação da sobrevivência microbiana em uma receita padronizada de hambúrguer gourmet termicamente processada sob diferentes parâmetros de cocção**. 2021. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

BAYRAKTAR, O. *et al.* Nanocarriers for Plant-Derived Natural Compounds. In: FICAI, A.; GRUMEZESCU, A. M. (Eds.). **Nanostructures for Antimicrobial Therapy: Nanostructures in Therapeutic Medicine Series**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. ch. 17, p. 395–412.

BELTRÁN, J. D. *et al.* Effect of homogenization methods on the physical stability of nutrition grade nanoliposomes used for encapsulating high oleic palm oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 118, p. 108801, 2020.

BEZERRA, P. Q. M. *et al.* Innovative functional nanodispersion: Combination of carotenoid from *Spirulina* and yellow passion fruit albedo. **Food Chemistry**, v. 285, p. 397–405, 2019.

BOTELLA-MARTINEZ, C. *et al.* Cocoa coproducts-based and walnut oil gelled emulsion as animal fat replacer and healthy bioactive source in beef burgers. **Foods**, v. 10, n. 11, 2021.

BOTELLA-MARTÍNEZ, C. *et al.* Healthier Oils: A New Scope in the Development of Functional Meat and Dairy Products: A Review. **Biomolecules**, v. 13, n. 5, 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos., 2005.

BRASIL. Senado federal. **Projeto de Lei 880 de 2019**. Institui o Marco Legal da Nanotecnologia e Materiais Avançados, 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria SDA nº 724, de 23 de dezembro de 2022**. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do hambúrguer, 2022a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa - IN nº 161, de 6 de julho de 2022**. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos, 2022b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 778, de 1º de março de 2023**. Dispõe sobre os princípios gerais, as funções tecnológicas e as condições de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia em alimentos, 2023a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa - IN Nº 211, de 1º de março de 2023**. Estabelece as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso para os aditivos alimentares e os coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos, 2023b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 839, de 14 de dezembro de 2023**. Dispõe sobre a comprovação de segurança e a autorização de uso de novos alimentos e novos ingredientes, 2023c.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar Informe - 2024**. Estabelece as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso para os aditivos alimentares e os coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos, 2024. Disponível em: < <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2024/view>>. Acesso: 30 jul. 2024.

CAMPO, C. *et al.* Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. **Food Chemistry**, v. 234, p. 1–9, 2017.

CANO-SARMIENTO, C. *et al.* Zeta Potential of Food Matrices. **Food Engineering Reviews**, v. 10, n. 3, p. 113–138, 2018.

CASTAÑEDA, V. Bahia, a terra do dendê: uma história transnacional e complexa do dendê. **Afro-Ásia**, v. 66, p. 687–693, 2022.

CDC. **Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2017, Annual Report**. Atlanta: Department of Health and Human Services, 2019. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1>

CODEX. **Codex Standard for named vegetable oils (CXS 210-199)**, 2023.

DONATO, M. *et al.* Effect of nanoencapsulated crude palm oil addition on the oxidative stability of salad dressing in an accelerated oxidation test. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e4229107841, 2020.

DONG, S. *et al.* Effect of granule size on the structure and digestibility of jackfruit seed starch. **Food Hydrocolloids**, v. 120, p. 106964, 2021.

DUPAIN, X. *et al.* Cracking of a rapeseed vegetable oil under realistic FCC conditions. **Applied**

Catalysis B: Environmental, v. 72, p. 44–61, 2007.

EFSA. Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. **EFSA Journal**, v. 14, n. 5, 2016.

EMBRAPA. **Com menor acidez, novo azeite de dendê agrega valor à culinária baiana** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/62661022/com-menor-acidez-novo-azeite-de-dende-agrega-valor-a-culinaria-baiana>>. Acesso em: 6 jun. 2024

ESKANDER, M. Z. *et al.* Oil Extraction and Fatty Acid Characterization of Sweet Peppers Seeds *Capsicum Annum* (L.) By Gas Chromatography-Mass Spectrometry(Gc-Ms) and Its Use in Beef Burger Patties Preservation. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 12, n. 6, p. 2–6, 2023.

ESMAEILI, H. *et al.* Incorporation of nanoencapsulated garlic essential oil into edible films: A novel approach for extending shelf life of vacuum-packed sausages. **Meat Science**, v. 166, p. 108135, 2020.

EUMOFA. **Fishmeal and fish oil: production and trade flows in the EU**. Luxembourg: European Union, 2021.

FADIOGLU, E. E. *et al.* Influence of different cooking methods on quality characteristics and nutritional value of gluten-free beef burger patties formulated with walnut oil, safflower oil and buckwheat. **Meat Science**, v. 204, p. 109251, 2023.

FAO. **The State of Food and Agriculture 2023: Revealing the true cost of food to transform agrifood systems**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2023. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/cc7724en/cc7724en.pdf>>.

FARAHANI, M. *et al.* Antimicrobial and antioxidant effects of an edible coating of *Lepidium sativum* seed mucilage and *Satureja hortensis* L. essential oil in Uncooked lamb meat. **Food Control**, v. 158, p. 110240, 2024.

FERNADES, R. D. P. P.; TRINDADE, M. A.; MELO, M. P. Natural Antioxidants and Food Applications: Healthy Perspectives. In: HOLBAN, A. M.; GRUMEZESCU, A. M. (Eds.). **Alternative and Replacement Foods: Handbook of Food Bioengineering**. [s.l.]. Elsevier Inc., 2018. ch. 2, p. 31-64.

FERREIRA, C. D.; NUNES, I. L. Oil nanoencapsulation: development, application, and incorporation into the food market. **Nanoscale Research Letters**, v. 14, 2019.

FERREIRA, I. *et al.* Use of Olive and Sunflower Oil Hydrogel Emulsions as Pork Fat Replacers in Goat Meat Burgers: Fat Reduction and Effects in Lipidic Quality. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, 2022.

FERREIRA RIBEIRO, C. D. *et al.* Novel bioactive nanoparticles from crude palm oil and its fractions as foodstuff ingredients. **Food Chemistry**, v. 373, p. 131252, 2022.

FRASÃO, B. DA S. **Estratégia tecnológica aplicada em carne de frango (*Gallus gallus domesticus*): adição de antioxidantes naturais do resíduo da juçara (*Euterpe edulis*) e do pequi (*Caryocar brasiliense*) e atividade antimicrobiana do extrato do pequi**. 2017. 220f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2017.

FROIIO, F. *et al.* Essential oils-loaded polymer particles: Preparation, characterization and antimicrobial property. **Polymers**, v. 11, n. 6, p. 1017, 2019.

GHADERI-GHAHFAROKHI, M. *et al.* Nanoencapsulation Approach to Improve Antimicrobial and Antioxidant Activity of Thyme Essential Oil in Beef Burgers During Refrigerated Storage. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 7, p. 1187–1201, 2016.

GHORBANZADE, T. *et al.* Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. **Food Chemistry**, v. 216, p. 146–152, 2017.

GHOTURI, S. *et al.* Effect of addition of fish oil nanoliposomes on the technological and nutrition quality of beef burgers over storage at 4 °. **Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics**, v. 12, n. 1, p. 143–162, 2023.

GONZÁLEZ-REZA, R. M. *et al.* Influence of Stabilizing and Encapsulating Polymers on Antioxidant Capacity, Stability, and Kinetic Release of Thyme Essential Oil Nanocapsules. **Foods**, v. 9, n. 12, p. 1884, 2020.

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.

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

HADIAN, M. *et al.* Encapsulation of *Rosmarinus officinalis* essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antibacterial activity in beef cutlet against *Salmonella typhimurium* during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 394–401, 2017.

HAJJ, V. F. *et al.* Physicochemical properties, mineral and fatty acids composition of Jackfruit seeds flour of two varieties from Brazilian Midwest. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 44, p. 1–9, 2022.

HAMED, Y. S. *et al.* Development of soy protein isolate-based films containing omega rich oil from purslane seed for beef burger patties packaging. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 2024.

HANULA, M. *et al.* Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açaí Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions. **Molecules**, v. 27, n. 8, 2022a.

HANULA, M. *et al.* Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açaí Oil. **Molecules**, v. 27, n. 12, 2022b.

HASANI-JAVANMARDI, M.; FALLAH, A. A.; ABBASVALI, M. Effect of safflower oil nanoemulsion and cumin essential oil combined with oxygen absorber packaging on the quality and shelf-life of refrigerated lamb loins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 147, p. 111557, 2021.

HASANI, S. *et al.* Nano-Encapsulation of Lemon Essential Oil Approach to Reducing the Oxidation Process in Fish Burger during Refrigerated Storage. **Journal of Food Biosciences and Technology**, v. 10, n. 1, p. 35–46, 2019.

HECK, R. T. *et al.* Hydrogelled emulsion from chia and linseed oils: A promising strategy to produce low-fat burgers with a healthier lipid profile. **Meat Science**, v. 156, p. 174–182, 2019.

HELLWIG, M. Analysis of Protein Oxidation in Food and Feed Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 46, p. 12870–12885, 2020.

HEMMATKHAH, F.; ZEYNALI, F.; ALMASI, H. Encapsulated Cumin Seed Essential Oil-Loaded Active Papers: Characterization and Evaluation of the Effect on Quality Attributes of Beef Hamburger. **Food and Bioprocess Technology**, v. 13, n. 3, p. 533–547, 2020.

H OLKEM, A. T. et al. Preparation techniques of nanotechnology systems applied to food. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 87–96, 2015.

HOSSEINI, H.; JAFARI, S. M. Introducing nano/microencapsulated bioactive ingredients for extending the shelf-life of food products. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 282, p. 102210, 2020.

HOVORKOVÁ, P.; LALOUČKOVÁ, K.; SKŘIVANOVÁ, E. Determination of in vitro antibacterial activity of plant oils containing medium-chain fatty acids against gram-positive pathogenic and gut commensal bacteria. **Czech Journal of Animal Science**, v. 63, n. 3, p. 119–125, 2018.

HU, R. *et al.* Safety analysis of edible oil products via Raman spectroscopy. **Talanta**, v. 191, n. May 2018, p. 324–332, 2019.

HUI, Y. H. *et al.* **Handbook of meat and meat processing**. 2. ed. Boca Raton, FL: CRC press/Taylor & Francis Group, 2012.

HUSSEIN, A. M. S. *et al.* Influence of Nano-encapsulation on Chemical Composition, Antioxidant Activity and Thermal Stability of Rosemary Essential Oil. **American Journal of Food Technology**, v. 12, n. 3, p. 170–177, 2017.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications. **International commission on microbiological specification for foods: microorganisms in foods Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications**, 1986.

IPHAN-Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **DOSSIÊ IPHAN 6, Ofício das Baianas do Acarajé**. Brasília, Brasil: Ministério da Cultura, 2005. [Online]. Disponível em: <<http://portal.iphan.gov.br/portal/baixaFcdAnexo.do?id=919>>. Acesso em: 29. Ago. 2023.

ILYASOGLU, H.; EL, S. N. Nanoencapsulation of EPA/DHA with sodium caseinate-gum arabic complex and its usage in the enrichment of fruit juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 461–468, 2014.

JAFARINIA, S.; FALLAH, A. A.; DEHKORDI, S. H. Effect of virgin olive oil nanoemulsion combined with ajowan (*Carum copticum*) essential oil on the quality of lamb loins stored under chilled condition. **Food Science and Human Wellness**, v. 11, n. 4, p. 904–913, 2022.

JAYASENA, D. D.; JO, C. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 34, n. 2, p. 96–108, 2013.

JEMAA, M. BEN *et al.* Nanoencapsulated *Thymus capitatus* essential oil as natural preservative. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 45, p. 92–97, 2018.

JOE, M. M. *et al.* Influence of sunflower oil based nanoemulsion (AUSN-4) on the shelf life and quality of Indo-Pacific king mackerel (*Scomberomorus guttatus*) steaks stored at 20 °C. **Food Control**, v. 23, n. 2, p. 564–570, 2012.

KAČÁNIOVÁ, M. *et al.* Anti-Salmonella Activity of *Thymus serpyllum* Essential Oil in Sous Vide Cook–Chill Rabbit Meat. **Foods**, v. 13, n. 2, 2024.

KAMAL, M. M. *et al.* Impacts of drying on physicochemical properties, bioactive compounds, antioxidant capacity, and microstructure of jackfruit seed flour. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2023.

KASHYAP, N. *et al.* Prospects of essential oil loaded nanosystems for skincare. **Phytomedicine Plus**, v. 2, n. 1, 2022.

KEDIA, A.; DUBEY, N. K. Nanoencapsulation of Essential Oils. **Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms**, p. 501–522, 2018.

KEYKHOSRAVY, K. *et al.* Protective effect of chitosan-loaded nanoemulsion containing *Zataria multiflora* Boiss and *Bunium persicum* Boiss essential oils as coating on lipid and protein oxidation in chill stored turkey breast fillets. **Journal of Food Science**, v. 87, n. 1, p. 251–265, 2022.

KHORSHIDIAN, N. *et al.* Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 45, p. 62–72, 2018.

KILIÇ, B.; ÖZER, C. O. Effects of replacement of beef fat with interesterified palm kernel oil on the quality characteristics of Turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, v. 131, p. 18–24, 2017.

KILIÇ, B.; ÖZER, C. O. Potential use of interesterified palm kernel oil to replace animal fat in frankfurters. **Meat Science**, v. 148, p. 206–212, 2019.

KLETTENHAMMER, S. *et al.* Novel technologies based on supercritical fluids for the encapsulation of food grade bioactive compounds. **Foods**, v. 9, n. 10, 2020.

LAGES, L. Z. *et al.* Microbiological and sensory evaluation of meat sausage using thyme (*Thymus vulgaris*, L.) essential oil and powdered beet juice (*Beta vulgaris* L., Early Wonder cultivar). **LWT - Food Science and Technology**, v. 148, p. 111794, 2021.

LI, S. *et al.* Study on internal structure and digestibility of jackfruit seed starch revealed by chemical surface gelatinization. **Food Hydrocolloids**, v. 131, p. 107779, 2022.

LIMA, T. L. S. *et al.* Effect of storage time on colorimetric, physicochemical, and lipid oxidation parameters in sheep meat sausages with pre-emulsified linseed oil. **Food Science and Technology - Brazil**, v. 42, p. e24721, 2022.

LODY, Raul. **Dendê símbolo e sabor**. São Paulo: Ed. SENAC, 2009.

LUCCI, P. *et al.* Palm oil and cardiovascular disease: A randomized trial of the effects of hybrid palm oil supplementation on human plasma lipid patterns. **Food and Function**, v. 7, n. 1, p. 347–354, 2016.

MARKETS AND MARKETS. **Essential Oils Market Size, Share & Forecast**. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/essential-oil-market-119674487.html?gad_source=1&gclid=CjwKCAjwgpCzBhBhEiwAOSQWQf2rFhPnk45bJ8fCkUHSFVwzl5Qpy7ZgB87z5Fvrl0ZPotLcPvGNURoCRxYQAvD_BwE>. Acesso em: 8 jun. 2024.

MBOUGUENG, P. D.; CHOFOR, V. N.; NDJOUENKEU, R. Influence of bleached palm oil on

the physicochemical and sensory properties of beef patty. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 11, n. 3, p. 1019–1025, 2017.

MCCLEMENTS, D. J.; ÖZTÜRK, B. Utilization of nanotechnology to improve the handling, storage and biocompatibility of bioactive lipids in food applications. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 1–17, 2021.

MCKENNA, D. R. *et al.* Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. **Meat Science**, v. 70, n. 4, p. 665–682, 2005.

MOGOŞANU, G. D. *et al.* Natural products used for food preservation. In: GRUMEZESCU, A. M. (Ed.). **Food Preservation: Nanotechnology in the Agri-Food Industry**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. ch. 11, p. 365–411.

MORAES-LOVISON, M. **Óleo essencial de orégano nanoemulsionado: produção, caracterização físico-química, atividade antimicrobiana e antioxidante *in vitro* e aplicação em patê de frango**. 2017. 128 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

MOZZON, M.; FOLIGNI, R.; MANNOZZI, C. Current knowledge on interspecific hybrid palm oils as food and food ingredient. **Foods**, v. 9, n. 5, 2020.

MOZZON, M.; FOLIGNI, R.; TYLEWICZ, U. Chemical Characteristics and Nutritional Properties of Hybrid Palm Oils. In: WAISUNDARA, V. (Ed.). **Palm Oil**. [s.l.] IntechOpen, 2018. ch. 9, p. 149–170.

MUJOVIĆ, M. *et al.* Fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil and supercritical fluid extracts as novel antioxidants and antimicrobial agents in beef burger processing. **Food Bioscience**, v. 56, p. 103283, 2023.

MUJOVIĆ, M. *et al.* Effects of Dill (*Anethum graveolens*) Essential Oil and Lipid Extracts as Novel Antioxidants and Antimicrobial Agents on the Quality of Beef Burger. **Foods**, v. 13, n. 6, p. 896, 2024.

NASCIMENTO, M. D. G. F. DO; OLIVEIRA, C. Z. F. DE; NASCIMENTO, E. R. DO. Hambúrguer: Evolução comercial e padrões microbiológicos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 59–74, 2005.

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, v. 5, n. 35, p. 27986–28006, 2015.

OJEDA, M. *et al.* Hybrid palm oil (*Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis*) supplementation improves plasma antioxidant capacity in humans. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, n. 2, p. 1–8, 2017.

OLIVEIRA, T. S. *et al.* *Listeria monocytogenes* at chicken slaughterhouse: Occurrence, genetic relationship among isolates and evaluation of antimicrobial susceptibility. **Food Control**, v. 88, p. 131–138, 2018.

OLIVEIRA, T. S. *et al.* A Patent Data Analysis in Nanotechnology Applied to Essential Oils. **Recent Patents on Nanotechnology**, v. 16, n. 2, p. 92–106, 2022.

OLMEDO, R. H.; GROSSO, N. R. Oxidative Stability, Affective and Descriptive Sensory Properties of Roasted Peanut Flavored with Oregano, Laurel, and Rosemary Essential Oils as

Natural Preservatives of Food Lipids. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 121, n. 5, 2019.

PABAST, M. *et al.* Effects of chitosan coatings incorporating with free or nano-encapsulated Satureja plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. **Food Control**, v. 91, p. 185–192, 2018.

PAGANINI, C. C. **Ação antimicrobiana de filme ativo incorporado com óleo essencial de orégano no crescimento de *Weissella viridescens* e *Pseudomonas fluorescens***. 2017. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

PANATUK, J.; URIYAPONGSON, J.; URIYAPONGSON, S. The Effect Of Black Rice Bran Oil On Color Appearance, Lipid Oxidation, Antioxidant Activity, And Microbial Growth Of Fresh Ground Beef Patties During Refrigerated Storage. **Journal of Pharmaceutical Negative Results**, v. 13, p. 526, 2022.

PHANG, H. S.; BRUHN, C. M. Burger preparation: What consumers say and do in the home. **Journal of Food Protection**, v. 74, n. 10, p. 1708–1716, 2011.

PINELLI, J. J. **Uso de nanoemulsões de óleos essenciais no controle de *Clostridium sporogenes* em mortadela**. 2018. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

PINTO, S. S. *et al.* Produção e composição de cachos e incidência do anel vermelho em híbridos interespecíficos de Caiaué com dendezeiro no sul da Bahia. **Agrotrópica (Itabuna)**, v. 31, n. 1, p. 5–16, 2019.

PIRASTEHFARD, M.; FALLAH, A. A.; HABIBIAN DEHKORDI, S. Effect of nanoemulsified canola oil combined with Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica*) essential oil on the quality of chicken breast during refrigerated storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 7, p. 1–10, 2021.

PISOSCHI, A. M. *et al.* Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity - A critical view. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 1326–1345, 2018.

PRAJAPATI, V. D. *et al.* Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1685–1699, 2013.

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.

RAEISI, S. *et al.* Nano-encapsulation of fish oil and garlic essential oil by a novel composition of wall material: Persian gum-chitosan. **LWT - Food Science and Technology**, v. 116, p. 108494, 2019.

REZAEI, A.; FATHI, M.; JAFARI, S. M. Nanoencapsulation of hydrophobic and low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers. **Food Hydrocolloids**, v. 88, p. 146–162, 2019.

RICAUARTE, L. *et al.* Production of high-oleic palm oil nanoemulsions by high-shear homogenization (microfluidization). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.

35, p. 75–85, 2016.

RICAURTE, L. *et al.* Physical, thermal and thermodynamical study of high oleic palm oil nanoemulsions. **Food Chemistry**, v. 256, p. 62–70, 2018.

RICAURTE, L. *et al.* Compound distribution, structural analysis and nanomechanical properties of nanofibers loaded with high-oleic palm oil nanoemulsions for packaging application. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 636, 2022.

RODRÍGUEZ, J. C. *et al.* Effects of the Fruit Ripening Stage on Antioxidant Capacity, Total Phenolics, and Polyphenolic Composition of Crude Palm Oil from Interspecific Hybrid *Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 852–859, 2016.

ROGÉRIO, W. F.; GREINER, R.; NUNES, I.L.; FEITOSA, S.; FURTUNATO, D. M. N.; ALMEIDA, D. T. Effect of preparation practices and the cowpea cultivar *Vigna unguiculata* L. Walp on the quality and content of myo-inositol phosphate in akara (fried bean paste). **Food Science and Technology-Brazil**, v. 34, 243–248, 2014. <https://doi.org/10.1590/fst.2014.0040>.

ROMERO, H. M. *et al.* High-Oleic Palm Oil (HOPO) Production from Parthenocarpic. **Agronomy**, v. 11, n. 290, p. 1–18, 2021.

ROSA, L. C. M.; MATUMOTO-PINTRO, P. T. Antioxidantes naturais aplicados em produtos à base de carne bovina: uma alternativa promissora. **Revista Principia**, v. 14, n. 1, p. 163–180, 2015.

RYSMAN, T. *et al.* Protein oxidation and proteolysis during storage and in vitro digestion of pork and beef patties. **Food Chemistry**, v. 209, p. 177–184, 2016.

SAGAR, N. A. *et al.* Quality and shelf life assessment of steam-cooked chicken fingers coated with essential oil nanoemulsions. **Food Bioscience**, v. 49, p. 101902, 2022.

SALES, R. C. *et al.* Olive oil, palm oil, and hybrid palm oil distinctly modulate liver transcriptome and induce NAFLD in mice fed a high-fat diet. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 1, 2019.

SALES, S. *et al.* Edible and essential oils nanoparticles in food: a review on the production, characterization, application, stability, and market scenario. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–28, 2023.

SANTI, F. *et al.* Investigating the Effect of Rosemary Essential Oil, Supercritical CO₂ Processing and Their Synergism on the Quality and Microbial Inactivation of Chicken Breast Meat. **Foods**, v. 12, n. 9, 2023.

SAYADI, M.; MOJADDAR LANGROODI, A.; JAFARPOUR, D. Impact of zein coating impregnated with ginger extract and *Pimpinella anisum* essential oil on the shelf life of bovine meat packaged in modified atmosphere. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 6, p. 5231–5244, 2021.

SHAHABI, N. *et al.* Effect of tragacanth gum–chitin nanofiber film containing free or nano-encapsulated cumin essential oil on the quality of chilled turkey burgers packed with oxygen absorber. **Food Science and Nutrition**, v. 12, n. 8, p. 5605–5618, 2024.

SHETTA, A.; KEGERE, J.; MAMDOUH, W. Comparative study of encapsulated peppermint and

green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 731–742, 2019.

SILVA-FLORES, P. G. *et al.* Simultaneous GC-FID Quantification of Main Components of *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula dentata* Essential Oils in Polymeric Nanocapsules for Antioxidant Application. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2019, 2019.

SILVA, V. L. *et al.* Technological Prospection of Oil Nanoparticles : Primary Characteristics and Profiles. **Recent Patents on Nanotechnology**, v. 14, p. 1–13, 2020.

SIROLI, L. *et al.* Use of essential oils to increase the safety and the quality of marinated pork loin. **Foods**, v. 9, n. 8, 2020.

SOFOS, J. N.; GEORNARAS, I. Overview of current meat hygiene and safety risks and summary of recent studies on biofilms, and control of *Escherichia coli* O157:H7 in nonintact, and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, meat products. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 2–14, 2010.

SOLADOYE, O. P. *et al.* Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 2, p. 106–122, 2015.

SONCU, E. D. *et al.* 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.

SOUZA, J. **Dendê**. Ceplac: Notícias. Mato Grosso do Sul. 2000.

SOUZA, M. A. A. *et al.* Oxidative changes in cooled and cooked pale, soft, exudative (PSE) chicken meat. **Food Chemistry**, v. 385, p. 132471, 2022.

SPREAFICO, F. *et al.* Dietary supplementation with hybrid palm oil alters liver function in the common marmoset. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2018.

SUZIHAQUE, M. U. H. *et al.* Jackfruit seed as an alternative replacement for starch flour. **Materials Today: Proceedings**, v. 63, p. S451–S455, 2022.

TIMILSENA, Y. P. *et al.* Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 347–357, 2016.

TIWARI, S.; SINGH, B. K.; DUBEY, N. K. Encapsulation of Essential Oils - A Booster to Enhance their Bio-efficacy as Botanical Preservatives. **Journal of scientific research**, v. 64, n. 01, p. 175–178, 2020.

TOMOVIĆ, V. *et al.* New formulation towards healthier meat products: *Juniperus communis* l. essential oil as alternative for sodium nitrite in dry fermented sausages. **Foods**, v. 9, n. 8, 2020.

TORAB, M.; BASTI, A. A.; KHANJARI, A. Effect of free and nanoencapsulated forms of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil on some microbial and chemical properties of beef burger. **Carpathian Journal of Food Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 93–102, 2017.

TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S.; FURLAN JÚNIOR, J. Abordagem sobre o estado atual das pesquisas para a identificação do agente causal do amarelecimento fatal do dendezeiro. In:

POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; SANTOS, I. P. (Ed.). **Pragas e doenças de cultivos amazônicos**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2005.

TURGUT, S. S.; SOYER, A.; IŞIKÇI, F. Effect of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 116, p. 126–132, 2016.

UPADHYAY, N. *et al.* Assessment of nanoencapsulated *Cananga odorata* essential oil in chitosan nanopolymer as a green approach to boost the antifungal, antioxidant and in situ efficacy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 171, p. 480–490, 2021.

USDA. **Additives in Meat and Poultry Products**. Food Safety and Inspection Service (FSIS), USDA, , 2015. Disponível em: <<http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/food-labeling/additives-in-meat-and-poultry-products/additives-in-meat-and-poultry-products>>. Acesso em: 30 jun. 2024

USDA. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**. Foreign Agricultural Service/United States Department of Agriculture, 2024a. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>.

USDA. **Oilseed: World Markets and Trade**. Foreign Agricultural Service/United States Department of Agriculture, 2024b. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>>.

VALDERRAMA, R. A. J. **Effect of the application of (*Rubus idaeus*) and blackberry (*Rubus brasiliensis*) pulp processing by-products on physicochemical characteristics, antioxidant capacity, oxidative and sensory stability of chicken burger**. 2018. 130f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

VARGAS-RAMELLA, M. *et al.* Physicochemical Composition and Nutritional Properties of Deer Burger Enhanced with Healthier Oils. **Foods**, v. 9, n. 571, p. 1–17, 2020.

VERGARA, H.; CÓZAR, A.; RUBIO, N. Lamb meat burgers shelf life: effect of the addition of different forms of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.). **CYTA - Journal of Food**, v. 19, n. 1, p. 606–613, 2021.

VERMA, A. K. *et al.* Storage study of chicken meatballs incorporated with green cabbage (*Brassica oleracea*) at refrigeration temperature ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) under aerobic packaging. **Journal of Applied Animal Research**, v. 44, n. 1, p. 409–414, 2016.

WHO. World Health Organization. **WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015** World Health Organization, 2015. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1>.

WHO. World Health Organization. **Estimating the burden of foodborne diseases**. Disponível em: <<https://www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases>>. Acesso em: 7 jun. 2024.

XAVIER, L. O. *et al.* Chitosan packaging functionalized with *Cinnamodendron dinisii* essential oil loaded zein: A proposal for meat conservation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 169, p. 183–193, 2021.

YANG, K. *et al.* Preparation and characterization of cinnamon essential oil nanocapsules and comparison of volatile components and antibacterial ability of cinnamon essential oil before and

after encapsulation. **Food Control**, v. 123, p. 107783, 2021.

ZANGANA, B. . S. . R. .; JASIM AL-BAHADLY, K. O. The effect of adding unsaponifiable matters from crude red palm oil on chemical composition and microbial content of minced broiler meat for different frozen storage periods. **Iraqi poultry sciences journal**, v. 15, p. 1–9, 2021.

ZHANG, Y. *et al.* Characterizations of high purity starches isolated from five different jackfruit cultivars. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 785–794, 2016.

