

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Tese

**Extratos vegetais encapsulados no controle da oxidação lipídica de
hambúrguer ovino**

Fernanda Moreira Oliveira

Pelotas, 2022

Fernanda Moreira Oliveira

**Extratos vegetais encapsulados no controle da oxidação lipídica de
hambúrguer ovino**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação: Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi

Prof.^a Dr.^a Caroline Dellinghausen Borges

Pelotas, 2022

Fernanda Moreira Oliveira

**Extratos vegetais encapsulados no controle da oxidação lipídica de
hambúrguer ovino**

Data da Defesa: 28 de junho de 2022.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi
Doutor em Food and Nutritional Science pela University of Manitoba.

Dr.^a Márcia Vizzotto
Doutora em Horticulture Science pelo Texas Agricultural & Mechanics University.

Prof.^a Dr.^a Carla Rosane Barboza Mendonça
Doutora em Química pela Universidade Federal de Rio Grande do Sul.

Prof.^a Dr.^a Fernanda Doring Krumreich
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Dr.^a Graziella Pinheiro Bruni
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

O48e Oliveira, Fernanda Moreira

Extratos vegetais encapsulados no controle da oxidação lipídica de hambúrguer ovino / Fernanda Moreira Oliveira ; Rui Carlos Zambiasi, orientador ; Caroline Dellenghausen Borges, coorientadora. — Pelotas, 2022.
110 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Atividade antioxidante. 2. Folha de oliveira. 3. Araçá vermelho. 4. Gelatina. 5. Tragacanto. I. Zambiasi, Rui Carlos, orient. II. Borges, Caroline Dellenghausen, coorient. III. Título.

CDD : 664

Agradecimentos

Primeiramente agradeço à Deus, pela vida e presença em todos os momentos.

À minha família que é a maior motivação das minhas conquistas. Minha mãe Tania Mara, meu pai Pedro Paulo, minhas irmãs Tania Regina, Ana Paula, Débora, Raquel, meu irmão Franque, meus sobrinho Pedro Michel, Davi e Éric, meu namorado Eduardo, agradeço a vocês com todo meu amor e gratidão.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi, pela orientação. O senhor é um exemplo de profissional ético e gentil, agradeço pela paciência e confiança. À minha co-orientadora Prof.^a Dr.^a Caroline Dellinghausen Borges pela valiosa ajuda e dedicação demonstradas em todos os momentos na orientação deste trabalho. Exemplo de profissional, que admiro muito também.

Às amigas do laboratório 709, Bruna Maas, Alexia Almeida, Tailise Zimmer, Lisiane Vergara, Deborah Otero e Maicom Sampaio, pela ajuda e disponibilidade, bem como por todos os dias de harmoniosa convivência que tivemos e pela troca de experiências. Em especial as estagiárias queridas Lucia Buchweitz, Juliana Pereira e minha irmã Raquel que me ajudaram muito nas análises, tornando os momentos menos pesados e descontraídos.

Às minhas queridas amigas Cristielle, Jarine, Graziella, Jaqueline, Valeska, Bruna, Andressa, Cristina, Fernanda, Michele, Ellen, Milena e Hélen, pelo apoio, palavras de incentivo e amizade, fazendo parte dessa jornada também.

Às pesquisadoras da Embrapa Márcia Vizzotto, Núbia Ferri, Ana Krolow, Elen Nalério e Citieli Giongo, pelo projeto e conhecimentos compartilhados com empenho para realização deste trabalho.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos que contribuíram para o meu crescimento.

À Gelnex pela doação da gelatina e ao pessoal da Estância Guarda Velha que concederam as folhas de oliveira para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Pelotas, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de crescimento profissional, especialmente a coordenadora Elessandra por sua gentileza e oportuna ajuda.

À Embrapa Pecuária Sul e Embrapa Clima Temperado pela parceria no desenvolvimento deste projeto. À Fapergs, Capes e ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

Resumo

OLIVEIRA, Fernanda Moreira Oliveira. **Extratos vegetais encapsulados no controle da oxidação lipídica de hambúrguer ovino**. 2022. 110f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

A aplicação de antioxidantes naturais de extratos vegetais encapsulados em produtos cárneos, visando reduzir as reações oxidativas, tem sido mais explorada ultimamente. Baseado nesta tendência, este estudo teve como objetivo encapsular extratos de folhas de oliveira e de araquê vermelho, utilizando gelatina e/ou goma tragacanto, por coacervação complexa ou liofilização, e aplicar em hambúrguer de carne ovina, com o intuito de reduzir a degradação oxidativa nestes produtos. O trabalho foi dividido em dois estudos, sendo que no primeiro estudo o extrato fenólico obtido de folhas de oliveira foi encapsulado por coacervação complexa ou liofilização utilizando gelatina e/ou goma tragacanto. Inicialmente, foi determinado o pH ideal para a ocorrência da coacervação complexa, e após a encapsulação as partículas foram caracterizadas, e posteriormente aplicadas em hambúrgueres com carne ovina, que foram armazenados por quatro meses sob congelamento. Estes produtos foram avaliados quanto ao índice de peróxidos, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e a liberação dos compostos fenólicos *in vitro*. Observou-se que no pH 4 ocorreu a interação máxima entre os materiais de parede. As partículas produzidas com gelatina e gelatina/tragacanto demonstraram valores superiores de eficiência de encapsulação e atividade antioxidante em relação às partículas com apenas tragacanto. Independente do material de parede utilizado, as partículas produzidas apresentaram formato irregular. As partículas com gelatina e gelatina/tragacanto apresentaram maior potencial de proteção nos hambúrgueres de carne ovina frente a degradação oxidativa em relação às partículas com apenas tragacanto. Essas partículas se mostraram mais eficientes que a utilização do eritorbato de sódio como antioxidante em hambúrguer, porém a vitamina C foi o tratamento que apresentou os melhores resultados. Assim, as partículas produzidas com gelatina ou gelatina/tragacanto se apresentam como ingredientes naturais que podem substituir antioxidantes artificiais na elaboração de hambúrguer ovino. O segundo estudo foi realizado utilizando a encapsulação de extrato de araquê vermelho em diferentes concentrações de goma tragacanto, por liofilização. As partículas foram caracterizadas e posteriormente adicionadas em hambúrgueres de carne ovina, os quais foram armazenados por doze dias sob refrigeração. Observou-se que quanto maior a concentração de material de parede utilizada, maior foi a eficiência de encapsulação e menores valores de atividade antioxidante. Foi possível encapsular o extrato rico em compostos fenólicos de araquê vermelho com todas concentrações de goma tragacanto testadas, com as partículas apresentando formato irregular. Os antioxidantes artificiais e o extrato de araquê vermelho foram mais eficientes contra peroxidação lipídica nos hambúrgueres, em relação àqueles que continham as partículas com extrato fenólico. Assim, a encapsulação do extrato de araquê vermelho com goma tragacanto por liofilização não foi muito eficiente para a proteção do hambúrguer de carne ovina da degradação oxidativa. No entanto, estas partículas apresentaram maior atividade antioxidativa que a amostra controle, sem aditivos, durante os primeiros 6 dias de estocagem. Tendo em vista que a carne ovina possui alto conteúdo de ácidos graxos mono e poli-insaturados, se faz necessária maiores investigações da aplicação de antioxidantes naturais.

Palavras-chave: Atividade antioxidante. Folha de oliveira. Araçá vermelho. Gelatina. Tragacanto.

Abstract

OLIVEIRA, Fernanda Moreira Oliveira. **Encapsulated plant extracts in the control of lipid oxidation of sheep burger**. 2022. 110f. Thesis (Doctorate in Food Science and Technology) - Graduate Program in Food Science and Technology. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

The application of natural antioxidants from encapsulated plant extracts in meat products, aiming to reduce oxidative reactions, has been more explored lately. Based on this trend, this study aimed to encapsulate extracts of olive leaves and red araçá using gelatin and/or tragacanth gum, by complex coacervation or lyophilization, and apply in sheep meat hamburger, in order to reduce oxidative degradation in these products. The work was divided into two studies. In the first study, the phenolic extract obtained from olive leaves was encapsulated by complex coacervation or lyophilization using gelatin and/or tragacanth gum. Initially, the ideal pH was determined for the occurrence of complex coacervation, and after encapsulation, the particles were characterized, and later applied to hamburgers with sheep meat, which were stored for four months under freezing. These products were evaluated for peroxide content, thiobarbituric acid reactive substances and the release of phenolic compounds in vitro. It was observed that at pH 4 the maximum interaction between the wall materials occurred. The particles produced with gelatin and gelatin/tragacanth showed superior values of encapsulation efficiency and antioxidant activity in relation to particles with only tragacanth. Regardless of the wall material used, the particles produced had an irregular shape. The particles with gelatin and gelatin/tragacanth showed greater protection potential in sheep meat burgers against oxidative degradation in relation to particles with only tragacanth. These particles were more efficient than the use of sodium erythorbate as antioxidants in hamburgers, but vitamin C was the treatment that showed the best results. Thus, the particles produced with gelatin or gelatin/tragacanth are presented as natural ingredients that can replace artificial antioxidants in the elaboration of sheep burger. The second study was carried out using the encapsulation of red araçá extract in different concentrations of tragacanth gum, by lyophilization. The particles were characterized and later added to sheep meat hamburgers, which were stored for twelve days under refrigeration. It was observed that the higher the concentration of wall material used, the higher the encapsulation efficiency and lower values of antioxidant activity. It was possible to encapsulate the extract rich in phenolic compounds of red araçá with all concentrations of gum tragacanth tested, with the particles having an irregular shape. Artificial antioxidants and red araçá extract were more efficient against lipid peroxidation in hamburgers, compared to those containing particles with phenolic extract. Thus, the encapsulation of red araçá extract with tragacanth gum by lyophilization was not very efficient for the protection of sheep meat hamburger from oxidative degradation. However, these particles showed higher antioxidant activity than the control sample, without additives during the first 6 days of storage. Considering that sheep meat has a high content of mono- and poly-unsaturated fatty acids, further investigation of the application of natural antioxidants is necessary.

Keywords: Antioxidant activity. Olive leaf. Red araçá. Gelatin. Tragacanth.

Lista de Figuras

Figura 1 – Oliveira.	2424
Figura 2 – Fruto araçá vermelho.	28
Figura 3 – Estrutura química da gelatina.....	32
Figura 4 – Estrutura química da goma tragacanto	34
Figura 5 – Curva de turbidimetria da dispersão de gelatina e tragacanto (1:1) em função do pH.	49
Figura 6 – Micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das partículas com gelatina (A- 100x e B- 5000x), partícula com tragacanto (C- 100x e D- 5000x) e partícula com gelatina/tragacanto (E-100x e F- 5000x).....	52
Figura 7 – Espectros de FTIR do extrato da folha de oliveira, da gelatina, da tragacanto, do complexo gelatina/tragacanto e das suas respectivas partículas com o extrato de folha de oliveira..	54
Figura 8 – Termograma da análise DSC.....	57
Figura 9 – Evolução do índice de peróxidos (mEq-g O ₂ kg ⁻¹ de lipídeos) nos hambúrgueres durante quatro meses de armazenamento a -15 ± 1,0 °C.....	59
Figura 10 – Evolução de TBARS (mg de malonaldeído. kg ⁻¹ de amostra) nos hambúrgueres durante os quatro meses de armazenamento a -15 ± 1,0 °C.....	61
Figura 11 – Perfil de liberação de fenóis do extrato de folha de oliveira encapsulado e aplicado em hambúrgueres durante quatro meses de armazenamento a -15 ± 1,0 °C..	63
Figura 12 – Micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das partículas nas concentrações de tragacanto com extrato de araçá vermelho 1:1, p/p (A- 100x e B- 5000x), de 3:1, p/p (C- 100x e D- 5000) e de 5:1, p/p (E-100x e F- 5000x).	77
Figura 13 – Termograma da análise DSC.....	80
Figura 14 – Evolução dos valores do índice de peróxidos (mEq-g O ₂ kg ⁻¹ de lipídeos) nos hambúrgueres durante o armazenamento a 4 ± 1,0 °C.....	81
Figura 15 – Evolução de TBARS (mg de malonaldeído. kg ⁻¹ de amostra) nos hambúrgueres durante o armazenamento a 4 ± 1,0 °C.	84

Figura 16 – Perfil de liberação de compostos fenólicos do extrato de araquá vermelho encapsulado e aplicado em hambúrgueres durante 12 dias de armazenamento a $4 \pm 1,0$ °C.	85
---	----

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Estruturas químicas e classes dos compostos fenólicos mais abundantes na folha de oliveira.	26
Tabela 2 – Estruturas químicas e classes dos compostos fenólicos majoritários no araçá vermelho.....	28
Tabela 3 – Formulação do hambúrguer ovino.....	45
Tabela 4 – Eficiência de encapsulação (%) e atividade antioxidante (%) de extrato de folha de oliveira e das partículas com este extrato.....	50
Tabela 5 – Formulação da massa base de hambúrguer ovino.....	71
Tabela 6 – Eficiência de encapsulação (%) e atividade antioxidante (%) de extrato de araçá vermelho e das partículas com extrato de araçá vermelho.	75
Tabela 7 – Índices de peróxidos (mEq-g O ₂ kg ⁻¹ de lipídeos) dos hambúrgueres durante o armazenamento a -15 ± 1,0 °C.	105
Tabela 8 – Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído. kg ⁻¹ de amostra) nos hambúrgueres durante o armazenamento a -15 ± 1,0 °C.	106
Tabela 9 – Valores médios de fenóis liberados (%) nos hambúrgueres durante o armazenamento a -15 ± 1,0 °C.	107
Tabela 10 – Índices de peróxidos (mEq-g O ₂ kg ⁻¹ de lipídeos) dos hambúrgueres durante o armazenamento a 4 ± 1,0 °C.	108
Tabela 11 – Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído. kg ⁻¹ de amostra) nos hambúrgueres durante o armazenamento a 4 ± 1,0 °C.	109
Tabela 12 – Valores médios de fenóis liberados (%) nos hambúrgueres durante o armazenamento a 4 ± 1,0 °C.....	110

Sumário

1 Introdução.....	16
1.1 Hipóteses.....	18
1.2 Objetivos.....	18
1.2.1 Objetivo geral	18
1.2.2 Objetivos específicos	19
2 Revisão de literatura.....	20
2.1 Carne ovina	20
2.1.1 Produção e mercado brasileiro	20
2.1.2 Composição e alterações	20
2.1.3 Produtos cárneos ovinos	22
2.2 Extratos vegetais e propriedades antioxidantes	23
2.2.1 Oliveira.....	23
2.2.1.1 Compostos fenólicos da folha de oliveira.....	25
2.2.2 Araçá vermelho.....	27
2.2.2.1 Compostos fenólicos do araçá vermelho	28
2.3 Encapsulação	29
2.3.1 Encapsulação por coacervação complexa.....	30
2.3.2 Liofilização	31
2.3.3 Materiais de parede	31
2.3.3.1 Gelatina	31
2.3.3.2 Goma tragacanto	33
3 Capítulo 1 – Encapsulação de extrato de folha de oliveira (<i>Olea europaea</i> L.) em gelatina/goma tragacanto por coacervação complexa para aplicação em hambúrguer de carne ovina.....	37
3.1 Introdução.....	37

3.2 Material e métodos	39
3.2.1 Material	39
3.2.2 Obtenção do extrato da folha de oliveira	40
3.2.3 Determinação de compostos fenólicos	41
3.2.4 Atividade antioxidante	41
3.2.5 Estudo do efeito do pH (Turbidimetria)	41
3.2.6 Preparo das partículas	42
3.2.7 Eficiência de encapsulação	43
3.2.8 Microscopia eletrônica de varredura	44
3.2.9 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	44
3.2.10 Calorimetria diferencial de varredura	44
3.2.11 Avaliação das partículas em matriz alimentícia	45
3.2.11.1 Preparo dos hambúrgueres	45
3.2.11.2 Índice de peróxidos	46
3.2.11.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	47
3.2.11.4 Liberação dos compostos fenólicos nos hambúrgueres	47
3.2.12 Análise estatística	48
3.3 Resultados e discussão	48
3.3.1 Turbidimetria	48
3.3.2 Eficiência de encapsulação e atividade antioxidante	49
3.3.3 Morfologia	51
3.3.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	52
3.3.5 Calorimetria Diferencial de Varredura	56
3.3.6 Índice de peróxidos	58
3.3.7 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	60
3.3.8 Liberação de compostos fenólicos durante o armazenamento dos hambúrgueres	62