Capítulo II

Manuscrito: A Patent Data Analysis in Nanotechnology Applied to Essential Oils

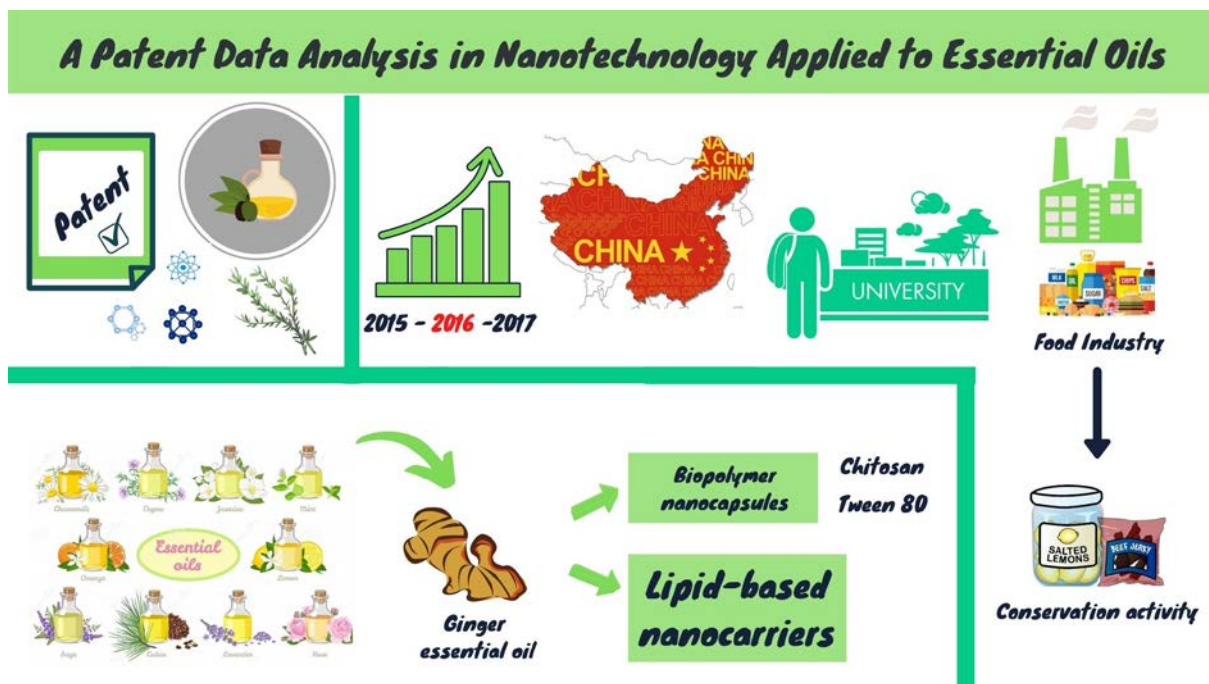
A Patent Data Analysis in Nanotechnology Applied to Essential Oils

Tainara Santos Oliveira¹, Vanessa de Lima Silva², Larissa Santos Assunção², Tayane de Jesus Freitas¹, Bruna Aparecida Souza Machado³, Deborah Murowaniecki Otero², Itaciara Larroza Nunes^{2,4}, Rogeria Comastri de Castro Almeida², Camila Duarte Ferreira Ribeiro^{1,2*}, and Janice Izabel Druzian¹.

¹Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ²Nutrition School, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ³University Center SENAI CIMATEC, National Service of Industrial Learning, Laboratory of Pharmaceutical's Formulations, SENAI Institute of Innovation (ISI) in Advanced Health Systems (CIMATEC ISI SAS), Salvador, Brazil, Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil.

Manuscrito publicado (1ª submissão):	<i>Recent Patents on Nanotechnology e ISSN 2212-4020 Online</i>
Maior percentil (Scopus):	73%
Periódico a ser submetido (2ª submissão):	-
Maior percentil (Scopus):	-

* Address correspondence to this author at the Department of Food Science, Nutrition School, Federal University of Bahia, P.O. Box: 40.110.907, Salvador, Brazil; Tel/Fax: ++55-71-99132-0655;
E-mail: camiladuarte@ufba.br

34 **Graphical abstract**

Abstract: Background: Essential oils (EOs) are natural substances that serve as sources of bioactive compounds with antioxidant and antimicrobial properties.

Objective: This objective is to understand intellectual property related to patent documents on EOs and nanotechnology.

Methods: The nanotechnology growth curve applied to EOs demonstrated that the period from 2015 to 2017 was the most prominent, with a peak in 2016. China is the dominant country, mainly through research developed in the academic area.

Results: The food industry area had the highest number of patents filed, highlighting the preservation line. Ginger essential oil, chitosan and Tween 80 were preferentially used as a core, wall material and an emulsifier, respectively. In the market, the use of EOs is more associated with the pharmaceutical/cosmetics industry. In addition, the food industry market is betting more on products based on hemp oil nanocapsules.

Conclusion: EO nanotechnology is promising for the development of sustainable food systems. However, this nanotechnology in Brazil has not yet advanced enough in the food industry, although there are government incentives that may change this paradigm in the future. The

profile of the patent documents and the products in the market differ between the application and the types of oils. In addition, there is a gap between the volume of patent documents investigated and the transfer of technology to the commercial sector, but this constitution could be better explored, given the properties of EOs.

Keywords: Essential oil nanoparticles; food supplementation; food preservation; patent applications; technology protection.

1. INTRODUCTION

Essential oils are natural liquids extracted from plants, which are volatile, hydrophobic, and have a characteristic aroma. They are an excellent source of different bioactive compounds, such as terpenes and aromatic compounds derived from phenolic components [1,2].

In the industry, EOs are products of great interest, with a wide variety of possible applications in the agricultural, cosmetic, nutritional, and pharmaceutical fields [3], as they have a wide range of biological activities, including antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, and repellent action [4]. They are considered food additives, generally recognized as safe (GRAS), and this property has boosted their application as natural preservatives [2,5].

Essential oils, such as clove oil, thyme, cinnamon, mint, lemongrass, rosemary, and oregano, have already demonstrated broad-spectrum antimicrobial properties, as reported by Rao *et al.* [6]. In addition, antioxidant and antimicrobial properties can be widely used in smart packaging materials [7].

Despite the high potential of EOs for application in different fields, their use still has limitations; EOs exhibit low solubility in water and high sensitivity to various environmental factors, such as light, oxygen, chemicals, heat, pressure, humidity, and pH [1,5]. In this sense, encapsulation is the most promising approach to overcome problems related to the application of EOs.

Nanotechnology has become one of the most favorable technologies to boost food science and other sectors [8]. Nanometric or nanoencapsulated size distribution systems reduce the tendency to phase separation, allow more controlled release of the compounds of interest, and improve the biological activity. Furthermore, they increase the passive cell adsorption mechanisms, thereby improving the antimicrobial activity of EOs [2,5]. In this technology, the doses used are lower, and the impact on organoleptic properties is minimized. Thus, nanoencapsulated EOs are more advantageous than macro systems [5].

Nanotechnology is defined as an incidental, natural, or manufactured material formed by particles in an unbound or aggregated state, and where the distribution of 50% or more of these particles has dimensions on a nanoscale (1–100 nm) [9].

In this context a study on patents can provide precious data on the reality of intellectual property (IP) in EO nanotechnology (EON) [10]. Patent applications are instruments that promote innovation, encourage investment and economic growth, share knowledge, and allow efficient use of resources. They protect a company's products and processes and can help expand the market potential of its inventions. Furthermore, the profits generated by the exploitation of patents can be invested in research and development, which stimulates commercial and industrial growth [11].

Technological prospecting is a process to map a technology, or to identify new markets or even track technological capabilities in a given sector [12].

The search and analysis of patent data play a significant role in the innovative process, providing information on value-added patents that aim to favor research and development (R&D). In this regard, technological prospecting needs to become a routine tool in decision-making processes, which can simplify the dissemination of knowledge and facilitate the understanding of issues related to intellectual property. Prospecting attempts not only to predict what will come but also to indicate a likely route, where possible and desirable ideas are presented as perspectives for something better within a particular horizon [12].

The study aimed to develop a technological prospecting in EON, understand the profile of intellectual property related to patent documents, and verify the possibility of predicting trends in R&D activities.

2. MATERIAL AND METHODS

To determine patent documents on EON, we this research explored patent applications filed in the European database Espacenet, which contains patents published by more than 90 countries. To investigate patents deposited in Brazil and clarify the structure of the Brazilian innovation system, we used the basic data from the National Institute of Industrial Property (INPI).

The patent search was performed using descriptors based on combinations of keywords in the search box Title and/or Abstract. In the search carried out in the Espacenet database, one of the codes of the International Patent Classification (IPC) was also used to obtain a large number of filed patent documents. The patent documents selected for data processing were

those that presented the descriptors that most resembled the EON, as shown in Table 1. A total of 80 patents were found in Espacenet, but only 73 were available, and 26 patents were found in INPI (Brazil) until May 2020. Total data from 99 patent documents were obtained and based on the collected data, tables, and graphs (produced by GraphPad Prism 7.0), a map (produced by VISME - www.visme.com) and word cloud (produced by WordClouds, www.wordclouds.com) were generated to analyze the nanotechnological production of EOs.

The figures created refer to the annual evolution of patents, distribution of patent deposits by country of origin, patent deposits by inventors and depositors, and international classification codes. In addition, a detailed analysis of the complete documents and abstracts was performed to identify the patents related to the topic of interest. In this way, accurate information was collected to construct figures on the profile of patents in relation to the areas of application, the nanotechnological terms used, type of nanoparticle, essential oils, wall materials, and emulsifiers.

Table 1. Descriptors used for analyzing patent data for nanotechnology applied to essential oils.

Keyword and IPC for Search	Search Period	Database	Number of Patent Applications
Nano* and essential oil* and A23 ¹	Sep. 2004 to Sep. 2019	Espacenet	80 (73 available for download)
Nano* and oil* and essential *	Sep. 1991 to Sep. 2018	INPI	26

The International Classification Code A23 refers to foods or foods for foods and their treatment, not covered by other classes.
(meats, oils, and dairy products).

The products available for sale were analyzed in September 2020 in the Nanotechnology products database [13]. Eight hundred and fifty potential results were identified, using the descriptor “oil”; however, after refining the effective application of some types of EOs in nanotechnological form, only 22 products were included. Many products that appeared in the search were correlated with their application in soil or products in which the oil was used as a vehicle for other nanocompounds and therefore were excluded from further analysis.

The Nanotechnology products database collects, verifies, and disseminates information about nanotechnological products by tracking the information received through the definitions of nanotechnology and nanotechnology products, according to the international ISO norms ISO / TS 80004-1: 2015 and ISO / TS 18110: 2015 [14,15].

Reports of works indexed in the Web of Science database were used to assist in discussing the collected data. Furthermore, the worldwide online patent search service WIPS [wipsglobal.com] was also used to assist in the discussion of the present work. It is a platform that provides patent information worldwide about these technologies and analyzes the expansion of international patent law.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Annual Patent Distribution

In this study, EON patenting activity revealed 99 existing patent documents and filed its first registrations in the early 1990s, more specifically in 1991 in the United States of America (USA) (PI 9106881 A) [16]. This patent document protected the design of a shaving system made of insoluble EO in which nanometric quantities of the oil were applied to the skin's surface during shaving.

As seen in Fig. (1), the growth of patenting activity in EON started in 2008, including a concentration of more than 50% of the patent registrations from the year 2011. However, the period between 2015 and 2017 presented the range of highest quantitative expression for these records. In the year 2016, 15 patent applications were registered, reaching the top of the temporal analysis.

Political incentives for technological development, such as the 12th Five-Year Plan for the National Development of Strategic Emerging Industries, may be related to the high number of patent documents found between 2015 and 2017. This initiative was launched by the State Council of China in 2012, which emphasized the development of seven emerging industries, among which nanotechnology was considered as a basic and enabling technology. This fact may have reflected directly in the increase in patent deposits in nanotechnology, as evidenced in China after 2014 [17].

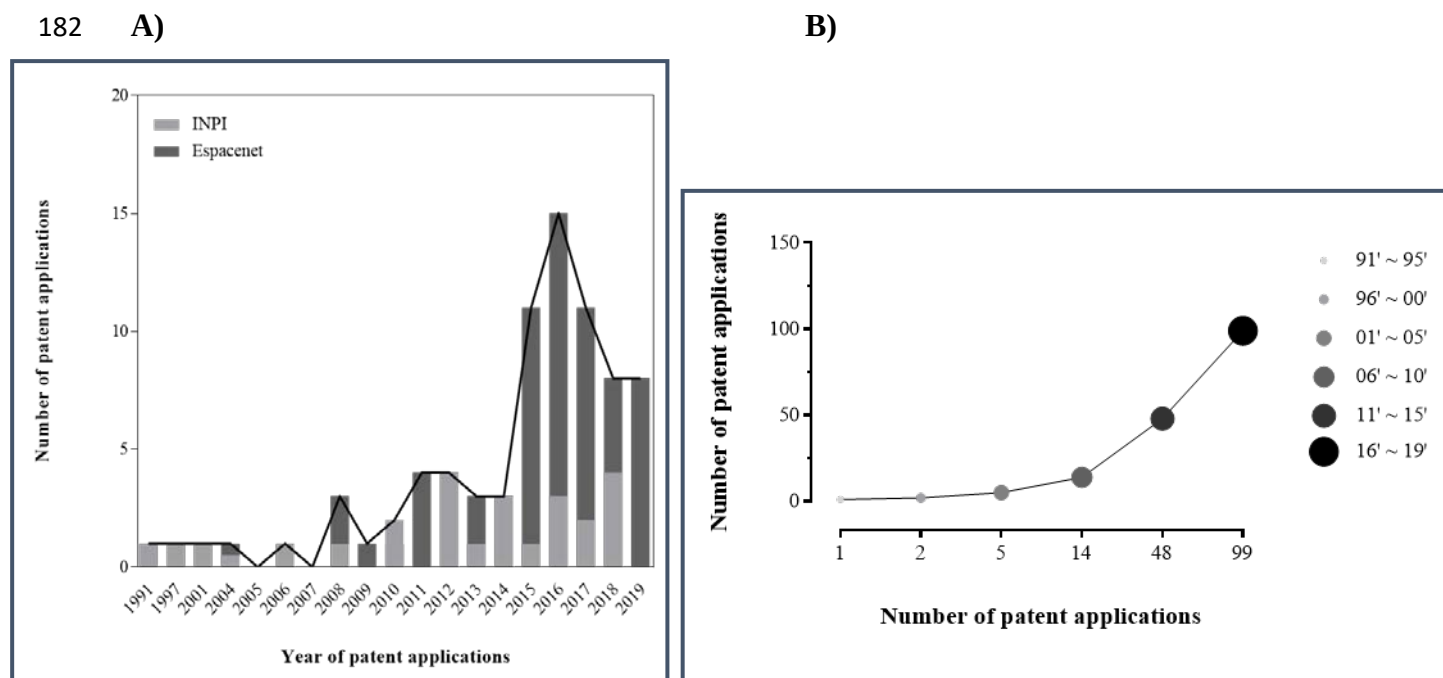


Fig. (1). Annual number of patent applications filed with the Espacenet and National Institute of Industrial Property (INPI). (A) The technological advancement of nanoencapsulation of EOs based on the analysis of the sum of the annual number of patent applications (B) The size of the bubble represents a quantitative amount of the number of patent applications filed in the indicated annual period.

There was a slight drop in patent applications, but this reduction did not reach levels lower than 2015, which shows that this technology remains in evidence. The decline in the number of patent applications between 2018 and 2019 may reflect the confidentiality period, which is necessary at the stage of obtaining patents. It should be noted that there is a period of 18 months relating to the confidentiality of patents (counted from the filing date) and that there is a time lag for documents to be indexed in the database [18].

Patent registrations from the early 90s are a common finding in the field of nanomedicine [9]. Wu *et al.* [17] compared the patenting activity in nanotechnology between the USA and China and found that these two countries obtained the highest number of patents in nanomedicine between 2001 and 2017.

Silva *et al.* [18], conducted a prospective study on oil nanoencapsulation and pointed out that one of the reasons for the increase in nanotechnology patenting in the 2000s may be related to investments in the United States military sector (2002) as well as in Europe, with the implantation of the 6th Guidelines Program (2002 - 2006) by the European Commission, which focused on nanotechnology.

3.2 Geographic Disposition

Nanotechnology is often recognized as an indicator of a country's technological competence in emerging technologies because of its potential in supporting scientific, economic, and social development. Many countries have established policies and funding incentives to support the development of nanotechnology. China and the USA, as the world's two largest economies, have emphasized the development of nanotechnology as part of their national policies [17].

Of the 99 patents identified in this article, more than 70% came from the Espacenet database, with China being dominant in the international EON landscape (Fig. 2), holding more than 50% of the registered patents. Disputing the second place in the world ranking, the USA, North Korea, and the World Intellectual Property Organization (WIPO) shared three associated patents. Although the ranking of records at the INPI is led by Brazil, the presence of countries such as China and the USA in the list confirms the supremacy of these powers in the nanotechnology area.



USA* = United States of America; WO* = World Intellectual Property Organization (WIPO/WIPO); EP* = European Patent Organization (OPE/EPO).

Fig. (2). Publication of scientific articles from China and the USA on nanotechnology from the Web of Science (A) and country of origin of patent applications filed with the INPI (B) and Espacenet (C), with their respective quantitative distributions.

China and the USA are considered the major countries in the number of published articles and patent activities in the international databases in nanotechnology, such as Web of Science (WoS 1996 to 2020: China, 41,16%; USA, 24.38%). Since 2010, China has published most of the patents related to nanotechnology worldwide [19].

3.3. Holders and Inventors

Universities and research institutes are highlighted in the patent filing in EON (Fig. 3). According to INPI data (Brazil), the Federal Universities of Rio de Janeiro (RJ) and Ouro Preto (MG) are the largest depositors with an equal number of patents each. In the international context, the University of Jiangsu (China) takes the lead. These findings show the dominance of universities and research institutes in nanotechnological inventions.

However, one cannot fail to verify the presence of independent depositors such as “MARCO ANTONIO SOARES” and “SUPUQIUKUNJIDI” who accumulate the positions of depositors and inventors (Fig. 3 e 4).

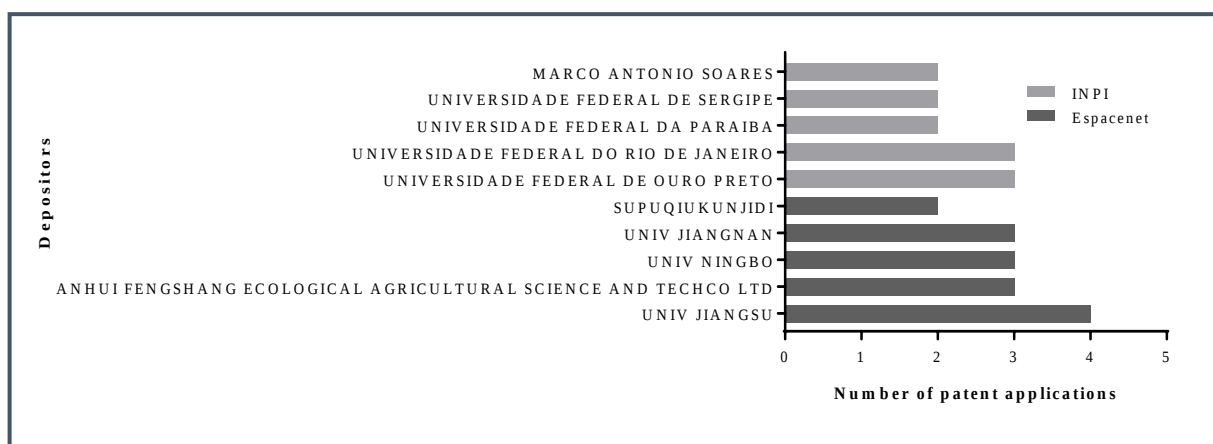


Fig. (3). Distribution of the depositors among the ten most deposited patents in the National Institute of Industrial Property (INPI) and Espacenet.

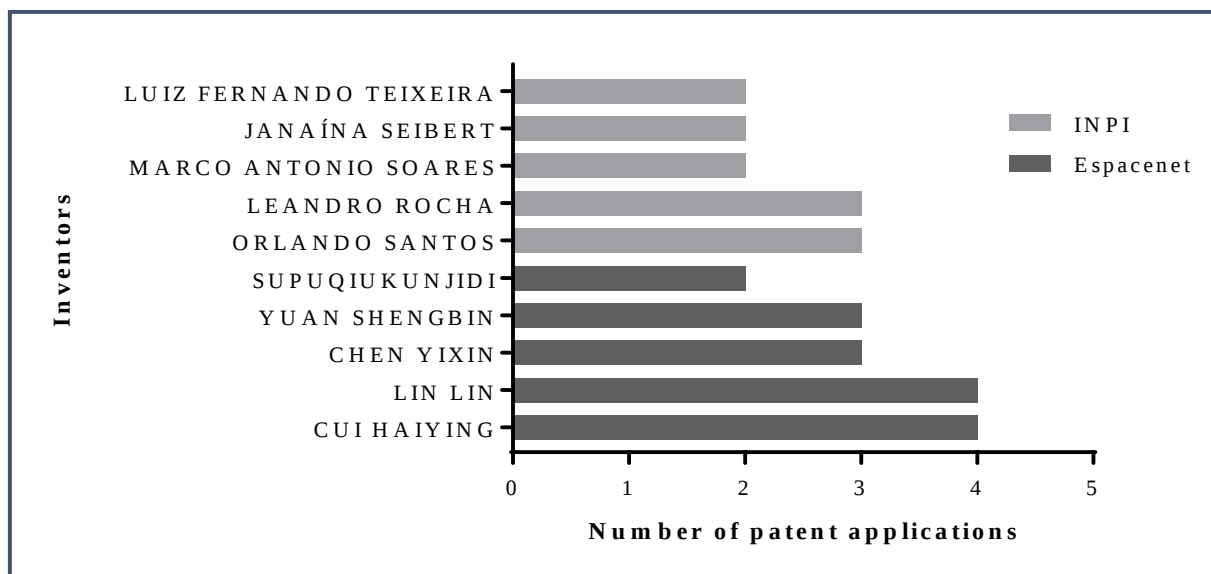


Fig. (4). Distribution of inventors among the ten most patents deposited in the National Institute of Industrial Property (INPI) and Espacenet.

Considering that China is the most prominent country in the activity of nanotechnological patenting of EOs, it is justified that the results of the present study demonstrate the prominence of Asian universities and research institutes in patent filing since they are the dominant contributors to the development of nanotechnology in Asian countries. In addition, China has a steady rate of expansion in research properties, including capacity in physical and human infrastructure [17].

3.4 International Patent Classification

Patent classification systems are widely used by patent examiners to recover the state of the art. The International Patent Classification System (IPC) is one of the most established classification systems, used to categorize patents in various technological fields according to technological content or function [17,20].

The analysis of patents, according to their classification codes (Fig. 5), showed a predominance for the EON application in food preservation (A23B7 and A23L3), followed to a lesser extent by animal feed (A23K50 and A23K10), when using the subsection “A23 - Food or Food Products; their treatment, not covered by other classes” in the search criteria at Espacenet.

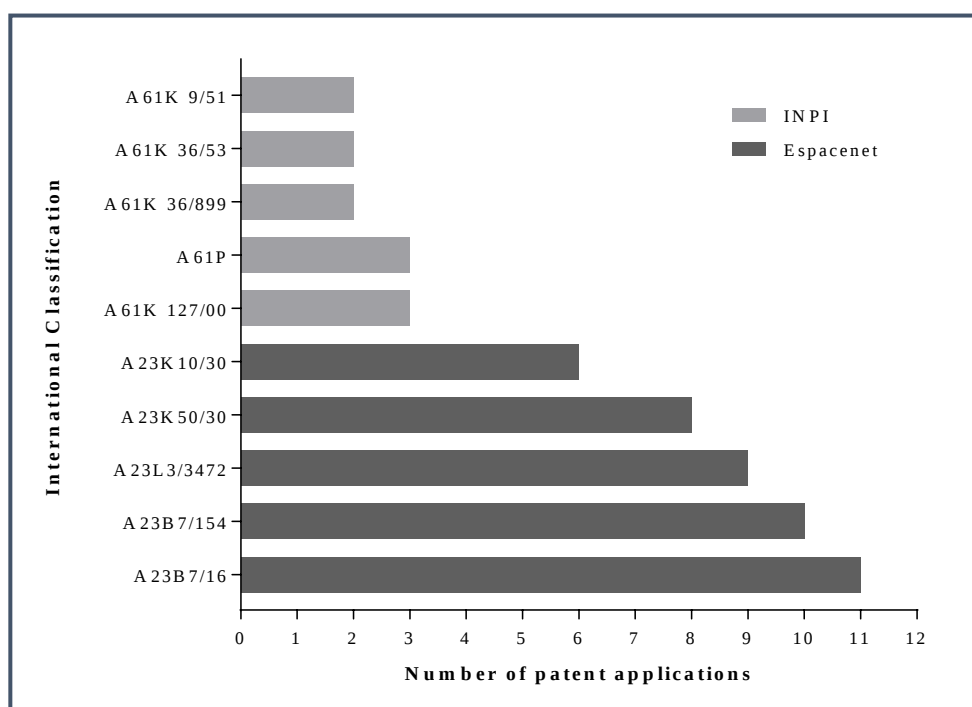


Fig. (5). Distribution of ten International Classification Codes most used by patent documents filed with the National Institute of Industrial Property (INPI) and Espacenet.

Table 2 shows the examples of EON used in food preservation/conservation: Nano-essential oil emulsion used in increasing the shelf life of fresh-cut fruits and vegetables (compound essential oil); Nano liposome used for the preservation of dry-salted hams and preparation of nanoliposomes (black pepper essential oil); Mint essential oil emulsion with high stability (mint essential oil).

278 **Table 2. Patent applications in EON.**

279

Title	Indication of use	Essential oil	Wall material	Emulsifier	Patent document
Food Preservation activity					
Nano-essential oil emulsion and application in fresh keeping of fresh-cut fruits and vegetables	Preservation technology for application on fresh-cut fruits and vegetables	Compound essential oil	Sodium alginate and pectin	Tween 80	CN108925626 (A) [21]
Natural nanometer essential oil preservative and preparation method and application of natural nanometer essential oil preservative	A low-density polyethylene film using the natural nanometer essential oil preservative can be used to preserve meat; it guarantees the nutrition and flavor of fresh chilled pork	Compost essential oil (cinnamon essential oil, thyme essential oil and ginger essential oil)	Chitosan	Polyoxyethylene fatty alcohol ether	CN104026209 (A) [22]
Nano microcapsule preservative, and preparation method and application thereof	Natural preservative for application in industrial production, with good heat stability and good ability to slowly release the active ingredient	Ginger essential oil	Nano SiO ₂ , konjac gum, and sodium alginate	Not specified	CN110200066 (A) [23]
Nano liposome used for the preservation of dry-salted hams and preparation method of nano liposome	Good antioxidant effects, dispersibility, and high stability after application to the surfaces of hams	Black pepper essential oil	Not applicable	Uninformed Tween	CN108782735 (A) [24]

Mint essential oil emulsion with high stability	An antibacterial agent with resveratrol and mint EO that improves resveratrol stability. The method is simple to operate and easy in industrial popularization.	Mint essential oil	Zein-pectin	Not specified	CN108464998 (A) [25]
Process and product in biodegradable multilayers with functional action in quality conservation after harvesting of fruits	Coating effective in reducing the metabolic rate and minimizing the development of phytopathogens that causes high post-harvest losses of fruits and vegetables and enormous losses of agricultural production.	Fennel essential oil	Not applicable	Glycerol and Tween 40	BR 102017022068-0 A2 [26]
Others activities					
Preparation method of citronella essential oil nanocapsules	Citronella essential oil nanocapsule solution is quite stable and free of layers after long-term storage	Citronella essential oil	Sodium agar and carboxymethyl cellulose	Alkyl glycoside APG0810 and polyethylene glycol 400	CN106963663 (A) [27]
Preparation method and application of nanometer emulsion containing sweet orange essential oil	Solid drink containing maltodextrin, aspartame, citric acid, potassium citrate, xanthan gum, and the nanometer emulsion	Sweet orange essential oil	Glucan of succinic ocentyl anhydride	Tween 80	CN107981143 (A) [28]

Cinnamon essential oil nano lipidosome and preparation method thereof	Rich in dispersion properties, uniform in particle size, and high in stability	Cinnamon essential oil	Soy lecithin	Uninformed surfactant	CN103653179 (A) [29]
Ice tea enriched with nano-emulsified essential oils	Iced tea enriched with nanoemulsified essential oils	Uninformed essential oils	Not applicable	Not specified	WO201903578 6 (A2) [30]
Gynecological soap with nanoparticles	Nanoparticles used to treat fungal and bacterial infections as well as other dermatological diseases caused by microorganisms	Rosemary-pepper essential oil	Chitosan and carbopol polymer	PEG 6000 Distearate and Genapol NH	PI 100330049 A2 [31]

As for the INPI, code A23 was also adopted as a search criterion; however, no results were obtained, which have made it necessary to remove this clipping. In this way, the patents were classified, in their majority, with the code A61-Medical or veterinary science and hygiene. Thus, this result shows that nanotechnological inventions using EO in Brazil have little prominence in the food industry. However, some initiatives intend to boost this development and may change the situation, such as the Brazilian Nanotechnology Initiative (IBN) launched by the Ministry of Science, Technology, Innovation and Communications of Brazil in 2019 in which one of the priority themes is “VIII - agribusiness and food” within the strategic program to encourage Nanotechnology in the country [32].

Although the code “B82Y - Specific uses or applications of nanostructures; measurement or analysis of nanostructures; and manufacture of nanostructures” is present in the IPC system, the search for patent documents at the EON theme in the food field did not show any records.

Nanotechnology applied to the agriculture and food sectors can increase global food production, adding nutritional value, quality, and safety. Progress in nanotechnology involves a wide and diverse range of applications in food technology, including food additives, food safety, nanodelivery systems, biosafety, and nanotoxicity [33].

3.5 Patent trends in the essential oils nanotechnology area

To verify the patent application area, documents were classified according to the categories of food industry, agroindustry, pharmaceutical/cosmetics industry, and chemical industry. The food industry category considered inventions with a focus on food preservation and conservation, improvement of stability or physicochemical parameters, and supplementation or enrichment for human consumption. In the pharmaceutical/cosmetics category, those patent documents that presented clinical application, and development of cosmetic products, oral hygiene, and substances for insect control were included. For the agroindustry, products for animal feed and pesticides were considered, and in the chemical industry, registrations that protected technological inventions of household cleaning products or petroleum products were included.

In the present study, it was identified that the main application area for nanotechnological inventions of EOs is the food industry (57%), followed by the pharmaceutical/cosmetics industry (22%), agroindustry (13%), and chemical industry (8%) (Fig. 6). Similarly, Silva *et al.* [18] identified 31% of the application area of oil nanoencapsulation in general in the food industry and 26% in the pharmaceutical industry (drugs and herbal medicines). The high percentage (23%) of documents that did not specify the purpose of the invention within the food industry sector is justified by the reduced information declaration in the abstracts released.

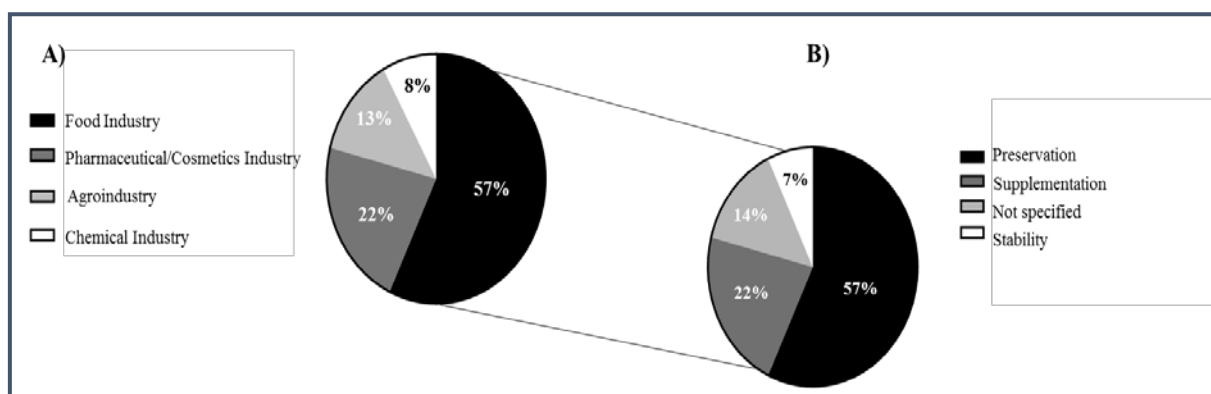


Fig. (6). Application areas of EON from INPI and Espacenet (A), and application of EON in the food industry (B).

Regarding the food industry, the activity of food preservation and conservation is the most patented area in terms of EON, holding 57% of the patent documents registered with this theme. China had the highest contribution to the application of EON in the food industry, with 39 patents in this area (data not shown).

Food supplementation is also an outstanding interest in the food industry, with 14% of associated records, in addition to the application focusing on the stability of food products (7%). Examples of these applications are listed in Table 2.

The agrifood industry has made several financial investments in research focused on nanotechnology. According to Singh [34], nanofood is described as food developed using nanoparticles or nanotechnology in the stages from cultivation, production, and processing to food packaging. The benefits of nanotechnology for agricultural and animal production systems are multifaceted, offering, among other options, the potential to expand and transform the entire agrifood sector, increase food security, agricultural productivity, and the economic development of industries [35].

Nanotechnology can be used for many purposes, including reducing the need for pesticides, improving the use of nutrients, and preventing, diagnosing, and treating diseases in animals [36,37]. In this sense, the application of nanopesticides has emerged as a new strategy to solve agricultural problems since some of the recently developed controlled release inventions have higher yields compared to the commercial formulations. [34]. Despite the importance of nanopesticides, no patents in this study were found that applied EOs for this purpose. Therefore, in the agroindustry, improving animal feed has been the major target.

In the field of animal feed, some patent documents described the development of related products. The patent CN110140830 (A) [38] protected a formula containing oregano essential oil, which allows the production of highly nutritious eggs by birds, and the patent CN107535688 (A) [39] protected an antibacterial feed additive for poultry based on the nanoliposomes of thyme essential oil (data not shown).

Nanotechnology has been widely used in the elaboration of coatings or films to assign mechanical, thermal, and barrier resistance (against gases, volatile compounds, and moisture) and improve the packaging and texture of foods. Moreover, nanotechnology has been used as carriers of functional agents, providing flavors, colors, nutrients, antioxidants, and antimicrobial activity [33,34]. Nanotechnological strategies can also mask odors and flavors and can also improve the appearance of food [35]. As a result, nanotechnology has the potential to improve food safety and extend the shelf life by protecting against deterioration in physicochemical or microbiological quality generated by exposure to environmental stimuli. Chemical contaminants, microbiological hazards, and pathogens are a major concern for the food and other industries [33]. The patents CN104026209 (A) [22] and BR 0102017022068–0 A2 [26], as shown in Table 2, exemplify this application well.

Nanotechnology applications of silver and EO nanoparticles are being developed for use in food processing systems to eliminate microorganisms without increasing antibacterial resistance. The application of nanotechnology in food processing systems achieves antimicrobial protection against pathogenic microorganisms and deterioration [35]. For this purpose, the patent CN108464998 (A) developed an emulsion based on mint essential oil to improve the stability of resveratrol and to prepare an antibacterial agent (Table 2) [25].

In the pharmaceutical/cosmetics industry, the progress of nanotechnology has led to a new class of products, the so-called nanopharmaceuticals, defined as drug molecules formulated with nanomaterials [35]. The Brazilian patent document BR 102015027462 9A2 protected a hydrogel nanoemulsion of essential oil of *Hyptis pectinata* with long-lasting analgesic action to combat chronic non-inflammatory muscle pain [40].

In the pharmaceutical industry, an improvement in the effectiveness of drugs on the wound healing process has been a concern the so-called wound healing [41]. In this prospecting, patent documents with applications of EOs in healing wounds were not recovered; however, there have been efforts to improve the antimicrobial potential of topically applied devices, in preventing infections and promoting tissue regeneration [42].

Essential oils are considered potent and promising therapies for improving wound healing processes due to their active components [43]. Several studies have shown that the antimicrobial potential of EOs in dressings can be attributed to their different bioactive compounds, such as menthol cinnamaldehyde, thymol, carvacrol, and geraniol [44]. Saporito *et al.* [42] demonstrated that nanoparticles loaded with eucalyptus essential oil improve the healing properties of fibroblasts, associated with antimicrobial properties. In addition, the *in vivo* results (rat burn model) showed the ability of these nanoparticles to enhance the healing process.

The patent document US2017020171 (A1) [45] was recovered in this prospecting, with application in the chemical industry (8%; Fig. 6). The patent protected a spontaneous emulsification method to manufacture antimicrobial nanoemulsions from EOs, for use as a general disinfectant and food disinfectant. Nanomaterials have been prepared in various ways in the chemical industry, for example, for the disinfection of wastewater, and may have a direct action on the bacterial cell or the oxidation of cellular components [46].

3.6. Nanotechnological Terminology

Fig. (7). shows the word cloud that visually demonstrates the main words associated with nanotechnology in the patents recovered in this work. The nanotechnological term most

used, from the analysis of titles and abstracts, was nano-emulsion and nanoparticles, followed by nanometer, nano-liposome, nano-emulsified and nanocapsule. Nanoemulsion is a clear dispersion of two immiscible liquids, like oil and water, stabilized by an interfacial film of surfactant molecules [47]. They can be obtained through different methods, such as high-pressure homogenization, microfluidization, high-speed mechanical homogenization, ultrasonication, spontaneous emulsification, phase inversion, membrane emulsification, emulsion inversion, and solvent displacement [48].

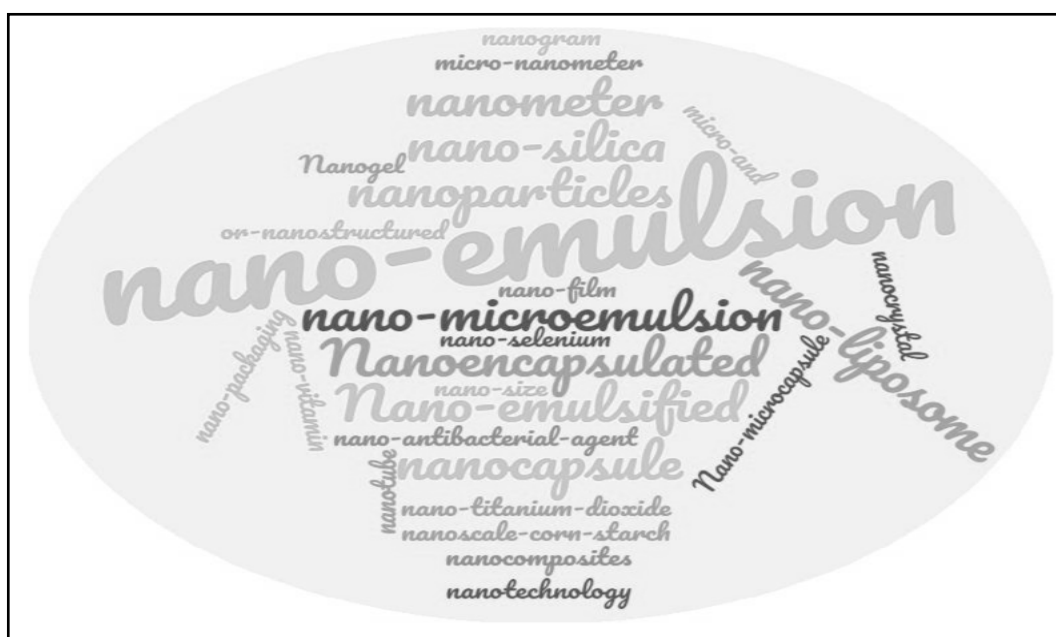


Fig. (7). Word cloud indicating the terminologies associated with EON, mentioned in the patent documents from INPI and Espacenet.

Nanoemulsions are transparent or translucent, while macroemulsions (> 100 nm) are usually cloudy. Owing to their smaller particle size, nanoemulsions are much more stable against flocculation, coalescence, and creaminess, which make them excellent candidates for the food industry (improving flavors, aromas, textures, and consistency). Moreover, nanoemulsions can be used as delivery agents for medicines since the small particle sizes of lipid compounds increase their bioavailability, bioeffectiveness, and stability [35,49].

3.7 Patent Profile

The patent profile was established after a thorough analysis of the records from the perspective of the type of EO, nanoparticle, wall material, and emulsifier. These last two cases were only verified for nanoencapsulated particles.

3.7.1 Types of nanomaterials

Lipid-based nanocarriers nanoparticles (Fig. 8) were the most evident nanotechnological form in the studies analyzed in comparison to the biopolymer nanocapsules. This finding corroborates the results of the word cloud (Fig. 7) in which the most pointed nanotechnological term was nano-emulsion.

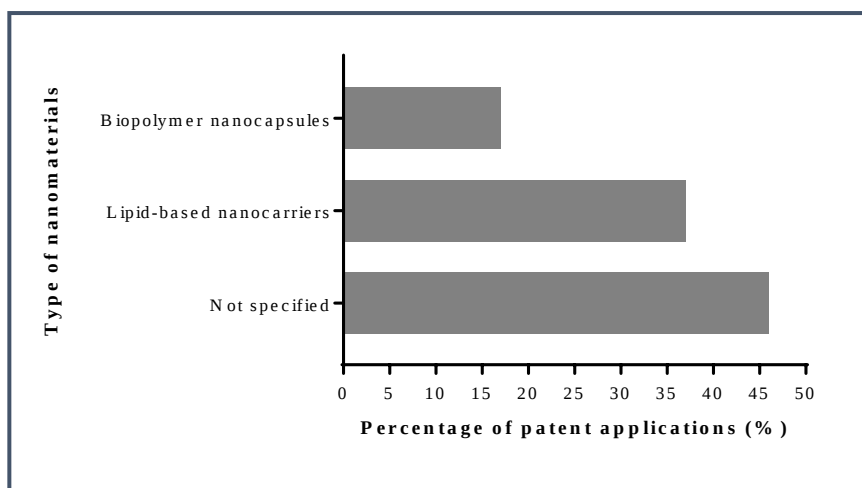


Fig. (8). Types of nanomaterials mentioned in the patent documents from INPI and Espacenet.

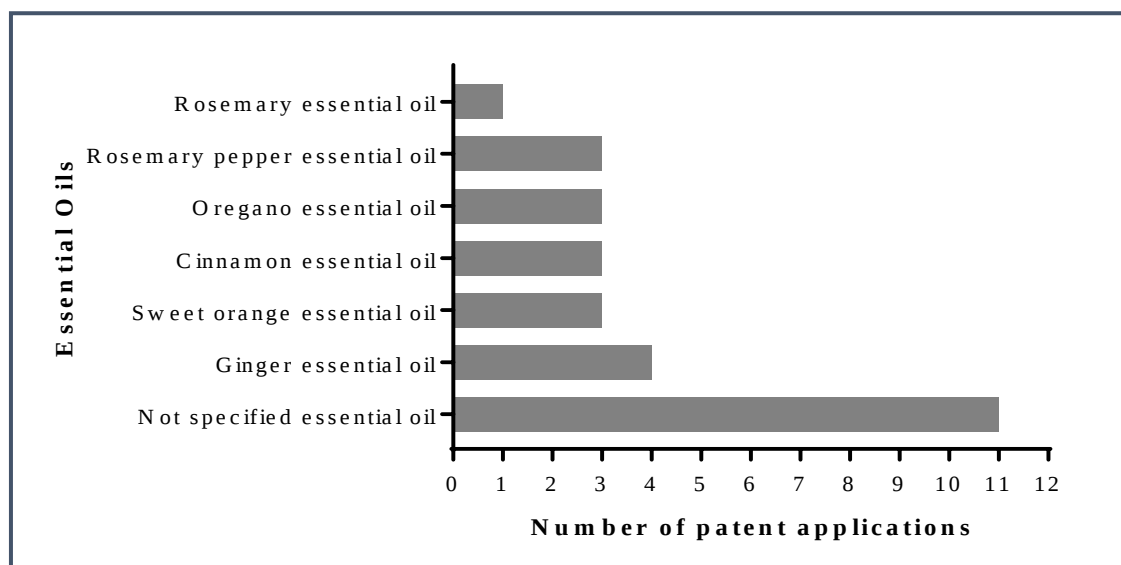
Different nanocarriers have already been used for the encapsulation of EOs [1]. Lipid-based nanocarriers (e.g., nanoemulsions, nanoliposomes, nanostructured lipid carriers, and solid lipid nanoparticles) and biopolymer nanocapsules or microcapsules (substance-stabilized capsules, polysaccharides, or their combination) are the two major encapsulation systems used in the industry [5].

Nanocarrier systems are useful solutions for expanding the distribution of bioactive molecules, such as vitamins, antioxidants, fatty acids, lycopene, and minerals. Encapsulation in biopolymer nanocapsules is a method in which one or more substances are attached to a matrix or wall structure. The ingredient of interest to be immobilized is known as the active part of the material or core, and the outer part of the capsule is called the wall or encapsulating material [50].

3.7.2 Essential oils (EOs)

As seen in the patent documents, the most commonly used EOs were ginger, sweet orange, cinnamon, oregano, rosemary pepper, and rosemary essential oil, respectively. However, it is important to mention that the specific type of EO was not disclosed in the abstracts of 11 documents (Fig. 9).

439



440 **Fig. (9).** Types of widely used EOs, according to the analysis of patent documents from INPI
 441 and Espacenet.

442

443 EOs are well-known natural and promising compounds for their different activities, such
 444 as antibacterial, antifungal, antiviral, antioxidant, anticancer, immunomodulatory, analgesic,
 445 and anti-inflammatory actions. The complex chemical constitution of EOs and their high
 446 density of terpenes (diterpenes, monoterpenes, and sesquiterpenes) and other oxygen
 447 compounds (ketones, esters, phenols, aldehydes, oxides, and alcohols) can transform the
 448 membrane and cell wall of microorganisms, resulting in the release of cell contents [51].

449 Because they have limited applications in free form, due to the presence of compounds
 450 with low water solubility, flavor properties, and the need for large quantities to induce inhibitory
 451 effects on bacteria, the use of EO nanoparticles can solve this problem [48]. The antibacterial
 452 effect of EOs is based on their ability to break through the bacterial cytoplasmic membrane,
 453 affecting the cell barrier and matrices for enzyme synthesis and for their role in energy
 454 transduction, which results in the reduction of bacterial cell viability, leading to death [52].

455 Some EOs and their bioactive compounds have already been listed as GRAS [53]. All
 456 EOs have functional groups that play an antimicrobial function, including alcohols (geraniol,
 457 menthol, citronellol, terpineol, linalool, and borneol), aldehydes (citral, cinnamaldehyde,
 458 citronellal, vanillin, and benzaldehyde), ketones (menthone, camphor, pulegone, carvone, and
 459 thujone), esters (cinnamates, benzoates, salicylates, and acetates), oxides (cineol), acids
 460 (isovaleric, benzoic, myristic, and cinnamic acids), phenol ethers (safrol and anethol),
 461 hydrocarbons (storene, cymene, sabinene, and myrcene), phenols (eugenol, carvacrol, and
 462 thymol) and terpenes (camphene, limonene, pinene, phellandrene, and cedrene) [54].

In this prospecting, ginger essential oil is the most common oil used in nanotechnological inventions protected by patent documents (Fig. 9). The patent document CN110200066 (A) [23] protected the invention of a biopolymeric nanocapsule based on ginger essential oil (Table 2). Noori *et al.* [55] studied the potential of ginger essential oil, which α -zingiberene is one of the major active compounds, to increase the shelf life of foods. They developed an edible coating based on nanoemulsion of ginger essential oil and applied it to chicken fillets.

One application of sweet orange essential oil is described in the patent document CN107981143 (A) [28] (Table 2). Sweet orange essential oil nanoemulsion, at concentrations between 1.78 and 2.40 $\mu\text{g/mL}$, has also been shown to be effective in the control of *Listeria monocytogenes* [56]. Jun-Xia *et al.* [57] encapsulated sweet orange essential oil in isolated soy protein and gum arabic and found that one of the main active ingredients of this oil is D-Limonene.

Jiménez *et al.* [58] studied the effects of different emulsification methods on the physicochemical properties, stability, and antimicrobial action of micro and nanoemulsions prepared with cinnamon and black pepper essential oils. They showed essential oil that the nanoemulsion of cinnamon showed better antioxidant activity than that of black pepper. The aroma and flavor of this oil, in addition to its antibacterial properties, are particularly associated with the presence of compounds such as cinnamaldehyde [58]. In the same vein, the patent document CN106665799 (A) [59] recovered in this study, protected a fish preservative based on cinnamon essential oil, with strong antioxidant activity, capable of inhibiting the oxidative rancidity of fat. Another patent application for this oil in the food area is CN103653179 (A), as shown in Table 2 [29].

Supuqiukunjidi [38] protected the invention of a self-emulsifying oregano essential oil formula, which allows the production of highly nutritious eggs with a high level of minerals in the shell. Birds are supplemented with the natural oregano essential oil emulsion to improve intestinal health (CN110140830 (A)). Dávila-Rodríguez *et al.* [48] evaluated the antimicrobial activity of cinnamon, rosemary, and oregano essential oil nanoemulsions in fresh celery inoculated with *Escherichia coli* and *L. monocytogenes*. They showed that oregano essential oil nanoemulsion is more effective in inhibiting the growth of these bacteria.

Many studies suggest that natural compounds can inhibit oxidative rancidity processes and thus improve the shelf life of products, playing the role of natural antioxidants when used in the form of extracts or EOs. Phenolic compounds are the main constituents of herbs, spices, vegetables, fruits, and oilseeds, which show valuable antioxidant abilities and consequently

inhibit oxidative damage. The active compounds of plants belonging to the *Lamiaceae* family are among the most researched. Oregano (*Origanum vulgare* L.) is one of the main representatives of the *Lamiaceae* family that contains two major components: β -cimenol and carvacrol. The essential oil of rosemary, another *Lamiaceae*, contains the compound 1R- α -pinene [48,60].

Rosemary pepper plant is originally from northeastern Brazil and is widely used in folk medicine as a local antiseptic and antifungal. Its antimicrobial and antibacterial properties are mainly associated with the presence of the compound thymol [61]. In this prospecting, there was a wide application of this essential oil in the pharmaceutical/cosmetics industry, as exemplified in the patent document PI 100330049 (A2) [31], (Table 2).

Regarding rosemary essential oil, the patent document CN110495488 (A) [62] protects the invention of a nanoliposome to be used in the conservation of aquatic products. Inulin nanocapsules loaded with rosemary essential oil have already been shown to be more effective against *E. coli* and *L. monocytogenes* when compared to oil in the free form [48].

3.7.3 Wall material and emulsifier

In the present study, 64 and 70% of the analyzed documents did not declare the type of wall material or emulsifier chosen, respectively (data not shown). Limiting the details of inventions is common in nanotechnological propositions, as reported by Silva *et al.* [18]. This omission can be justified by the authors requesting protection of their work and other procedural elements in the initial stages, therefore, not allowing its public release.

From the declared information, chitosan was the most commonly used wall material in the inventions of nanoencapsulated EOs (biopolymer nanocapsules). Sodium alginate took second place together with other materials, such as xanthan gum, pectin, and whey protein. Tween 80 and polysorbate 80 were the most commonly used emulsifiers, which are synonymous.

Chitosan, obtained through the deacetylation of chitin, is a linear polysaccharide used to manufacture nanoparticles. Besides, chitosan also has antimicrobial potential [35,63]. Alginate, a natural, low-toxic, and hydrophilic polymer, has been combined with chitosan to obtain a compound with better delivery behavior than polymers alone [64]. Patents that applied chitosan or alginate as wall materials are shown in Table 2. Emulsifiers are used to stabilize nanoemulsions, as they can reduce interfacial tension and help in the generation of small and stable nanomaterials. The most commonly used emulsifiers are surfactants, phospholipids, proteins, and polysaccharides [47].

Several scientific studies have adopted the use of the emulsifier Tween 80 to obtain EOs in nanotechnological form. Carbone *et al.* [51] developed nanostructured lipid transporters using EOs of rosemary, lavender, oregano, and thyme. Dávila-Rodríguez *et al.* [48] used Tween 80 to prepare cinnamon, rosemary, and oregano EO nanoemulsions. Moradi *et al.* [49] used Tween 80 to develop nanoemulsions based on the EOs of thyme, *Zataria multiflora*, and rosemary.

4. MARKET AND INTELLECTUAL PROPERTY

Nanotechnology has already been used for the development and commercialization of new oil-based products. In the Nanotechnology products database [13], several products available for sale were identified, pointing out the market trends for nanotechnology applied to products that have oils as the main components of interest.

Table 3 shows some of the oil-based nanotechnological products. Twenty-two products were found, all launched between 2017-2019, and the highest number of products were developed in 2018 (11 products). In patent tracking, 2016 was identified as the peak year of patent filing; therefore, the finding of the highest index of products launched onto the market from 2017-2019 is convergent, even though they are not exclusively based on EOs.

Table 3. Commercially available products developed with nanotechnology applied to oils.

Application area	Product	Oil type (shape)	Purpose	Company/County
Pharmaceutical/Cosmetics Industry	Nano Nails	Clove and melaleuca essential oil (Nanoliposome)	Antimicrobial and antiseptic properties; effective in repairing damaged, opaque, whitish, and brittle nails	Doce Erva Ltda / Brazil
	Fungi Mai	Clove and melaleuca essential oil (Nanoliposome)	Antifungal activity, nutrition, recovery, hydration, and strengthening of nails	Podal Nano Cosmetics / Brazil
	Argan Nanooil	Argan oil (Nanoliposome)	Eliminates frizz, provides shine, and facilitates hair brushing. Protects thermal procedures	Kaedo Group/ Brazil
	Moisturizing Shampoo with Batana Oil	Batana oil (Nanocapsule)	Hair repair	Facinatus Cosméticos/ Brazil
	Nectar	Hemp oil (Nanocapsule)	Improves chronic pain; stress relief and reduced inflammation	Nanolabs Global / USA
	Extra Strength Pain Gel	Hemp oil (Nanocapsule)	Gel cream for arthritis pain	Nanolabs Global / USA
	ReNu HEALTH – CBD Hemp	Cannadibiol - CBD oil (Nanoemulsion)	Improved circulation, immune system, heart health, reduced	NuRoots Inc/ USA

	Oil with Pomegranate		inflammation, and blood pressure control	
	Zystein's Amazing Pain Cream	Unspecified EOs (Nanoliposome)	Topical cream for eczema, insect bites, arthritis, muscle pain, and hemorrhoids. It has antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, antiviral, and antioxidant activities	Zystein, LLC / USA
Food industry	Aceite de C������ RH Oil5	Hemp oil (Unspecified)	Nutritional supplement	HempMeds/ Mexico
	ALPHAZS Skinny Tea Tablets	Hemp oil (Nanocapsule)	Metabolism improvement, cellular hydration, weight loss, and fat burning	Nanolabs Global/ USA
Chemical industry	NANO chainlube	Oil (Unspecified)	Excellent long-term lubricant for bicycle chains. Oil developed using nanotechnology	REMA TIP TOP/ Germany

Regarding the origin of the companies that commercialize the products, the USA and Brazil were tied at the first position, with seven products each, followed by Malaysia (3), Iran (2), Germany (2), and Mexico (1) (data not shown). In general, the USA market is a sector that exchanges and shares knowledge and resources in research, attracting many international partnerships and financing. American companies play a major role in the development of nanotechnology in the USA, resulting in many industrial collaborations [17]. In the Brazilian scenario, of the seven products found, all are focused on the cosmetic sector, using EOs of clove and melaleuca and vegetable oils of argan and batana.

With regard to the products found, only three of them were developed using EO formulations, such as “Zystein's Amazing Pain Cream”, an American topical cream based on unspecified EO nanoliposomes, which is intended for the treatment of eczema, insect stings, arthritis, muscle pain, and hemorrhoids and claims to have antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, antiviral, and antioxidant properties. The other two products found in the results were “Nano Nails”, a Brazilian nail based on nanoliposome encapsulating EOs of clove and melaleuca, which has antimicrobial and antiseptic properties, in addition to proven clinical effectiveness in repairing damaged, opaque, whitish, and brittle nails; and “Fungi Mai”, another Brazilian nail based on nanoliposome encapsulating EOs of clove and melaleuca, but marketed by another company, which has antifungal activity and helps in nutrition, hydration, strengthening, and recovery of nails. Notably, all these products have applications in the pharmaceutical/cosmetics industry.

The most well-known constituent of clove essential oil is eugenol, which has been extensively used in the food and pharmaceutical/cosmetics industry [65]. In this prospecting,

two patent documents that used this oil were identified, both with application in the food industry, diverging from the focus given to commercial products for application in the pharmaceutical/cosmetics industry, according to the Nanotechnology products database.

In the patent document CN110178892 (A) [66], the application aimed to conserve fresh-cut fruits and vegetables by applying a nanoemulsification of clove essential oil with xanthan gum. In the same vein, the second patent document CN108065168 (A) described the use of clove essential oil nanoliposomes in the elaboration of steamed bean curd rolls [67]. The increase in shelf life associated with the application of essential clove oil in food has been investigated in scientific studies. Hasheminejad & Khodaiyan [5] found that chitosan nanoparticles with clove essential oil conferred protection against undesirable microbial, physicochemical, and sensory changes, thus improving the shelf life of pomegranates.

The use of tea tree essential oil (melaleuca) in the pharmaceutical/food industry is well known. Dermatological applications of tea tree oil have been investigated in the treatment of acne vulgaris and psoriasis. Moreover, the antibacterial activity of tea tree oil against *E. coli* has been investigated with promising results [68]. However, despite the highlighted properties, no patent documents were found on the development of tea tree oil-based nanotechnological inventions.

The pharmaceutical/cosmetics industry had the largest number of products available for sale (59%), followed by the chemical industry (32%). The food industry only presented two products available on the market, from companies in Mexico and the USA. They used hemp oil for nutritional supplementation, which was a different application from what was observed in the tracking of patent documents, indicating a possible deficit transferring technology to the food market.

Applications in the pharmaceutical/cosmetics industry are also being explored for oils derived from the *Cannabis sativa* Linn plant (hemp and cannabidiol-CDB oils), which were the most frequent oils (n = 7) found in the researched nanotechnological products. These industries have focused on developing products for the treatment of chronic pain, rheumatic pain, nausea, dermatitis, and eczema, reduction of epileptic seizures, and improvement of acne [69].

Hemp (*Cannabis sativa* L.) is one of the many plants rich in bioactive compounds that have been exploited for developing health foods and for medicinal purposes [70]. Hemp oil has applications in beverages and nutraceutical products, in addition to cosmetics and hygiene items [69]. In addition to fiber, therapeutic hemp, oil, and seeds, cannabidiol oil (CDB oil) is found in the *Cannabis sativa* L plant [69].

In this work, hemp oil was widely used in the development of products that relieve chronic pain. Hemp oil is a nutraceutical of interest due to its composition of minerals, dietary fiber, amino acids, essential fatty acids, proteins, and polyphenols. In addition, hemp oil is an excellent source of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) (75-80%) with linoleic or omega-6 fatty acid and alpha-linolenic or omega-3 fatty acid in proportions considered ideal for human health. These molecules have been extensively investigated for their immunomodulatory, anti-inflammatory, and oxidative stress modulation effects [69,70]. In the field of nanotechnology, Izgelov *et al.* [71] demonstrated the use of nano self-emulsifying drug delivery systems on the absorption of Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and Cannabidiol (CBD) cannabinoids.

Finally, with regard to the chemical industry, there have been many applications of nanotechnology in engine lubrication oils, which promise to create a thin layer of nanoparticle lubrication on parts to achieve superior performance in vehicles.

CONCLUSION

In this patent study, we identified limits and advances in the development of EO nanotechnology by exploring records of documents available between 1991 and 2019. China was found to have the highest share of patents on EO nanotechnology, mainly through studies developed by universities and research institutions. Nanoemulsions are common for the elaboration of nanotechnological forms of EOs, and chitosan is widely used as a wall material for the production of nanocapsules. Several EOs can be used, and many others can be better explored, such as rosemary essential oil.

Nanotechnological inventions of EOs have wide application in the food industry, and it is possible to extend their uses throughout the supply chain, which can result in a more sustainable agriculture and food system. Essential oils have diverse applications, such as the elaboration of natural preservatives, nanopesticides, ingredients, and food additives. Nanoencapsulated EOs enhance the market value of products, as they are natural compounds that provide antioxidant protection and antimicrobial activity in food preservation, in addition to being safer for health.

Brazil has not yet fully explored EON in the development of natural and safe additives for the food industry, unlike developed countries such as China. However, this scenario can be changed, given the presence of public incentives.

This study highlights the wide possibilities of applying EOs in the food industry, as verified in the study of patents. However, in the marketing field, the focus on the use of oils, especially EOs, is greater for the pharmaceutical/cosmetics industry. In addition, the food

industry market bet more on products based on hemp oil nanocapsules. Therefore, there is a gap between the volume of patent documents investigated and the technology transferred to the commercial sector. The applications of EO nanotechnology can be better explored, given the benefits and properties of EOs.

CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable.

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

The data supporting the findings of this article are available at the National Institute of Industrial Property (INPI), Espacenet, Nanotechnology Products Database, and Web of Science at <https://www.gov.br/inpi/pt-br>, <https://www.epo.org/searching-for-patents/technical/espacenet.html>, <https://product.statnano.com> and https://apps-webofknowledge.ez10.periodicos.capes.gov.br/WOS_GeneralSearch_input.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&SID=8A2eJZVXlJnre6h6QwF&preferencesSaved=, respectively.

FUNDING

This work was financially supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Process n° 423478/2016-8).

CONFLICT OF INTEREST

The authors confirm that this article content has no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to express their special gratitude to members of the Centro Universitário do Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial, the Centro Integrado de Manufatura e Tecnologia (SENAI/CIMATEC), and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

REFERENCES

- Shetta A, Kegere J, Mamdouh W. Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2019;126:731–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.161>

- 675 2. Hemmatkhah F, Zeynali F, Almasi H. Encapsulated Cumin Seed Essential Oil-Loaded
676 Active Papers: Characterization and Evaluation of the Effect on Quality Attributes of
677 Beef Hamburger. *Food Bioprocess Technol.* 2020;13(3):533–47.
- 678 3. Hasani M, Hasani S. Nano-encapsulation of thyme essential oil in chitosan-Arabic gum
679 system: Evaluation of its antioxidant and antimicrobial properties. *Trends Phytochem*
680 *Res.* 2018;2(2):75–82.
- 681 4. Matos SP, Teixeira HF, De Lima ÁAN, Veiga-Junior VF, Koester LS. Essential oils and
682 isolated terpenes in nanosystems designed for topical administration: A review.
683 *Biomolecules.* 2019;9(4).
- 684 5. Hasheminejad N, Khodaiyan F. The effect of clove essential oil loaded chitosan
685 nanoparticles on the shelf life and quality of pomegranate arils. *Food Chem* [Internet].
686 2020;309(November 2018):125520. Available from:
687 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125520>
- 688 6. Rao J, Chen B, McClements DJ. Improving the Efficacy of Essential Oils as
689 Antimicrobials in Foods: Mechanisms of Action. *Annu Rev Food Sci Technol.*
690 2019;10(1):365–87.
- 691 7. Mahmud J, Khan RA. Characterization of Natural Antimicrobials in Food System. *Adv*
692 *Microbiol.* 2018;08(11):894–916.
- 693 8. Ferreira CD, Nunes IL. Oil nanoencapsulation: development, application, and
694 incorporation into the food market. *Nanoscale Res Lett.* 2019;14.
- 695 9. Choi Y, Hong S. Qualitative and quantitative analysis of patent data in nanomedicine for
696 bridging the gap between research activities and practical applications. *World Pat Inf*
697 [Internet]. 2020;60:101943. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2019.101943>
- 698 10. Vincent CL, Singh V, Chakraborty K, Gopalakrishnan A. Patent data mining in fisheries
699 sector: An analysis using Questel-Orbit and Espacenet. *World Pat Inf* [Internet].
700 2017;51:22–30. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2017.11.004>
- 701 11. Gavaraskar KN, Kulkarni M. Ascertaining reasonable certainty for claim definiteness in
702 US patents: An analytical framework. *World Pat Inf* [Internet]. 2020;60(March
703 2019):101949. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2020.101949>
- 704 12. Linhares AMF, Grando RL, Borges CP, da Fonseca FV. Technological Prospection on
705 Membranes Containing Silver Nanoparticles for Water Disinfection. *Recent Pat*
706 *Nanotechnol.* 2018;12(1):3–12.
- 707 13. StatNano. Nanotechnology Products Database [Internet]. 2020 [cited 2020 Sep 20].
708 Available from: <https://product.statnano.com/>
- 709 14. International Organization for Standardization. ISO/TS 80004-1:2015 Nanotechnologies
710 — Vocabulary — Part 1: Core terms. 2015.
- 711 15. International Organization for Standardization. ISO/TS 18110:2015 Nanotechnologies
712 — Vocabularies for science, technology and innovation indicators. 2015.
- 713 16. Davis IJ, Rogers BA, Tsang MM. Sistema de barbear, processo para formar um
714 compositório auxiliar de barbear conformado a respectivo compósito auxiliar de barbear.
715 PI 9106881 A; 1991.
- 716 17. Wu L, Zhu H, Chen H, Roco MC. Comparing nanotechnology landscapes in the US and

- China: a patent analysis perspective. *J Nanoparticle Res.* 2019;21(8).
18. Silva VDL, Oliveira TS, Souza CO De, Druzian JI, Aparecida B, Machado S, *et al.* Technological Prospection of Oil Nanoparticles : Primary Characteristics and Profiles. *Recent Pat Nanotechnol.* 2020;14:1–13.
 19. Zhu H, Jiang S, Chen H, Roco MC. International perspective on nanotechnology papers, patents, and NSF awards (2000–2016). *J Nanoparticle Res.* 2017;19(11).
 20. Degroote B, Held P. Analysis of the patent documentation coverage of the CPC in comparison with the IPC with a focus on Asian documentation. *World Pat Inf [Internet].* 2018;54:S78–84. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2017.10.001>
 21. Zhaomei W, Yishuo Y, Kaijun X, Mingkun Z, Zhenhui P. Nano-essential oil emulsion and application in fresh keeping of fresh-cut fruits and vegetables. CN108925626 (A); 2018.
 22. Jing H, Xuge W, Zuobing X, Weijun D, Wencheng B. Natural nanometer essential oil preservative and preparation method and application of natural nanometer essential oil preservative. CN104026209 (A); 2014.
 23. Yang L, Yong Y, Yongde W, Juan L, Gang C, Zhen W, *et al.* Nano microcapsule preservative, and preparation method and application thereof. CN110200066 (A); 2019.
 24. Jinxuan C, Daodong P, Lianchao W, Guanghong Z, Huhu W, Jun X. Nano liposome used for preservation of dry-salted hams and preparation method of nano liposome. CN108782735 (A); 2018.
 25. Li L, Hao C, Chun Y, Zheng F. Mint essential oil emulsion with high stability. CN108464998 (A); 2018.
 26. Penna CR de A, Silva S de M, Lima RP, Beaudry RM. Processo e produto em multicamadas biodegradáveis com ação funcional na conservação da qualidade pós colheita de frutos. BR 102017022068-0 A2; 2019.
 27. Mingqin L. Preparation method of citronella essential oil nanocapsules. CN106963663 (A); 2017.
 28. Tao F, Hui W, Haining Z, Yu Z, Xiaolan Z, Jingjing W, *et al.* Preparation method and application of nanometer emulsion containing sweet orange essential oil. CN107981143 (A); 2017.
 29. Jiulin W, Qiqing Z, Shangying G, Shuang W, Hui L, Li C. Cinnamon essential oil nano lipidosome and preparation method thereof. CN103653179 (A); 2014.
 30. Feyza TE, Memnune S. Ice tea enriched with nano-emulsified essential oils. WO2019035786 (A2); 2019.
 31. Queiroz DB de. Sabonete Ginecológico com Nanoparticulas Ap. PI 100330049 (A2), 2010.
 32. Brasil. Portaria MCTIC nº 3.459, de 26 de Julho de 2019. 2019 p. 2019–21.
 33. Das G, Patra JK, Paramithiotis S, Shin HS. The sustainability challenge of food and environmental nanotechnology: Current status and imminent perceptions. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(23).

- 757 34. Singh NA. Nanotechnology innovations, industrial applications and patents. *Environ*
758 *Chem Lett*. 2017;15(2):185–91.
- 759 35. Henchion M, McCarthy M, Dillon EJ, Greehy G, McCarthy SN. Big issues for a small
760 technology: Consumer trade-offs in acceptance of nanotechnology in food. *Innov Food*
761 *Sci Emerg Technol*. 2019;58(August).
- 762 36. De Francisco EV, García-Esteva RM. Nanotechnology in the agrofood industry. *J Food*
763 *Eng*. 2018;238:1–11.
- 764 37. Scott NR, Chen H, Cui H. Nanotechnology Applications and Implications of
765 Agrochemicals toward Sustainable Agriculture and Food Systems. *J Agric Food Chem*.
766 2018;66(26):6451–6.
- 767 38. Supuqiukunjidi. Oregano oil self-emulsifying formula product for improving egg quality
768 and manufacturing technology thereof. CN110140830 (A); 2019.
- 769 39. Haiying C, Yajie D, Lin L, Nan F. Plant source domestic poultry feed antibacterial
770 additive and preparation method thereof. CN107535688 (A); 2018.
- 771 40. Feitosa RB, Oliveira MGB de O, Santos PL dos, Brito RG de, Santos MRV dos, Quintans
772 J de SS, *et al*. Nanoemulsão de hidrogel termorreversível contendo o óleo essencial de
773 *hyptis pectinata* como analgésico. BR 102015027462-9 A2; 2017.
- 774 41. Esposito E, Nastruzzi C, Sguizzato M, Cortesi R. Nanomedicines to Treat Skin
775 Pathologies with Natural Molecules. *Curr Pharm Des*. 2019;25(21):2323–37.
- 776 42. Saporito F, Sandri G, Bonferoni MC, Rossi S, Boselli C, Cornaglia AI, *et al*. Essential
777 oil-loaded lipid nanoparticles for wound healing. *Int J Nanomedicine*. 2018;13:175–86.
- 778 43. Hajialyani M, Tewari D, Sobarzo-Sánchez E, Nabavi SM, Farzaei MH, Abdollahi M.
779 Natural product-based nanomedicines for wound healing purposes: Therapeutic targets
780 and drug delivery systems. *Int J Nanomedicine*. 2018;13:5023–43.
- 781 44. Negut I, Grumezescu V, Grumezescu AM. Treatment strategies for infected wounds.
782 *Molecules*. 2018;23(9):1–23.
- 783 45. McClements DJ, Lynne M, Kyle L. Spontaneous antimicrobial essential oil
784 nanoemulsions and their use as a food and surface disinfectant/sanitizer. US2017020171
785 (A1); 2017.
- 786 46. Singh DV, Bhat RA, Dervash MA, Qadri H, Mehmood MA, Dar GH, *et al*. Wonders of
787 Nanotechnology for Remediation of Polluted Aquatic Environs. *Fresh Water Pollution*
788 *Dynamics and Remediation*. Springer Nature Singapore Pte Ltd; 2020. 319–339 p.
- 789 47. Saxena A, Maity T, Paliwal A, Wadhwa S. Technological Aspects of Nanoemulsions
790 and Their Applications in the Food Sector. In: *Nanotechnology Applications in Food:*
791 *Flavor, Stability, Nutrition and Safety* [Internet]. Elsevier Inc.; 2017. p. 129–52.
792 Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811942-6.00007-8>
- 793 48. Dávila-Rodríguez M, López-Malo A, Palou E, Ramírez-Corona N, Jiménez-Munguía
794 MT. Antimicrobial activity of nanoemulsions of cinnamon, rosemary, and oregano
795 essential oils on fresh celery. *LWT - Food Sci Technol* [Internet]. 2019;112. Available
796 from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.06.014>
- 797 49. Moradi S, Barati A. Essential oils nanoemulsions: Preparation, characterization and
798 study of antibacterial activity against *Escherichia Coli*. *Int J Nanosci Nanotechnol*.

2019;15(3):199–210.

50. Bayraktar O, Erdogan I, Köse MD, Kalmaz G. Nanocarriers for Plant-Derived Natural Compounds. In: Nanostructures for Antimicrobial Therapy: Nanostructures in Therapeutic Medicine Series. Elsevier Inc.; 2017. p. 395–412.
51. Carbone C, Martins-Gomes C, Caddeo C, Silva AM, Musumeci T, Pignatello R, *et al.* Mediterranean essential oils as precious matrix components and active ingredients of lipid nanoparticles. *Int J Pharm* [Internet]. 2018;548(1):217–26. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.06.064>
52. Jemaa M Ben, Falleh H, Riadh K. Encapsulation of Natural Bioactive Compounds: Nanoemulsion Formulation to Enhance Essential Oils Activities. In: Microencapsulation - Processes, Technologies and Industrial Applications could [Internet]. InTech; 2019. p. 13. Available from: <https://www.intechopen.com/books/microencapsulation-processes-technologies-and-industrial-applications/encapsulation-of-natural-bioactive-compounds-nanoemulsion-formulation-to-enhance-essential-oils-acti>
53. Prakash B, Kujur A, Yadav A, Kumar A, Singh PP, Dubey NK. Nanoencapsulation: An efficient technology to boost the antimicrobial potential of plant essential oils in food system. *Food Control* [Internet]. 2018;89:1–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.018>
54. Rai M, Paralikar P, Jogee P, Agarkar G, Ingle AP, Derita M, *et al.* Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. *Int J Pharm* [Internet]. 2017;519(1–2):67–78. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.01.013>
55. Noori S, Zeynali F, Almasi H. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food Control* [Internet]. 2018;84:312–20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.015>
56. Al-mansoori DH. Efficacy of essential oil nanoemulsion delivery system for strong antimicrobial action against pathogen *Listeria Monocytogenes*. [New Brunswick (NJ)]: Rutgers University; 2018.
57. Jun-xia X, Hai-yan Y, Jian Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chem* [Internet]. 2011;125(4):1267–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.063>
58. Jiménez M, Domínguez JA, Pascual-Pineda LA, Azuara E, Beristain CI. Elaboration and characterization of O/W cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and black pepper (*Piper nigrum*) emulsions. *Food Hydrocoll*. 2018;77:902–10.
59. Dalian C, Yuxin M. Turbot fish preservative and preparation method thereof. CN106665799 (A); 2017.
60. Fernades RDPP, Trindade MA, Melo, De MP. Natural Antioxidants and Food Applications: Healthy Perspectives. In: Alternative and Replacement Foods [Internet]. Elsevier Inc.; 2018. p. 0. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811446-9/00002-2>

- 842 61. Paula HCB, Oliveira EF, Carneiro MJM, De Paula RCM. Matrix Effect on the Spray
843 Drying Nanoencapsulation of Lippia sidoides Essential Oil in Chitosan-Native Gum
844 Blends. *Planta Med.* 2017;83(5):392–7.
- 845 62. Xiaoyu C, Xiaoyun J, Wenying L, Xiang L, Le W. Nano-liposome and preparation
846 method and application thereof. CN110495488 (A); 2019.
- 847 63. Chandrakasan G, Rodríguez-Hernández AI, del Rocío López-Cuellar M, Palma-
848 Rodríguez HM, Chavarría-Hernández N. Bacteriocin encapsulation for food and
849 pharmaceutical applications: advances in the past 20 years. *Biotechnol Lett.* 2019;41(4–
850 5):453–69.
- 851 64. Durazzo A, Nazhand A, Lucarini M, Atanasov AG, Souto EB, Novellino E, *et al.* An
852 updated overview on nanonutraceuticals: Focus on nanoprebiotics and nanoprobiotics.
853 *Int J Mol Sci.* 2020;21(7):1–24.
- 854 65. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—
855 Present Status and Future Perspectives. *Medicines.* 2017;4(4):58.
- 856 66. Dan W, Xuedan Z, Qian Z, Juanxia Y, Man Z, Jing Z, *et al.* Essential oil nano emulsion
857 emulsified by xanthan gum and preparation method and application thereof.
858 CN110178892 (A); 2019.
- 859 67. Xingcang J, Dan X, Yongmiao X, Feng J, Qingfang L. Compound preservative for
860 steamed bean curd rolls based on microcapsule technology, and preparation and use
861 method thereof. CN108065168 (A); 2018.
- 862 68. Najafi-Taher R, Ghaemi B, Amani A. Delivery of adapalene using a novel topical gel
863 based on tea tree oil nano-emulsion: Permeation, antibacterial and safety assessments.
864 *Eur J Pharm Sci.* 2018;120(November 2017):142–51.
- 865 69. Crini G, Lichtfouse E, Chanut G, Morin-Crini N. Applications of hemp in textiles, paper
866 industry, insulation and building materials, horticulture, animal nutrition, food and
867 beverages, nutraceuticals, cosmetics and hygiene, medicine, agrochemistry, energy
868 production and environment: a review. *Environ Chem Lett.* 2020;
- 869 70. Palade LM, Habeanu M, Marin DE, Chedea VS, Pistol GC, Grosu IA, *et al.* Effect of
870 dietary hemp seed on oxidative status in sows during late gestation and lactation and
871 their of spring. *Animals.* 2019;9(4):1–20.
- 872 71. Izgelov D, Shmoeli E, Domb AJ, Hoffman A. The effect of medium chain and long chain
873 triglycerides incorporated in self-nano emulsifying drug delivery systems on oral
874 absorption of cannabinoids in rats. *Int J Pharm.* 2020;580:119–201.

875

876

877

878

879

880

881

882

883

884

885

886

887

888

889

890

891

892 **Capítulo III**

893 *Manuscrito: Propriedades de conservação do óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG*
894 *nanoencapsulado em farinha de semente de jaca na vida útil de hambúrguer de carne*
895 *bovina refrigerado*

896

897

898

Propriedades de conservação do óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG nanoencapsulado em farinha de semente de jaca na vida útil de hambúrguer de carne bovina refrigerado

Tainara Santos Oliveira^{a,b}; Rogeria Comastri de Castro Almeida^a; Ronald Bruce Pegg^c; Larissa Santos Assunção^b; Rafael Sepúlveda Fonsêca Trevisan Passos^b; Agnes Sophia Braga Alves^a; Carlos Pasqualin Cavalheiro^b; Itaciara Larroza Nunes^d; Carolina Oliveira de Souza^b; Bruna Aparecida Souza Machado^e; Camila Duarte Ferreira Ribeiro^{a,b,*}

^a*Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Rua Basílio da Gama, s/n, Campus Canela, Salvador, Bahia, Brasil, 40110-907.*

^b*Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Rua Barão de Jeremoabo, 147, Ondina, Salvador, Bahia, Brasil, 40170-115.*

^c*Department of Food Science and Technology, College of Agricultural and Environmental Sciences, The University of Georgia, 100 Cedar Street, Athens, GA 30602, USA.*

^d*Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, 88034-000.*

^e*Centro Universitário SENAI CIMATEC, Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial, Laboratório de Formulações Farmacêuticas, Instituto SENAI de Inovação (ISI) em Sistemas Avançados de Saúde (CIMATEC ISI SAS), Av. Orlando Gomes, 1845, Piatã, Salvador, Bahia, Brasil, 41650-010.*

Periódico submetido (1ª submissão): *Food Hydrocolloids e ISSN 0268-005X*

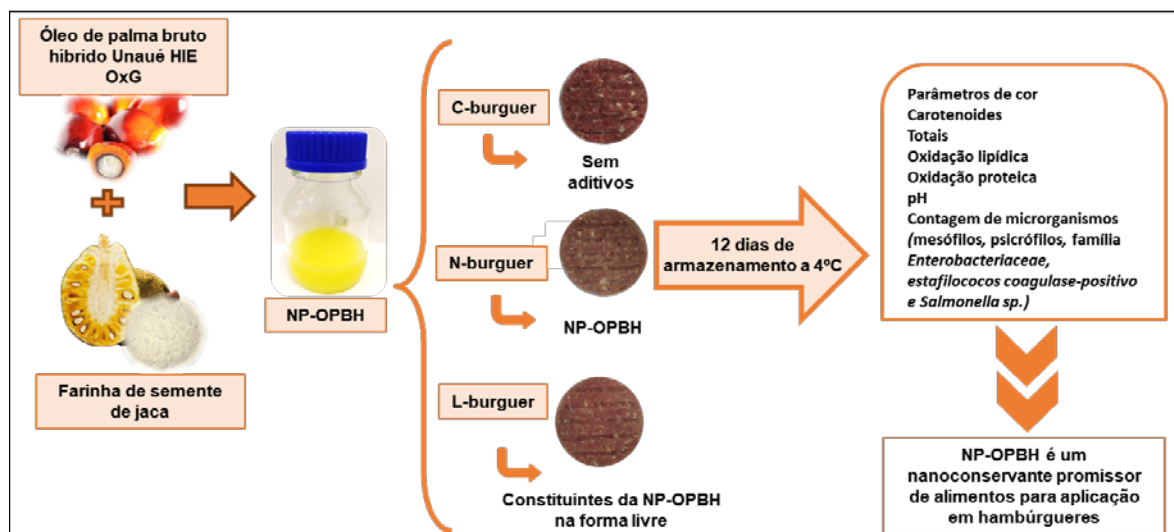
Maior percentil (Scopus): *98% Food Science*

Periódico a ser submetido (2ª submissão): *Food Chemistry e ISSN 1873-7072 Online*

Maior percentil (Scopus): *97% Food Science*

*Autor correspondente
Email camiladuarte@ufba.br (C. D. Ferreira-Ribeiro).

Resumo gráfico



NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com farinha de semente de jaca; C-burguer: hambúrguer controle (sem aditivos adicionados); N-burguer: hambúrguer com adição de NP-OPBH; L-burguer: hambúrguer com adição de óleo de palma bruto híbrido, farinha de semente de jaca e H₂O na forma livre.

Palavras-chave: *Elaeis guineensis*; *Elaeis oleifera*; Coproduto vegetal; conservação de carne; Nanotecnologia.

Resumo: A qualidade de hambúrguer de carne bovina adicionado de nanopartículas de óleo de palma bruto híbrido com farinha de semente de jaca (NP-OPBH) foi avaliada nesse estudo. As NP-OPBH obtidas por homogeneização mostraram-se promissoras em nanoescala ($222,10 \pm 21,15$ nm), índice de polidispersibilidade ($<0,3$), potencial zeta ($-24,22 \pm 3,53$), morfologia, eficiência do encapsulamento ($93,16\% \pm 9,43\%$), cor, retenção de 100% de carotenoides e atividade antioxidante. Hambúrgueres desenvolvidos com NP-OPBH (N-burguer) foram avaliados em relação à cor, carotenoides totais, oxidações lipídica e proteica, pH e crescimento de bactérias mesófilas, psicrófilas, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp., durante 12 dias de armazenamento a 4 °C, em comparação a hambúrgueres adicionados dos mesmos constituintes na forma livre (L-burguer) e controle (C-burguer; apenas carne). As NP-OPBH adicionadas aos hambúrgueres demonstraram capacidade de inibir o aumento da acidez (N-burguer reduziu o pH em 7%; L-burguer 8% e C-burguer 19%), manutenção da cor vermelha, com menor variação de a^* (N-burguer reduziu a^* em 35%; L-burguer 48%; C-burguer 43%), estabilidade no conteúdo de carotenoides, maior inibição da oxidação lipídica em relação ao C-burguer ($p < 0,05$), com valor final de $1,10 \pm 0,21$ mg MDA/Kg após os 12 dias, e inibição da oxidação proteica ($p < 0,05$) em relação às demais formulações, com valor final de sulfidrilas de $1,57 \pm 0,11$ μ mol/g ($p < 0,05$), além de inibição do crescimento de bactérias mesófila e da família *Enterobacteriaceae*, em relação a C-burguer e L-burguer.

Conclui-se que as NP-OPBH foram eficientes na conservação de hambúrgueres de carne bovina refrigerados, podendo ser aplicadas como nanoconservante natural de alimentos.

1. Introdução

A contaminação microbiana e a oxidação lipídica são as principais causas de deterioração e consequente perda da qualidade nutricional, sensorial e alteração da textura de carnes e produtos cárneos (Botella-Martinez et al., 2021), e podem ser eficazmente controladas ou minimizadas por meio do uso de antioxidantes naturais (óleos essenciais, especiarias, extratos de ervas), como substitutos aos conservantes sintéticos, em carne fresca/processada durante o armazenamento refrigerado, sendo, inclusive, tema de interesse para a saúde pública mundial (Mogoşanu, Grumezescu, Bejenaru, & Bejenaru, 2017). Além disso, os consumidores têm optado por produtos alimentícios *clean label*, submetidos ao processamento mínimo e livres de conservantes sintéticos (Ghaderi-Ghahfarokhi, Barzegar, Sahari & Azizi, 2016). Nesse sentido, óleo de palma bruto híbrido HIE OxG (OPBH) se destaca como alternativa para essa finalidade de aplicação devido ao teor de antioxidantes, como carotenoides, tocoferóis, tocotrienóis.

O OPBH é extraído do fruto resultante do cruzamento entre as palmeiras das espécies *Elaeis guineensis* e a *Elaeis oleifera* e os seus maiores produtores são Colômbia, Equador e Costa Rica, com 12% da área total de cultivo localizada na Colômbia (Assunção, et al., 2024a). O Brasil possui uma variedade exclusiva do híbrido (HIE OxG) denominada de Unaué (Pinto, Lopes, Cunha, Santos Filho, & Moura, 2019) e estima-se a existência 11.500 ha de área plantada no estado do Pará (Antoniassi et al., 2018) e de 30.000 ha no estado da Bahia (Pinto et al., 2019).

O óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG é um dos alimentos com maior concentração de carotenoides, variando entre 500 e 10.000 µg/g, sendo os principais o β- (52–60%) e α- caroteno (33–36%) (Mozzon, Foligni, & Tylewicz, 2018). Quanto ao teor de tocoferóis e tocotrienóis, os valores variam de 562 a 1417 mg/kg, sendo o γ-tocotrienol o componente principal, variando de 406 a 887 mg/kg (Codex, 2023). Ainda, por conter no mínimo 48% de ácido oleico, esse óleo é reconhecido como “óleo de palma com alto conteúdo de ácido oleico”, sendo comparável aos efeitos do azeite de oliva extravirgem (Mozzon et al., 2018). Ácido palmítico (23% a 38%), linoleico (9% a 17%), esteárico (1,5 a 4,5%), mirístico (até 0,8%), palmitoléico (até 0,8%), linolênico (até 0,6%) e ácido láurico (até 0,6%) são os outros principais ácidos graxos presentes no óleo de palma (Codex, 2023).

Ao considerar a composição em ácidos graxos e antioxidantes (carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis), acredita-se que o OPBH possa apresentar atividades antimicrobiana e antioxidante promissoras. Contudo, o uso desse óleo como agente conservante e antioxidante na indústria de alimentos ainda enfrenta problemas decorrentes de características, como a baixa solubilidade em água, possibilidade de agregar atributos sensoriais nos alimentos quando adicionado em alta concentração, sensibilidade dos compostos bioativos ao oxigênio, luz e calor durante processamento, utilização e armazenamento (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016).

Portanto, a nanoencapsulação apresenta-se como uma tecnologia em rápida expansão para proteger substâncias em nanoescala (<1000nm), especialmente compostos bioativos (Silva *et al.*, 2020). O encapsulamento de óleos é viável, eficiente, além de ser uma abordagem para contornar os desafios enfrentados na sua aplicação, aumentando a biodisponibilidade, solubilidade, estabilidade química e térmica, e diminuindo a volatilidade, além de melhorar o sistema de entrega de compostos antioxidantes presentes nos óleos (Oliveira *et al.*, 2022).

A utilização de biopolímeros como agentes carreadores para encapsulamento de substâncias, como compostos bioativos e óleos, tem atraído a atenção de pesquisadores para a concepção e desenvolvimento de nanopartículas com benefícios para a indústria de alimentos (Arabpoor, Yousefi, Weisany & Ghasemlou, 2021), a exemplo do uso de quitosana (Raeisi, Ojagh, Quek, Pourashouri, & Salaün, 2019; Upadhyay, Singh, Dwivedy, Chaudhari, & Dubey, 2021), albedo do maracujá (Bezerra *et al.*, 2019), goma arábica e caseína (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022). Nesse contexto, o uso da farinha de semente de jaca (FSJ) como material encapsulante é mais uma opção com potencial e caráter sustentável, como demonstrado por Assunção *et al.* (2024b), devido a sua composição em proteína (8%) e amido (60-80%), com alto teor de amilose (Dong, Fang, Luo & Gao, 2021; Suzihaque *et al.*, 2022).

Hosseini e Jafari (2020) afirmaram que melhores resultados de encapsulamento são obtidos quando empregada uma combinação de proteínas e polissacarídeos em comparação à forma individual. Ainda, a encapsulação de compostos lipídicos em amilose tem demonstrado resultados promissores, associados a estrutura helicoidal deste nanocarreador biopolimérico (Rezaei, Fathi, & Jafari, 2019).

A jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) é uma fruta amplamente cultivada em países tropicais como Brasil, Tailândia, Indonésia, Índia, com custos mínimos de insumos; no entanto, as sementes de jaca são geralmente descartadas como subprodutos durante a produção e consumo (Li, Dong, Fang, Hao, & Gao, 2022; Zhang, Zhu, He, Tan, & Kong, 2016). É uma fruta com destacada aplicação funcional, devido ao conteúdo nutricional das suas sementes, em

termos de minerais, vitaminas, flavonoides, antioxidantes, aminoácidos e fibras (Suzihaque *et al.*, 2022).

De acordo com essas premissas, o nanoencapsulamento do OPBH com FSJ como encapsulante é uma alternativa para proteção dos compostos bioativos, além de aumento do teor de fibras, solubilidade em água e estabilidade coloidal, ampliando assim seu uso pela indústria de alimentos, tanto pelo apelo tecnológico, quanto da saúde (Arabpoor *et al.*, 2021). O emprego de nanotecnologia em OPBH foi reportado por Ricaurte, Perea-Flores, Martinez, & Quintanilla-Carvajal (2016), ao desenvolverem nanoemulsões de OPBH com whey; por Beltrán, Ricaurte, Estrada & Quintanilla-Carvajal (2020), ao elaboraram nanolipossomas contendo OPBH, e por Assunção *et al.* (2024a) ao otimizar o nanoencapsulamento de OPBH em farinhas de semente e eixo central da jaca.

Os efeitos da aplicação de óleos nanoencapsulados no aumento da vida de prateleira de hambúrgueres, com controle na oxidação lipídica e crescimento microbiano, são majoritariamente descritos para óleos essenciais, como já reportado em hambúrguer adicionado de nanopartículas de óleo essencial de semente de cominho (Hemmatkhah, Zeynali, & Almasi, 2020); óleo essencial de limão (Hasani, Ojagh, Ghorbani & Hasani, 2019) e óleo essencial de *Zataria multiflora boiss* (Torab, Basti, & Khanjari, 2017). No entanto, quando aplicados em hambúrguer, óleos vegetais são preferencialmente investigados quanto à substituição parcial de gordura, com efeitos nutricionais, especialmente na melhora do perfil lipídico do produto (Ferreira *et al.*, 2022; Heck *et al.*, 2019; Vargas-Ramella *et al.*, 2020).