3.4 Conclusão.....	64
4 Capítulo 2 – Aplicação de partículas de tragacanto com extrato de araçá vermelho no controle da oxidação lipídica de hambúrguer de carne ovina	65
4.1 Introdução.....	65
4.2 Materiais e métodos.....	66
4.2.1 Materiais	66
4.2.2 Obtenção do extrato de araçá	67
4.2.3 Determinação de compostos fenólicos	67
4.2.4 Atividade antioxidante	68
4.2.5 Preparação das partículas	68
4.2.6 Eficiência de encapsulação	69
4.2.7 Microscopia eletrônica de varredura.....	70
4.2.8 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	70
4.2.9 Calorimetria Diferencial de Varredura.....	70
4.2.10 Aplicação e avaliação das partículas em matriz alimentícia	71
4.2.10.1 Preparação dos hambúrgueres	71
4.2.10.2 Índice de peróxido.....	72
4.2.10.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	73
4.2.10.4 Liberação dos compostos fenólicos no hambúrguer.....	73
4.2.11 Análise estatística	74
4.3 Resultados e discussão	74
4.3.1 Eficiência de encapsulação e atividade antioxidante	74
4.3.2 Morfologia	76
4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	77
4.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura.....	79
4.3.5 Índice de peróxidos.....	81
4.3.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	82

4.3.7 Liberação de compostos fenólicos durante o armazenamento dos hambúrgueres.....	85
4.4 Conclusão.....	86
5 Considerações Finais	88
Referências.....	89
Apêndices	104
Apêndice A – Tabela de índices de peróxidos dos hambúrgueres durante armazenamento congelado.	105
Apêndice B – Tabela de valores de TBARS dos hambúrgueres durante armazenamento congelado.	106
Apêndice C – Tabela de liberação de compostos fenólicos totais nos hambúrgueres durante armazenamento congelado.	107
Apêndice D – Tabela de índices de peróxidos dos hambúrgueres durante armazenamento refrigerado.....	108
Apêndice E– Tabela de valores de TBARS dos hambúrgueres durante armazenamento refrigerado.....	109
Apêndice F – Tabela de liberação de compostos fenólicos totais nos hambúrgueres durante armazenamento refrigerado.	110

1 Introdução

O Brasil é o maior produtor de ovinos da América do Sul, sendo o estado do Rio Grande do Sul o segundo maior produtor nacional (15,51%), ficando atrás apenas da Bahia, responsável por 22,80% da criação do país (IBGE, 2019). Mesmo assim, o mercado consumidor brasileiro de carne ovina é ainda relativamente pequeno em comparação ao consumo de carne bovina, suína e de aves. Além disso, a carne ovina é destinada principalmente ao consumo direto, com pouca produção de derivados cárneos (BRASIL, 2015).

Para a comercialização nos mercados locais, assim como para a exportação das carcaças e cortes cárneos ovinos resfriados ou congelados, é necessário grande demanda de tecnologia, para que a carne conserve suas características sensoriais até as gôndolas varejistas. Casos de descoloração, exsudação excessiva e, principalmente, a oxidação lipídica acabam limitando o comércio entre os grandes centros produtores e os consumidores (KARABAGIAS; BADEKA; KONTOMINAS, 2011; KIM; BODKER; ROSENVOLD, 2012).

A oxidação de lipídeos ocasiona a formação de gostos e odores característicos do ranço, responsáveis por *off-flavors* e *off-odors*, os quais são importantes causas da rejeição pelo consumidor. Isso ocorre em função da composição da carne de ovelha, que contém aproximadamente 45% de ácidos graxos monoinsaturados e 10% de poli-insaturados do total de ácidos graxos presentes (CUNHA et al., 2018).

A aplicação de antioxidantes naturais nos produtos cárneos, visando prolongar a vida útil, vem recebendo bastante atenção, em detrimento a substâncias sintéticas como BHA (2-terc-butil-4-hidroxianisol e 3-terc-butil-4-hidroxianisol), BHT (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol), TBHQ (terc-butil-hidroquinona), os quais tem limites estritos de adição nos produtos alimentícios (MUNEKATA et al., 2017; ŞAHIN et al., 2017, LORENZO et al., 2018). Algumas pesquisas com extratos vegetais têm demonstrado grande potencial na redução da oxidação lipídica de produtos cárneos ovinos (ALIAKBARLU; SADAGHIANI, 2015; BELLÉS et al., 2017; DUA; BHAT; KUMAR, 2015; FERNANDES et al., 2016a). O extrato da folha de oliveira apresenta em sua composição uma variedade de compostos fenólicos (rutina, hidroxitirosol, verbacosideo e oleuropeína, dentre outros), que estão relacionados à capacidade de retardar a oxidação lipídica em rissoles de carne suína (BOTSOGLOU et al., 2014) e em sistemas modelos de músculo bovino e suíno (HAYES et al., 2009). O extrato de

araçá vermelho apresenta o ácido gálico e a epicatequina como os compostos majoritários em sua fração fenólica (HAAS, 2011), os quais têm sido utilizados na inibição de reações oxidativas, como oxidação de lipídios e da mioglobina em lombo suíno (FANG et al., 2018) e na oxidação de proteínas em carne suína (LI; JI, 2019).

No entanto, a maioria dos compostos bioativos presentes nos extratos vegetais, os quais são responsáveis pela ação antioxidante, apresentam instabilidade a luz, oxigênio e calor, além de interferir no sabor e aroma pelo perfil acentuado, o que restringe a aplicação direta em alimentos. Uma alternativa de contornar adversidades como essas é a utilização da encapsulação de compostos instáveis, em que finas coberturas poliméricas são aplicadas em compostos sólidos ou líquidos para propiciar a formação de partículas (GIBBS et al., 1999; GÓMEZ-ESTACA; GAVARA; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, 2015). Além da maior estabilidade, a encapsulação pode promover o aumento da biodisponibilidade, a liberação controlada do composto ativo, bem como mascarar sabores e odores indesejados (RUTZ et al., 2016; TRIFKOVIĆ et al., 2014).

Diferentes métodos são utilizados para promover a encapsulação da substância ativa no agente encapsulante. Dentre esses, uma tecnologia promissora é coacervação complexa, a qual envolve a interação eletrostática entre polímeros de cargas opostas. Além disto, as interações entre proteínas e polissacarídeos, em substituição a utilização isolada dos polímeros, pode melhorar a funcionalidade do material de parede das partículas (DONG; HUA, 2018).

Outra técnica que também é muito utilizada para encapsular, tanto compostos hidrossolúveis quanto lipossolúveis, é a liofilização (BALLESTEROS et al., 2017; RUTZ et al., 2017). Na liofilização, uma solução de material de parede contendo a substância ativa é congelada, e após a água é removida por sublimação decorrente da utilização de um sistema com baixa pressão. A utilização de baixa temperatura e quantidades restritas de oxigênio, promove uma proteção adicional contra a degradação do material encapsulado (KAUSHIK et al., 2015).

Dentre os materiais de parede utilizados na encapsulação de compostos tem-se a gelatina (ROY et al., 2018; YANG et al., 2015). Esse polímero é obtido a partir do colágeno proveniente de animais (como vaca, porco, peixe, etc.), após hidrólise ácida (tipo A) ou hidrólise alcalina (tipo B). A diferença entre os dois tipos de gelatina está no ponto isoelétrico (PI). A gelatina do tipo A tem PI em pH 7,0-9,0, enquanto que a

gelatina do tipo B tem em pH 4,5-5,0. Comumente as proteínas têm cargas superficiais positivas abaixo do seu PI e negativas acima do seu PI (BIGI et al., 2000).

Outro material que pode ser utilizado para encapsulação de extratos vegetais é a goma de tragacanto (JAIN et al., 2016; SHEORAIN et al., 2019). Essa goma é o exsudado extraído dos caules e ramos de uma espécie asiática de *Astragalus*, e se caracteriza como um polissacarídeo aniônico (WEIPING, 2000).

Ambos os materiais de parede citados são utilizados na indústria de alimentos como agentes de textura, sendo biodegradáveis e não tóxicos (CODEX ALIMENTARIUS, 1995; DEVI et al., 2017; GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2015). No entanto, até o momento não se encontrou na literatura trabalhos envolvendo a produção de partículas por coacervação complexa utilizando como materiais de parede a associação de gelatina e tragacanto.

Com base no que foi exposto, considera-se importante encapsular extratos vegetais, como os de folha de oliveira e de araçá vermelho, por coacervação complexa ou liofilização, utilizando gelatina e/ou goma tragacanto como materiais de parede, com o intuito de reduzir a oxidação lipídica em hambúrguer de carne ovina.

1.1 Hipóteses

A encapsulação de extratos de folhas de oliveira e de araçá vermelho, utilizando como material de parede gelatina e/ou goma tragacanto, pelas técnicas de coacervação complexa ou liofilização, propicia a formação de partículas com alta atividade antioxidante, capazes de reduzir a velocidade de degradação oxidativa em hambúrguer de carne ovina.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Encapsular extratos alcóolicos de folha de oliveira e de araçá vermelho utilizando como material de parede gelatina e/ou goma tragacanto, pela técnica de coacervação complexa ou liofilização, e aplicar em hambúrguer de carne ovina, com o intuito de reduzir a degradação oxidativa deste produto.

1.2.2 Objetivos específicos

Caracterizar os extratos de folha de oliveira e de araçá vermelho quanto ao conteúdo de compostos fenólicos.

Determinar o pH em que ocorre a interação entre a gelatina e a goma tragacanto.

Encapsular o extrato da folha de oliveira utilizando como material de parede gelatina e goma tragacanto, pela técnica de coacervação complexa seguida de secagem por liofilização.

Encapsular o extrato de araçá vermelho utilizando como material de parede a goma tragacanto em diferentes concentrações, pela técnica de liofilização.

Caracterizar as partículas encapsuladas quanto a eficiência de encapsulação, atividade antioxidante, morfologia, comportamento térmico, tamanho de partícula e grupos funcionais.

Aplicar as partículas encapsuladas em hambúrguer de carne ovina e avaliar a liberação controlada dos compostos fenólicos e os índices de oxidação da gordura da carne.

2 Revisão de literatura

2.1 Carne ovina

2.1.1 Produção e mercado brasileiro

O Brasil é o maior produtor de ovinos da América do Sul, cuja produção no ano de 2019 foi de 19,71 milhões em cabeças. No país, os estados que mais produziram ovinos foram a Bahia e o Rio Grande do Sul, responsáveis respectivamente por 22,80% e 15,51% da criação de ovinos. Santana do Livramento (RS), Casa Nova (BA) e Juazeiro (BA), foram os municípios com os maiores efetivos (IBGE, 2019).

A ovinocultura no Brasil é destinada, principalmente, para a produção de carne, contudo o mercado consumidor brasileiro é relativamente pequeno em comparação ao consumo de carne bovina, suína e de aves. Estima-se que o consumo de carne ovina seja de 0,7 kg/habitante/ano (BRASIL, 2015). Esse baixo consumo no país pode ser justificado pela falta de hábito do consumidor, irregularidades das ofertas, qualidade inadequada do produto colocado à venda e apresentação inadequada do produto oferecido no mercado interno (SEBRAE, 2005). Ainda, há possibilidade de erros estatísticos referentes ao consumo de carne ovina, pois muitos abates acontecem de forma clandestina, sem qualquer tipo de inspeção (SORIO; RASI, 2010).

É importante destacar que a comercialização local e a exportação de carcaças e cortes cárneos ovinos resfriados ou congelados, demanda tecnologia apropriada para a conservação dos atributos sensoriais até a chegada às gôndolas varejistas. Isso ocorre porque a carne ovina é susceptível a alterações como descoloração dos cortes, exsudação excessiva e, principalmente, a oxidação lipídica (KARABAGIAS; BADEKA; KONTOMINAS, 2011; KIM; BODKER; ROSENVOLD, 2012). Portanto, o desenvolvimento de estratégias, tanto para o aumento do consumo quanto para melhoria da comercialização da carne ovina se faz necessário.

2.1.2 Composição e alterações

A carne ovina contém cerca de 74% de umidade (PINHEIRO et al., 2008), 21% de proteínas (MATURANO, 2003) e, aproximadamente, 9,5% de gorduras (FRANCO, 1992). Também estão presentes as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), as

hidrossolúveis do complexo B (tiamina, riboflavina, nicotinamida, piridoxina, ácido pantotênico, ácido fólico, niacina, cobalamina e biotina), vitamina C (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2011), além de ferro, fósforo, potássio, sódio, magnésio e zinco (LUCHIARI, 2000).

A composição química da carne ovina pode variar dependendo da categoria do animal, da localização na carcaça, da raça e o do sistema de alimentação (GOIS et al., 2016).

A proteína presente na carne ovina tem elevado valor biológico, pela disponibilidade e digestibilidade de aminoácidos essenciais (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2011).

Quanto ao perfil de ácidos graxos (AG) da carne ovina, os principais ácidos graxos saturados presentes são o mirístico (C14:0), o palmítico (C16:0) e o esteárico (C 18:0), enquanto que os ácidos graxos monoinsaturados são o palmitoleico (C16:1) e o oleico (C18:1), e os poli-insaturados são o linoleico (C18:2 ω 6), o linolênico (C18:3 ω 3) e o araquidônico (C20:4) (MONTEIRO, 1998).

Do total de AG presentes na carne ovina, cerca de 45% são monoinsaturados e 10% poli-insaturados, sendo esta carne bastante susceptível a oxidação lipídica, tendo como fatores endógenos as lipases, os íons metálicos, os grupos heme presentes, entre outros (LIMA et al., 2013).

O mecanismo de oxidação lipídica por via de auto-oxidação envolve a formação de um radical livre, a partir da cadeia do ácido graxo insaturado, que reage com o oxigênio originando radicais peroxil, que propagam a reação abstraindo hidrogênios de outros AG, levando a formação de hidroperóxidos. A cadeia de hidrocarboneto, da qual o hidrogênio foi extraído, agirá como um novo radical livre, propagando a reação (CUNHA, 2018).

Os peróxidos, produtos primários de oxidação, são compostos intermediários instáveis, sobretudo a temperaturas elevadas ou em presença de metais de transição. No decurso da sua decomposição são produzidos compostos de natureza muito diversa (aldeídos, cetonas, hidroxiácidos, hidrocarbonetos, polímeros), os quais são genericamente designados de produtos secundários da oxidação lipídica. Muitos desses compostos de degradação possuem um odor desagradável, enquanto que os peróxidos são incolores e inodoros (CUNHA et al., 2018; FAUSTMAN et al., 2010; SILVA et al., 1999). Consequentemente, a peroxidação lipídica afeta os atributos sensoriais de cor e *flavor* da carne, com a consequente formação de gostos e odores

característicos do ranço, responsáveis por *off-flavors* e *off-odors*, os quais influenciam na rejeição dos produtos pelos consumidores (CUNHA et al., 2018).

Um outro mecanismo de oxidação lipídica é a fotoxidação, a qual é promovida pela radiação ultravioleta em presença de sensibilizadores, como a mioglobina. A fotoxidação envolve reações radicalares com formação de hidroperóxidos diferentes daqueles resultantes em condições de ausência de luz e sensibilizadores (LIMA et al., 2013).

A cor da carne destaca-se como um dos principais fatores de decisão no momento da compra, sendo diretamente influenciada pela quantidade e estado químico da mioglobina. A oxidação do átomo de ferro central do grupo heme da mioglobina leva a formação da metamioglobina de cor acastanhada (FAUSTMAN et al., 2010). Processos oxidativos, tais como a oxidação lipídica e a oxidação da mioglobina ou oximioglobina na carne, são problemas desafiadores para a indústria da carne. Para minimizar esses efeitos, compostos de ação antioxidante podem ser utilizados na proteção dos lipídios e estabilização da mioglobina (HAYES et al., 2009).

2.1.3 Produtos cárneos ovinos

Os produtos cárneos são elaborados com carnes frescas, gorduras e subprodutos comestíveis, podendo serem adicionados de aditivos e ingredientes, e submetidos a um ou mais processos tecnológicos (BENEVIDES; NASSU, 2005; ORDÓÑEZ et al., 2005). Com o processamento ocorre ampliação do tempo de validade dos produtos e o máximo aproveitamento das estruturas das carcaças, o que implica no aumento das alternativas industriais, e garante a disponibilização de uma variedade de alimentos ao consumidor final (BENEVIDES; NASSU, 2005). A tendência do mercado é oferecer maior praticidade dos produtos alimentares, e porções mais fracionadas que possam ser utilizadas na refeição de uma família pequena, representando mais um motivo para o desenvolvimento de produtos ovinos, melhorando, assim, a rentabilidade do sistema agroindustrial da ovinocultura (ANDRADE, 2017).