Por isso, o presente estudo objetivou avaliar a qualidade de hambúrguer de carne bovina adicionado de óleo de palma bruto híbrido Unaué HIE OxG nanoencapsulado com farinha de semente de jaca durante o armazenamento refrigerado, quanto aos atributos de cor, conteúdo de carotenoides, oxidação lipídica e proteica, pH e deterioração microbiana.

2. Material e Métodos

2.1 Material

O fruto híbrido HIE OxG foi desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Amazônia Ocidental e o OPBH, conhecido como Unaué, foi elaborado e fornecido pela Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), da cidade de Una, Bahia, Brasil, sendo mantido a -20°C em um frasco âmbar até o momento das análises. A jaca, carne bovina fresca (50% peito, 50% patinho), gordura suína, pimenta branca e farinha de pão foram adquiridos no comércio local de Salvador, Bahia, Brasil. Carne e gordura

suína foram transportadas para o laboratório sob condições refrigeradas dentro de 30 min após aquisição.

Tween 20, álcool de cereais, acetona, iso-octano, álcool isopropílico, éter de petróleo, acetato de etila e etanol foram adquiridos pela Shynth (São Paulo, Brasil). 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB), 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), 2,2' azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS●+) e o ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha). Sulfato de sódio anidro, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e ureia foram adquiridos pela Êxodo Científica (Sumaré, Brasil). Ácido tricloroacético (TCA), persulfato de potássio e cloreto de sódio (NaCl) foram adquiridos pela ACS reagentes (Rio de Janeiro, Brasil). Fosfato de sódio bibásico e monobásico foram adquiridos pela Inlab (São Paulo, Brasil).

Água peptonada (GranuCult®), ágar *Baird Parker* (BPA) (NutriSelect® Basic) e ágar Verde Brilhante Vermelho Fenol Lactose Sucrose (BPLS) foram adquiridos pela Merck KGaA (Darmstadt, Alemanha). Ágar bile vermelho violeta glicose (VRBG) (NCM0022A), caldo Tetrationato (TT) e Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) foram adquiridos pela Acumedia/Neogen (Lansing, MI, EUA). Caldo *Rappaport-Vassiliadis* (RV) e verde brilhante foram adquiridos pela HiMedia (Kennett Square, EUA). Ágar de contagem em placas (PCA) foram adquiridos pela Biokar Diagnostics (Beauvais Cedex, França), emulsão gema de ovo com telurito pela Laborclin (Pinhais, Brasil), Iodo pela Fmaia (Belo Horizonte, Brasil), ágar *MacConkey* (MC) pela IONLAB (Araucária, Brasil) e ágar *Salmonella-Shigella* (SS) pela KASVI (São José dos Pinhais, Brasil).

2.2 Elaboração da farinha de semente de jaca (FSJ, encapsulante) das nanopartículas

Jaca, no estágio de maturação verde, foi utilizada para o preparo da farinha de semente de jaca. As sementes foram separadas dos frutos, branqueadas por aquecimento (2 min em água fervente a 100 °C, seguido de resfriamento por 3 min em água gelada) e congeladas em embalagem à vácuo até o dia de preparo da farinha. Após descongelamento sob refrigeração (4°C), as sementes foram desidratadas em circulação forçada de ar (Q317M-32, Quimis, Brasil) em 1,25 m/s² a 50°C por 36 horas e, então, moídas em um moinho de facas (Pulverisette 15, Fritsch, Markt Einersheim, Alemanha), com abertura de malha de 0,5 mm e embaladas à vácuo (Assunção *et al.*, 2024a). As amostras foram armazenadas à 1°C para análises posteriores. O conteúdo de umidade (método 926.12), proteínas (método 991.20), lipídios (método 920.39) e

cinzas (método 900.02) da farinha foi avaliado em base úmida de acordo aos métodos oficiais da AOAC (2012) e o teor de carboidratos foi determinado por diferença.

NP-OPBH foram produzidas a partir do método de homogeneização (Fig. 1), segundo os melhores parâmetros obtidos por Assunção *et al.* (2024a) em planejamento experimental. O Tween 20 (250 µL) e o OPBH (250 mg) foram dissolvidos em 100 mL de álcool de cereais sob agitação magnética (IKA®, modelo RH Basic 2, Brasil) por 15 min. Em seguida, esta fase orgânica foi adicionada gota a gota em 100 mL de solução aquosa com FSJ (217 mg) durante a homogeneização em agitador de hélice (IKA®, modelo RW 20 digital, Diagtech, Brasil) a uma velocidade de 900 rpm por 30 min. Por fim, o álcool de cereais foi evaporado em rotaevaporador (Büchi RII, New Castle, Estados Unidos da América), a 35°C, até completa evaporação do solvente (~35 min), verificada pela mensuração do volume final da nanoemulsão.

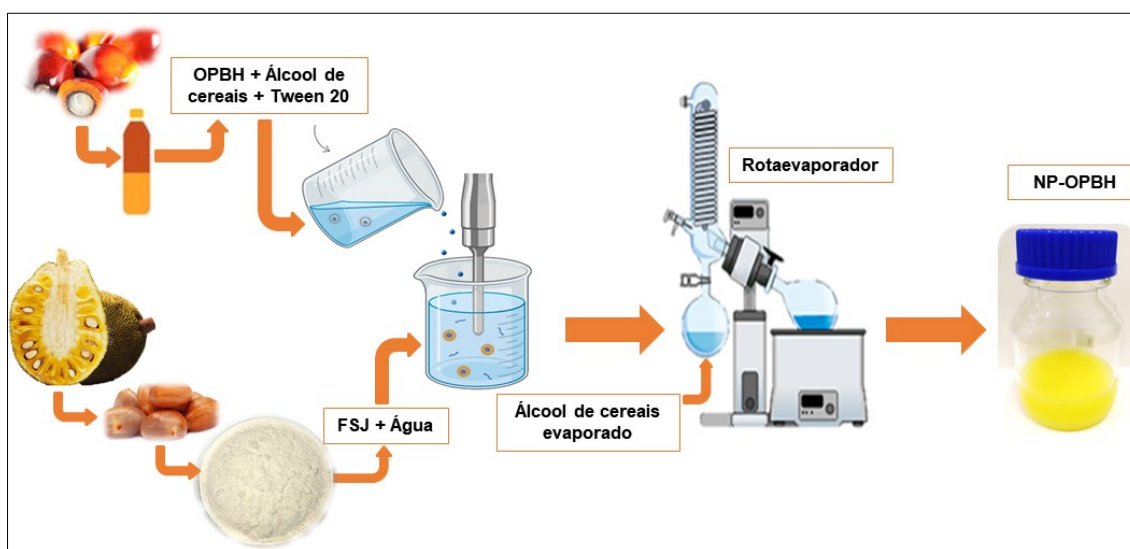


Fig. 1. Elaboração de nanopartículas de óleo de palma bruto híbrido com farinha de semente de jaca pelo método de homogeneização.

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com farinha de semente de jaca.

2.3 Eficiência do encapsulamento (EE)

A eficiência do encapsulamento (EE) foi determinada empregando-se a técnica de ultrafiltração/centrifugação de acordo a Froiio *et al.* (2019), com modificações. Em filtro Amicon Ultra 0,5/30 kDa (Millipore, Carrigtwohill, Irlanda), 500 µL de nanopartículas foram inseridas e então centrifugadas a 14.000g durante 30 min (Labnet Spectrafuge 24D, Estados Unidos da América). O sedimento obtido, após separação do sobrenadante, foi diluído em 500 µL de acetona para determinação do conteúdo de OPBH e esse procedimento foi realizado 2 vezes. A eficiência do encapsulamento (EE%) foi diretamente determinada usando-se uma

curva de calibração do OPBH em acetona ($\lambda_{\text{máx}}=448\text{nm}$; $\text{Abs} = 0,2664 \times \text{concentração} + 0,029$, $R^2= 0,9971$) e a partir da equação (1):

$$EE = \left(\frac{M}{Mo} \right) \times 100 \quad (1)$$

onde M (mg) é a quantidade de óleo de palma bruto híbrido carregado na nanopartícula (determinado por meio da curva de calibração) e Mo (mg) é a quantidade inicial de óleo de palma bruto híbrido adicionada à fase orgânica para elaboração da nanopartícula.

2.4 Caracterização das NP-OPBH quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersibilidade (PDI), potencial zeta (ζ) e morfologia

O tamanho de partícula, PDI e potencial zeta das NP-OPBH foram avaliados por meio de um analisador de tamanho de partícula de dispersão de luz dinâmica (DLS) (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido). Para o espalhamento de luz dinâmica, os dados de tamanho de partícula foram relatados como diâmetro médio e PDI, todos medidos a 25°C. Os valores do potencial zeta foram medidos com base na mobilidade eletroforética (Jiménez, Domínguez, Pascual-Pineda, Azuara, & Beristain, 2018).

A morfologia das nanopartículas de NP-OPBH foi determinada por meio de microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Uma gota da nanoemulsão foi colocada em uma grade (filmes de suporte de carbono Formvar, 200 mesh) por 1 min. Depois, uma gota de solução de ácido fosfotúngstico a 1% foi aplicada por 30 segundos. A grade foi colocada sob o microscópio eletrônico de transmissão (JEOL 1230, Tóquio, Japão) operado a 80 kV com ampliação média de 80.000 vezes e escala de 200 nm (Assunção *et al.*, 2024b).

2.5 Caracterização das NP-OPBH, do OPBH livre e da FSJ quanto ao pH, parâmetros de cor, carotenoides totais e atividade antioxidante

Utilizou-se um medidor de pH comercial (Sanxin, PHS-3D pH meter, Shanghai, China) para determinar o pH das nanopartículas, OPBH e FSJ a 25°C, sem diluição prévia das amostras de N-OPBH e OPBH (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022), e segundo o método 981.12 da AOAC (AOAC, 2012) para FSJ. A determinação da cor das NP-OPBH, OPBH e FSJ foi realizada em colorímetro CR-400 (Minolta, Osaka, Japan). Os dados de cores foram apresentados em Coordenadas CIELab, que definem a cor em um espaço tridimensional, com valores de cor [L^* (luminosidade), a^* (vermelho/verde) e b^* (amarelo/azul)] (Ricaurte *et al.*, 2016).

A extração de óleo das nanopartículas para a determinação do conteúdo de carotenoides totais foi realizada de acordo com Ferreira Ribeiro *et al.* (2022), com modificações. Para este fim, centrifugou-se as NP-OPBH com iso-octano e álcool isopropílico (2:2:1) a 3.500 rpm/25°C/10min/5 vezes (SOLAB, SL-706, Piracicaba, Brasil). Os sobrenadantes obtidos, após unificados, foram filtrados em papel filtro qualitativo 150 mm, adicionado de sulfato de sódio anidro, e submetidos a rotaevaporação dos solventes a 35°C (Büchi RII, New Castle, Estados Unidos da América), seguido de secagem em gás nitrogênio. A massa de OPBH obtida após extração foi pesada e posteriormente diluída em éter de petróleo e o conteúdo de carotenoides foi determinado por espectrofotometria UV-Vis, quantificando-se o β -caroteno ($\lambda_{\text{máx}}=450$ nm; $A^{1\%}_{1\text{ cm}}=2592$), segundo Rodriguez-Amaya & Kimura (2004) e expresso em $\mu\text{g/g}$ de carotenoides totais. Em seguida, foi calculado o percentual de retenção de carotenoides após o nanoencapsulamento, segundo a equação (2):

$$\text{Percentual de retenção (\%)} = \left(\frac{\mu\text{g/g de NP-OPBH}}{\mu\text{g/g de OPBH}} \right) \times 100 \quad (2)$$

onde $\mu\text{g/g}$ de NP-OPBH é o teor de carotenoides totais do óleo extraído da nanopartícula e $\mu\text{g/g}$ de OPBH é teor de carotenoides totais é o teor de carotenoides totais do óleo de palma bruto híbrido adicionada à fase orgânica para elaboração da nanopartícula.

Extratos de NP-OPBH (1:1) em etanol, OPBH em acetato de etila e de FJS em acetona a 70% foram obtidos antes das amostras serem submetidas às análises de atividade antioxidante. O extrato da farinha foi elaborado segundo Desta *et al.* (2022), com modificações. Para tal, 1 grama de FSJ foi diluída em 5mL de acetona a 70%, sonicada por 25 minutos a 25°C no escuro e então centrifugada (SOLAB, SL-706, Piracicaba, Brasil) a 3500 rpm/10min/25°C. O procedimento foi repetido após adição de 4 mL de acetona a 70% na porção residual no tubo. Os sobrenadantes foram unificados e submetidos às análises de atividade antioxidante por meio da captura dos radicais livres DPPH e ABTS^{•+}.

A determinação de DPPH foi de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995), com modificações e de ABTS^{•+}, conforme descrito por Rehman *et al.* (2020). Uma alíquota de 50 μL dos extratos obtidos foi adicionada a 1950 μL de solução etanólica de DPPH (0,06 mM), seguida de homogeneização em vórtex por 10 segundos. Após 30min de repouso no escuro, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, Perkin Elmer, Estados Unidos) em um comprimento de onda de 515 nm.

O radical ABTS^{•+} foi preparado a partir de 5 mL de solução de ABTS^{•+} 7mM em 88 µL de solução de persulfato de potássio 140 mM, armazenado previamente às análises no escuro por 16 h, seguido de correção da absorbância para 0,7 com adição de etanol. Em seguida, 30 µL dos extratos das amostras foram adicionados a 3,0 mL da solução ABTS corrigida, seguido de homogeneização em vórtex por 10 segundos. Após 6 min de repouso no escuro, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, Perkin Elmer, Estados Unidos) em um comprimento de onda de 734 nm. Os resultados de DPPH e ABTS foram expressos em mM de trolox equivalente por mL de NP-OPBH, por mg de OPBH e por mg de FSJ.

2.6 Preparo do hambúrguer de carne bovina e determinação da composição centesimal

O preparo e a composição centesimal (Tabela A.1, material suplementar) dos hambúrgueres atendeu ao preconizado no regulamento técnico de identidade e qualidade para hambúrguer produzido no Brasil (Brasil, 2022). Carne bovina fresca e gordura suína foram moídas conjuntamente em moedor de carne (Skymesen Poli PCP-98T, Santa Catarina, Brasil), seguido da adição de NaCl, pimenta branca e farinha de pão (Tabela 1). Após esse procedimento, a mistura homogênea foi utilizada para elaborar lotes de hambúrgueres, destinados a 03 diferentes formulações: a) hambúrguer controle (C-burger) (sem aditivos adicionados); b) hambúrguer adicionado de NP-OPBH (N-burger); c) hambúrguer adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burger), em quantidade equivalente à mesma adição na forma nanoencapsulada (Tabela 1). Foram realizados testes preliminares de limite de textura para moldagem afim de se determinar o volume máximo para incorporação de nanopartículas à formulação cárnea.

Tabela A.1

Composição centesimal de C-burger, N-burger e L-burger e regulamento técnico de identidade e qualidade (RTIQ) para hambúrguer no Brasil.

Parâmetro	C-burger	N-burger	L-burger	RTIQ (Brasil, 2022)
Proteína (%)	21,93±0,74	15,05±0,09	15,35±0,22	≥ 15
Lipídio (%)	6,99±1,00	6,28±0,23	6,35±0,92	≤ 25
Carboidratos (%)	2,39±0,50	5,17±0,60	0,76±0,64	≤ 3
Cinzas (%)	1,85±0,19	1,14±0,05	1,69±0,05	-
Umidade (%)	66,84±0,62	76,36±0,38	76,12±0,36	-

Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n = 3$). Valores expressos em base úmida.
 NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com farinha de semente de jaca; C-burguer:
 hambúrguer controle (sem aditivos adicionados); N-burguer: hambúrguer com adição de NP-OPBH; L-burguer:
 hambúrguer com adição de óleo de palma bruto híbrido, farinha de semente de jaca e H₂O na forma livre.

1215

1216 Tabela 1

1217 Ingredientes utilizados na elaboração dos hambúrgueres de carne bovina.

Ingredientes	C-burguer	N-burguer	L-burguer
Carne (50% peito, 50% patinho) (g)	90,00	90,00	90,00
Gordura suína (g)	9,00	9,00	9,00
NaCl (g)	1,00	1,00	1,00
Pimenta branca (g)	0,10	0,10	0,10
Farinha de rosca (g)	3,50	3,50	3,50
NP-OPBH (mL)	-	40,00*	-
Farinha de semente de jaca (mg)	-	-	94,00
Óleo de palma bruto híbrido (mg)	-	-	108,00
Água (mL)	-	-	40,00

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com farinha de semente de jaca; C-burguer: hambúrguer controle (sem aditivos adicionados); N-burguer: hambúrguer com adição de NP-OPBH; L-burguer: hambúrguer com adição de óleo de palma bruto híbrido, farinha de semente de jaca e H₂O na forma livre.

*Em 40mL de NP-OPBH tem-se 94 mg de FSJ, 108 mg de OPBH e 40mL de água.

1223

Os hambúrgueres foram moldados manualmente em molde plástico (8,7cm de diâmetro e 2,8 cm de altura; Plasútil, Bauru, Brasil) e então embalados em saco de naylonpoli de 12 micas em seladora à vácuo (Conceito Vácuo Modulare CAV 40, São Paulo, Brasil). Em seguida foram armazenados no escuro, sob temperatura de refrigeração controlada (4°C). O conteúdo de umidade (método 926.12), proteínas (método 991.20), lipídios (método 920.39) e cinzas (método 900.02) dos hambúrgueres foi avaliado em base úmida de acordo aos métodos oficiais da AOAC (AOAC, 2012) e o teor de carboidratos foi determinado por diferença.

1231

2.7 Avaliação da estabilidade do hambúrguer de carne bovina durante o armazenamento refrigerado

Ao longo de 12 dias de armazenamento a 4°C, as formulações C-burguer; N-burguer e L-burguer foram avaliadas nos tempos 0, 3, 6, 9 e 12 dias, quanto aos parâmetros de cor, carotenoides totais, oxidação lipídica por determinação das substâncias reativas ao ácido

tiobarbitúrico (TBARS), oxidação proteica por determinação de grupos sulfidríla (tiol), pH e contagem de microrganismos.

2.7.1 *Parâmetros de cor e Carotenoides totais*

Os parâmetros de cor foram determinados de acordo com a sessão 2.5, exceto pela leitura das amostras que ocorreu diretamente na superfície, onde os valores foram determinados com base na média de 04 leituras, realizadas imediatamente após remoção das amostras da embalagem à vácuo (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016).

O teor de carotenoides totais (CT) foi determinado conforme relatado por Peiretti, Gai, Rotolo, Brugiapaglia, & Gasco (2013), com modificações. Uma alíquota de 30 g de amostra foi homogeneizada a 900 rpm por 10 s em agitador de hélice (IKA®, modelo RW 20 digital, Diagtech, Brasil) com 60 mL de acetona. Em seguida, 60 mL de éter de petróleo foram adicionados ao extrato de acetona e homogeneizados, sob as mesmas condições. O procedimento foi repetido com adição de 60 mL de NaCl a 0,1% à mistura de acetona/éter de petróleo. Após centrifugação do homogeneizado a 3500 rpm/15 min/25°C (SOLAB, SL-706, Piracicaba, Brasil), o sobrenadante foi cuidadosamente coletado, filtrado em papel filtro qualitativo 150 mm contendo 25 g de sulfato de sódio anidro, e submetido a rotaevaporação dos solventes a 35°C (Büchi RII, New Castle, Estados Unidos da América), seguido de secagem em gás nitrogênio. O extrato seco foi diluído em éter de petróleo e o conteúdo de carotenoides foi determinado por espectrofotometria, sob as mesmas condições da sessão 2.5.

2.7.2 *Oxidação lipídica por determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e oxidação proteica por determinação de grupos sulfidríla (tiol)*

A oxidação lipídica foi avaliada por meio da determinação das substâncias reativas ao ácido 2- tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com o método descrito por Passos *et al.* (2022) e Al-Dalali, Li, & Xu (2022) com modificações. Uma alíquota de 5 g de amostra foi homogeneizada em 35 mL de TCA 7,5% com EDTA 0,1% refrigerado, utilizando o agitador de hélice (IKA®, modelo RW 20 digital, Diagtech, Brasil) a 900 rpm por 2 minutos. A massa resultante foi centrifugada a 3500 rpm/5 min/25°C (SOLAB, SL-706, Piracicaba, Brasil) e o sobrenadante obtido foi filtrado em papel filtro qualitativo de 150 mm. Foram adicionados 5 mL do filtrado a 5 mL de TBA 0,02M e após homogeneização em vórtex por 5 segundos, prosseguiu-se a aquecimento em banho-maria a 90°C/ 30 min (SOLAB, SL-154, Piracicaba, Brasil). As amostras foram resfriadas imediatamente em banho de gelo para interromper a reação, e realizou-se a leitura da absorbância a 532 nm com um espectrofotômetro UV-Vis

(Lambda 35, Perkin Elmer, Estados Unidos) contra o branco (5 mL de TCA 7,5%; 0,1% de EDTA e 5 mL de TBA 0,02M). Os TBARS foram calculados usando a curva padrão de 1,1,3,3-tetraetoxipropano e expressos em mg MDA/kg de carne.

O conteúdo total de sulfidril (tiol) foi determinado usando DTNB de acordo com o método fornecido por Ellman (1959) e Turgut, Soyer, & Işıkcı (2016), com modificações. Uma massa de 0,5 g de hambúrguer foi homogeneizada em 10 mL de tampão fosfato 0,05 M (pH 7,2) por 30 seg. em vórtex. Em seguida, 1 mL de homogeneizado foi misturado com 9 mL de tampão fosfato 0,05 M (pH 7,2) contendo ureia 8M, NaCl 0,06M e EDTA 6mM. A mistura foi então centrifugada a 3500 rpm/15minutos/5°C. O sobrenadante coletado (3 mL) foi misturado com 40 µL de DTNB 10mM preparado com tampão fosfato 0,05 M (pH 7,2) antes da incubação em banho-maria a 40°C/ 15 min (SOLAB, SL-154, Piracicaba, Brasil). Valores de absorbância medidos a 412 nm foram obtidos por espectrofotometria UV-Vis (Lambda 35, Perkin Elmer, Estados Unidos). O teor de sulfidril foi calculado usando um coeficiente de extinção molar de $13.600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e os resultados foram expressos em µmol sulfidril/g de amostra.

2.7.3 pH

O pH dos hambúrgueres foi determinado por um medidor de pH (Sanxin, PHS-3D pH meter, Shanghai, China), segundo Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.* (2016), com adaptações. Os hambúrgueres (5 g) foram homogeneizados com 50 mL de água destilada a 900 rpm por 10 s em agitador de hélice (IKA®, modelo RW 20 digital, Diagtech, Brasil). As amostras foram filtradas em papel filtro qualitativo de 150 mm, com o auxílio de uma bomba a vácuo, antes da medição do pH.

2.7.4 Contagem de microrganismos

As análises microbiológicas foram conduzidas conforme Silva *et al.* (2018), com modificações. Assim, dez gramas da amostra foram retirados assepticamente e transferidos para 90 mL de água peptonada 0,1% esterilizada e homogeneizados por 1 min. em stomacker (MK 1204, ITR, Esteio, Brasil). Diluições decimais seriadas apropriadas foram posteriormente preparadas em cabine de fluxo laminar (Veco, Campinas, Brasil) usando água peptonada 0,1% esterilizada (9 mL). Para microrganismos mesófilos, as diluições pertinentes da amostra foram inoculadas em profundidade em PCA e incubadas aerobicamente em estufa do tipo BOD (RDE 35 super, Marte Científica, Santa Rita do Sapucaí, Brasil), por 48 horas a 35°C. Para a contagem de microrganismos psicrófilos, as diluições pertinentes foram inoculadas em superfície de PCA e incubadas por 5 dias a 4°C.

Para *Enterobacteriaceae*, as mesmas diluições das amostras foram inoculadas em superfície de VRBG com sobrecamada e incubadas por 48 horas a 35°C em estufa do tipo BOD (RDE 35 super, Marte Científica, Santa Rita do Sapucaí, Brasil). Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, as diluições pertinentes foram inoculadas na superfície de BPA, suplementado com emulsão gema de ovo com telurito, seguido de incubação por 48 h a 37°C em estufa do tipo BOD (RDE 35 super, Marte Científica, Santa Rita do Sapucaí, Brasil).

Para *Salmonella* spp., vinte e cinco gramas de hambúrguer foram homogeneizados em 225 mL de água peptonada 1% esterilizada e incubados aerobicamente em estufa do tipo BOD (RDE 35 super, Marte Científica, Santa Rita do Sapucaí, Brasil) por 24 horas a 36°C. Em seguida, 1mL do caldo foi inoculado em 10mL de RV por 24h a 42°C e em 10mL de TT suplementado com verde brilhante e iodo por 24h a 36°C. Após, alíquotas de RV e TT foram semeadas por esgotamento em MC, XLD, SS e BPLS por 24h a 36°C. Colônias sugestivas foram submetidas à identificação bioquímica. As contagens obtidas para todos os microrganismos pesquisados foram convertidas em log₁₀ unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de amostra.

2.8 Tratamento estatístico

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata ($\pm$ desvio-padrão). As médias foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) com o software SAS® OnDemand for Academics. O software GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA) e o pacote Microsoft Office 365® (Microsoft Corp. WA, EUA). foram utilizados para gerar as figuras.

3. Resultados e discussão

3.1 Eficiência do encapsulamento das NP-OPBH

A eficiência do encapsulamento (EE) avalia o teor de óleo livre disponível na superfície das nanopartículas, estando entre um dos principais parâmetros para óleos encapsulados, pois o óleo livre é susceptível à oxidação, podendo levar a um sabor desagradável e impacto negativo na aceitabilidade geral do produto no mercado (Esfahani, Jafari, Jafarpour & Dehnad, 2019). A EE alcançada nesse trabalho foi de $93,16\% \pm 9,43\%$. Valores de EE inferiores ($86,65 \pm 1,18\%$ a $88,13 \pm 1,11\%$) foram relatados por Ferreira Ribeiro *et al.* (2022) para nanopartículas de óleo de palma bruto e suas frações, oleína de palma e estearina de palma elaboradas com caseína e

goma arábica. Esfahani *et al.* (2019) relataram valores de EE entre 69% e 98% para diferentes formulações de nanopartículas de ácidos graxos ômega-3 e gelatina/goma arábica.

Valores de EE >90% demonstram que a tecnologia de nanoencapsulamento empregada, considerando o método e o tipo de encapsulante, possui uma elevada capacidade de proteger o OPBH dentro da nanopartícula. A farinha de semente de jaca utilizada nesse estudo possui elevado teor de carboidratos ($72,39\% \pm 1,88$) (Tabela A.2, material suplementar), dos quais a amilose é um amido encontrado em alta concentração (Brahma & Ray, 2023). A ação encapsulante da amilose está associada a capacidade de formar estruturas helicoidais e com isso gerar complexos de inclusão com ácidos graxos ou compostos bioativos por ligação não covalente e liberá-los após hidrólise, além disso esses complexos de inclusão podem proteger essas substâncias da oxidação (Rezaei *et al.*, 2019). Por isso, os valores de EE desse estudo sugerem grande potencial para estabilidade oxidativa do óleo, sendo um parâmetro de interesse, uma vez que o OPBH possui elevado teor de compostos antioxidantes e de ácido oleico (Ricaurte, Santagapita, Díaz, & Quintanilla-Carvajal, 2020).

Tabela A.2

Composição centesimal da farinha de semente de jaca.

Parâmetro	Valor
Carboidrato (%)	$72,39 \pm 1,88$
Proteína (%)	$13,08 \pm 0,34$
Lipídio (%)	$1,79 \pm 1,24$
Cinzas (%)	$3,29 \pm 0,21$
Umidade (%)	$9,45 \pm 0,09$

Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão (n = 3).

Valores expressos em base úmida.

3.2 Caracterização das NP-OPBH quanto ao tamanho de partícula, PDI, potencial zeta e morfologia

As NP-OPBH obtidas por homogeneização, utilizando farinha de semente de jaca como encapsulante (coproduto de fruta) e álcool de cereais, um solvente atóxico, apresentaram tamanho em escala nanométrica ($222,10 \pm 21,15$ nm) (Tabela A.3, material suplementar), indicando um bom desfecho na sua obtenção. O tamanho das partículas é um dos fatores mais importantes que afetam a estabilidade dinâmica das emulsões, que quando menores têm maior estabilidade, diminuindo a possibilidade de coalescência (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022). Ferreira & Nunes (2019) relataram que diâmetros adequados para óleos nanoencapsulados devem variar

entre 100 e 1000 nm. Diâmetros de nanopartículas de óleo de palma bruto e suas frações foram reportados por Ferreira Ribeiro *et al.* (2022) entre $155,66 \pm 3,41$ e $187,37 \pm 2,19$ nm e por Ricaurte *et al.* (2020) de $198,3 \pm 1,1$ nm para óleo de palma bruto híbrido.

Tabela A.3

Eficiência do encapsulamento, tamanho de partícula, PDI e potencial zeta das NP-OPBH.

Característica	NP-OPBH
EE (%)	$93,16 \pm 9,43$
Tamanho de partícula (nm)	$222,10 \pm 21,15$
PDI	$0,11 \pm 0,01$
Potencial zeta (mV)	$-24,22 \pm 3,53$

Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n = 3$)

NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com farinha de semente de jaca; EE: eficiência do encapsulamento; PDI: índice de polidispersibilidade.

O PDI das NP-OPBH foi de $0,11 \pm 0,01$. Quanto menor o valor de PDI, menor a tendência em agregação das partículas e esse parâmetro confirma a qualidade do método de nanoencapsulamento. O valor do índice de polidispersibilidade $< 0,30$ indica que as nanoemulsões têm uma distribuição monodispersa, com boa uniformidade no diâmetro das nanopartículas (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022; Ricaurte *et al.*, 2020).