Os principais produtos de carne ovina disponíveis no mercado brasileiro são a linguiça e o hambúrguer (CHIBITO, 2020; DOMPETER, 2020; VPJALIMENTOS, 2020).

O hambúrguer é um produto elaborado a partir de carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado. Pode ser dos tipos: cru, semi-frito, cozido, frito, congelado ou resfriado. Esse produto deve apresentar a nomenclatura hambúrguer, sucedido da espécie animal, incluindo de ovinos (BRASIL, 2000). O hambúrguer é um produto muito consumido pelos brasileiros, fazendo parte da rotina alimentar, em razão das suas características sensoriais, facilidade de preparo e elevado teor de lipídios, proteínas, vitaminas e sais minerais (QUEIROZ et al., 2005).

2.2 Extratos vegetais e propriedades antioxidantes

Alternativas para preservação de alimentos vêm sendo desenvolvidas no decorrer dos anos para suprir a demanda por conservantes naturais não-tóxicos, em função da preocupação da sociedade com a segurança dos alimentos (SHIM et al., 2011; TAIJAKARIMI et al., 2010). O consumidor compreende que pode ingerir diariamente quantidades não desprezíveis de conservantes de diferentes fontes alimentares, o que com o tempo pode ter um impacto sobre sua saúde (DAVIDSON; JUNEJA, 1990). Assim, extratos vegetais com propriedades antioxidantes e pequena ou nenhuma toxicidade, podem ser empregados como uma alternativa para prevenir a oxidação de alimentos.

2.2.1 Oliveira

A oliveira (*Olea europaea* L.) (Figura 1) pertence à família Oleaceae, a qual é considerada uma das frutíferas mais antigas cultivadas pelo homem. Na sua família é a única espécie que produz frutos comestíveis, os quais são matéria-prima para a produção de produtos muito apreciados pelos consumidores brasileiros, o azeite e a azeitona em conserva (COUTINHO, 2007).

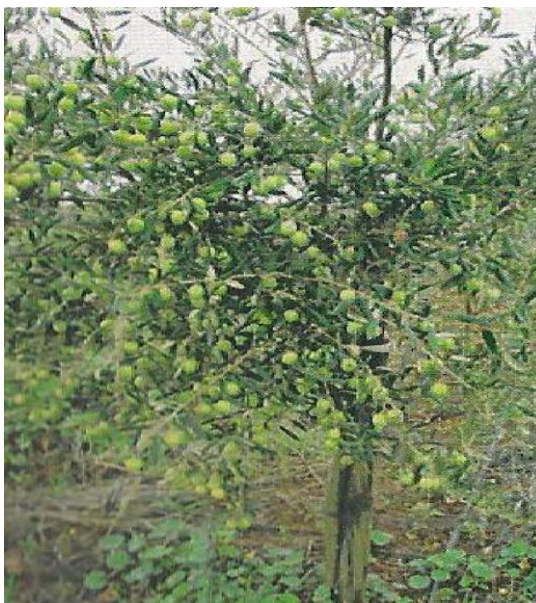


Figura 1 – Oliveira.

Fonte: COUTINHO, 2007.

A cultura da oliveira foi introduzida em vários estados no Brasil, sendo encontrada em maior proporção no Sul e Sudeste. No Rio Grande do Sul ingressou em 1948, a partir da criação do Serviço Oleícola, um órgão especializado da Secretária da Agricultura. A cidade de Uruguaiana foi a pioneira na olivicultura e, desde então, o plantio foi intensificado por todo o estado gaúcho, com as áreas de plantios comerciais situadas nas cidades de Bagé, Cachoeira do Sul, Caçapava do Sul, Dom Pedrito, Encruzilhada do Sul, Santana do Livramento e Vacaria, dentre outras (COUTINHO, 2007).

Além da utilização do fruto, para a produção de azeite e conservas, as folhas da oliveira também podem ser utilizadas para a elaboração de chá, por possuírem em sua constituição compostos bioativos que trazem possíveis benefícios para a saúde humana. Há relatos que no início de 1900, na ocorrência de surtos de malária, o chá das folhas de oliveira era utilizado no tratamento da doença, com resultados melhores que a quinina (substância reconhecida neste tipo de tratamento) (THERIOS, 2009). Anteriormente, durante o império egípcio, os extratos das folhas de oliveira eram muito conhecidos e utilizados devido às suas propriedades medicinais e na preservação de alimentos (RAHMANIAN; JAFARI; WANI, 2015).

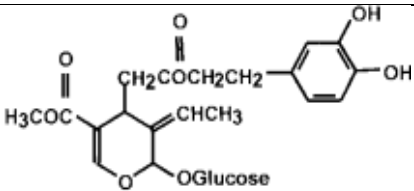
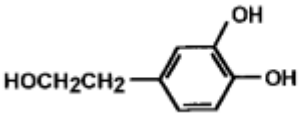
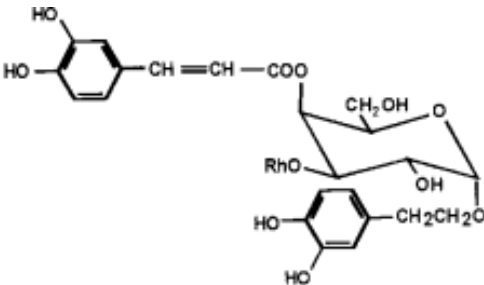
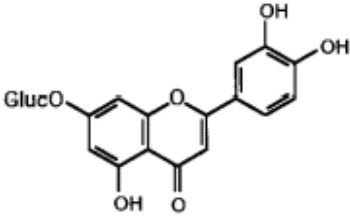
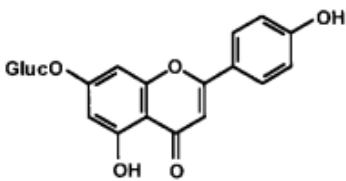
2.2.1.1 Compostos fenólicos da folha de oliveira

Os compostos fenólicos são produtos oriundos do metabolismo secundário das plantas, encontrando-se amplamente distribuídos, e se formam em condições de estresse da planta, como infecções, ferimentos, radiações UV, etc. (NACZK; SHAHIDI, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004). O teor desses compostos nos vegetais pode variar conforme a região de plantio, tipo de solo, exposição solar, índice pluviométrico, estágio de maturação, espécie e cultivar (MARTINS et al., 2011; VENDRAMINI; TRUGO, 2004).

Os compostos fenólicos são responsáveis pela cor, amargor, adstringência e aroma nos alimentos, além de conferir maior estabilidade oxidativa aos produtos de origem vegetal (NACZK; SHAHIDI, 2004; PELEG; BODINE; NOBLE, 1998).

Por apresentarem uma estrutura química caracterizada pela presença de pelo menos um anel aromático com no mínimo um hidrogênio substituído por grupamento hidroxila, os compostos fenólicos atuam como antioxidantes. Esta capacidade está relacionada a diferentes mecanismos, como sequestro de radicais livres, doação de hidrogênio, extinção do oxigênio singlete, quelação de íons metálicos ou ação como substrato para radicais como superóxido e hidroxila (SIMÕES et al., 2004). Segundo Benavente-García et al. (2000), os cinco polifenóis mais abundantes identificados na folha de oliveira são: oleuropeína (24,5%), verbacosídeo (11,1%), luteolina-7-glicosídeo (1,4%), apigenina-7-glicosídeo (1,4%) e hidroxitirosol (1,5%). Tiroso (0,7%), luteína, sesamol e ácido elágico (1,4%) também já foram isolados da folha de oliveira (RAHMANIAN; JAFARI; WANI, 2015). Na Tabela 1 são apresentadas as estruturas químicas e classes dos compostos fenólicos mais abundantes na folha de oliveira.

Tabela 1 – Estruturas químicas e classes dos compostos fenólicos mais abundantes na folha de oliveira.

Composto fenólico	Fórmula química	Classe
Oleuropeína		Secoiridoides
Hidroxitirosol		Feniletanoides
Verbacosídeo		Flavonoides
Luteolina-7-glicosídeo		Flavonoides
Apigenina-7-glicosídeo		Flavonoides

Fonte: Adaptado de BENAVENTE-GARCIA et al., 2000.

Além dos compostos fenólicos da folha de oliveira desempenharem importantes benefícios à saúde humana, diversos estudos visam a utilização de extratos das folhas para fins tecnológicos, em função de sua atividade antioxidante, destacando a aplicação em produtos cárneos. Botsoglou et al. (2014) descrevem efeitos protetores de extratos alcóolicos de folhas de oliveira frente a oxidação lipídica e proteica de rissoles de carne suína enriquecidos com ácidos graxos ω -3, em armazenamento congelado. Comportamento semelhante foi observado com a

aplicação de extrato alcóolico de folhas de oliveira na redução da oxidação lipídica e na oxidação da oximioglobina em sistemas modelo de músculo bovino e suíno (HAYES et al., 2009). Al-Rimawi, Tarawa e Elämä (2017), ao aplicarem extrato alcóolico de folhas de oliveira e de oleuropeína em hambúrguer fresco armazenado a 4 °C, observaram redução da oxidação lipídica em comparação com as amostras controle (sem antioxidantes).

2.2.2 Araçá vermelho

No Rio Grande do Sul ocorre uma grande diversidade de frutíferas nativas, com potencial de uso baseado em suas propriedades antioxidantes. Neste estado, foram identificadas 109 espécies nativas que possuem frutos ou sementes alimentícias, dentre árvores, arbustos e palmeiras (ARAÚJO et al., 2017; BRACK et al., 2007). Dentre as espécies frutíferas nativas do Rio Grande do Sul, o araçá (*Psidium Cattleianum* Sabine, Myrtaceae) vem se destacando, por suas eminentes propriedades biológicas, como atividade antiproliferativa, antidiabética, antimicrobiana e antioxidante, que são relacionadas ao alto teor de vitamina C e aos compostos fenólicos do fruto (FRANZON et al., 2009; MEDINA et al., 2011). O fruto é uma baga que, dependendo do genótipo, apresenta coloração amarelada ou avermelhada, e cuja safra ocorre nos meses de fevereiro a abril (MANICA, 2000). A polpa é branca, amarelada ou avermelhada, mucigelatinosa, aromática, e contém muitas sementes (HASS, 2011).

O araçá vermelho (Figura 2) possui alto conteúdo de antocianinas, as quais são responsáveis pela sua coloração, assim como outros compostos fenólicos (VERMA et al., 2013). Os araçás são frutos suculentos com excelente sabor, a polpa é doce a subácida com um toque picante (BIEGELMEYER et al., 2011). Entretanto, esses frutos ainda são pouco cultivados comercialmente, sendo consumidos quando maduros na forma *in natura*, ou explorados pelas pequenas agroindústrias e unidades de base familiar na produção de sucos, néctares, sorvetes, geleias e licores (FRANZON, 2009). Além dos frutos e da madeira, as raízes, cascas e folhas são utilizadas para preparar infusões, amplamente difundidas na medicina popular (HASS, 2011).



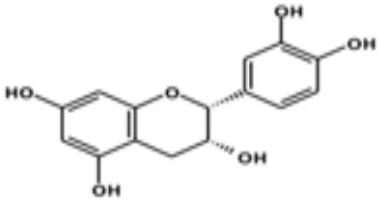
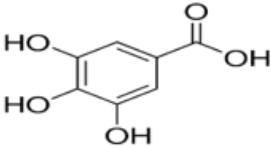
Figura 2– Fruto araçá vermelho.

Fonte: PEREIRA et al., 2017.

2.2.2.1 Compostos fenólicos do araçá vermelho

Haas (2011), ao estudar a atividade funcional de frutos de araçá, observou maiores teores de epicatequina e ácido gálico (Tabela 2), representando 69,2% e 29,5%, respectivamente, do total dos compostos fenólicos identificados. Em menores quantidades foram identificados o ácido cumárico, ácido ferúlico, miricetina e quercetina (HAAS, 2011; MEDINA et al., 2011).

Tabela 2 – Estruturas químicas e classes dos compostos fenólicos majoritários no araçá vermelho.

Composto fenólico	Fórmula química	Classe
Epicatequina		Flavonoides
Ácido gálico		Ácidos fenólicos

Fonte: Adaptado de MELO, 2019.

Ainda são escassos os estudos com aplicação do extrato fenólico do araçá vermelho em produtos cárneos, porém é possível prever o seu potencial, em função dos seus compostos majoritários, alguns dos quais têm sido utilizados individualmente

em pesquisas atuais com este tipo de produto. Fang et al. (2018) ao desenvolverem um revestimento comestível de ácido gálico/quitosana, visando a preservação da qualidade de lombo de porco fresco em embalagem de atmosfera modificada, armazenado a 4 °C, observaram menor oxidação de lipídios e da mioglobina. Os autores também observaram que a atividade antimicrobiana do revestimento de quitosana foi aumentada com a incorporação de ácido gálico. Li e Ji (2019), ao investigarem os efeitos protetores do polifenol epicatequina frente a oxidação de proteínas, obtiveram resultados que demonstram benefícios potenciais para produtos cárneos, como a redução da produção de aminas secundárias indesejadas, por meio da inibição da oxidação de proteínas de carne suína.

2.3 Encapsulação

A encapsulação é uma técnica utilizada para proteção da substância ativa frente a condições ambientais desfavoráveis como presença de luz, oxigênio, aquecimento, alteração de pH e umidade, que são encontradas no processamento de alimentos. Nessa técnica, bactérias probióticas, enzimas, vitaminas, óleos, extratos vegetais, etc, são envolvidos ou incorporados por uma matriz polimérica, denominada material de parede, constituída por um ou mais polímeros (GÓMEZ-ESTACA; GAVARA; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, 2015; KLEIN et al., 2015; WANG et al., 2018).

Essa técnica, além de proteger e prolongar a vida útil da substância ativa, facilita a aplicação e o armazenamento, aumenta a solubilidade, reduz perdas de voláteis e a interação prematura com outros ingredientes, podendo ainda mascarar sabores e odores indesejáveis e melhorar a aparência dos produtos (GÓMEZ-ESTACA; GAVARA; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, 2015; GOUIN, 2004). Outra vantagem proporcionada pela encapsulação consiste na promoção da liberação controlada dos compostos encapsulados no lugar e na forma mais adequada, o que permite ampliar a gama de aplicações de ingredientes em alimentos (RUTZ et al., 2016).

Existem diferentes técnicas para elaboração de partículas, e para escolher a mais compatível para uma aplicação específica devem ser observados fatores como: tamanho de partículas requerido, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, aplicação do produto final, mecanismos desejados de liberação, escala de produção e custo da substância ativa (RÉ, 1998).

O tipo de envolvimento ou aprisionamento da substância ativa pelo material de parede é a principal diferença dentre os métodos existentes, pois a interação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química (SUAVE, 2006).

As técnicas utilizadas para a encapsulação podem ser: coacervação, emulsificação, revestimento em leito fluidizado, liofilização, complexo de inclusão, lipossomas e secagem por pulverização (KAUSHIK et al., 2015).

2.3.1 Encapsulação por coacervação complexa

A coacervação complexa é uma tecnologia de encapsulação única e promissora, que já foi utilizada para encapsular vitaminas (JUNYAPRASERT et al., 2001), conservantes, enzimas (DUBIN; MUHOBERAC; XIA, 1998), extratos vegetais e óleos (DIMA et al, 2014; DONG, 2011; NORI et al., 2011; YANG et al., 2015).

A encapsulação por coacervação complexa envolve o uso de dois biopolímeros de cargas opostas, principalmente, proteínas e polissacarídeos, que podem formar um invólucro complexo (polímero coacervado) sobre a substância ativa (AGNIHOTRI et al., 2012, TIMILSENA et al., 2019). As interações eletrostáticas são apontadas como responsáveis pela interação entre os biopolímeros de cargas opostas, porém interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio também podem contribuir significativamente para a formação do complexo (ACH et al., 2015).

A interação entre os polímeros é dependente de fatores como as cargas transportadas pelos biopolímeros, pH da mistura de coacervação, força iônica, razão entre os biopolímeros e acessibilidade dos pontos de interação. Dentre esses, o pH da solução desempenha um papel importante na coacervação complexa, visto que influencia na formação de complexos proteína-carboidrato, afetando o grau de ionização do grupo funcional da proteína (grupo amino) e do carboidrato (grupo carboxila) (GOUIN, 2004). Em uma mistura contendo um polissacarídeo aniônico e uma proteína, o ajuste do pH abaixo do PI resulta na atração eletrostática máxima, pois nesta faixa os dois biopolímeros estão carregados com cargas opostas (SLOW; ONG, 2013).

Como sistemas de polímeros que já foram relatados para a encapsulação via coacervação complexa podem ser citados: gelatina tipo A ou tipo B e goma acácia (SLOW; ONG, 2013), proteína de soro de leite e goma acácia (ASCH et al., 2015),

proteína de soja e goma acácia (JUN-XIA; HAI-YAN; JIAN, 2011); caseína e goma tragacanto (JAIN et al., 2016), quitosana e gelatina tipo B (ROY et al., 2018), xantana ou pectina e quitosana (RUTZ et al., 2017) e quitosana e k-carragena (DIMA et al., 2014). Até o momento trabalhos de encapsulação através de coacervação complexa entre a gelatina do tipo B e a goma tragacanto não foram encontrados na literatura.

2.3.2 Liofilização

No processo de encapsulação por liofilização, a solução do material de parede contendo o composto bioativo é congelada e após a água é removida por sublimação, decorrente da utilização de um sistema com baixa pressão. Esse processo é favorável a estabilidade das micropartículas porque utiliza baixa temperatura e quantidades restritas de oxigênio, fornecendo uma proteção adicional contra a degradação (KAUSHIK et al., 2015). Em contrapartida, demanda altos custos operacionais e longo tempo de processo (MARQUES; SILVEIRA; FREIRE, 2006). Através da liofilização podem ser encapsulados tanto compostos hidrossolúveis quanto lipossolúveis (BALLESTEROS et al., 2017; RUTZ et al., 2017). As partículas formadas comumente apresentam uma morfologia atípica que se assemelham com serragem, e não esféricas (MAHDAVEE KHAZAEI et al., 2014; SILVA et al., 2012). Entretanto, estudos têm demonstrado que formas atípicas também promovem a liberação controlada do composto encapsulado em condições gastrointestinais simuladas após a adição em alimentos (JANSEN-ALVES et al., 2018; RUTZ et al., 2016).

Diversos materiais de parede já foram utilizados para encapsulação por liofilização, como: maltodextrina (SANCHEZ et al., 2013), xantana e/ou tara (RUTZ, 2013), maltodextrina e Tween-80 (INDRAWATI et al., 2015), xantana e quitosana ou pectina (RUTZ et al., 2017), e zeína (QUISPE-CONDORI; SALDAÑA; TEMELLI, 2011).

2.3.3 Materiais de parede

2.3.3.1 Gelatina

A gelatina é um ingrediente alimentício que possui excelentes propriedades estruturais e funcionais, e por isso é a fonte de proteína mais empregada na

coacervação complexa (TIMILSENA et al., 2019). A produção da gelatina comercial ocorre pela hidrólise parcial do colágeno oriundo da pele, dos tecidos conectivos brancos e dos ossos de animais, como de bovinos, suínos e peixes. Uma hidrólise ácida origina a gelatina tipo A e a hidrólise alcalina origina a gelatina do tipo B. Os dois tipos de gelatina diferem no ponto isoelétrico (PI). A gelatina do tipo A tem PI em pH 7,0-9,0, enquanto a gelatina do tipo B em pH 4,5-5,0. Geralmente, as proteínas possuem cargas superficiais positivas abaixo do seu PI e negativas acima do seu PI (BIGI et al., 2000).

A gelatina é uma proteína alimentícia de fácil utilização, em temperaturas superiores a 40 °C forma uma dispersão límpida, entretanto em temperatura inferior a do ambiente pode formar uma estrutura semelhante a gel (TIMILSENA et al., 2019).

Além de ser de fácil, a gelatina possui nove dos dez aminoácidos essenciais necessários ao organismo humano, que devem ser ingeridos através da alimentação (KIM; MENDIS, 2006). Apresenta composição de aminoácidos semelhantes ao colágeno, como glicina (~33%), prolina (~12%), alanina (~11%) e hidroxiprolina (10%); e em teores mais baixos estão presentes a histidina, lisina, arginina, ácido aspártico, ácido glutâmico, tirosina, metionina, fenilalanina, valina, leucina e isoleucina (KARAYANNAKIDIS; ZOTOS, 2016; NHARI et al., 2011). A glicina é predominante no resíduo terminal N da gelatina tipo A, e a alanina é predominante na gelatina tipo B (DJAGNY; WANG; XU, 2001). A estrutura geral da gelatina pode ser observada na Figura 3.

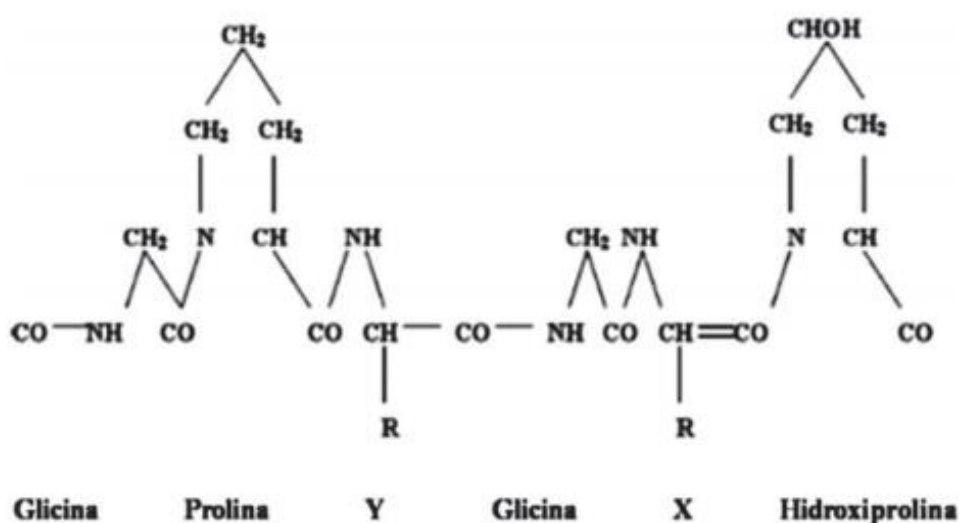


Figura 3 – Estrutura química da gelatina.
Fonte: BUREY et al., 2008.

Pela biocompatibilidade e biodegradabilidade, a gelatina constantemente é utilizada em combinação com outros polímeros para fins de encapsulação de compostos bioativos (DEVI et al., 2017; YANG et al., 2015).

2.3.3.2 Goma tragacanto

A tragacanto (Figura 4) é uma goma natural oriunda da seiva seca de várias espécies de leguminosas do gênero *Astragalus*. É um carboidrato ramificado e aniônico, de estrutura bastante heterogênea, sendo composto por uma mistura complexa de polissacarídeos (GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2015; SINGH; SHARMA, 2014) que podem ser divididos em duas frações: a tragacantina e a bassorina. A tragacantina é solúvel em água e altamente ramificada, e contém açúcares como L-arabinose, L-fucose, D-manose, D-glicose, D-galactose e D-xilose, representando 30 a 40% da composição da goma. A bassorina ou ácido tragacântico é a fração presente em maior proporção, 60 a 70%, contendo L-fucose, D-xilose, ácido D-galacturônico, D-galactose e L-ramnose, sendo insolúvel em água, mas intumescce com sua presença (GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2015; MAYES, 2011; WEIPING, 2000).

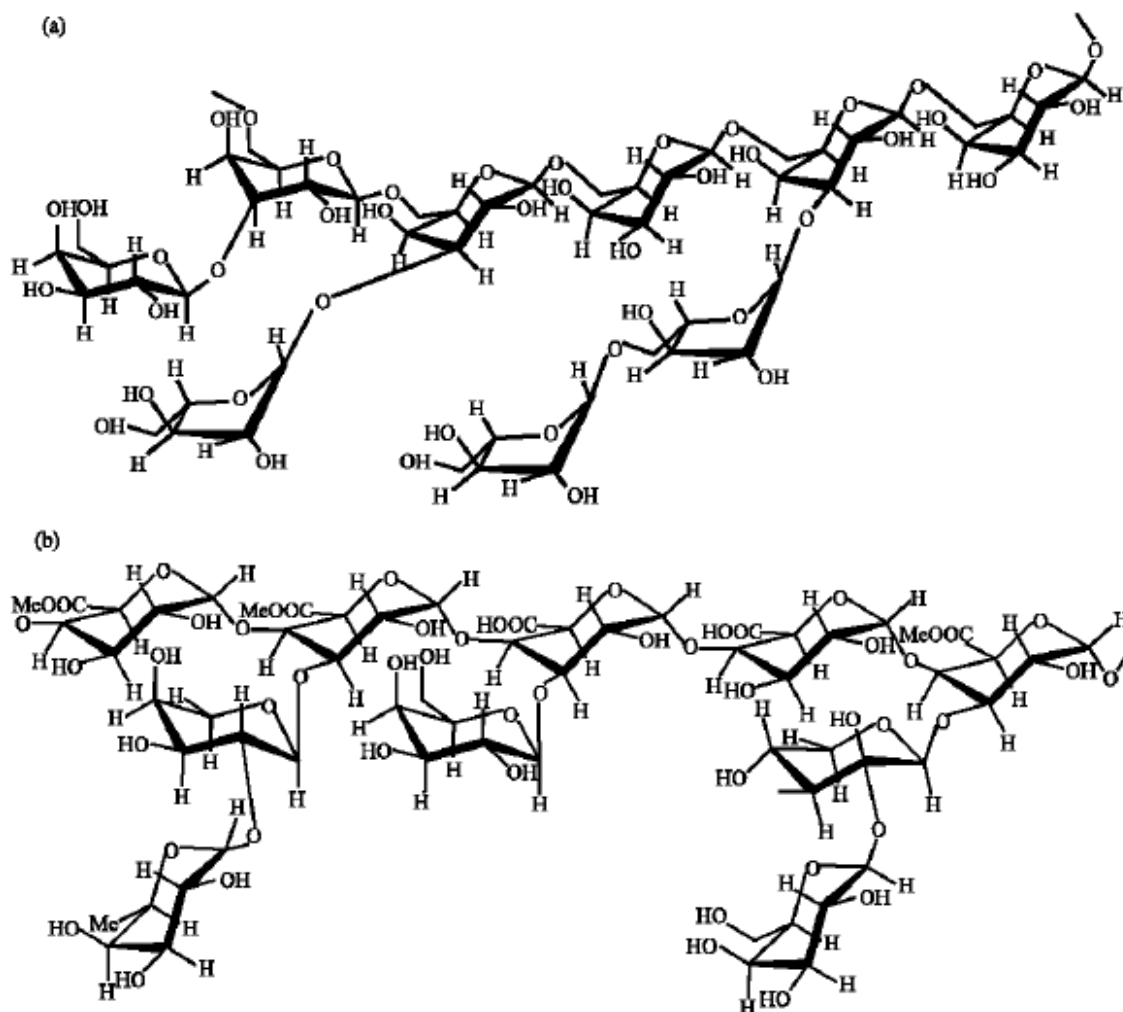


Figura 4 – Estrutura química da goma tragacanto: (a) Tragacantina e (b) Bassorina.
Fonte: Tischer, Iacomini e Gorin (2002)

A tragacanto é um aditivo alimentar classificado como estabilizante, emulsificante e espessante (CODEX ALIMENTARIUS, 1995). A utilização dessa goma em alimentos não traz riscos à saúde, pois sua ingestão não tem efeitos toxicológicos, alergênicos, teratogênicos ou carcinogênicos (GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2015). Essa goma é classificada como excipiente geralmente reconhecido como seguro (GRAS) nos Estados Unidos da América (EUA), desde 1961. Segundo o código da Food and Drug Administration (FDA) de Regulamentos Federais, a goma tragacanto pode ser aplicada como aditivo alimentar em concentração entre 0,2 a 1,3% em peso (GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2015; VODJANI, 2015; ZARE; MAKVANDI; TAY, 2019). Além das propriedades já apresentadas, a goma tragacanto apresenta boa estabilidade térmica, excelente solubilidade, longa durabilidade, e vem sendo utilizada com êxito para encapsulação de extratos vegetais e compostos bioativos, inclusive por coacervação complexa (DEHCHESHMEH; FATHI, 2019;

GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2015; GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2016, JAIN et al., 2016; SINGH; SHARMA, 2014).

2.4 Aplicação de extratos vegetais encapsulados para reduzir a oxidação lipídica

Nos últimos anos, têm-se pesquisado alternativas para produzir produtos cárneos com características distintas, como de baixo teor de gordura e sódio, enriquecimento com fibras alimentares e/ou ácidos graxos ω -3, para aumentar o prazo de validade, dentre outros (LORENZO et al., 2015; Dos SANTOS et al., 2016; Dos SANTOS et al., 2017). O desenvolvimento desses produtos é possível através da redução das substâncias indesejáveis e/ou aumento dos níveis de componentes desejados (HYGREEVA; PANDEY; RADHAKRISHNA, 2014; TOLDRÁ; REIG, 2011).

A utilização de extratos vegetais encapsulados tem sido avaliada em produtos cárneos, principalmente, com propósito de reduzir a oxidação lipídica, em substituição a utilização de antioxidantes sintéticos (BHA, BHT ou TBHQ), por estes serem questionados por seu potencial efeito colateral tóxico e indesejável (MUNEKATA et al., 2017; ŞAHIN et al., 2017, LORENZO et al., 2018). A utilização de compostos encapsulados em substituição a utilização direta dos extratos, ocorre pela instabilidade dos compostos presentes nos extratos e ainda para mascarar possível alteração do sabor e odor oriundos dos extratos.

O teste de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) ou de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) é o mais utilizado para verificação dos efeitos da oxidação lipídica em carnes e derivados. Esse teste quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos dos ácidos graxos poli-insaturados (LIMA et al., 2013).

Reis et al. (2017) ao microencapsularem o extrato etanólico obtido a partir de coproduto de própolis em Capsul[®] obtiveram eficiência de encapsulação de 76,86%. Após 14 dias de armazenamento a -15 °C, a oxidação lipídica do hambúrguer de carne bovina foi inibida pela adição de 0,3 g.kg⁻¹ de micropartículas, proporcionando maior estabilidade lipídica que o eritorbato de sódio. Quando avaliada sensorialmente a carne de hambúrguer com micropartículas apresentou graus mais baixos no odor e sabor do que a escala ideal, e próximo aos graus ideais para cor, aparência e textura.

Cabe ressaltar, que sob congelamento a rancidez oxidativa ocorre a uma taxa reduzida (BRANNAN 2008; GRAU et al., 2000).

Baldin et al. (2016) adicionaram em salsicha fresca à base de carne suína um extrato aquoso de resíduo de jabuticaba (cascas e sementes) microencapsulado em maltodextrina. Após 15 dias de armazenamento refrigerado, os valores de TBARS foram menores nas salsichas com 2 e 4% de micropartículas (abaixo de 0,1 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de amostra) que nos tratamentos controle e com carmim de cochonilha (0,3 a 0,6 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de amostra). A adição de 2% de micropartículas nas salsichas resultou em aceitação sensorial similar aos tratamentos controle e com o carmim na maioria dos atributos avaliados, com exceção da cor.

Em outro estudo, em que foi utilizado o mesmo extrato aquoso de jabuticaba, mas com aplicação em mortadela, não foi observada redução da oxidação lipídica com a aplicação de 2% de micropartículas (BALDIN et al., 2018).

Spinelli, Conte e Del Nobile (2016) realizaram um estudo em que foram desenvolvidas micropartículas de extrato aquoso de grão cervejeiro em Capsul®. Os resultados confirmaram o potencial uso do grão cervejeiro como ingrediente alimentar, pois os hambúrgueres de peixe apresentaram maiores teores de polifenóis (30%) e flavonoides (50%), com melhor atividade antioxidante do que a amostra controle.

3 Capítulo 1 – Encapsulação de extrato de folha de oliveira (*Olea europaea* L.) em gelatina/goma tragacanto por coacervação complexa para aplicação em hambúrguer de carne ovina

Os resultados deste estudo foram publicados no periódico *Food Control*.

doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108426

3.1 Introdução

Os produtos cárneos são uma forma de agregar valor a cortes de carnes que não são comercializados na forma *in natura*, em função do desenvolvimento de produtos diferenciados, como o hambúrguer, que apresenta praticidade no preparo. Esse produto é elaborado a partir da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado. Pode ser dos tipos cru, semi-frito, cozido, frito, congelado ou resfriado (BRASIL, 2000).