O valor de potencial zeta encontrado foi de $-24,22 \pm 3,53$, o que indicou boa estabilidade física da nanoemulsão, estando dentro da faixa de -30 mV e $+30$ mV. Isso sugere que as forças repulsivas entre as gotas estão predominantes nesse sistema, pois esse parâmetro avalia a diferença eletrocinética entre a carga da superfície da gota em relação ao seu meio de dispersão (Ricaurte *et al.*, 2020). Potencial zeta de $-24,8 \pm 0,5$ mV foi reportado por Ricaurte *et al.* (2020), para nanofibras de óleo de palma bruto híbrido e gelatina e de $-19,50 \pm 1,47$ mV para OPBH e farinha de semente de jaca (Assunção *et al.*, 2024a). Tamanho de partícula, PDI e potencial zeta são resultados importantes para avaliar o potencial de entrega dos encapsulados no sistema. Em teoria, as características ideais das nanopartículas são o menor tamanho de partícula, maior potencial zeta e menor PDI (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016).

Em relação à morfologia, a Fig. 2 mostra que as NP-OPBH apresentaram formato de gota esférica, sem rachaduras. Resultados semelhantes foram relatados para óleo de palma bruto e suas frações (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022) e para óleo de semente de chia (Campo *et al.*, 2017).

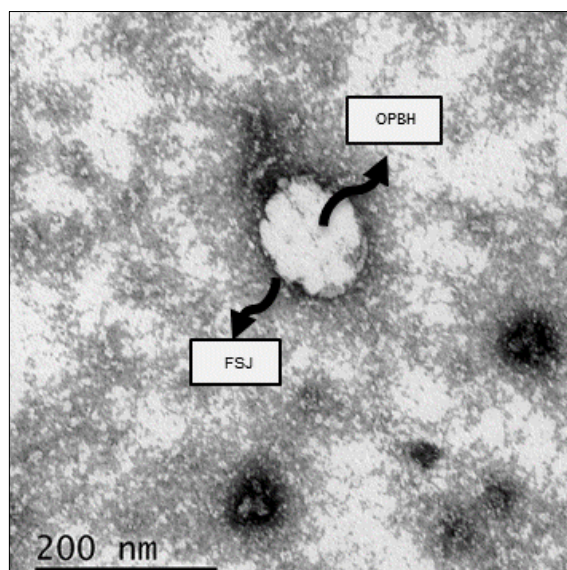


Fig. 2. Imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) da morfologia da NP-OPBH (escala = 200 nm).

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridadas com FSJ.

3.3 Caracterização das NP-OPBH, do OPBH livre e da FSJ quanto ao pH, parâmetros de cor, carotenoides totais e atividade antioxidante

O pH das NP-OPBH com farinha de semente de jaca apresentou tendência à acidez ($5,67 \pm 0,03$) e esses resultados podem ser explicados pelos valores de pH do OPBH ($3,23 \pm 0,48$) e da FSJ ($5,80 \pm 0,02$) (Tabela A.4, material suplementar). Ferreira Ribeiro *et al.* (2022) ao desenvolverem nanopartículas de óleo de palma bruto e suas frações, com caseína e goma arábica, relataram valores de pH variando de $3,82 \pm 0,04$ a $5,36 \pm 0,01$, estando os valores mais ácidos associados ao uso de caseína. A variação de pH entre nanopartículas obtidas a partir de óleos pode estar associada à ionização ou dissociação dos grupos de ácidos carboxílicos presentes nos polímeros que estão posicionados na interface partícula/água (Campo *et al.*, 2017). Além disso, pode ocorrer hidrólise de triacilgliceróis, especialmente do óleo livre em superfície, liberando ácidos graxos livres nessas amostras e, com isso, redução de pH. Jimenez *et al.* (2018) relataram valores de pH entre 5,55 e 6,32 para óleos de canela e pimenta-do-reino encapsulados com alginato de sódio como encapsulante.

Tabela A.4

Valor de pH, parâmetros de cor e conteúdo de carotenoides totais das NP-OPBH e de seus constituintes na forma livre.

Característica	NP-OPBH	OPBH	FSJ
pH	5,67 ± 0,03	3,23 ± 0,48	5,80 ± 0,02
Cor	L*	46,08 ± 0,16	39,94 ± 0,14
	a*	0,28 ± 0,33	22,78 ± 0,24
	b*	8,34 ± 0,86	30,63 ± 0,82
Carotenoides totais (µg/g)	1.031,62 ± 14,69	1.012,89 ± 37,43	-

Os dados são expressos como média ± desvio padrão (n = 3)

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridadas com FSJ.

As nanopartículas apresentaram parâmetros de cor de 46,08 ± 0,16 para L*, 0,28 ± 0,33 para a* e 8,34 ± 0,86 para b*. Como L* pode assumir valores entre 0 e 100, os resultados indicam valores intermediários de luminosidade; já o valor de a* representa o deslocamento entre vermelho e verde, e um valor positivo indica que as NP-OPBH não possuem tonalidade verde ou possuem maior influência da cor vermelha (Ricaurte *et al.*, 2016). Os resultados de b* indicam que as nanopartículas possuem uma coloração mais amarelada, já que b* indica a variação entre amarelo e azul (Ricaurte *et al.*, 2016). Os resultados de a* e b* podem estar associados a presença de carotenoides, que são pigmentos naturais de coloração amarela ao vermelho (Ambrósio, Campos & Faro, 2006).

Características de cor semelhantes foram relatadas para nanopartículas de óleo de palma bruto de 41,35 ± 0,14 para L* (encapsulado com caseína); 1,30 ± 0,01 para a* (encapsulado com caseína) e 6,62 ± 0,11 para b* (encapsulado com goma arábica) no trabalho de Ferreira Ribeiro *et al.* (2022). Resultado similar também foi apresentado por Assunção *et al.* (2024a), ao desenvolverem nanopartículas de óleo de palma bruto híbrido com farinha de semente de jaca, encontrando valores de 39,01 ± 3,91 para L*, 0,64 ± 0,09 para a* e 8,20 ± 2,53 para b*. A análise de cor é um aspecto de grande importância na indústria alimentícia, pois as características sensoriais podem auxiliar na atração do consumidor pelo alimento (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022). Nesse aspecto, as NP-OPBH podem fornecer uma alternativa promissora para adicionar cores em alimentos. Dados do conteúdo de carotenoides totais, pH e parâmetros de cor dos constituintes da NP-OPBH na forma livre estão apresentados em material suplementar (Tabela A.4).

Os carotenoides são reconhecidos antioxidantes e sua eficiência está associada à desativação do oxigênio *singlet* e do sequestro de radicais reativos. A ligação dupla conjugada dos carotenoides absorve o excesso de energia dessas moléculas, evitando assim reações oxidativas (Ricaurte *et al.*, 2020).

Os valores encontrados para o conteúdo de carotenoides totais de $1012,89 \pm 37,43 \mu\text{g/g}$ e $1031,62 \pm 14,69 \mu\text{g/g}$ para o OPBH livre e OPBH após o encapsulamento, respectivamente, estão de acordo com os relatados por Mozzon *et al.* (2018) (500 e $10.000 \mu\text{g/g}$) para o híbrido. Ainda, observou-se um percentual de retenção de carotenoides de 100%, indicando que a tecnologia de nanoencapsulamento empregada nesse estudo preservou completamente esse composto antioxidante. O percentual de retenção de carotenoides foi determinado com o intuito de compreender o efeito do encapsulamento sobre esse composto bioativo.

Ferreira Ribeiro *et al.* (2022), ao desenvolverem nanopartículas de óleo de palma bruto e frações com diferentes encapsulantes, encontraram valores de retenção de carotenoides de até 68%. Isso pode estar associado ao processo de encapsulamento com o uso de acetona, ao método de extração com o uso de metanol e hexano e a secagem do extrato em estufa, todas essas condições diferentes das aplicadas no presente estudo; já que os carotenoides são compostos sensíveis à oxidação e à isomerização que podem ocorrer durante a análise (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022).

Os testes de captura de radicais DPPH• e ABTS•+ são comumente usados para determinar a capacidade antioxidante de alimentos (Uluata & Ozdemir, 2017). Os valores de DPPH• para NP-OPBH ($2,5 \text{ mg}$ de OPBH e $2,17 \text{ mg}$ de FSJ/ mL), OPBH livre e FSJ encontrados neste estudo foram $11,31 \pm 0,58$, $2,09 \pm 0,74$ e $0,09 \pm 0,00 \text{ mM}$ de Trolox equivalente/mL nanopartícula, mM de Trolox equivalente/mg de óleo livre e mM de Trolox equivalente/mg de farinha, respectivamente (Tabela 2) e as capacidades de captura de ABTS•+ encontradas foram $3,87 \pm 0,92$, $1,12 \pm 0,11$ e $0,21 \pm 0,03 \text{ mM}$ de Trolox equivalente/mL nanopartícula, mM de Trolox equivalente/mg de óleo livre e mM de Trolox equivalente/mg de farinha, respectivamente para as mesmas amostras.

Tabela 2

Atividade antioxidante das NP-OPBH e de seus constituintes na forma livre.

	NP-OPBH (<i>mM de Trolox equivalente/mL</i>)	OPBH (<i>mM de Trolox equivalente/mg</i>)	FSJ (<i>mM de Trolox equivalente/mg</i>)
DPPH•	$11,31 \pm 0,58$	$2,09 \pm 0,74$	$0,09 \pm 0,00$
ABTS•+	$3,87 \pm 0,92$	$1,12 \pm 0,11$	$0,21 \pm 0,03$

Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n = 3$)

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com FSJ.

Teixeira, Macedo, Macedo, Silva, & Rodrigues (2013) investigaram a capacidade de eliminação de DPPH• em óleo de palma bruto (*Elaeis guineensis*) obtido a partir de diferentes métodos de extração, tendo encontrado os valores de $0,75 \pm 0,01$ (extração aquosa) e $0,85 \pm 0,02$ (extração enzimática) μM de Trolox equivalente/mg.

Rodríguez *et al.* (2016) investigaram a atividade antioxidante de óleo de palma bruto híbrido fabricado em diferentes estágios de maturidade do fruto e relataram 37,56% de inibição para o radical DPPH• no óleo em concentração de 1 mg/mL extraído de frutos colhidos com 24 semanas e de $0,34 \pm 0,01$ mM de Trolox equivalente /kg para o radical ABTS•+. Importante destacar que ainda não foram relatados na literatura valores de DPPH• expressos em trolox equivalente para o óleo de palma bruto híbrido.

Ferreira Ribeiro *et al.* (2022) relataram atividade antioxidante, por meio da avaliação da captura do radical ABTS •+, para nanopartículas de óleo de palma encapsuladas com caseína ($1,46 \pm 0,00$ μM Trolox/ mg de óleo extraído da nanopartícula) e com goma arábica ($1,46 \pm 0,00$ μM Trolox/mg óleo de óleo extraído da nanopartícula).

A alta atividade antioxidante dos carotenoides, presentes no OPBH, é atribuída principalmente à presença de ligações duplas conjugadas em sua estrutura (Rodríguez-Amaya & Kimura, 2004). Além dos carotenoides, os tocoferóis podem estar relacionados com a atividade antioxidante observada para o óleo de palma bruto híbrido (Ferreira Ribeiro *et al.*, 2022).

Donato, Ribeiro, Block & Nunes (2020) relataram a adição de óleo de palma bruto nanoencapsulado (NE-CPO) por emulsificação, utilizando amido de mandioca e goma arábica (1:1) como encapsulantes, como antioxidante em um molho para salada. Os autores concluíram que o NE-CPO pode ser empregado como uma alternativa aos antioxidantes sintéticos, como butil hidroxianisol (BHA) e butil hidroxitolueno (BHT), podendo atuar ainda como um espessante natural em molhos para salada.

A contribuição da FSJ na atividade antioxidante evidenciada para NP-OPBH está atribuída ao conteúdo de polifenóis, especialmente de compostos fenólicos, dos quais 25 tipos já foram relacionados em estudo conduzido por Shanooba, Tungare, Sunariwal, & Sonawane (2020), no qual encontrou valor de E50 (DPPH•) de 14,22 $\mu\text{g/ml}$. Ainda, valores de DPPH• de 16,07 μmol trolox/g foram reportados por Rodríguez, Quintana, Suarez, Cabrera, & Lagunes (2021) para farinha de semente de jaca.

3.3 Avaliação da estabilidade dos hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento refrigerado

3.4.1 Parâmetros de cor e Carotenoides totais dos hambúrgueres

O primeiro parâmetro que caracteriza a qualidade da carne e que determina a escolha pelo consumidor é a cor (Hanula *et al.*, 2022). Os valores para análise de cor das amostras de hambúrguer durante o armazenamento refrigerado estão demonstrados na Tabela 3 e estão de acordo as alterações visuais verificadas na Fig.3. Houve aumento significativo ($p < 0,05$) de luminosidade (L^*) para todas as amostras entre os dias 0 e 12, com variação de $43,64 \pm 2,40$ a $47,40 \pm 2,58$ para C-burguer, de $46,92 \pm 1,43$ a $52,58 \pm 2,59$ para N-burguer e de $48,58 \pm 2,22$ a $51,19 \pm 2,10$ para L-burguer.

Os menores valores ($p < 0,05$) para L^* foram observados entre as amostras C-burguer tanto no dia 0, quanto no dia 12, em relação as amostras N-burguer e L-burguer que não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$), como pode ser visualizado na Tabela 3, já que tanto as amostras N-burguer, quando L-burguer, tiveram adição de água, seja por meio da incorporação das nanopartículas aquosas, seja pela adição de água livre.

Tabela 3

Parâmetros de cor de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C).

Atributo	Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)				
		0	3	6	9	12
L^*	C-burguer	$43,64 \pm 2,40^{bB}$	$46,98 \pm 3,36^{bA}$	$46,29 \pm 2,94^{cAB}$	$46,59 \pm 0,90^{cAB}$	$47,40 \pm 2,58^{bA}$
	N-burguer	$46,92 \pm 1,43^{aB}$	$47,59 \pm 2,46^{abB}$	$48,58 \pm 1,56^{bB}$	$49,09 \pm 1,11^{bB}$	$52,58 \pm 2,59^{aA}$
	L-burguer	$48,58 \pm 2,22^{aB}$	$50,20 \pm 1,96^{aAB}$	$52,28 \pm 0,67^{aA}$	$50,88 \pm 1,80^{aA}$	$51,19 \pm 2,10^{aA}$
a^*	C-burguer	$15,94 \pm 1,48^{aA}$	$12,57 \pm 2,39^{bB}$	$8,92 \pm 0,79^{bC}$	$8,50 \pm 0,55^{bC}$	$8,99 \pm 0,43^{aC}$
	N-burguer	$13,11 \pm 1,21^{bA}$	$14,12 \pm 1,30^{aA}$	$13,17 \pm 1,04^{aA}$	$13,39 \pm 1,02^{aA}$	$8,41 \pm 0,30^{aB}$
	L-burguer	$14,16 \pm 1,79^{bA}$	$8,99 \pm 1,11^{bB}$	$7,62 \pm 0,42^{cC}$	$7,69 \pm 0,38^{cC}$	$7,31 \pm 0,94^{bC}$
b^*	C-burguer	$2,94 \pm 0,81^{bC}$	$5,42 \pm 0,69^{bAB}$	$5,05 \pm 0,65^{bB}$	$6,48 \pm 1,32^{aA}$	$6,51 \pm 0,92^{abA}$
	N-burguer	$6,34 \pm 0,75^{aBC}$	$6,70 \pm 0,78^{aABC}$	$5,89 \pm 0,71^{aC}$	$7,46 \pm 0,80^{aA}$	$7,31 \pm 0,86^{aAB}$
	L-burguer	$5,56 \pm 0,63^{aC}$	$6,96 \pm 0,59^{aA}$	$6,53 \pm 0,63^{aAB}$	$6,84 \pm 0,73^{aAB}$	$6,17 \pm 0,50^{bBC}$

Os dados são expressos como média $\pm$ desvio-padrão ($n = 3$)

Valores médios com letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) dentro de uma mesma coluna (mesmo tempo) para tratamentos diferentes.

Valores médios com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) no mesmo tratamento ao longo do tempo.

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com FSJ.

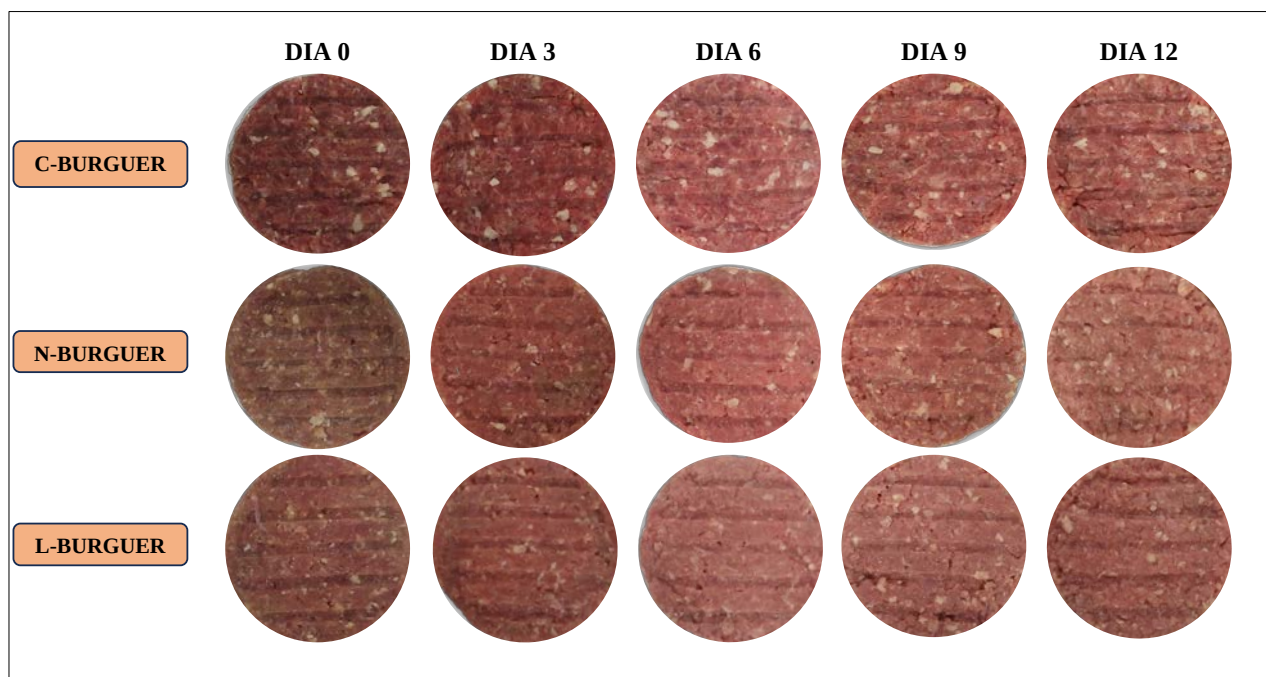


Fig. 3. Alterações na cor de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C).

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridadas com FSJ.

A cor da superfície da carne resulta da absorção seletiva da mioglobina, causada pela distribuição da luz que se reflete na carne, bem como de componentes importantes, como as fibras musculares e suas proteínas, e também é influenciada pela quantidade de líquido livre presente na carne (Souza, Shimokomaki, Terra, & Petracci, 2022). Além disso, um pH baixo aumenta a birrefringência, resultando em menos luz transmitida e mais luz refletida. A refração lateral através das miofibrilas é um mecanismo dominante de dispersão de luz, e isso pode aumentar em carnes com baixo pH final em comparação com a carne normal, porque o comportamento dos miofilamentos em valores de pH mais baixos aumenta a diferença no índice de reflexão entre a miofibrila e seus arredores (Souza *et al.*, 2022). Em geral, o desempenho das coordenadas de L^* pode estar associado ao método de preservação a vácuo (Vergara, Cózar, & Rubio, 2021).

O valor a^* refere-se ao vermelho da carne (Hadian, Rajaei, Mohsenifar & Tabatabaei, 2017), que diminuiu ao longo do armazenamento para todos os tratamentos ($p < 0,05$) (tabela 3). A menor redução foi verificada para as amostras N-burguer, que variou de $13,11 \pm 1,21$ a $8,41 \pm 0,30$ do dia 0 ao 12, seguido de L-burguer que variou de $14,16 \pm 1,79$ a $7,31 \pm 0,94$, e a maior variação foi encontrada nas amostras C-burguer que reduziram de $15,94 \pm 1,48$ para $8,99 \pm 0,43$. Em adição, enquanto as amostras C-burguer e L-burguer apresentaram uma redução

significativa ($p < 0,05$) de a^* logo nos primeiros 3 dias de armazenamento refrigerado, as amostras N-burger mantiveram maior estabilidade, tendo sido observado redução significativa ($p < 0,05$) apenas entre os dias 9 e 12.

A redução dos valores de cor a^* durante o armazenamento indica que a perda da vermelhidão se deve à conversão da oximioglobina em metamioglobina pelos radicais livres. Os radicais livres são formados durante a oxidação lipídica e interação com o grupo heme da mioglobina, iniciando a oxidação da molécula e fazendo com que o produto perca sua cor. Assim, os radicais livres formados durante a oxidação podem danificar as fibras musculares e reduzir a pigmentação da carne (Hanula *et al.*, 2022). Nesse aspecto, há indicação que o nanoencapsulamento de OPBH contribuiu para a maior estabilidade desse pigmento, ao considerar que as nanopartículas protegeram a oximioglobina da ação dos radicais livres, possivelmente pela ação antioxidante dos seus compostos bioativos, ao longo dos 12 dias de armazenamento refrigerado.

O valor b^* refere-se ao amarelo da carne (Hadian *et al.*, 2017) e esse parâmetro aumentou ao longo do tempo para as amostras C-burger, variando de $2,94 \pm 0,81$ a $6,51 \pm 0,92$ ($p < 0,05$) e estabilidade do parâmetro para as amostras N-burger e L-burger, com valores entre $6,34 \pm 0,75$ a $7,31 \pm 0,86$ e $5,56 \pm 0,63$ a $6,17 \pm 0,50$, respectivamente.

O menor valor de b^* ($2,94 \pm 0,81$) no primeiro dia foi observado para o hambúrguer C-burger ($p < 0,05$) e os maiores valores foram relatados para as amostras adicionadas de OPBH, seja na forma nanoencapsulada ($6,34 \pm 0,75$) ou livre ($5,56 \pm 0,63$), sem diferença estatística ($p > 0,05$) entre elas, uma vez que as concentrações de óleo (mg/g) presentes nas amostras são equivalentes. Óleo de palma bruto híbrido agrega amarelo às amostras N-burger e L-burger devido à elevada presença de carotenoides ($1012,88 \pm 37,43 \mu\text{g/g}$), que são pigmentos naturais que variam da coloração amarela ao vermelho (Ambrósio *et al.*, 2006).

As alterações no conteúdo de carotenoides totais dos hambúrgueres ao longo do armazenamento refrigerado estão apresentadas na Fig. 4. Não houve variação ($p > 0,05$) entre os dias 0 e 12 para o valor de CT ($\mu\text{g/g}$) das amostras C-burger ($0,24 \pm 0,04$ e $0,23 \pm 0,02$), N-burger ($0,60 \pm 0,00$ e $0,63 \pm 0,09$) e L-burger ($0,72 \pm 0,13$ e $0,70 \pm 0,06$).

O valor de CT de $0,24 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$ para C-burger no dia 0 sob armazenamento refrigerado foi significativamente menor ($p < 0,05$) do que os valores identificados para N-burger ($0,63 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$) e L-burger ($0,72 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$), os quais não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre eles. Já a partir do dia 9, as amostras L-burger ($0,82 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$) passaram a apresentar valores de CT mais elevados ($p < 0,05$) do que as N-burger ($0,71 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$). No dia 12, foram observados os menores valores para o C-burger ($0,23 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$) e

maiores para o L-burguer ($0,70 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$), em relação aos hambúrgueres contendo nanopartículas ($0,60 \pm 0,00 \mu\text{g/g}$) ($p < 0,05$). Valores de maior concentração de carotenoides nas amostras N-burguer e L-burguer são esperados, pois houve adição de OPBH (fonte de carotenoides), seja na forma nanoencapsulada, seja na forma livre.

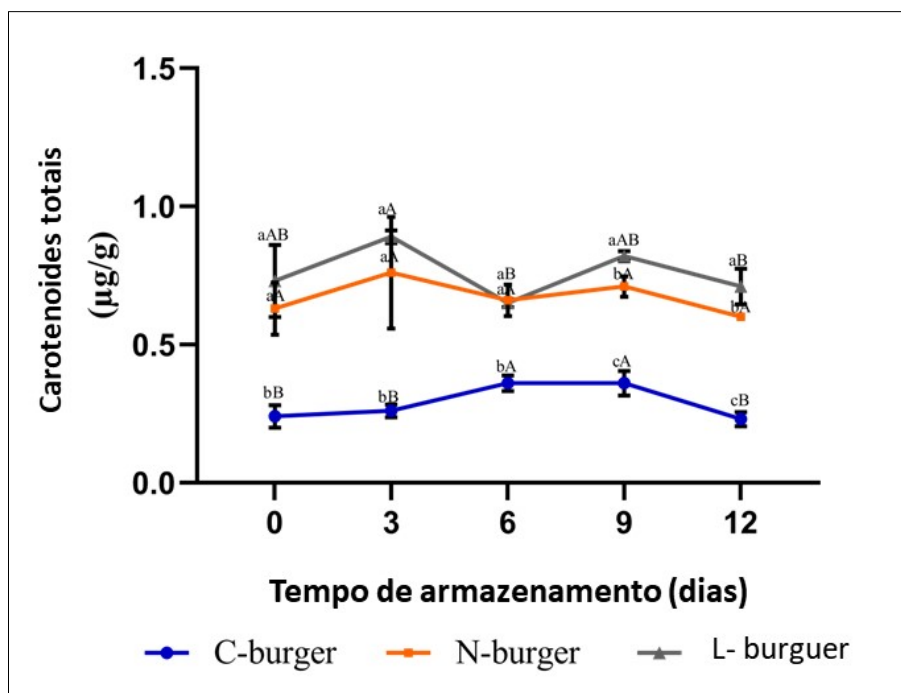


Fig. 4. Carotenoides totais de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C).

Valores médios com letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro do mesmo período para diferentes tratamentos.

Valores médios com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro do mesmo tratamento ao longo do tempo.

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com FSJ.

Carotenoides são encontrados em algum teor em carne bovina e são um dos principais sequestradores de radicais livres solúveis em lipídios. Muitos autores associam o teor de β -caroteno na carne bovina com alimentação e pasto aos quais os animais são submetidos. Estão relatados na literatura valores iniciais de $0,25 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$ (Descalzo *et al.*, 2008) e de $0,152 \pm 0,100 \mu\text{g/g}$ (Walshe, Sheehan, Delahunty, Morrissey, & Kerry, 2006) de β -caroteno em carne bovina e búfalo, respectivamente, e estes são semelhantes aos identificados em C-burguer.

Contudo, apesar desses compostos apresentarem insaturações em sua cadeia, sendo, portanto, sensíveis ao oxigênio, luz, temperatura e acidez (Ambrósio *et al.*, 2006), quase não foram observadas reduções no conteúdo de carotenoides ao longo dos 12 dias de

armazenamento refrigerado para todos os tratamentos ($p>0,05$). Isso significa que o armazenamento das amostras à vácuo, no escuro e em temperatura de refrigeração possibilitou a manutenção do conteúdo de carotenoides.

3.4.2 Oxidação lipídica por determinação das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) dos hambúrgueres e oxidação proteica por determinação de grupos sulfidrilas (tiol)

A oxidação lipídica, juntamente com a deterioração microbiana, são as duas principais causas de deterioração sensorial e redução do prazo de validade em produtos de carne fresca, como hambúrgueres (Botella-Martinez *et al.*, 2021). A estabilidade oxidativa de hambúrguer elaborado com NP-OPBH e FSJ foi avaliada medindo-se o teor de malonaldeído (MDA) (Fig.5), que é o principal produto secundário resultante da decomposição de hidroperóxidos formados a partir de ácidos graxos poli-insaturados (Botella-Martinez *et al.*, 2021).

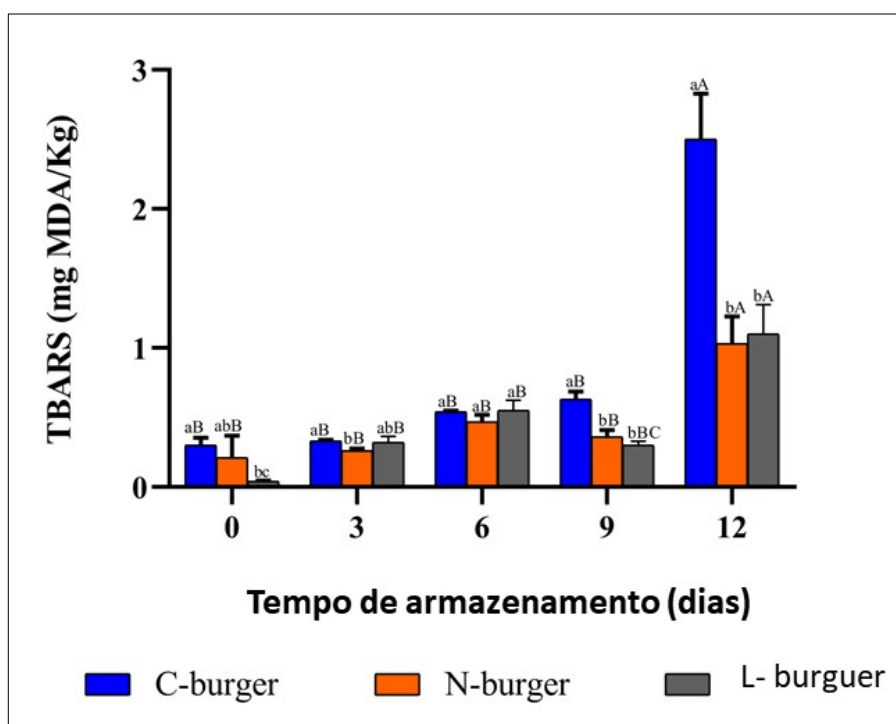


Fig. 5. Oxidação lipídica de hambúrgueres controle (C-burger), adicionado de NP-OPBH (N-burger) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burger), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C).