Mesmo o Brasil sendo o maior produtor da América Latina, o consumo interno brasileiro da carne ovina é baixo, quando comparado com o consumo de carnes bovina, suína e de aves. A ovinocultura no país tem como principal destino a produção de carne, sendo ainda pouco destinada para a produção de derivados cárneos (BRASIL, 2015).

Um grande desafio na produção de produtos à base de carne ovina é a alta susceptibilidade a oxidação lipídica, isto ocorre, porque do total de ácidos graxos presentes nesta carne, cerca de 45% são monoinsaturados e 10% poli-insaturados (CUNHA et al., 2018). Na oxidação lipídica, a fração de ácidos graxos insaturados é oxidada formando hidroperóxidos, que são mais suscetíveis à oxidação, sendo formados posteriormente produtos da oxidação secundária como aldeídos de cadeia curta, cetonas e outros compostos que acabam afetando os atributos de qualidade da carne, como cor e flavour. Consequentemente, há a formação de gostos e odores característicos do ranço, responsáveis pelo *off-flavors* e *off-odors*, que são responsáveis pela rejeição pelos consumidores (AL-RIMAWI; TARAWA; ELÄMÄ, 2017; CUNHA et al., 2018).

Uma maneira de contornar a oxidação lipídica é através da utilização de compostos com ação antioxidante, como de antioxidantes artificiais e de alguns

extratos vegetais (LORENZO et al., 2018a; LORENZO et al., 2018b; PAIVA et al., 2021; ŠOJIC et al., 2020).

Um extrato vegetal que vem demonstrando potencial para atuar como antioxidante natural em produtos cárneos, prevenindo a peroxidação lipídica, é o obtido da folha de oliveira (AL-RIMAWI; TARAWA; ELÄMÄ, 2017; BOTSOGLLOU et al., 2014; HAYES et al., 2009). Os polifenóis mais abundantes nesse extrato foram descritos como oleuropeína (24,5%), verbacosídeo (11,1%), luteolina-7-glicosídeo (1,4%), apigenina-7-glicosídeo (1,4%) e hidroxitirosol (1,5%) (RAHMANIAN; JAFARI; WANI, 2015).

A eficiência de extração de compostos fenólicos depende de vários parâmetros, como o tipo de amostra, a substância a ser extraída, o tipo de solvente e a temperatura de extração. Uma técnica muito utilizada é a maceração com solvente, que consiste em um processo simples, em solução, para conseguir a dissolução das substâncias presentes na amostra sólida no solvente extrator. Botsoglou et al. (2014) utilizando esta técnica na extração de compostos fenólicos da folha de oliveira, com etanol-água (60/40, v/v), sob agitação magnética, à temperatura ambiente por 6 h, obtiveram 45,2 mg EAG.g⁻¹ de folhas secas de oliveira. Por outro lado, Lorini et al. (2021) ao usar metanol, e mantendo as amostras sob agitação por 24 h a 25 °C no escuro, atingiram 8,25 a 10,05 mg EAG.g⁻¹ de folhas secas de oliveira. Etanol, metanol, acetato de etila, água, hexano, éter dietílico e acetona têm sido utilizados como solventes, mas o uso de extratores tóxicos deve ser evitado para aplicação em produtos de uso humano (OTERO et al., 2020; RAHMANIANM; JAFARI; WANI, 2015).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos pode ocorrer por diferentes mecanismos; no entanto, os compostos fenólicos são instáveis à luz, oxigênio e temperatura (GÓMEZ-ESTACA; GAVARA; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, 2015). Assim, uma maneira de contornar a perda da atividade antioxidante desses compostos é através da encapsulação do extrato vegetal.

Uma das tecnologias mais utilizadas para a encapsulação de compostos naturais consiste na coacervação complexa, que envolve a interação eletrostática entre polímeros de cargas opostas. Foi observado que as interações entre proteínas e polissacarídeos, em substituição a utilização isolada dos polímeros pode melhorar a funcionalidade do material de parede das partículas encapsuladas (DONG; HUA, 2018). A interação entre os polímeros é dependente de fatores como as cargas transportadas pelos biopolímeros, pH da mistura de coacervação, força iônica, razão

entre os biopolímeros e acessibilidade dos pontos de interação. Dentre estes, o pH da solução desempenha um papel importante na coacervação complexa, pois influencia na formação de proteína-carboidrato, afetando o grau de ionização do grupo funcional de proteína (grupo amino) e carboidrato (grupo carboxila). Em uma mistura contendo um polissacarídeo aniônico e uma proteína, o ajuste do pH abaixo do IP resulta em máxima atração eletrostática, pois os dois biopolímeros são carregados com cargas opostas (SLOW; ONG, 2013).

Um outro método utilizado para encapsulação de extratos vegetais, é a liofilização. A qual favorece a estabilidade das partículas, pois nela uma solução de material de parede contendo a substância ativa é congelada, sendo a água da solução removida por sublimação decorrente da utilização de um sistema com baixa pressão (KAUSHIK et al., 2015).

Dentre os materiais mais utilizados para encapsular compostos por coacervação complexa têm-se a gelatina, a qual é obtida a partir do colágeno proveniente de animais, após hidrólise ácida ou alcalina (BIGI et al., 2000; YANG et al., 2015). A diferença na hidrólise resulta em gelatinas com diferentes pontos isoeletrônicos (PI) (BIGI et al., 2000).

Um outro material que pode ser utilizado na encapsulação de extratos vegetais é a goma tragacanto, a qual é obtida do exsudado dos caules e ramos de uma espécie de Astrágalo, sendo quimicamente um polissacarídeo aniônico heterogêneo de alto peso molecular (GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2016; JAIN et al., 2016).

Assim como a gelatina, a goma tragacanto é utilizada na indústria de alimentos, sendo biodegradável e não tóxica. Até o momento não foi identificado algum trabalho em que foi utilizado a encapsulação por coacervação complexa utilizando a combinação de gelatina e tragacanto.

Assim, o objetivo deste trabalho foi encapsular o extrato fenólico de folha de oliveira utilizando como material de parede gelatina e goma tragacanto, utilizando as técnicas de coacervação complexa e liofilização, e aplicar em hambúrgueres de carne ovina, com o intuito de reduzir a degradação oxidativa deste produto.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Material

Para obtenção do extrato foram utilizadas folhas de oliveira da cultivar

Manzanilha, que foram colhidas manualmente de dez plantas na Estância Guarda Velha – Pinheiro Machado/RS, e armazenadas intactas a -75 °C em embalagens pretas de polietileno de baixa densidade.

Como agentes encapsulantes foram utilizados: gelatina bovina tipo B (200 bloom) (Gelnex, Itá, SC, BRA) e goma tragacanto (Rainbow Dust, Preston, UK). A carne ovina foi proveniente da Embrapa Pecuária Sul - Bagé, RS, BRA, em torno de 6 kg de contrafilé (lombo), congelados e acondicionados em embalagens transparentes de polietileno de baixa densidade.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada com radical 2,2-difenil-1- picril-hidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich, São Paulo, BRA).

Foram utilizados os antioxidantes vitamina C (Neon Comercial, Suzano, SP, Brasil) e eritorbato de sódio (Adicel, Belo Horizonte, Brasil).

O restante dos reagentes utilizados foram de grau P.A.

3.2.2 Obtenção do extrato da folha de oliveira

Para obtenção do extrato da folha de oliveira, primeiramente foi realizada uma extração segundo Coppa et al. (2017), com algumas modificações. As folhas de oliveira foram descongeladas, lavadas, secas em estufa de circulação de ar (Ethik Technology, EST. 402, Brasil) a 50 °C por 3 h e trituradas em liquidificador (Britânia, Eletronic Pro 2 em 1, Brasil). Após, 50 mL de solvente hidroalcoólico etanol/água (70:30, com acréscimo de cerca de 1% de ácido acético na mistura) foi adicionado em dez gramas de folhas de oliveira moídas, e a mistura foi submetida a agitação magnética por 2 h. As amostras foram filtradas em papel filtro e o material retido no filtro foi lavado com 25 mL de etanol. O filtrado foi concentrado em rotaevaporador (Heidolph, Laborata 4000, Alemanha) a 40 °C. Após a evaporação do etanol, os extratos a 13,3% (p/v) foram congelados, liofilizados (Terroni, Enterprise II, Brasil), com os seguintes parâmetros de uso: temperatura do condensador de -50 °C, pressão abaixo de 500 µHg, permanecendo por um período de 48 h, obtendo-se assim o extrato liofilizado de folha de oliveira, que foi armazenado em ultrafreezer (-75 °C).

3.2.3 Determinação de compostos fenólicos

A determinação de compostos fenólicos foi adaptada da metodologia de Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999). Para isso, 0,5 g de amostra (extrato liofilizado, partículas ou hambúrguer) foi homogeneizada em 20 mL de etanol, sendo 0,5 mL desta mistura adicionada em 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu ($0,2 \text{ mol.L}^{-1}$). A mistura foi agitada e mantida em repouso por 5 min para reação. Decorrido este tempo, foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio (7,5%), agitado e mantido por 2 h no escuro para posterior leitura de absorbância em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis, Espanha), a 725 nm. A quantificação foi realizada utilizando a curva de calibração realizada com o ácido gálico nas concentrações de 30 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($y=0,014x + 0,0169$, $R^2=0,999$). A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram calculados em mg equivalentes de ácido gálico por g de amostra (mg EAG.g^{-1}), amostra seca para extrato e partículas e amostra úmida para hambúrgueres.

3.2.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método adaptado de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Primeiramente, 0,5 g de amostra (extrato liofilizado ou partículas rompidas em Ultra-Turrax a 12000 rpm por 1 min) foram homogeneizadas em 20 mL de etanol, por 24h em homogeneizador de soluções (Phoenix, AP 22, Brasil). Posteriormente, 0,1 mL desta mistura adicionada a 3,9 mL do radical DPPH (solução de DPPH 0,06 mM). Após homogeneização, a mistura permaneceu em repouso 100 min. Após esse tempo foi realizada a leitura em espectrofotômetro (JENWAY, 6705 UV/Vis, Espanha), a 515 nm. A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em porcentagem de inibição.

3.2.5 Estudo do efeito do pH (Turbidimetria)

Previamente à produção das partículas, a turbidimetria da mistura das dispersões de gelatina e tragacanto foi avaliada a fim de determinar o pH de interação entre os polímeros. As dispersões de gelatina e tragacanto (1:1, v:v) foram misturadas, obtendo-se concentração total de polímeros em água destilada de 0,5% p/v (JAIN et al., 2016). A partir da dispersão contendo gelatina e tragacanto (pH 5,61), o pH foi reduzido até pH 1 com soluções de ácido clorídrico ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$) e

aumentado até pH 9 com NaOH (1 mol.L^{-1}). A absorbância da mistura gelatina/tragacanto nos diferentes pHs foi medida em espectrofotômetro (JENWAY, 6705 UV/Vis, Espanha), a 225 nm. O aumento da absorbância indicou a formação do coacervado. A análise foi realizada em triplicata.

O desenho experimental utilizado na turbidimetria foi inteiramente aleatório, em esquema fatorial 1×16 , com 1 tratamento (dispersão de gelatina e tragacanto) e 16 valores de pH.

3.2.6 Preparo das partículas

Foram preparados três tipos de partículas utilizando como material de parede gelatina, tragacanto e gelatina:tragacanto, de acordo com Siow e Ong (2013), com adaptações. Para isso, dispersões aquosas de 1% (p/v) de gelatina e 1% (p/v) de goma tragacanto foram preparadas a 40°C sob agitação (SHINDE; NAGARSENKER, 2009; SIOW; ONG, 2013). A dispersão de tragacanto ficou *overnight* a 5°C para total solubilização (JAIN et al., 2016).

Para o preparo das partículas de gelatina e de tragacanto, 0,5 g de extrato da folha de oliveira foi adicionado a 100 mL de dispersão da proteína ou do polissacarídeo e homogeneizado em Ultra-Turrax (IKA, T18 básica, Alemanha), a 14000 rpm por 3 min (ALVIM; GROSSO, 2010; SIOW; ONG, 2013). Após, a dispersão foi armazenada a -75°C e posteriormente liofilizada (Terroni, Enterprise II, Brasil).

Para a produção da partícula de gelatina/tragacanto, após o preparo das dispersões de gelatina e de tragacanto, foi adicionado 1 g de extrato da folha de oliveira à 100 mL da dispersão de gelatina e homogeneizados em Ultra-Turrax (IKA, T18 básica, Alemanha), a 14000 rpm por 3 min (SIOW; ONG, 2013). Após, 100 mL da dispersão de goma tragacanto foi adicionada a dispersão de gelatina contendo o extrato, sendo homogeneizados em Ultra-Turrax (IKA T18 básica, Alemanha) a 14000 rpm por 3 min. Obtendo-se uma proporção final de material parede:extrato de 2:1 (p/p) (SIOW; ONG, 2013). O pH da dispersão foi ajustado para 4 (determinado previamente por turbidimetria, item 3.2.5), por adição gota a gota de ácido clorídrico (2% e 5% v/v) para induzir a coacervação complexa. Posteriormente, para a separação de fases foi realizada centrifugação (Eppendorf 5430 R, Alemanha), a 7000 g por 10 min (RUTZ et al., 2016). A fração com os coacervados foi congelada e submetida a liofilização. As partículas foram armazenadas em frascos de polietileno e cobertas com folha de

alumínio para evitar exposição à luz e congeladas a -75 °C até o momento das análises (RUTZ et al., 2016).

O desenho experimental usado na eficiência de encapsulação, atividade antioxidante, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e calorimetria de varredura diferencial foi inteiramente aleatória, em um esquema fatorial 7 x 1, com 7 tratamentos (1: extrato de folha de oliveira, 2: partícula de gelatina, 3: partícula de tragacanto, 4: partícula de gelatina/tragacanto, 5: partícula de controle de gelatina, 6: partícula de controle de tragacanto, 7: partícula de controle de gelatina/tragacanto) e 1 período de avaliação.

Na análise morfológica, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 1, com 3 tratamentos (1: partícula de gelatina, 2: partícula de tragacanto, 3: partícula de gelatina/tragacanto) e 1 período de avaliação.

3.2.7 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi determinada em relação ao teor de compostos fenólicos (seção 3. 2. 3), conforme o método de Alishahi et al. (2011), com algumas modificações. Para tanto, foi determinado o teor de compostos fenólicos na superfície das partículas, assim como nas partículas após a ruptura.

Para a quantificação do teor de compostos fenólicos presentes na superfície das partículas, 20 mg de partículas foram dissolvidas em 10 mL de etanol, sendo realizada homogeneização em vórtex por 1 min, seguido por centrifugação (Eppendorf 5430 R, Alemanha) a 4200 g por 15 min. Após, 1 mL do sobrenadante foi coletado para proceder a análise de compostos fenólicos, os 9 mL restantes foram utilizados para a abertura das partículas, sendo submetidos a sonicação (Unique, 1400A, Brasil) por 10 min e homogeneização (IKA, T18 básica, Alemanha) a 12000 rpm por 1 min. Posteriormente, foram mantidos sob agitação por 24 h em homogeneizador de soluções (Phoenix, AP 22, Brasil) para que houvesse a ruptura e liberação dos compostos de interesse das partículas.

A eficiência de encapsulação (ET%) foi realizada em triplicata e os resultados calculados usando a Equação 1, em que C_t representa o total de compostos fenólicos presente nas partículas e C_s representa o teor de compostos fenólicos na superfície das partículas.

$$ET\% = \frac{CTotal - CSuperfície}{CTotal} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

3.2.8 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das partículas foi determinada através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (JEOL JSM-6060 LV, Japão). No microscópio, as amostras foram fixadas em um suporte metálico com auxílio de uma fita dupla-face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro. A visualização foi realizada em aumentos de 100 e 5000 vezes, com uma voltagem de excitação de 15 kV, conforme Rutz et al. (2016). A análise foi realizada em duplicata.

3.2.9 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

As análises de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas utilizando espectrômetro de infravermelho (IRAffinity-1, Shimadzu, Japan), acoplado com acessório de refletância total atenuada horizontal (ATR), empregando um cristal de seleneto de zinco. Todos os espectros foram obtidos na faixa de 400-4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 60 varreduras. Antes das medições das amostras, o espectro infravermelho denominado “branco” foi medido usando o cristal sem amostra. Os espectros das amostras foram obtidos da seguinte forma: primeiro a amostra foi espalhada na superfície do cristal ATR, depois o espectro foi obtido e, finalmente, para obter novos espectros, a célula foi limpa com hexano P.A. e acetona P.A. Para análise de grupo, foi utilizado o programa IRsolution1.60 (Shimadzu) (JANSEN-ALVES et al., 2019).

3.2.10 Calorimetria diferencial de varredura

O comportamento térmico foi avaliado por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)(Q20, Instrumento T.A, EUA). Dez miligramas do extrato, partículas e partículas controle (sem extrato) foram aquecidas em cadinho de alumínio a uma taxa de 10 $^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ entre 30 e 300 $^{\circ}\text{C}$, com um fluxo de nitrogênio de 25 $\text{mL}.\text{min}^{-1}$ (ELBAZ et al., 2016). A análise foi realizada em duplicata.

3.2.11 Avaliação das partículas em matriz alimentícia

3.2.11.1 Preparo dos hambúrgueres

A carne ovina desossada e sem gordura foi moída em moedor de carne (MB Braesi, BMC 05, Brasil), com disco de 8 mm, por 2 vezes. O hambúrguer de carne ovina foi preparado segundo a formulação contida na Tabela 3.

Tabela 3 – Formulação do hambúrguer ovino.

Ingredientes	% (p/p)
Matéria prima	
Carne ovina magra moída	90
Toucinho	10
Condimentos*	
Sal	2
Alho em pó	0,1
Pimenta do reino em pó	0,15
Cebola em pó	0,2
Açúcar	0,2
Água*	5

^a Os percentuais de condimentos e água adicionados foram calculados sobre o total de matéria-prima, sendo essa quantidade acrescida em 100% de matéria-prima.

Os ingredientes foram homogeneizados manualmente por 3 min. A seguir foi realizada a adição dos extratos e das partículas seguindo procedimento descrito por Reis et al. (2017), com modificações. A mistura de ingredientes foi dividida em sete lotes, diferenciados pela aplicação dos antioxidantes: 1- com extrato da folha de oliveira (0,57 g.56 g⁻¹); 2- com partículas de gelatina/extrato da folha de oliveira (0,77 g.56 g⁻¹); 3- com partículas de tragacanto/extrato da folha de oliveira (0,76 g.56 g⁻¹); 4- com partículas gelatina/tragacanto/extrato da folha de oliveira (1,12 g.56 g⁻¹); 5- com vitamina C (0,17 g.56 g⁻¹); 6- com antioxidante comercial eritorbato de sódio (0,028 g.56 g⁻¹); 7 - e o controle (sem antioxidante). A quantidade de extrato de folha de oliveira e das partículas (encapsulados) foram calculadas em relação ao teor de compostos fenólicos, de acordo com Fernandes et al. (2016b) e a quantidade de eritorbato de sódio foi adicionada de acordo com Fernandes et al. (2018).

Após a mistura com os antioxidantes e posterior moldagem manual dos hambúrgueres (± 56 g) em placa de Petri, as amostras foram embaladas em filme de policloreto de vinila (PVC). Por fim, as amostras foram armazenadas sob congelamento a -15°C durante 4 meses. As determinações de TBARS, índice de peróxidos e liberação controlada, foram realizadas nas amostras imediatamente após o processamento e após 1, 2, 3 e 4 meses de armazenamento.

Para a análise do índice de peróxidos e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico o delineamento experimental utilizado foi inteiramente aleatório, em esquema fatorial 7×5 , com 7 tratamentos (1: hambúrguer adicionado de extrato de folha de oliveira; 2: hambúrguer adicionado de partículas de gelatina/extrato de folha de oliveira; 3: hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto/extrato de folha de oliveira; 4: hambúrguer adicionado de partículas de gelatina/tragacanto/extrato de folha de oliveira; 5: hambúrguer adicionado de vitamina C; 6: hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio; e 7: tratamento controle (sem adição de antioxidante) e 5 períodos de avaliação. No perfil de liberação de compostos fenólicos em hambúrguer o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3×5 , com 3 tratamentos (1: hambúrguer adicionado de partículas de gelatina/extrato de folha de oliveira; 2: hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto/extrato de folha de oliveira; 3: hambúrguer adicionados com partículas de gelatina/tragacanto/extrato de folha de oliveira) e 5 períodos de avaliação.

3.2.11.2 Índice de peróxidos

Esse índice foi determinado de acordo com o Brasil (1999), baseado em metodologia oficial AOAC (2000). Previamente à análise, a gordura da carne foi extraída com 25 mL de clorofórmio e 1,5 g de sulfato de sódio anidro, a partir 2,5 g de hambúrguer. Na determinação iodométrica do índice de peróxido, em 25 mL do extrato clorofórmico foram adicionados 37 mL de ácido acético e 1 mL de solução saturada de iodeto de potássio. A mistura foi deixada no escuro por 1 min, e após 30 mL de água foram acrescentados. Por fim, a mistura foi titulada com solução de tiosulfato de sódio $0,01 \text{ mol. L}^{-1}$, usando solução de amido a 1% como indicador.

Para a determinação da massa de gordura no extrato, 25 mL do extrato clorofórmico foram transferidos para cápsula previamente desengordurada e tarada. Sob exaustão, o solvente foi evaporado em banho-maria a 60°C e após o resíduo foi

seco em estufa a 105 °C por 30 min. A massa de gordura obtida foi utilizada para os para expressar os resultados em mEq. kg⁻¹ de lipídeos. A análise foi realizada em triplicata.

3.2.11.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Para a determinação de compostos secundários da oxidação, foi utilizado o método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de Vyncke (1970), com modificações. Para isso, 2,5 g de amostra (hambúrgueres ovinos adicionados de distintos antioxidantes conforme seção 3. 2. 11. 1) foram homogeneizados com 12,5 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5% (p/v), por 1 min em vórtex e após, filtrado em algodão. Em seguida, em 2 mL do filtrado foi adicionado de 0,5 mL da solução de TCA 7,5% e 2,5 mL da solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 mol.L⁻¹. A amostra foi colocada em banho-maria (Fisatom, 550, Brasil) a 100 °C por 40 min. Após as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e levadas a banho ultrassônico (Quimis, Q335D, Brasil) por 5 min, para eliminação dos gases. A absorbância das amostras foi medida a 538 nm em espectrofotômetro (JENWAY, 6705 UV/Vis, Espanha). A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em mg de malonaldeído.kg⁻¹ de amostra, usando uma curva padrão estabelecida com 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP).

3.2.11.4 Liberação dos compostos fenólicos nos hambúrgueres

O perfil de liberação de compostos fenólicos encapsulados durante o armazenamento foi avaliado de acordo com metodologia descrita por Rutz (2016), imediatamente após o processamento e nos meses 1, 2, 3 e 4 de armazenamento.

Para isso, 5 g de hambúrguer foram adicionados de 10 mL de etanol, e a mistura foi centrifugada (Eppendorf 5430 R, Alemanha) a 4200 g por 15 min. Posteriormente, foi realizada a diluição e a quantificação dos compostos fenólicos liberados, conforme descrito anteriormente (Seção 3. 2. 3. 2). A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos como porcentagem de compostos fenólicos liberados, sendo descontados os valores de compostos fenólicos das amostras controle (de cada mês).

3.2.12 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e a comparação de médias entre os tratamentos foi realizada usando teste de Tukey com nível de significância de 5%, no programa Statistix 10. Para avaliação dos hambúrgueres em relação ao tempo de armazenamento, foi calculado o intervalo de confiança de 95%.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Turbidimetria

Uma maneira de monitorar a progressão da coacervação complexa é através da medição da turbidez, em que as variações significativas da absorbância revelam a formação dos coacervados, o que consequentemente altera as propriedades ópticas do sistema biopolimérico (BIGI et al., 2000).

Através da Figura 5 pode ser observado que no pH 5,44 (pH_c) houve as primeiras interações, correspondentes a formação de complexos solúveis entre os polímeros. No pH 5,0 ($pH_{\phi 1}$), substâncias insolúveis começam a ser formadas e a dispersão passa a ficar turva. Em uma mistura contendo um polissacarídeo aniônico e uma proteína, o ajuste de pH abaixo do ponto isoelétrico (PI) resulta em atração eletrostática máxima, pois os dois biopolímeros carregam cargas opostas (SLOW; ONG, 2013). A gelatina do tipo B tem PI em pH 4,5-5,0 o que condiz com o pH ótimo para coacervação obtido (pH 4,0 (pH_{opt})), em que ocorreu a máxima interação eletrostática entre a gelatina tipo B e a goma tragacanto, confirmado pelo aumento da turbidez. Neste pH ocorreu a neutralização das cargas no sistema (BIGI et al., 2000). No pH 3,0 ($pH_{\phi 2}$), os complexos começam a se dissociar, pois os grupos carboxilas presentes na estrutura do polissacarídeo começam a protonar, reduzindo a atração eletrostática entre os polímeros (DONG; HUA, 2018).

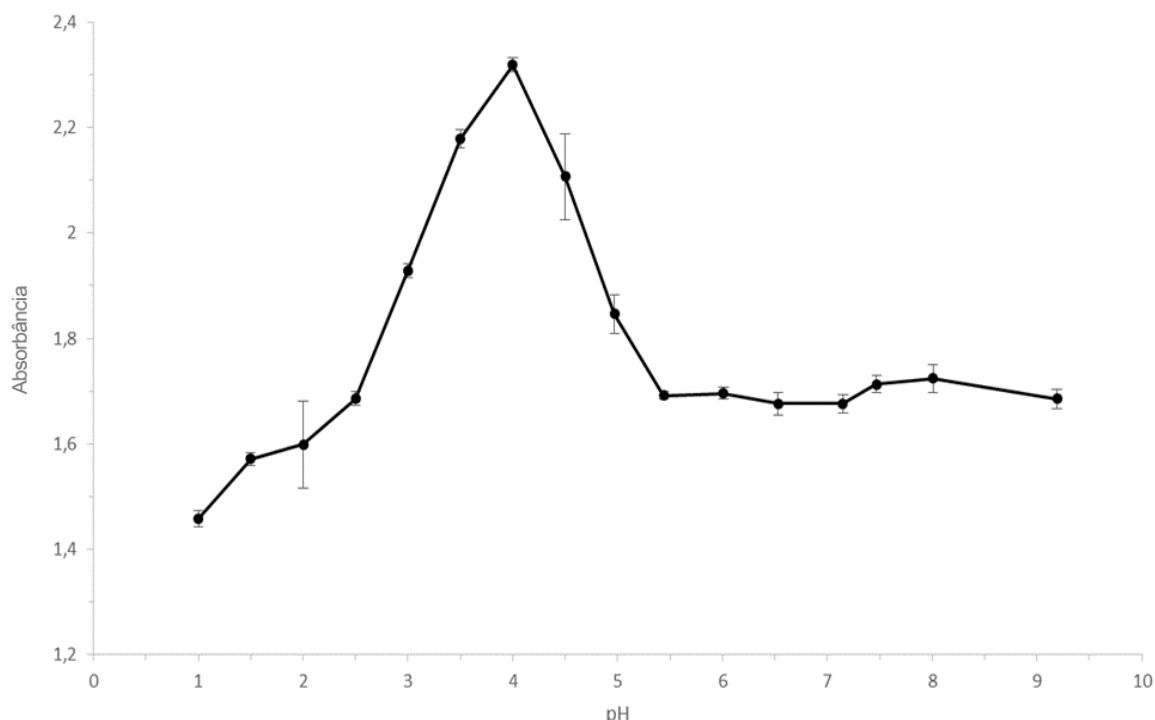


Figura 5 – Curva de turbidimetria da dispersão de gelatina e tragacanto (1:1) em função do pH. Os dados representam as médias $\pm$ no desvio padrão. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. $n = 3$.

Shinde e Nagarsenker (2009) investigaram o efeito do pH em um sistema de coacervação complexa de gelatina tipo B e alginato de sódio, e seus resultados demonstraram que a coacervação ótima ocorreu em pH 3,50, possivelmente devido à distinção de polissacarídeo e à proporção utilizada entre gelatina e alginato (4:1).

3.3.2 Eficiência de encapsulação e atividade antioxidante

A Tabela 4 mostra a eficiência de encapsulação (%) e atividade antioxidante (%) de extrato de folha de oliveira e partículas com este extrato.

De acordo com os resultados da Tabela 4, não houve diferença significativa de eficiência de encapsulação entre as partículas com gelatina e gelatina/tragacanto ($p \geq 0,05$). Entretanto, essas partículas apresentaram valores significativamente ($p \leq 0,05$) superiores de retenção de compostos fenólicos, em relação as partículas apenas com tragacanto. A interação entre os compostos fenólicos do extrato da folha de oliveira e a gelatina possivelmente ocorre por ligações de hidrogênio, entre os grupos hidroxila do extrato com os grupos carbonila polares da gelatina, assim como

por interações hidrofóbicas entre os anéis aromáticos e a cadeia lateral hidrofóbica da gelatina (OZDAL; CAPANOUGU; ALTAY, 2013). São possíveis também de ocorrer ligações covalentes, provavelmente entre a porção eletrofílica (forma oxidada do composto) e o grupo amino nucleofílico da gelatina (AZEREDO et al., 2016).

Entretanto, apesar de teoricamente os compostos fenólicos poderem interagir através de suas hidroxilas com as hidroxilas da goma tragacanto, parece que houve algum impedimento estérico que inferiu na redução da eficiência de encapsulação. A baixa reatividade da goma tragacanto em determinadas condições tem sido relacionada ao impedimento estérico de sua cadeia. Este impedimento pode ser proveniente da posição dos substituintes nos anéis dos monossacarídeos, principalmente se assumirem a forma de barco ou bote (KOSHANI; AMINIARI, 2017).

O método de encapsulação não teve influência nos resultados de eficiência de encapsulação ou atividade antioxidante.

Tabela 4 – Eficiência de encapsulação (%) e atividade antioxidante (%) de extrato de folha de oliveira e das partículas com este extrato.

Amostra	Eficiência de encapsulação (%)	DPPH (% de inibição)
Extrato de folha de oliveira	-	91,26 ± 0,24 ^a
Partícula de gelatina/extrato de folha de oliveira	61,23 ± 2,55 ^{a*}	90,07 ± 0,03 ^a
Partículas de tragacanto/extrato de folha de oliveira	52,04 ± 2,29 ^b	47,64 ± 3,40 ^b
Partícula de gelatina/tragacanto/extrato de folha de oliveira	60,74 ± 0,88 ^a	90,41 ± 0,09 ^a

*Média de três repetições ± desvio padrão. Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). $n=3$.

A eficiência de encapsulação é dependente do método de encapsulação utilizado, das características químicas do material de parede e do composto ativo, assim como de suas concentrações. Ghayempour et al. (2016) avaliaram a eficiência de encapsulação de partículas de extrato de Aloe Vera revestidas com goma tragacanto por microemulsão com base sonoquímica, e obtiveram valor superior de eficiência de encapsulação (91%), em relação ao obtido no presente estudo. Assim como Siow e Ong (2013), que obtiveram uma eficiência de encapsulação de 96,2% ao utilizar gelatina tipo B e goma acácia para encapsular óleo de alho por coacervação complexa. Por outro lado, Jain et al. (2016) obtiveram resultado similar ao presente estudo, de 64,31% de eficiência de encapsulação, ao microencapsularem β -caroteno por coacervação complexa utilizando caseína e goma tragacanto.

Em relação a capacidade antioxidante (Tabela 4), constatou-se que as partículas com gelatina e gelatina/tragacanto apresentaram significativamente

($p \leq 0,05$) os maiores percentuais de inibição dentre as partículas avaliadas, assim como de eficiência de encapsulação. Os valores de atividade antioxidante dessas partículas demonstraram-se semelhantes ao extrato de folha de oliveira. O extrato de folha de oliveira é reconhecido por proteger produtos cárneos da peroxidação lipídica devido a sua atividade antioxidante (AL-RIMAWI; TARAHA; ELÄMÄ, 2017; BOTSOGLOU et al., 2014). Em vista disso se faz importante a preservação dessa característica com a encapsulação.

Por outro lado, as partículas de tragacanto apresentaram capacidade antioxidante de 47,7% inferior das demais partículas, e somente 13,9% de redução na eficiência de encapsulação, o que demonstra que possa ter ocorrido forte interação entre os compostos fenólicos do extrato de folha de oliveira e a goma tragacanto, reduzindo sua interação com o DPPH. Comportamento semelhante foi relatado por Radünz et al. (2021).