Valores médios com letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro do mesmo período para diferentes tratamentos.

Valores médios com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro do mesmo tratamento ao longo do tempo.

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com FSJ.

Todos os valores de TBARS aumentaram ao longo do tempo de armazenamento. Os valores mais altos de TBARS foram observados nos hambúrgueres controle (C-burguer), variando de $0,30 \pm 0,05$ a $2,45 \pm 0,32$ mg MDA/kg durante todos os 12 dias de armazenamento ($p < 0,05$), no entanto, sem alterações significativas até o 9 dia ($p > 0,05$). Essa mesma estabilidade até o 9º dia foi observada para as amostras N-burguer e L-burguer, que apresentaram menores variações em comparação ao controle ($p < 0,05$), de $0,21 \pm 0,17$ a $1,03 \pm 0,19$ e $0,03 \pm 0,01$ a $1,10 \pm 0,21$, respectivamente. Esses resultados apontam para o potencial antioxidante dos compostos bioativos presentes tanto no OPBH, quanto na FSJ na proteção da oxidação lipídica, independente do nanoencapsulamento.

Os compostos bioativos antioxidantes protegem os alimentos contra a oxidação lipídica por meio de diversos mecanismos, de forma que antioxidantes diferentes atuam em diferentes fases da reação deteriorante. A eficiência antioxidante poderia ser aumentada por uma combinação de antioxidantes, a exemplo de um eliminador de oxigênio *singlet*, como os carotenoides presentes no OPBH; e eliminadores de radicais livres, por meio dos compostos fenólicos presentes na FSJ e dos tocoferóis e tocotrienóis do OPBH (Hosseini & Jafari, 2020). A melhor ou pior estabilidade oxidativa de produtos cárneos depende de um balanço adequado entre compostos antioxidantes e pró-oxidantes (Botella-Martinez *et al.*, 2021).

O valor de TBARS é comumente utilizado para medir o grau de peroxidação lipídica, representando a quantidade de substâncias (principalmente cetonas e aldeídos) produzidas na oxidação lipídica secundária. Esses subprodutos da oxidação geram aroma rançoso e sabor desagradável em carnes oxidadas e, portanto, afetam adversamente sua qualidade sensorial (Sayadi, Mojaddar Langroodi, & Jafarpour, 2021).

Valores de TBARS acima de 1,0 mg MDA/kg são considerados limite para percepção de sabor desagradável (McKenna *et al.*, 2005) e nesse estudo foram verificados apenas para as amostras de hambúrguer controle e no último dia de armazenamento ($2,45 \pm 0,32$ mg MDA/kg). Em contraste, os tratamentos N-burguer ($1,03 \pm 0,19$ mg MDA/kg) e L-burguer ($1,10 \pm 0,21$ mg MDA/kg), ainda que em 12 dias de armazenamento refrigerado, não apresentaram valores de TBARS elevados que possam estar associados a alterações sensoriais.

Os teores de tiol (sulfidril) da proteína foram usados para medir o grau de reações oxidativas que afetam as proteínas musculares durante o armazenamento refrigerado das amostras de hambúrguer. Como resultado da oxidação de proteínas, os grupos sulfidrilas formam ligações dissulfeto inter e intramoleculares e, então, a concentração de grupos sulfidrilas diminui com o progresso das reações oxidativas (Turgut *et al.*, 2016). Portanto, determinar a concentração de grupos sulfidrilas é um indicador apropriado do nível de oxidação

de proteínas.

No presente estudo, uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no conteúdo de grupos sulfidrilas foi observado durante o armazenamento refrigerado para todos os tratamentos (Fig.6), notando-se reduções de $1,49 \pm 0,06$ para $0,58 \pm 0,14$, de $2,82 \pm 0,20$ para $1,57 \pm 0,11$ e de $2,24 \pm 0,27$ para $0,67 \pm 0,08$ para C-burguer, N-burguer e L-burguer, respectivamente, entre o primeiro e último dia de armazenamento. Esse comportamento indica que os grupos sulfidrilas foram perdidos devido a reações oxidativas (Rysman, Van Hecke, Van Poucke, Smet, & Van Royen, 2016).

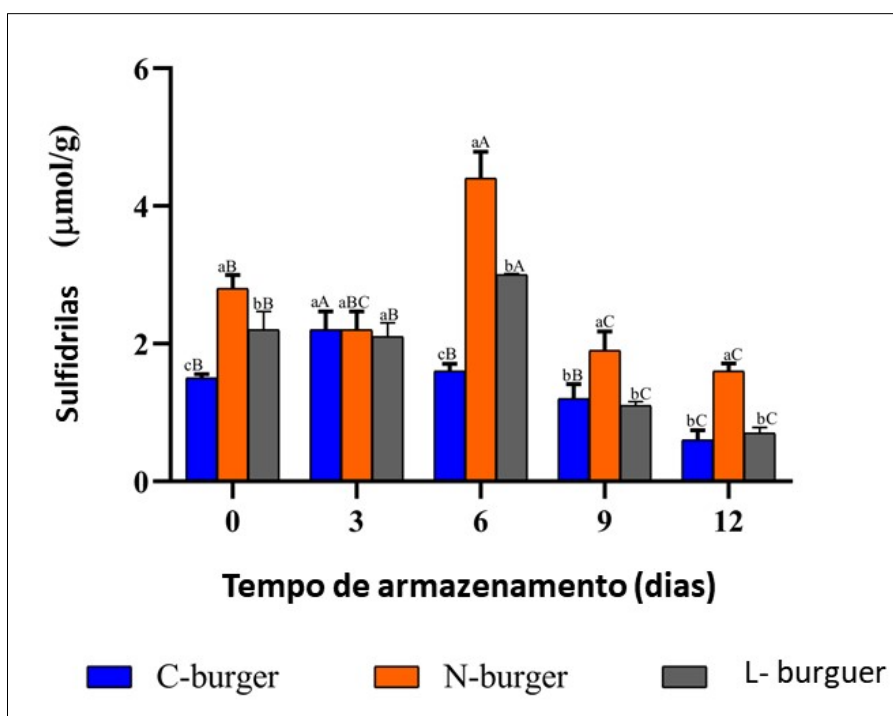


Fig. 6. Oxidação proteica de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C).

Valores médios com letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro do mesmo período para diferentes tratamentos.

Valores médios com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro do mesmo tratamento ao longo do tempo.

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com FSJ.

Apesar redução dos grupos sulfidrilas, esse comportamento primeiro se manifestou significativamente ($p < 0,05$) com um aumento, e então posterior redução para todos os tratamentos. Para as amostras C-burguer, o aumento se deu entre os dias 0 ($1,49 \pm 0,06$) e 3 ($2,24 \pm 0,27$), seguido de redução no dia 6 ($1,65 \pm 0,11$). Já nos hambúrgueres contendo nanopartículas (N-burguer) esse comportamento foi postergado, ocorrendo aumento entre os

dias 3 ($2,24 \pm 0,27$) e 6 ($4,36 \pm 0,38$), seguido de queda no dia 9 ($1,94 \pm 0,28$). A mesma variação entre os dias 3, 6 e 9 ocorreu para as amostras contendo constituintes na forma livre (L-burguer), com valores de $2,09 \pm 0,20$ para o dia 3, de $3,01 \pm 0,02$ para o dia 6 e de $1,07 \pm 0,06$ para o dia 9.

O aumento do teor de grupos sulfidrilas pode estar associado à maior exposição desse composto devido à degradação das proteínas por ação enzimática ou microbiana. Normalmente, grupos sulfidrilas estão localizados no interior da proteína devido à relativa alta hidrofobicidade da superfície. Após exposição, esses grupamentos se tornam alvos da ação de radicais livres (Souza *et al.*, 2022) e, então, a redução pode ser atribuída ao ataque direto de radicais livres aos grupos tiol no resíduo de cisteína das proteínas da carne, convertendo-os em pontes dissulfeto e outros produtos da oxidação do tiol, como ácido sulfênico, sulfínico e sulfônico e tiosulfonato (Rysman *et al.*, 2016). Em adição, podem ocorrer interações com o MDA, produto da oxidação lipídica, diminuindo o teor de grupos tiol livres durante o armazenamento (Souza *et al.*, 2022).

As amostras C-burguer apresentaram os menores valores ($p < 0,05$) para grupos sulfidrilas desde o dia 0 ($1,49 \pm 0,06 \mu\text{mol/g}$) até o dia 12 ($0,58 \pm 0,14 \mu\text{mol/g}$) de armazenamento, indicando que a oxidação proteica foi mais acelerada nessas amostras.

As amostras N-burguer foram as mais protegidas da oxidação proteica, pois foram observados maiores valores ($p < 0,05$) de $2,82 \pm 0,20 \mu\text{mol/g}$ para as sulfidrilas no dia 0 e de $1,57 \pm 0,11 \mu\text{mol/g}$ para o dia 12, em relação as amostras L-burguer, que alcançaram valores de $2,24 \pm 0,27 \mu\text{mol/g}$ e $0,67 \pm 0,08 \mu\text{mol/g}$ para os mesmos dias de armazenamento, respectivamente. Esses resultados mostram que o nanoencapsulamento tem efeito superior na proteção da oxidação proteica em hambúrgueres de carne.

A perda de grupos tiol/sulfidrilas e a formação consistente de TBARS em todos os tratamentos, porém notavelmente maior nas amostras C-burguer (controle), sustentam a hipótese de que os grupos tiol reagem com aldeídos resultantes da oxidação lipídica, como o MDA (Souza *et al.*, 2022). Os tióis proteicos, além de serem essenciais para a dieta humana, também estão envolvidos como cofatores em diversas reações metabólicas, de forma que o seu teor diminuído nas amostras controle reduziram o valor nutricional da carne para C-burguer (Souza *et al.*, 2022). Em contrapartida, houve maior preservação nutricional da carne para as amostras N-burguer.

O efeito protetor dos antioxidantes adicionados ao N-burguer pode estar relacionado à capacidade das nanopartículas em promover liberação controlada de compostos bioativos de propriedade conservante, influenciando nas suas características físico-químicas, tornando-os mais eficientes do que na forma livre, ao aumentar a solubilidade, homogeneidade e superfície de contacto desses compostos com agentes deteriorantes nas matrizes alimentícias (Hosseini &

Jafari, 2020).

3.4.3 pH dos hambúrgueres

As alterações no pH dos hambúrgueres ao longo do armazenamento refrigerado estão apresentadas na Fig. 7. Entre os dias 0 e 12 os pH do C-burger, N-burger e L-burger reduziram significativamente ($p < 0,05$). de $6,20 \pm 0,13$ para $4,91 \pm 0,08$, de $5,75 \pm 0,06$ para $5,30 \pm 0,13$ e de $5,52 \pm 0,17$ para $5,03 \pm 0,06$, respectivamente, com exceção ao aumento observado ($p < 0,05$) nos primeiros 3 dias, seguido de queda, para as amostras N-burger.

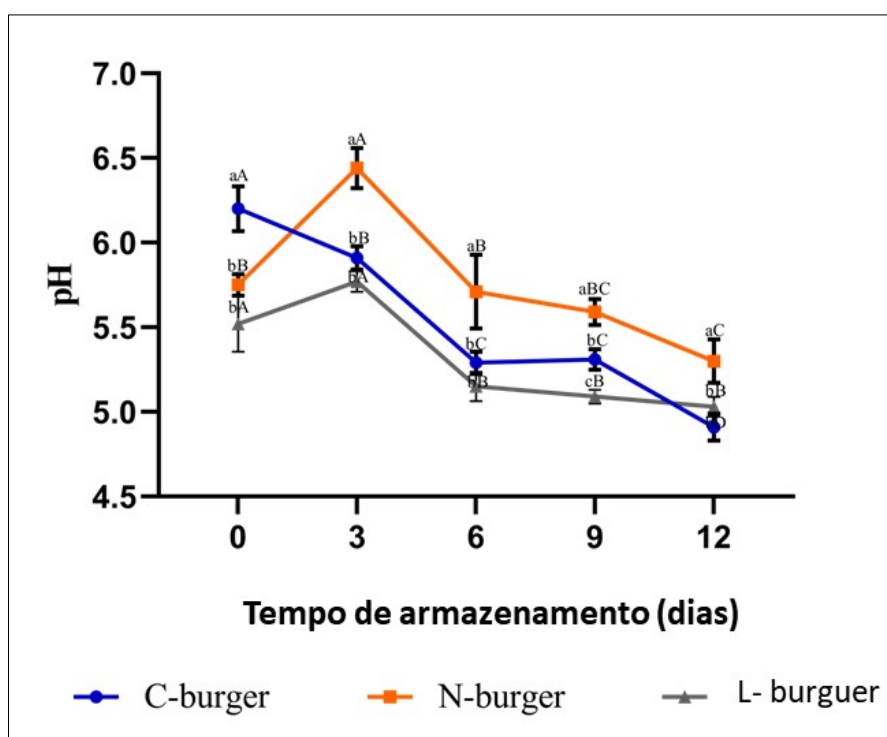


Fig. 7. pH de hambúrgueres controle (C-burger), adicionado de NP-OPBH (N-burger) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burger), durante 12 dias sob armazenamento refrigerado (4°C).

Valores médios com letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro do mesmo período para diferentes tratamentos.

Valores médios com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro do mesmo tratamento ao longo do tempo.

OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma bruto híbridas com FSJ.

O valor de pH inicial ($6,20 \pm 0,13$) encontrado para as amostras C- burger (controle) está de acordo com o relatado por Martínez-Zamora, Ros, & Nieto (2020) em hambúrgueres crus. Já o pH inicial mais ácido observado nas amostras N-burger é devido ao pH verificado para as nanopartículas ($5,67 \pm 0,03$) incorporadas ao hambúrguer.

Apesar da literatura (Pabast, Shariatifar, Beikzadeh, & Jahed, 2018; Sayadi *et al.*, 2021; Verma, Pathak, Singh, & Umaraw, 2016) indicar que durante o armazenamento refrigerado de carne crua há uma tendência de aumento do pH devido à ação de enzimas endógenas ou microbianas, como protease e lipase, resultando em um aumento na concentração de bases voláteis ao longo de armazenamentos prolongados (Hadian *et al.*, 2017), o baixo pH durante o armazenamento pode ser devido a uma acidificação do meio causada pelo crescimento de bactérias lácticas, que geralmente ocorre quando a carne é conservada em embalagem a vácuo (Al-Juhaimi *et al.*, 2018; Vergara *et al.*, 2021). Além disso, os resultados para contagem de psicrófilos do presente estudo corroboram para esse efeito, como descrito da sessão 3.4.4.

Valores de pH reduzidos ao longo do tempo de armazenamento refrigerado de 20 dias foram verificados para almôndegas de frango incorporadas de extrato de folhas de Argel (*Solenostemma argel*) por Al-Juhaimi *et al.* (2018) ($5,18 \pm 0,00$ a $5,96 \pm 0,01$) e também por Vergara, Cózar, & Rubio (2020) para hambúrgueres de carne de cordeiro adicionados de diferentes formas de orégano durante 14 dias de armazenamento à 2°C ($5,21 \pm 0,02$ a $5,88 \pm 0,01$).

Os resultados deste estudo mostram que a adição NP-OPBH à formulação de hambúrguer exibe um efeito significativo na inibição da redução do pH ($p < 0,05$) ao longo dos 12 dias de armazenamento, em relação às amostras C-burger.

3.4.4 Contagem de microrganismos nos hambúrgueres de carne bovina

Um dos principais elementos que limitam a vida de prateleira dos produtos alimentícios é o desenvolvimento de grupos microbianos, como microrganismos patogênicos e deteriorantes durante o armazenamento. Produtos à base de carne estão propensos à degradação microbiológica, devido às suas condições favoráveis para o desenvolvimento de um amplo espectro de microrganismos (Esmaeili *et al.*, 2020). A tabela 4 apresenta a evolução das populações microbianas investigadas nas diferentes amostras de hambúrgueres embaladas a vácuo.

A contagem inicial de microrganismos mesófilos para todos os tratamentos variou de 5,25 a 5,64 log UFC/g, sem diferença estatística ($p > 0,05$) e esse resultado está associado à população microbiana inicial da carne crua (Shahbazi, Karami, & Shavisi, 2018). No entanto, apesar dessa alta contagem inicialmente encontrada, apenas o tratamento L-burger atingiu valor próximo a 7 log CFU/g (limite microbiológico superior para qualidade aceitável da carne) (ICMSF, 1986) no 12º dia de armazenamento, o que indica que as condições de higiene e preservação do produto foram adequadas, já que a vida útil da carne moída crua armazenada

1793 sob refrigeração é de aproximadamente 2 a 5 dias (Shahbazi *et al.*, 2018).

1794

1795 Tabela 4

1796 Contagem de microrganismos em amostras de hambúrgueres controle (C-burguer), adicionado
1797 de NP-OPBH (N-burguer) e adicionado de OPBH, FSJ e água na forma livre (L-burguer),
1798 durante 12 dias, sob armazenamento refrigerado (4°C).

Microrganismos (log 10 CFU/g)	Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)				
		0	3	6	9	12
Aeróbios Mesófilos	C-burguer	5,64±0,05 ^{aD}	5,83±0,12 ^{abCD}	6,07±0,30 ^{aBC}	6,41±0,08 ^{aAB}	6,54±0,09 ^{aA}
	N-burguer	5,46±0,67 ^{aA}	5,65±0,11 ^{ba}	5,80±0,34 ^{aA}	5,71±0,21 ^{ba}	5,83±0,30 ^{ba}
	L-burguer	5,25±0,10 ^{aC}	6,20±0,28 ^{aAB}	6,02±0,19 ^{aB}	6,16±0,34 ^{abB}	6,85±0,25 ^{aA}
Aeróbios Psicrófilos	C-burguer	6,73±0,02 ^{aA}	7,25±0,03 ^{aA}	7,20±0,09 ^{aA}	7,12±0,36 ^{aA}	7,12±0,01 ^{aA}
	N-burguer	5,86±0,05 ^{bb}	6,55±0,02 ^{baB}	6,88±0,02 ^{aA}	6,85±0,38 ^{aA}	7,19±0,13 ^{aA}
	L-burguer	5,86±0,05 ^{bb}	7,18±0,13 ^{aA}	6,87±0,13 ^{aA}	6,56±0,40 ^{aAB}	6,33±0,18 ^{baB}
<i>Enterobacteriaceae</i>	C-burguer	3,36±0,32 ^{aB}	3,98±0,12 ^{aA}	3,53±0,24 ^{baB}	3,26±0,07 ^{bb}	3,04±0,06 ^{bb}
	N-burguer	2,84±0,21 ^{aB}	3,39±0,14 ^{ba}	3,16±0,15 ^{baB}	3,14±0,25 ^{baB}	3,01±0,07 ^{baB}
	L-burguer	3,48±0,50 ^{aA}	4,18±0,37 ^{aA}	4,44±0,27 ^{aA}	4,29±0,52 ^{aA}	4,15±0,15 ^{aA}

1799 Os dados são expressos como média ± desvio-padrão.

1800 Valores médios com letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) dentro de uma mesma
1801 coluna (mesmo tempo) para tratamentos diferentes.

1802 Valores médios com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) no mesmo tratamento
1803 ao longo do tempo.

1804 OPBH: óleo de palma bruto híbrido; FSJ: farinha de semente de jaca; NP-OPBH: nanopartículas de óleo de palma
1805 bruto híbridas com FSJ.

1806

1807 A contagem de mesófilos apresentou um aumento significativo ($p < 0,05$) para as amostras
1808 C-burguer e L-burguer, variando de $5,64 \pm 0,05$ a $6,54 \pm 0,09$ log UFC/g e de $5,25 \pm 0,10$ a $6,85$
1809 $\pm 0,25$ log UFC/g, respectivamente, entre os dias 0 e 12. Entre as amostras de hambúrguer
1810 contendo nanopartículas, não houve aumento do crescimento para esse microrganismo, que
1811 apresentou contagem inicial ($5,46 \pm 0,67$ log UFC/g) estatisticamente similar ($p > 0,05$) à
1812 contagem final ($5,83 \pm 0,30$ log UFC/g). Ainda, se observou que esse valor encontrado para N-
1813 burguer no 12º dia de armazenamento também foi o menor valor observado ($p < 0,05$) em
1814 comparação aos demais tratamentos, indicando o efeito inibidor que as NP-OPBH podem
1815 exercer frente ao crescimento de bactérias mesófilas.

1816 As contagens de microrganismos psicrófilos demonstraram aumento ($p < 0,05$) de $5,86 \pm$
1817 $0,05$ a $7,19 \pm 0,13$ log UFC/g, com maior variação observada a partir do dia 6 ($6,88 \pm 0,02$ log
1818 UFC/g), ao longo do armazenamento de 12 dias para as amostras N-burguer. Já para as amostras
1819 C-burguer e L-burguer, as variações observadas de $6,73 \pm 0,02$ a $7,12 \pm 0,01$ log UFC/g e de

5,86 ± 0,05 a 6,33 ± 0,18, respectivamente, não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$).

No dia 3 de armazenamento, tanto as amostras C-burger (7,25 ± 0,03 log UFC/g) e L-burger (7,18 ± 0,13 log UFC/g) atingiram valor de 7 log CFU/g, sem diferença entre esses tratamentos ($p > 0,05$), o que não ocorreu com as amostras N-burger que somente atingiram valores próximos a esse limite no dia 6 (6,88 ± 0,02 log UFC/g) de armazenamento. No entanto, no 12º dia de armazenamento tanto as amostras C-burger quanto N-burger não diferiram significativamente entre elas ($p > 0,05$), enquanto a L-burger apresentou menor valor ($p < 0,05$). A partir desses resultados, considera-se que não foram observados efeitos de conservação das amostras com nanopartículas frente aos psicrófilos.

Dentre o grupo de bactérias psicrófilas, as bactérias do ácido láctico são organismos naturalmente encontrados na principal microbiota da carne fresca (Sayadi *et al.*, 2021). Apresentam crescimento anaeróbico, o que pode justificar o incremento da contagem de psicrófilos nos hambúrgueres que foram armazenados à vácuo sob refrigeração. Essas bactérias produzem ácido láctico e esse dado é ratificado pela redução de pH encontrada nos hambúrgueres ao longo do tempo.

Pseudomonas spp. é outro grupo de microrganismos psicrófilos deteriorantes encontrados na carne fresca e em produtos cárneos preservados em condições de armazenamento refrigerado. Enzimas como lipase e fosfolipase produzidas por *Pseudomonas* spp. podem degradar rapidamente as estruturas da carne fresca, incluindo proteínas e lipídios em condições de refrigeração e, posteriormente, liberar ácidos graxos de cadeia curta, que são susceptíveis à oxidação (Shahbazi *et al.*, 2018), assim como também levam à redução do pH.

Em relação às *Enterobacteriaceae* (Tabela 4), o valor inicial encontrado foi de 3,36 ± 0,32 para C-burger, 2,84 ± 0,21 para N-burger, e de 3,48 ± 0,50 log UFC/g para L-burger, sem diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos, o que é indicativo de boas práticas higiênicas no preparo de hambúrgueres bovinos (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016; Sirocchi *et al.*, 2017). Os três primeiros dias de armazenamento expressaram aumento de contagem mais significativo ($p < 0,05$) para a família das *Enterobacteriaceae* em todos os tratamentos, no entanto, com menor contagem de bactérias encontradas em N-burger (3,39 ± 0,14 log UFC/g), em relação às amostras C-burger (3,98 ± 0,12 log UFC/g) e L-burger (4,18 ± 0,37), que não apresentaram diferenças nas contagens ($p > 0,05$).

Após o terceiro dia de armazenamento, não foram observadas alterações significantes para as amostras N-burger e L-burger ($p > 0,05$), mas uma leve queda para as amostras C-burger entre os dias 6 (3,53 ± 0,24 log UFC/g) e 9 (3,26 ± 0,07 log UFC/g), seguido de estabilidade. Ao final dos 12 dias de armazenamento, nenhuma das amostras atingiu valor de

log superior ao limite de 7 log CFU/g. Esses resultados indicam que, durante os três primeiros dias de armazenamento refrigerado, a adição de nanopartículas de OPBH à hambúrguer de carne bovina exerceu efeito conservador, inibindo o crescimento de *Enterobacteriaceae*, pois a partir de então suas contagens não defeririam do controle ($p>0,05$). Além disso, as contagens de N-burguer foram significativamente menores ($p<0,05$) que as de L-burguer a partir do dia 3.

Pertencente ao grupo de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Staphylococcus aureus* é uma bactéria patogênica, comumente associada com graves surtos de intoxicação alimentar atribuída a produtos cárneos contaminados (Ghaderi-Ghahfarokhi *et al.*, 2016). Nesse estudo não foram isoladas colônias com características sugestivas da presença desse microrganismo nas amostras de hambúrguer analisadas, assim como não foram isoladas colônias sugestivas de *Salmonella sp.*

Os resultados promissores na conservação microbiológica que as nanopartículas demonstraram ter sobre o hambúrguer tem relação com o menor tamanho de partícula de NP-OPBH (~200nm), que aumenta a relação superfície-volume e, conseqüentemente, interage de forma mais eficaz com a membrana celular bacteriana, causando contagens mais baixas em comparação com as amostras contendo OPBH e FSJ na forma livre (Esmaili *et al.*, 2020). A interação de nanopartículas com as células-alvo pode ocorrer por adsorção na superfície celular, fusão com a membrana celular e liberação de compostos bioativos antimicrobianos (Pabast *et al.*, 2018).

As propriedades antimicrobianas de óleos vegetais estão associadas à presença de ácidos graxos de cadeia média (AGCM). Esses ácidos monocarboxílicos saturados e não ramificados estão presentes especialmente em óleos de coco e palma (Hovorková, Laloučková, & Skřiv, 2018). O grupo AGCM é constituído pelo ácido capróico (C6:0, ácido hexanóico), ácido caprílico (C8:0, ácido octanóico), ácido cáprico (C10:0, ácido decanóico) e ácido láurico (C12:0, ácido dodecanóico). Dentre esse grupo, o OPBH possui até 0,6% de ácido láurico em sua composição (Codex, 2023). Os AGCM são usados há muito tempo na preservação de rações, especialmente em silagem (Hovorková *et al.*, 2018).

Os ácidos graxos (AGs) podem atravessar a membrana celular bacteriana e, com isso, causar alterações conformacionais na estrutura da membrana plasmática, afetando assim a permeabilidade da membrana e interrompendo o transporte de elétrons, importante para a sobrevivência da célula microbiana (Hovorková *et al.*, 2018).

Já em relação a farinha de semente de jaca, a sua atividade antimicrobiana pode estar associada aos compostos jacalina e artocarpina, que são lectinas presentes em sua composição (Hajj, Lopes, Visentainer, Petenuci & Fonseca, 2022). Ainda, atividade de inibição contra

microrganismos patogênicos e deteriorantes, a exemplo de *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* e *S. aureus*, já foi relatada para co-produtos de jaca (Barberis, Quiroga, Barcia, Talia, & Debattista, 2018).

4. Conclusão

O nanoencapsulamento do OPBH demonstrou efeito antioxidante e antimicrobiano promissor na conservação de hambúrguer de carne bovina, armazenado durante 12 dias à 4°C, devido ao seu conteúdo de compostos fitoquímicos, como carotenoides, e ácidos graxos. Esse nanoconservante natural e *clean label* apresentou capacidade em inibir a oxidação lipídica, proteica, assim como o crescimento de bactérias mesófilas e da família *Enterobacteriaceae* nas amostras N-burguer. Diante dos resultados apresentados, conclui-se que a incorporação de NP-OPBH ao hambúrguer de carne bovina é um método eficaz para a conservação de alimentos, prolongando a vida útil da carne bovina, além de agregar conteúdo importante de compostos bioativos ao alimento e, dessa forma, levar à substituição do uso de aditivos químicos sintéticos comumente adicionados no processamento de alimentos.

Agradecimentos

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES), Código Financeiro 001, e contou com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq/Brasil, Processos nos. 409924/2021-0; 403104/2022-0; 406734/2022 – INCT Carne). C. D. Ferreira Ribeiro, C. O. de Souza, I. L. Nunes e B. A. S. Machado agradecem ao CNPq/Brasil pelas Bolsas de Produtividade em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora (Processos nos. 303587/2021-0, 309955/2022-0, 310088/2022-4 e 306041/2021-9, respectivamente). C. D. Ferreira Ribeiro e T. S. Oliveira agradecem ao Dr. Ronald B. Pegg da University of Georgia (EUA) pelo estágio do Doutorado Sanduíche.