3.3.3 Morfologia

A Figura 6 mostra as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) das partículas.

As micrografias demonstram que independente do material de parede, as partículas apresentaram forma irregular (Figura 6). Estudos demonstraram que tanto partículas obtidas por liofilização quanto por coacervação complexa, seguido de liofilização, podem apresentar morfologia atípica (RUTZ et al., 2017), assim como o obtido no presente estudo.

Mesmo partículas liofilizadas com formato atípico podem promover a liberação controlada de compostos ativos em condições gastrointestinais simuladas após a adição em alimentos, como demonstrado no estudo de Rutz et al. (2016), ao aplicar partículas de β -caroteno e carotenoides do óleo de palma, coacervadas com quitosana e carboximetilcelulose, em iogurte e pão.

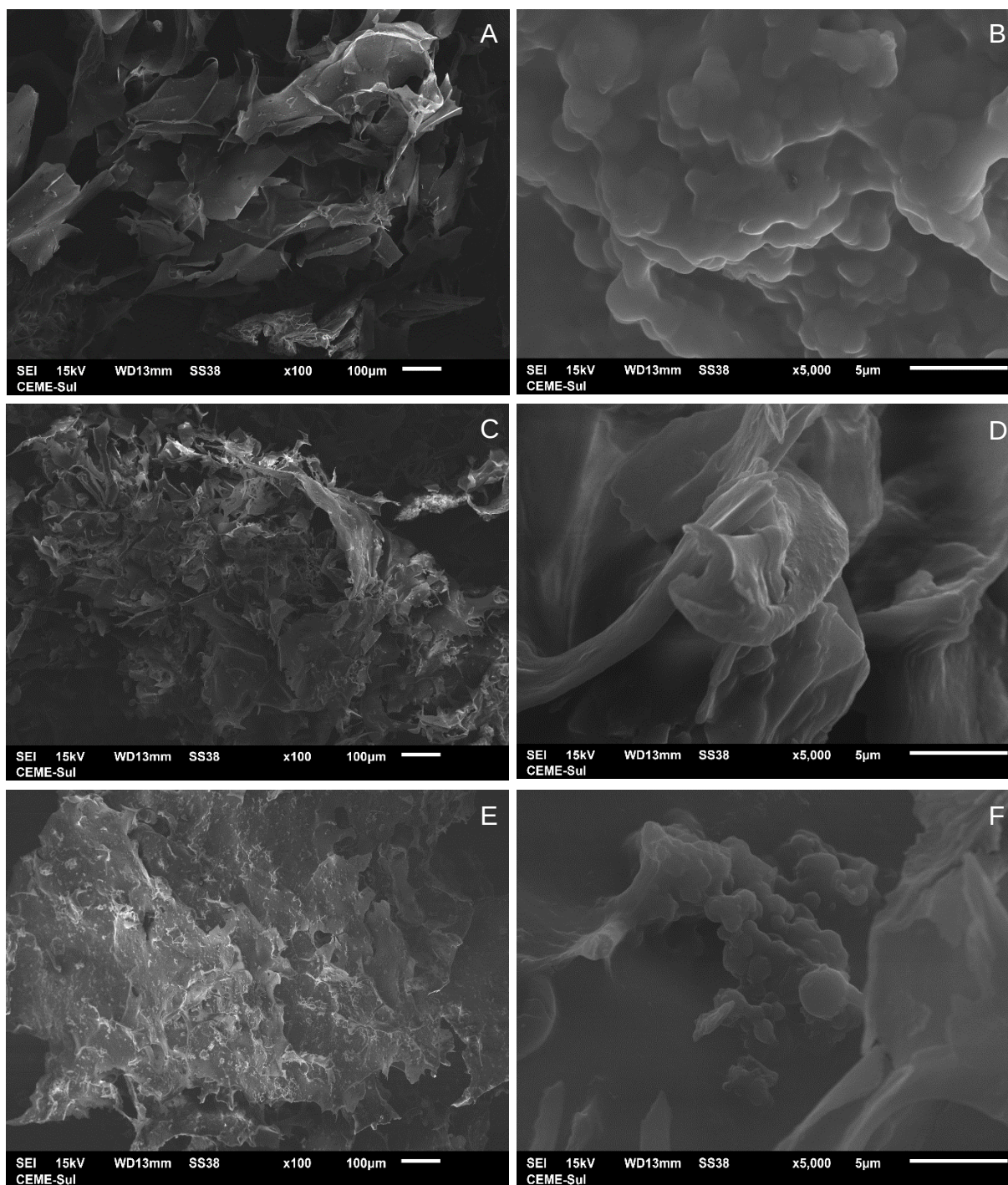


Figura 6 – Micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das partículas com gelatina (A- 100x e B- 5000x), partícula com tragacanto (C- 100x e D- 5000x) e partícula com gelatina/tragacanto (E-100x e F- 5000x).

3.3.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

As bandas no espectro de infravermelho indicam vibrações moleculares, também denominadas de deformação angular (δ), que podem ser simétricas (δ_s) ou

assimétricas (δa); ou o alongamento de funções, também denominadas de deformações axiais (ν) simétricas (νs) ou assimétricas (νa).

Os espectros FTIR do extrato de folha de oliveira, da gelatina, da tragacanto, do complexo gelatina/tragacanto e de suas respectivas partículas com o extrato são demonstrados na Figura 7.

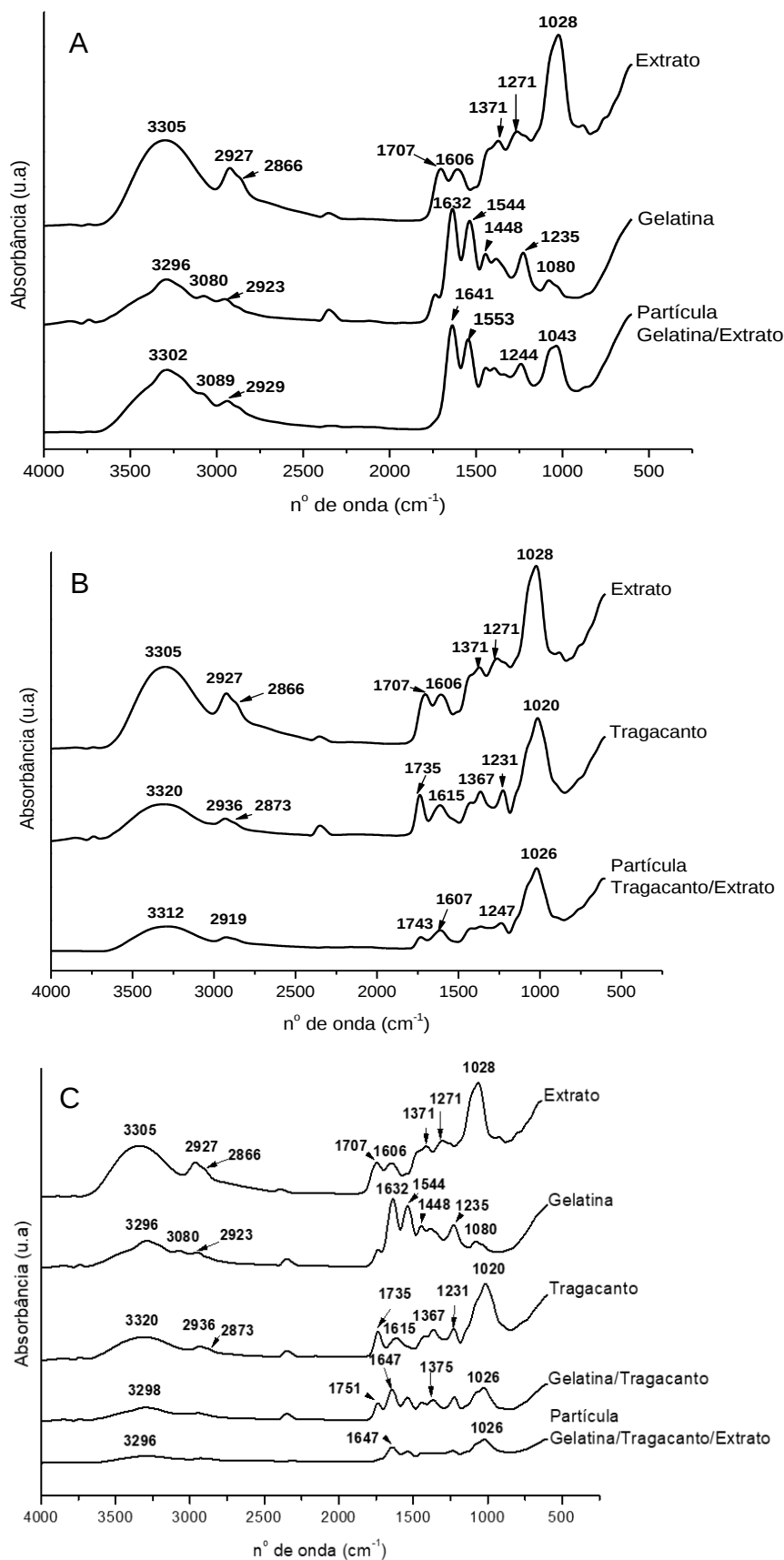


Figura 7 – Espectros de FTIR do extrato da folha de oliveira, da gelatina, da tragacanto, do complexo gelatina/tragacanto e das respectivas partículas com o extrato de folha de oliveira. A- Gelatina, B- Tragacanto e C- Gelatina/tragacanto.

No espectro do extrato de folha de oliveira (Figura 7A, B e C) foram observadas bandas em 3305 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$), que estão presentes em diferentes cadeias (oleuropeína, celulose, ácidos orgânicos, etc.); $2927 - 2866\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{C-H}$), presente em qualquer cadeia carbônica; 1707 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$), presente em ácidos carboxílicos; 1606 cm^{-1} ($\nu\text{C=C}$), característico de anel aromático; 1423 cm^{-1} ($\delta_{\text{s}}\text{CH}_2$), grupamento alifático, adjacente a carbonila; 1371 cm^{-1} ($\delta_{\text{a}}\text{O-H}$; $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$), característicos de ácido carboxílico e fenóis; 1271 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}=\text{C-O}$), presentes em ésteres saturados; e por fim, foi observada banda em 1028 cm^{-1} ($\nu\text{C-O}$), característica da cadeia endocíclico e exocíclico dos carboidratos. Descrição semelhante foi relatada por Aouidi et al. (2012b) ao avaliarem os grupamentos presentes em folhas de oliveira provenientes da Tunísia.

No espectro de gelatina (Figura 7A e C) foram observadas bandas em 3296 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$ sobreposta a $\nu_{\text{s}}\text{N-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{N-H}$), característico da amida A e B, respectivamente; $3080 - 2923\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{C-H}$), de cadeia carbônica; 1632 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$), grupamento da amida I; 1544 cm^{-1} ($\delta\text{N-H}$), respectivo aos grupos peptídeos da amida II; $\sim 1448\text{ cm}^{-1}$ ($\delta_{\text{s}}\text{CH}_2$), grupo alifático e; em 1235 cm^{-1} ($\nu\text{C-N}$ sobreposto a δNH_2), característico da amida III. Por fim, foi observada uma banda em 1080 cm^{-1} ($\nu\text{C-O}$), grupo da cadeia. Resultado semelhante também foi obtido por VORON'KO et al. (2016).

Jansen-Alves et al. (2018), ao encapsular extrato de própolis com proteína de ervilha, não observou a banda característica deste composto no espectro da sua respectiva micropartícula e, atribuiu o observado à ocorrência da encapsulação. Outra evidência da interação entre os materiais de parede e o extrato de folha de oliveira, conforme Steiner (2015), é o deslocamento das bandas do material de parede em comparação as partículas formadas com o extrato. Portanto, a confirmação da encapsulação é dada pelo desaparecimento e/ ou deslocamento das bandas do material de parede ou do extrato, em relação as partículas carregadas.

No espectro da partícula com gelatina/extrato de folha de oliveira (Figura 7A) foram observadas bandas características da gelatina em 3302 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$ sobreposta a $\nu_{\text{s}}\text{N-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{N-H}$) da amida A e B, respectivamente, e em $3089 - 2929\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{C-H}$). Foi observado um deslocamento de $\Delta\nu = 9\text{ cm}^{-1}$ na banda da amida I, $\Delta\nu = 9\text{ cm}^{-1}$ na banda da amida II e $\Delta\nu = 9\text{ cm}^{-1}$ na banda amida III e, a ausência das bandas

características do extrato, o que sugere que o processo de formação da partícula ocorreu de forma satisfatória, confirmando a encapsulação do extrato pela gelatina.

No espectro de tragacanto (Figura 7B e C) foram observadas bandas em 3320 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$), $2936 - 2873\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{C-H}$), 1735 cm^{-1} e 1615 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$), correspondentes a carboxila e carbonila, respectivamente; em 1367 cm^{-1} ($\delta_{\text{a}}\text{O-H}$; $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$) correspondente ao éter cíclico; em 1231 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-O}$) relativo ao éter alifático; e por fim, a banda em 1020 cm^{-1} ($\nu\text{C-O}$) da cadeia (GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2016).

No espectro da partícula com tragacanto/extrato de folha de oliveira (Figura 7B) foi observado um deslocamento de $\Delta\nu = 8\text{ cm}^{-1}$ na banda da carboxila, $\Delta\nu = 8\text{ cm}^{-1}$ na banda da carboxila e de $\Delta\nu = 16\text{ cm}^{-1}$ na banda do éter alifático. O desaparecimento de outras bandas, tanto do extrato como do material de parede, também foi observado. Sugere-se então que a goma tragacanto foi eficaz na encapsulação do extrato de folha de oliveira.

No espectro de gelatina/tragacanto (Figura 7C) o deslocamento de algumas bandas da tragacanto, como em $\Delta\nu = 16\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{C=O}$) da carbonila do grupamento carboxílico, $\Delta\nu = 32\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{C=O}$) da carbonila e, $\Delta\nu = 8\text{ cm}^{-1}$ ($\delta_{\text{a}}\text{O-H}$; $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$) do éter cíclico, em conjunto com o desaparecimento da banda em 1544 cm^{-1} ($\delta\text{N-H}$) referente amida II da gelatina, sugere uma forte interação de hidrogênio entre, o hidrogênio da amida II da gelatina com a carbonila presente no tragacanto.

No espectro de gelatina/tragacanto/extrato de folha de oliveira (Figura 7C), o desaparecimento de bandas características, tanto dos materiais de parede quanto do extrato de folha de oliveira, confirma o encapsulamento com gelatina/tragacanto.

3.3.5 Calorimetria Diferencial de Varredura

Na Figura 8 são demonstrados os termogramas de DSC do extrato da folha de oliveira, dos materiais de parede gelatina, tragacanto e gelatina/tragacanto, e de suas respectivas partículas contendo o extrato.