Referências

- Al-Dalali, S., Li, C., & Xu, B. (2022). Effect of frozen storage on the lipid oxidation, protein oxidation, and flavor profile of marinated raw beef meat. *Food Chemistry*, 376. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131881>.
- Al-Juhaimi, F. Y., Shahzad, S. A., Ahmed, A. S., Adiamo, O. Q., Mohamed Ahmed, I. A., Alsawmahi, O. N., Ghafoor, K., & Babiker, E. E. (2018). Effect of Argel (*Solenostemma*

- 1921 argel) leaf extract on quality attributes of chicken meatballs during cold storage. *Journal of*
 1922 *Food Science and Technology*, 55(5), 1797–1805. [https://doi.org/10.1007/s13197-018-3094-](https://doi.org/10.1007/s13197-018-3094-1)
 1923 1.
- 1924 Ambrósio, C. L. B., Campos, F. D. A. C. E. S., & Faro, Z. P. (2006). Carotenoids as an
 1925 alternative against hypovitaminosis A. *Revista de Nutrição*, 19(2), 233–243.
 1926 <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000200010>.
- 1927 Antoniassi, R., Faria-Machado, A. F., Wilhelm, A. E., Guedes, A. M. M., Bizzo, H. R.,
 1928 Oliveira, M. E. C., Yokoyama, R., & Lopes, R. (2018). *Comunicado Técnico 229 - Óleo de*
 1929 *palma de alto oleico produzido no Brasil no ano de 2016*. Empresa Brasileira de Pesquisa
 1930 Agropecuária (Embrapa).
- 1931 AOAC. (2012). *Official methods of analysis of AOAC International* (19th ed.). AOAC
 1932 International.
- 1933 Arabpoor, B., Yousefi, S., Weisany, W., & Ghasemlou, M. (2021). Multifunctional coating
 1934 composed of *Eryngium campestre* L. essential oil encapsulated in nano-chitosan to prolong
 1935 the shelf-life of fresh cherry fruits. *Food Hydrocolloids*,
 1936 111. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106394>
- 1937 Assunção, L. S., Souza, C. O., Shahidi, F., Oliveira, T. S., Assis, D. J., Santos, L. F. P.,
 1938 Nunes, I. L., Machado, B. A. S., & Ferreira Ribeiro, C. D. (2024a). Optimization and
 1939 Characterization of Interspecific Hybrid Crude Palm Oil Unaué HIE OxG Nanoparticles with
 1940 Vegetable By-Products as Encapsulants. *Foods*, 13(4), 523.
 1941 <https://doi.org/10.3390/foods13040523>.
- 1942 Assunção, L. S., Ribeiro, C. D. F., Souza, C. O., Kumari, S., Nunes, I. L., & Shahidi, F.
 1943 (2024b). Nanoencapsulation of hybrid crude palm oil Unaué HIE OxG with jackfruit by-
 1944 products as encapsulants: a study of cellular antioxidant activity and cytotoxicity in Caco-2
 1945 cells. *Food Chemistry*, 139009. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139009>.
- 1946 Barberis, S., Quiroga, H. G., Barcia, C., Talia, J. M., & Debattista, N. (2018). Natural Food
 1947 Preservatives Against Microorganisms. *Food Safety and Preservation*. Elsevier Inc.
 1948 <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814956-0.00020-2>
- 1949 Beltrán, J. D., Ricaurte, L., Estrada, K. B., & Quintanilla-Carvajal, M. X. (2020). Effect of
 1950 homogenization methods on the physical stability of nutrition grade nanoliposomes used for
 1951 encapsulating high oleic palm oil. *LWT - Food Science and Technology*, 118, 108801.
 1952 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108801>
- 1953 Bezerra, P. Q. M., Matos, M. F. R., Ramos, I. G., Magalhães-Guedes, K. T., Druzian, J. I.,
 1954 Costa, J. A. V., & Nunes, I. L. (2019). Innovative functional nanodispersion: Combination of
 1955 carotenoid from *Spirulina* and yellow passion fruit albedo. *Food Chemistry*, 285, 397–405.
 1956 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.181>

- 1957 Botella-Martinez, C., Lucas-González, R., Lorenzo, J. M., Santos, E. M., Rosmini, M.,
 1958 Sepúlveda, N., Teixeira, A., Sayas-Barberá, E., Pérez-Alvarez, J. A., Fernandez-Lopez, J., &
 1959 Viuda-Martos, M. (2021). Cocoa coproducts-based and walnut oil gelled emulsion as animal
 1960 fat replacer and healthy bioactive source in beef burgers. *Foods*, 10(11).
 1961 <https://doi.org/10.3390/foods10112706>
- 1962 Brahma, R., & Ray, S. (2023). Finding out various potentials and possibilities of jackfruit
 1963 seed and its usage in the industry: a review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5(1).
 1964 <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00170-z>
- 1965 Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to
 1966 evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
 1967 [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- 1968 Brasil. (2022). *Portaria SDA no 724 - Regulamento técnico de identidade e qualidade do*
 1969 *hambúrguer (p. 3)*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- 1970 Campo, C., Santos, P. P., Costa, T. M. H., Paese, K., Guterres, S. S., Rios, A. O., & Flôres, S.
 1971 H. (2017). Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as
 1972 wall material: Characterization and stability evaluation. *Food Chemistry*, 234, 1–9.
 1973 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.153>
- 1974 Codex Alimentarius. (2023). *Codex Standard for named vegetable oils (CXS 210-199)*.
- 1975 Descalzo, A. M., Rossetti, L., Sancho, A. M., García, P. T., Biolatto, A., Carduza, F., &
 1976 Grigioni, G. M. (2008). Antioxidant consumption and development of oxidation during
 1977 ageing of buffalo meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 582–588.
 1978 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.10.020>.
- 1979 Desta, K. T., Hur, O. S., Lee, S., Yoon, H., Shin, M. J., Yi, J., Lee, Y., Ro, N. Y., Wang, X.,
 1980 & Choi, Y. M. (2022). Origin and seed coat color differently affect the concentrations of
 1981 metabolites and antioxidant activities in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seeds. *Food*
 1982 *Chemistry*, 381, 132249. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132249>.
- 1983 Donato, M., Ribeiro, C. D. F, Block, J. M., & Nunes, I. L. (2020). Effect of nanoencapsulated
 1984 crude palm oil addition on the oxidative stability of salad dressing in an accelerated oxidation
 1985 test. *Research, Society and Development*, 9(10), e4229107841. [https://doi.org/10.33448/rsd-](https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.7841)
 1986 [v9i10.7841](https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.7841).
- 1987 Dong, S., Fang, G., Luo, Z., & Gao, Q. (2021). Effect of granule size on the structure and
 1988 digestibility of jackfruit seed starch. *Food Hydrocolloids*, 120, 106964.
 1989 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106964>
- 1990 Ellman, G. L. (1959). Tissue Sulfhydryl Groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*,
 1991 82, 70–77.

- 1992 Esfahani, R., Jafari, S. M., Jafarpour, A., & Dehnad, D. (2019). Loading of fish oil into
 1993 nanocarriers prepared through gelatin-gum Arabic complexation. *Food Hydrocolloids*, 90,
 1994 291–298. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.044>
- 1995 Esmaeili, H., Cheraghi, N., Khanjari, A., Rezaeigolestani, M., Basti, A. A., Kamkar, A., &
 1996 Aghaee, E. M. (2020). Incorporation of nanoencapsulated garlic essential oil into edible films:
 1997 A novel approach for extending shelf life of vacuum-packed sausages. *Meat Science*, 166,
 1998 108135. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108135>
- 1999 Ferreira, C. D., & Nunes, I. L. (2019). Oil nanoencapsulation: development, application, and
 2000 incorporation into the food market. *Nanoscale Research Letters*, 14.
 2001 <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2829-2>
- 2002 Ferreira, I., Vasconcelos, L., Leite, A., Botella-Martínez, C., Pereira, E., Mateo, J., Kasaiyan,
 2003 S., & Teixeira, A. (2022). Use of Olive and Sunflower Oil Hydrogel Emulsions as Pork Fat
 2004 Replacers in Goat Meat Burgers: Fat Reduction and Effects in Lipidic Quality. *Biomolecules*,
 2005 12(10). <https://doi.org/10.3390/biom12101416>
- 2006 Ferreira Ribeiro, C. D., Schappo, F. B., Sales, I.S., Assunção, L. S., Otero, D. M., Magalhães-
 2007 Guedes, K. T., Machado, B. A. S., Block, J. M., Druzian, J. I., & Nunes, I. L. (2022). Novel
 2008 bioactive nanoparticles from crude palm oil and its fractions as foodstuff ingredients. *Food*
 2009 *Chemistry*, 373. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131252>
- 2010 Froiio, F., Ginot, L., Paolino, D., Lebaz, N., Bentaher, A., Fessi, H., & Elaissari, A. (2019).
 2011 Essential oils-loaded polymer particles: Preparation, characterization and antimicrobial
 2012 property. *Polymers*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/polym11061017>
- 2013 Ghaderi-Ghahfarokhi, M., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Azizi, M. H. (2016).
 2014 Nanoencapsulation Approach to Improve Antimicrobial and Antioxidant Activity of Thyme
 2015 Essential Oil in Beef Burgers During Refrigerated Storage. *Food and Bioprocess Technology*,
 2016 9(7), 1187–1201. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1708-z>
- 2017 Hadian, M., Rajaei, A., Mohsenifar, A., & Tabatabaei, M. (2017). Encapsulation of
 2018 *Rosmarinus officinalis* essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced
 2019 antibacterial activity in beef cutlet against *Salmonella typhimurium* during refrigerated
 2020 storage. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 394–401.
 2021 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.075>
- 2022 Hajj, V. F., Lopes, A. P., Visentainer, J. V., Petenuci, M. E., & Fonseca, G. G. (2022).
 2023 Physicochemical properties, mineral and fatty acids composition of Jackfruit seeds flour of
 2024 two varieties from Brazilian Midwest. *Acta Scientiarum - Technology*, 44, 1–9.
 2025 <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v44i1.60187>
- 2026 Hanula, M., Szpicer, A., Górska-Horczyczak, E., Khachatryan, G., Pogorzelska-Nowicka, E.,
 2027 & Poltorak, A. (2022). Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of
 2028 Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil. *Molecules*, 27(12).
 2029 <https://doi.org/10.3390/molecules27123700>

- 2030 Hasani, S., Ojagh, S. M., Ghorbani, M., & Hasani, M. (2019). Nano-Encapsulation of Lemon
2031 Essential Oil Approach to Reducing the Oxidation Process in Fish Burger during Refrigerated
2032 Storage. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 10(1), 35–46.
2033 <https://iranjournals.nlai.ir/handle/123456789/270098>
- 2034 Heck, R. T., Saldaña, E., Lorenzo, J. M., Correa, L. P., Fagundes, M. B., Cichoski, A. J., de
2035 Menezes, C. R., Wagner, R., & Campagnol, P. C. B. (2019). Hydrogelled emulsion from chia
2036 and linseed oils: A promising strategy to produce low-fat burgers with a healthier lipid
2037 profile. *Meat Science*, 156(June), 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.034>
- 2038 Hemmatkhah, F., Zeynali, F., & Almasi, H. (2020). Encapsulated Cumin Seed Essential Oil-
2039 Loaded Active Papers: Characterization and Evaluation of the Effect on Quality Attributes of
2040 Beef Hamburger. *Food and Bioprocess Technology*, 13(3), 533–547.
2041 <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02418-9>
- 2042 Hosseini, H., & Jafari, S. M. (2020). Introducing nano/microencapsulated bioactive
2043 ingredients for extending the shelf-life of food products. *Advances in Colloid and Interface*
2044 *Science*, 282, 102210. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102210>
- 2045 Hovorková, P., Laloučková, K., & Skřivanová, E. (2018). Determination of in vitro
2046 antibacterial activity of plant oils containing medium-chain fatty acids against gram-positive
2047 pathogenic and gut commensal bacteria. *Czech Journal of Animal Science*, 63(3), 119–125.
2048 <https://doi.org/10.17221/70/2017-CJAS>
- 2049 ICMSF. (1986). International commission on microbiological specification for foods:
2050 microorganisms in foods. In *Sampling for microbiological analysis: principles and specific*
2051 *applicationons* (2nd ed.). International Commission on Microbiological Specifications.
- 2052 Jiménez, M., Domínguez, J. A., Pascual-Pineda, L. A., Azuara, E., & Beristain, C. I. (2018).
2053 Elaboration and characterization of O/W cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and black
2054 pepper (*Piper nigrum*) emulsions. *Food Hydrocolloids*, 77, 902–910.
2055 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.037>
- 2056 Li, S., Dong, S., Fang, G., Hao, Y., & Gao, Q. (2022). Study on internal structure and
2057 digestibility of jackfruit seed starch revealed by chemical surface gelatinization. *Food*
2058 *Hydrocolloids*, 131(January), 107779. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107779>
- 2059 Martínez-zamora, L., Ros, G., & Nieto, G. (2020). Synthetic vs. natural hydroxytyrosol for
2060 clean label lamb burgers. *Antioxidants*, 9(9), 1–15. <https://doi.org/10.3390/antiox9090851>.
- 2061 McKenna, D. R., Mies, P. D., Baird, B. E., Pfeiffer, K. D., Ellebracht, J. W., & Savell, J. W.
2062 (2005). Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine
2063 muscles. *Meat Science*, 70(4), 665–682. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.02.016>.

- 2064 Mogoşanu, G. D., Grumezescu, A. M., Bejenaru, C., & Bejenaru, L. E. (2017). Natural
2065 products used for food preservation. In *Food Preservation* (pp. 365–411). Elsevier Inc.
2066 <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804303-5.00011-0>.
- 2067 Mozzon, M., Foligni, R., & Tylewicz, U. (2018). Chemical characteristics and nutritional
2068 properties of hybrid palm oils. In *Palm Oil* (pp. 225–240). Intech Open.
2069 <https://doi.org/10.5772/intechopen.75421>.
- 2070 Oliveira, T. S., Silva, V. L., Assunção, L. S., Freitas, T. J., Machado, B. A. S., Otero, D. M.,
2071 Nunes, I. L., Almeida, R. C. C., Ferreira Ribeiro, C. D., & Druzian, J. I. (2022). A patent data
2072 analysis in nanotechnology applied to essential oils. *Recent Patents on Nanotechnology*,
2073 16(2), 92–106.
- 2074 Pabast, M., Shariatifar, N., Beikzadeh, S., & Jahed, G. (2018). Effects of chitosan coatings
2075 incorporating with free or nano-encapsulated *Satureja* plant essential oil on quality
2076 characteristics of lamb meat. *Food Control*, 91, 185–192.
2077 <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.03.047>.
- 2078 Passos, R. S. F. T., Barreto, B. G., Leite, J. S. F., Trevisan, A. B., Souza, C. O., Silva, M. C.
2079 A., & Cavaleiro, C. P. (2022). Green tea extract as natural preservative in chicken patties:
2080 Effects on physicochemical, microbiological, and sensory properties. *Journal of Food*
2081 *Processing and Preservation*, 46(2), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16224>.
- 2082 Peiretti, P. G., Gai, F., Rotolo, L., Brugiapaglia, A., & Gasco, L. (2013). Effects of tomato
2083 pomace supplementation on carcass characteristics and meat quality of fattening rabbits. *Meat*
2084 *Science*, 95(2), 345–351. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.011>
- 2085 Pinto, S. S., Lopes, R., Cunha, R. N. V., Santos Filho, L. P., & Moura, J. I. L. (2019).
2086 Produção e composição de cachos e incidência do anel vermelho em híbridos interespecíficos
2087 de Caiuá com dendezeiro no sul da Bahia. *Agrotrópica (Itabuna)*, 31(1), 5–16.
2088 <https://doi.org/10.21757/0103-3816.2019v31n1p5-16>.
- 2089 Raeisi, S., Ojagh, S. M., Quek, S. Y., Pourashouri, P., & Salaün, F. (2019). Nano-
2090 encapsulation of fish oil and garlic essential oil by a novel composition of wall material:
2091 Persian gum-chitosan. *Lwt- Food Science and Technology*, 116(August), 108494.
2092 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108494>.
- 2093 Rehman, A., Jafari, S. M., Tong, Q., Karim, A., Mahdi, A. A., Iqbal, M. W., Aadil, R. M.,
2094 Ali, A., & Manzoor, M. F. (2020). Role of peppermint oil in improving the oxidative stability
2095 and antioxidant capacity of borage seed oil-loaded nanoemulsions fabricated by modified
2096 starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153, 697–707.
2097 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.292>.
- 2098 Rezaei, A., Fathi, M., & Jafari, S. M. (2019). Nanoencapsulation of hydrophobic and low-
2099 soluble food bioactive compounds within different nanocarriers. *Food Hydrocolloids*,
2100 88(September 2018), 146–162. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.003>.

- 2101 Ricaurte, L., Perea-Flores, M. D. J., Martinez, A., & Quintanilla-Carvajal, M. X. (2016).
 2102 Production of high-oleic palm oil nanoemulsions by high-shear homogenization
 2103 (microfluidization). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 35(April), 75–85.
 2104 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.04.004>.
- 2105 Ricaurte, L., Santagapita, P. R., Díaz, L. E., & Quintanilla-Carvajal, M. X. (2020). Edible
 2106 gelatin-based nanofibres loaded with oil encapsulating high-oleic palm oil emulsions.
 2107 *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 595(March), 124673.
 2108 <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124673>.
- 2109 Rodriguez-Amaya, D., & Kimura, M. (2004). HarvestPlus Handbook for Carotenoid
 2110 Analysis. In *Harvest Plus Technical Monograph Series 2*. HarvestPlus.
- 2111 Rodríguez, I. S. T., Quintana, L. E. A., Suarez, P. A., Cabrera, M. A. R., & Lagunes, A. G.
 2112 (2021). Physicochemical properties, antioxidant capacity, prebiotic activity and anticancer
 2113 potential in human cells of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed flour. *Molecules*, 26(16),
 2114 4854. <https://doi.org/10.3390/molecules26164854>
- 2115 Rodríguez, J. C., Gómez, D., Pacetti, D., Núñez, O., Gagliardi, R., Frega, N. G., Ojeda, M.
 2116 L., Loizzo, M. R., Tundis, R., & Lucci, P. (2016). Effects of the fruit ripening stage on
 2117 antioxidant capacity, total phenolics, and polyphenolic composition of crude palm oil from
 2118 interspecific hybrid *Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis*. *Journal of Agricultural and Food*
 2119 *Chemistry*, 64(4), 852–859. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04990>.
- 2120 Rysman, T., Van Hecke, T., Van Poucke, C., Smet, S. D., & Van Royen, G. (2016). Protein
 2121 oxidation and proteolysis during storage and in vitro digestion of pork and beef patties. *Food*
 2122 *Chemistry*, 209, 177-184. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.027>.
- 2123 Sayadi, M., Mojaddar Langroodi, A., & Jafarpour, D. (2021). Impact of zein coating
 2124 impregnated with ginger extract and Pimpinella anisum essential oil on the shelf life of bovine
 2125 meat packaged in modified atmosphere. *Journal of Food Measurement and Characterization*,
 2126 15(6), 5231–5244. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01096-1>.
- 2127 Shahbazi, Y., Karami, N., & Shavisi, N. (2018). Effect of *Ziziphora clinopodioides* essential
 2128 oil on shelf life and fate of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in refrigerated
 2129 chicken meatballs. *Journal of Food Safety*, 38(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfs.12394>.
- 2130 Shanooba, P. M., Tungare, K., Sunariwal, S., & Sonawane, S. (2020). Extraction and
 2131 characterization of polyphenols from artocarpus heterophyllus and Its Effect on oxidative
 2132 stability of peanut oil. *International Journal of Fruit Science*, 20(S3), S1134–S1155.
 2133 <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1775162>.
- 2134 Silva, N., Taniwaki, M. H., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Okazaki, M. M., & Gomes,
 2135 R. A. R. (2018). *Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory*
 2136 *Manual (English edition)* (2nd editio). CRC Press/Balkema (Taylor & Francis Group).
 2137 <https://doi.org/10.1201/b13740>.

- 2138 Silva, V. L., Oliveira, T. S., Souza, C. O., Druzian, J. I., Machado, B. A. S., Nunes, I. L., &
2139 Ferreira Ribeiro, C. D. (2020). Technological Prospection of Oil Nanoparticles: Primary
2140 Characteristics and Profiles. *Recent Patents on Nanotechnology*, 14, 1–13.
2141 <https://doi.org/10.2174/1872210514666200705234030>.
- 2142 Sirocchi, V., Devlieghere, F., Peelman, N., Sagratini, G., Maggi, F., Vittori, S., & Ragaert, P.
2143 (2017). Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging
2144 conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat. *Food Chemistry*, 221, 1069–1076.
2145 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.054>.
- 2146 Souza, M. A. A., Shimokomaki, M., Terra, N. N., & Petracci, M. (2022). Oxidative changes
2147 in cooled and cooked pale, soft, exudative (PSE) chicken meat. *Food Chemistry*, 385, 132471.
2148 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132471>.
- 2149 Suzihaque, M. U. H., Zaki, N. A. M., Alwi, H., Ibrahim, U. K., Abd Karim, S. F., & Anuar,
2150 N. K. (2022). Jackfruit seed as an alternative replacement for starch flour. *Materials Today:*
2151 *Proceedings*, 63, S451–S455. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.04.117>.
- 2152 Teixeira, C. B., Macedo, G. A., Macedo, J. A., Silva, L. H. M., & Rodrigues, A. M. C. (2013).
2153 Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm fruit (*Elaeis*
2154 *guineensis*) by an aqueous enzymatic process. *Bioresource Technology*, 129, 575–581.
2155 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.057>.
- 2156 Torab, M., Basti, A. A., & Khanjari, A. (2017). Effect of free and nanoencapsulated forms of
2157 *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil on some microbial and chemical properties of beef
2158 burger. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 9(2), 93–102.
- 2159 Turgut, S. S., Soyer, A., & Işıkcı, F. (2016). Effect of pomegranate peel extract on lipid and
2160 protein oxidation in beef meatballs during refrigerated storage. *Meat Science*, 116, 126–132.
2161 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.011>.
- 2162 Uluata, S., & Ozdemir, N. (2017). Evaluation of chemical characterization, antioxidant
2163 activity and oxidative stability of some waste seed oil. *Turkish Journal of Agriculture - Food*
2164 *Science and Technology*, 5(1), 48. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i1.48-53.909>.
- 2165 Upadhyay, N., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Chaudhari, A. K., & Dubey, N. K. (2021).
2166 Assessment of nanoencapsulated *Cananga odorata* essential oil in chitosan nanopolymer as a
2167 green approach to boost the antifungal, antioxidant and in situ efficacy. *International Journal*
2168 *of Biological Macromolecules*, 171, 480–490. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.024>.
- 2169 Vargas-Ramella, M., Muneakata, P. E. S., Pateiro, M., Franco, D., Campagnol, P. C. B.,
2170 Tomasevic, I., Domínguez, R., & Lorenzo, J. M. (2020). Physicochemical composition and
2171 nutritional properties of deer burger enhanced with healthier oils. *Foods*, 9(571), 1–17.
2172 <https://doi.org/10.3390/foods9050571>.
- 2173 Vergara, H., Cózar, A., & Rubio, N. (2020). Effect of adding of different forms of oregano

- 2174 (*Origanum vulgare*) on lamb meat burgers quality during the storage time. *CYTA - Journal of*
2175 *Food*, 18(1), 535–542. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1794981>
- 2176 Vergara, H., Cózar, A., & Rubio, N. (2021). Lamb meat burgers shelf life: effect of the
2177 addition of different forms of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.). *CYTA - Journal of Food*,
2178 19(1), 606–613. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1938238>.
- 2179 Verma, A. K., Pathak, V., Singh, V. P., & Umaraw, P. (2016). Storage study of chicken
2180 meatballs incorporated with green cabbage (*Brassica oleracea*) at refrigeration temperature (4
2181 $\pm 1^\circ\text{C}$) under aerobic packaging. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1), 409–414.
2182 <https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1091328>
- 2183 Walshe, B. E., Sheehan, E. M., Delahunty, C. M., Morrissey, P. A., & Kerry, J. P. (2006).
2184 Composition, sensory and shelf life stability analyses of *Longissimus dorsi* muscle from steers
2185 reared under organic and conventional production systems. *Meat Science*, 73(2), 319–325.
2186 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.12.008>.
- 2187 Zhang, Y., Zhu, K., He, S., Tan, L., & Kong, X. (2016). Characterizations of high purity
2188 starches isolated from five different jackfruit cultivars. *Food Hydrocolloids*, 52, 785–794.
2189 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.037>.

ANEXO A - Comprovante de artigo publicado na revista *Recent Patents on Nanotechnology* (Capítulo II).

92

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net*Recent Patents on Nanotechnology*, 2022, 16, 92-106

REVIEW ARTICLE



A Patent Data Analysis in Nanotechnology Applied to Essential Oils



Tainara Santos Oliveira^{1,2}, Vanessa de Lima Silva², Larissa Santos Assunção², Tayane de Jesus Freitas¹, Bruna Aparecida Souza Machado³, Deborah Murowaniecki Otero², Itaciara Larroza Nunes⁴, Rogeria Comastri de Castro Almeida², Camila Duarte Ferreira Ribeiro^{1,2,*} and Janice Izabel Druzian¹

¹Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ²Department of Food Science, Nutrition School, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ³National Service of Industrial Learning, Laboratory of Pharmaceutical's Formulations, SENAI Institute of Innovation (ISI) in Advanced Health Systems, (CIMATEC ISI SAS), University Center SENAI CIMATEC, Salvador, Brazil; ⁴Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil

Abstract: Background: Essential oils (EOs) are natural substances that serve as sources of bioactive compounds with antioxidant and antimicrobial properties.

Objective: This objective is to understand intellectual property related to patent documents on EOs and nanotechnology.

Methods: The nanotechnology growth curve applied to EOs demonstrated that the period from 2015 to 2017 was the most prominent, with a peak in 2016. China is the dominant country, mainly through research developed in the academic area.

Results: The food industry area had the highest number of patents filed, highlighting the preservation line. Ginger essential oil, chitosan and Tween 80 were preferentially used as a core, wall material, and emulsifier, respectively. In the market, the use of EOs is more associated with the pharmaceutical/cosmetics industry. In addition, the food industry market bets more on products based on hemp oil nanocapsules.

Conclusion: EO nanotechnology is promising for the development of sustainable food systems. However, this nanotechnology in Brazil has not yet advanced enough in the food industry, although there are government incentives that may change this paradigm in the future. The profile of the patent documents and the products in the market differ between the application and the types of oils. In addition, there is a gap between the volume of patent documents investigated and the transfer of technology to the commercial sector, but this constitution could be better explored, given the properties of EOs.

Keywords: Essential oil nanoparticles, food supplementation, food preservation, patent applications, technology protection, sustainable food systems.

1. INTRODUCTION

have a wide range of biological activities, including anti-

ARTICLE HISTORY

Received: September 24, 2020
Revised: December 30, 2020
Accepted: January 26, 2021

DOI:
10.2174/1872210515666210217090541



ANEXO B - Comprovante de submissão de artigo original na revista *Food Hydrocolloids*
(Capítulo III)

Universidade Federal da Bahia

ufbam@il

Tainara a Santos Oliveira

E-mail Contatos Agenda Tarefas Porta-avulsos Preferências Escrever Escrever Buscar Escrever Escrever Escrever Confirm co-auth

Fechar Responder Responder a todos Encerrar Apagar Spam Ações

Confirm co-authorship of submission to Food Hydrocolloids - [EMID:c621f0b0ab55c7c9]

De: em foodhyd 0 6c910f7767e1a em nome de Food Hydrocolloids

Para: Tainara Santos Oliveira

Responder para: Food Hydrocolloids

This is an automated message.

Journal: Food Hydrocolloids
Title: Preservative properties of hybrid crude palm oil Unsat HIE OnG nanoencapsulated in jackfruit seed flour and its impact on the shelf life of beef burgers
Corresponding Author: Ms Camila Duarte Ferreira
Co-Authors: Tainara Santos Oliveira; Rogeria Comantri de Castro Almeida; Ronald Bruce Pegg; Larissa Santos Assunção; Rafael Sepúlveda Fonseca Trevisan Passos; Agnes Sophia Braga Alves; Carlos Pasqualin Cavaleiro; Itaciara Larrôza Nunes; Carolina Oliveira de Souza; Bruna Aparecida Souza Machado
Manuscript Number: FOODHYD-D-24-02810

Dear Ms Tainara Santos Oliveira,

The corresponding author Ms Camila Duarte Ferreira has listed you as a contributing author of the following submission via Elsevier's online submission system for Food Hydrocolloids.

Submission Title: Preservative properties of hybrid crude palm oil Unsat HIE OnG nanoencapsulated in jackfruit seed flour and its impact on the shelf life of beef burgers

Elsevier asks all authors to verify their co-authorship by confirming agreement to publish this article if it is accepted for publication.

Please read the following statement and confirm your agreement by clicking on this link: [Yes, I am affiliated.](#)

I irrevocably authorize and grant my full consent to the corresponding author of the manuscript to: (1) enter into an exclusive publishing agreement with Elsevier on my behalf (or, if the article is to be published under a CC BY license, a non-exclusive publishing agreement), in the relevant form set out at [www.elsevier.com/copyright](#); and (2) unless I am a US government employee, to transfer my copyright or grant an exclusive license of rights (or for CC BY articles a non-exclusive license of rights) to Elsevier as part of that publishing agreement, effective on acceptance of the article for publication. If the article is a work made for hire, I am authorized to confirm this on behalf of my employer. I agree that the copyright status selected by the corresponding author for the article if it is accepted for publication shall apply and that this agreement is subject to the governing law of the country in which the journal owner is located.

If you did not co-author this submission, please contact the corresponding author directly at camiladuarte@ufba.br.

Thank you,
Food Hydrocolloids

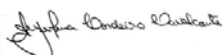
More information and support
FAQ: What is copyright co-author verification?
https://service.elsevier.com/app/anivers-detail/a_id/28460/supporthub/publishing/
FAQ: How can I reset a forgotten password?
https://service.elsevier.com/app/anivers-detail/a_id/28452/supporthub/publishing/kw/editorial-manager/

For further assistance, please visit our customer service site: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

ANEXO C - 1º lugar no Prêmio Dra. Angeolina Rossi 2022, na categoria de pós-graduação, área de Tecnologia de Alimentos

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho “**NANOPARTÍCULAS DO NOVO AZEITE DE DENDÊ HÍBRIDO UNAUÉ HIE OXG: NOVO CAMINHO PARA A PRESERVAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS**”, de autoria de **Tainara Santos Oliveira, Larissa Santos Assunção, Alana Moreira Bispo, Lorena Lindsey Coelho Duarte Santos, Rogeria Comastri de Castro Almeida e Camila Duarte Ferreira Ribeiro**, foi apresentado através de apresentação oral na categoria de **PÓS-GRADUAÇÃO**, na área de **TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, garantindo o **1º lugar** no **Prêmio Drª Angeolina Rossi**, evento realizado pelo **Conselho Regional de Nutricionistas da 5ª Região**, no dia 21/01/2023, de forma online, somando um total de 3h15 de atividades.



Angelina Cordeiro Cavalcante

Presidente do CRN-5

CRN-5/3499



**ANEXO D - Menção Honrosa como melhor trabalho científico apresentado no CONBRAN 2022
– XXVII Congresso Brasileiro de Nutrição**