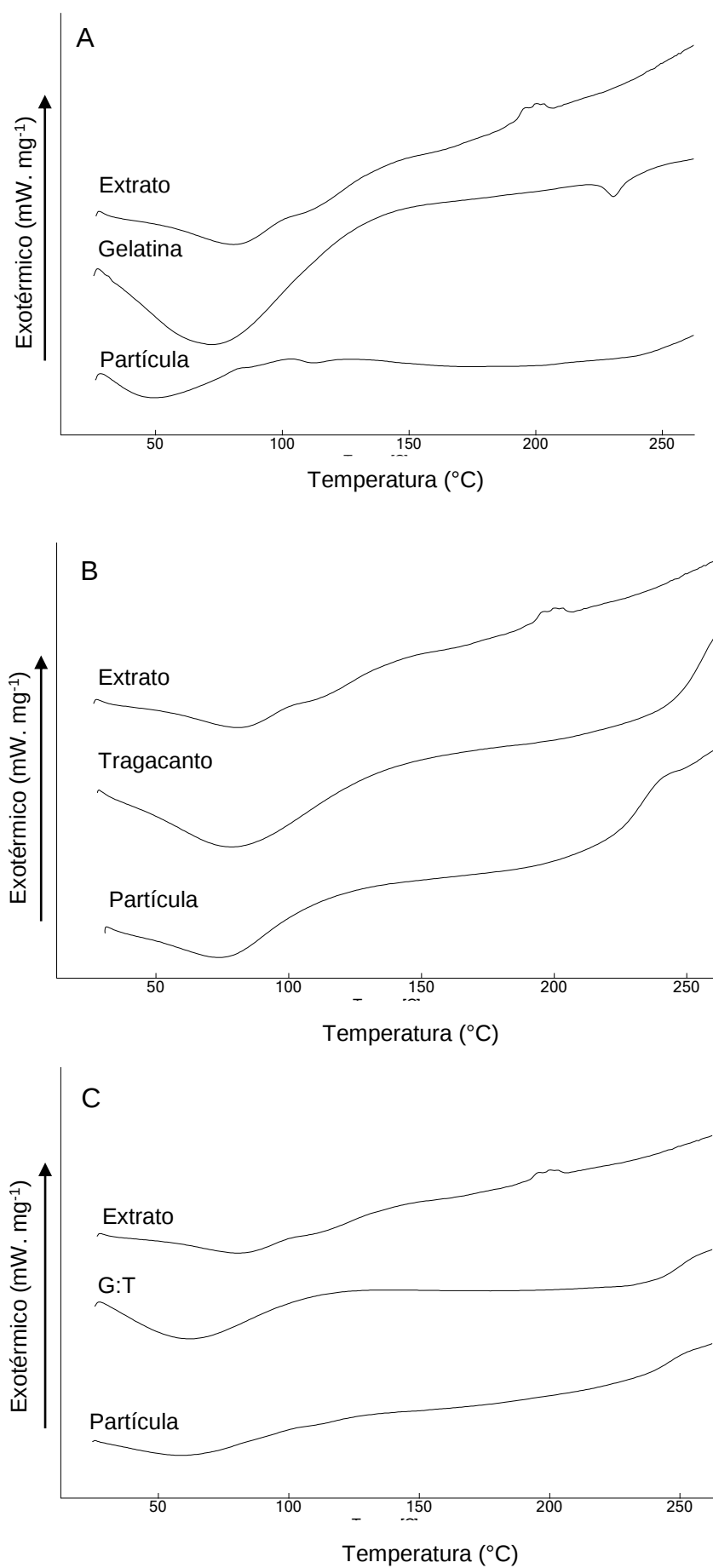


Figura 8 – Termograma da análise DSC. A- Gelatina, B- Tragacanto C- Gelatina/Tragacanto.

O termograma do extrato de folha de oliveira demonstrou um evento endotérmico a 80,7 °C, referente a fusão dos compostos (BAHLOU, 2017; BALDINO, 2018); e um evento exotérmico a 200,32 °C, relacionado à oxidação ou hidrólise da oleuropeína (MOURTZINOS et al., 2007).

A gelatina apresentou dois eventos endotérmicos, em 72,42 °C e 230,62 °C. Eventos relativos à desidratação da gelatina em 85 °C, e a fusão da fração cristalina em temperaturas superiores a 200 °C, foram observados por Yang et al. (2015).

Na goma tragacanto, o evento endotérmico ocorreu em 78,49 °C, correspondente a desidratação do polímero, sendo observado este evento em 89 °C por Zarekhalili et al. (2017).

Para o material de parede gelatina/tragacanto observou-se um evento endotérmico a 62,15 °C, possivelmente referente a desidratação dos dois polímeros.

Em relação as partículas contendo o extrato de folha de oliveira, a partícula com gelatina apresentou dois eventos endotérmicos, em temperaturas de 49,40 °C e 112,82 °C; na partícula com goma tragacanto o evento endotérmico ocorreu em 73,40 °C; e na partícula coacervada com gelatina:tragacanto, um evento endotérmico foi observado em 58,64 °C. Como pode ser observado, todas as partículas apresentaram deslocamento dos picos característicos dos seus materiais de parede, além da ausência dos picos endotérmico e exotérmico do extrato de folha de oliveira. O deslocamento dos perfis térmicos relativos aos materiais de parede e o desaparecimento dos picos típicos do extrato, também sugerem a ocorrência da encapsulação. Interpretações semelhantes dos resultados foram descritos por Rutz et al. (2017).

3.3.6 Índice de peróxidos

Independente do tratamento, apesar de ter ocorrido oscilações dos valores, observou-se aumento significativo ($p \leq 0,05$) no índice de peróxidos dos hambúrgueres armazenados a -15 °C durante o período de 4 meses (Figura 9).

Entretanto, observaram-se distintos comportamentos em relação aos tratamentos (Apêndice A). No primeiro mês de avaliação, os hambúrgueres adicionados de extrato de folha de oliveira (T1) apresentaram significativamente os menores valores no índice de peróxidos ($p \leq 0,05$), ou seja, o extrato foi mais eficiente em relação aos antioxidantes vitamina C (T5) e eritorbato de sódio (T6), assim como

para as partículas que continham o extrato (T2, T3 e T4), que possivelmente, neste período, ainda não liberaram quantidade apropriada de extrato para impedir a peroxidação. Porém, ao longo do armazenamento, o extrato de folha de oliveira não manteve suas propriedades antioxidantes, possivelmente por ser degradado pela luz, oxigênio e umidade. Uma das aplicações da tecnologia de encapsulação é justamente a proteção do composto ativo da degradação pelas condições ambientais (GÓMEZ-ESTACA; GAVARA; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, 2015).

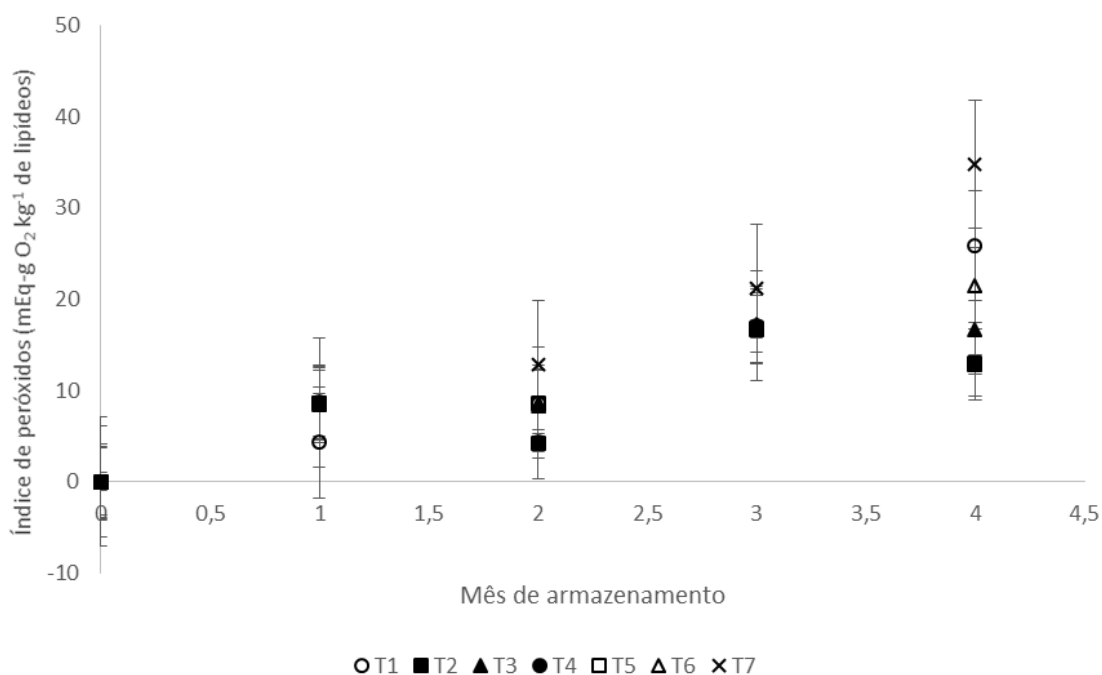


Figura 9 – Evolução do índice de peróxidos ($\text{mEq-g O}_2 \text{ kg}^{-1}$ de lipídeos) nos hambúrgueres durante quatro meses de armazenamento a $-15 \pm 1,0^\circ \text{C}$. T1: Hambúrguer adicionado de extrato de folha de oliveira, T2: Hambúrguer adicionado de partículas de gelatina/extrato de folha de oliveira, T3: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto/extrato de folha de oliveira, T4: Hambúrguer adicionado de partículas de gelatina/tragacanto/extrato de folha de oliveira, T5: Hambúrguer adicionado de vitamina C, T6: Hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio e T7: Tratamento controle (sem adição de antioxidante). As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. $n=3$.

Nos meses intermediários, distintos comportamentos foram observados, entretanto, ao término do armazenamento, os hambúrgueres adicionados de partículas com gelatina (T2) e com gelatina/tragacanto (T4) apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) os menores valores de índice de peróxido, em relação aos hambúrgueres controle (T7), dos adicionados de extrato de folha de oliveira (T1), dos adicionados de partículas com tragacanto (T3) e dos adicionados de eritorbato de sódio (T6); porém, sem distinção estatística em relação ao hambúrguer adicionado de vitamina C (T5) ($p \geq 0,05$).

Botsoglou et al. (2014) também observaram aumento no índice de peróxidos ao avaliar a conservação de rissoles de carne suína cozidos, suplementados com extrato de folha de oliveira por 9 dias a 4 °C.

A legislação vigente no Brasil, não estipula o índice de peróxidos para o hambúrguer (BRASIL, 2000). Segundo Ozogul e Uçar (2013), o valor máximo de peróxidos recomendado para consumo humano é de 20 mEq. -g O₂ kg⁻¹ de lipídeos. Sendo assim, nos hambúrgueres controle (T7), e naqueles adicionados de eritorbato de sódio (T6) e de extrato de folha de oliveira (T1), valores superiores de peróxidos foram observados, o que os tornaria impróprios para consumo.

3.3.7 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Pode-se observar na Figura 10, que os valores de TBARS dos hambúrgueres oscilaram durante o armazenamento, entretanto houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) ao se comparar o primeiro e último dia de armazenamento.

No primeiro mês de avaliação, um comportamento semelhante ao índice de peróxidos foi observado, visto que os hambúrgueres adicionados de extrato de folha de oliveira (T1) apresentaram significativamente os menores valores de TBARS ($p \leq 0,05$) (Apêndice B), ou seja, o extrato foi mais eficiente em relação aos antioxidantes vitamina C (T5) e eritorbato de sódio (T6), assim como em relação as partículas que continham o extrato (T2, T3 e T4).

Ao final do armazenamento o hambúrguer controle (T7) apresentou significativamente ($p \leq 0,05$) o maior valor de TBARS, por outro lado o hambúrguer adicionado de vitamina C (T5), apresentou significativamente os menores valores. Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários, sendo que não houve diferenças significativas ($p \geq 0,05$) nos valores dos hambúrgueres adicionados de extrato (T1), de partículas com gelatina (T2) e com gelatina/tragacanto (T4), sendo estes inferiores aos valores de TBARS dos hambúrgueres adicionados de partículas com tragacanto (T3).

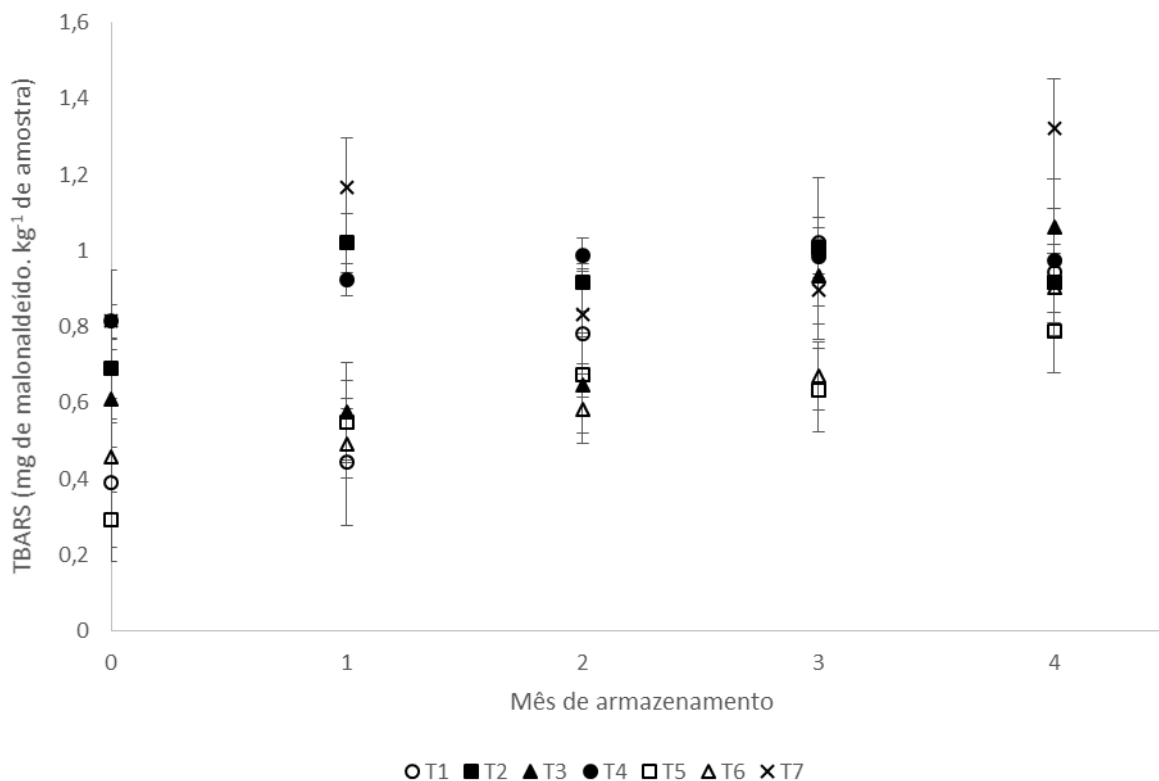


Figura 10 – Evolução de TBARS (mg de malonaldeído. kg⁻¹ de amostra) nos hambúrgueres durante os quatro meses de armazenamento a $-15 \pm 1,0$ °C. T1: Hambúrguer adicionado de extrato de folha de oliveira, T2: Hambúrguer adicionado de partículas de gelatina/extrato de folha de oliveira, T3: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto/extrato de folha de oliveira, T4: Hambúrguer adicionado de partículas de gelatina/tragacanto/extrato de folha de oliveira, T5: Hambúrguer adicionado de vitamina C, T6: Hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio e T7: Tratamento controle (sem adição de antioxidante). As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. $n=3$.

Ao avaliar os dados de ambos os parâmetros, índice de peróxido e TBARS, fica demonstrado o potencial que as partículas com gelatina (T2) e com gelatina/tragacanto (T4) apresentam em reduzir as reações oxidativas em hambúrgueres de carne ovina durante o período de armazenamento por quatro meses sob refrigeração.

A menor eficiência dos compostos fenólicos como antioxidantes quando em comparação com a vitamina C pode ser devido aos compostos fenólicos permitirem a inativação ou remoção de radicais livres formados durante a iniciação ou etapas de propagação da reação, doando átomos de hidrogênio para essas moléculas e consequentemente prevenindo a reação em cadeia que ocorre a oxidação lipídica dos alimentos (AKOH; MIN, 2008). Por outro lado, a aplicação da vitamina C em alimentos como antioxidante atua de diferentes maneiras, como a eliminação de oxigênio, alterando o potencial redox de sistemas alimentares, atuando sinergicamente com quelantes e regeneradores de antioxidantes primários, embora este antioxidante

também é facilmente degradado em condições ambientais (MADHAVI; SALUNKHE, 1995).

Diferentes autores também relataram a eficiência de extratos de oliveira ou oleuropeína, na redução dos valores de TBARS em carne bovina, suína e hambúrguer de peixe, em relação aos tratamentos controle (AL-RIMAWI; TARAWA; ELAMA, 2017; BOTSOGLOU et al., 2014).

Em relação a adição de partículas, Reis et al. (2017) observaram resultados semelhantes ao presente estudo, ao avaliarem a estabilidade oxidativa de hambúrgueres de carne bovina adicionados de micropartículas de extrato etanólico de própolis em Capsul[®], armazenado a -15 °C por 28 dias, com variação entre 0,44 a 0,95 mg de malonaldeído.kg⁻¹ de amostra.

3.3.8 Liberação de compostos fenólicos durante o armazenamento dos hambúrgueres

Na Figura 11 se observa que todas as partículas liberaram compostos fenólicos imediatamente após o preparo dos hambúrgueres, sendo que os valores oscilaram durante o armazenamento.

As partículas utilizando a gelatina liberaram aproximadamente 4,99% de compostos fenólicos após o processamento dos hambúrgueres, não havendo diferença significativa ($p \geq 0,05$) até o terceiro mês em que se obteve 13,91% de liberação. A partir do quarto mês de armazenamento ocorreu um aumento significativo ($p \leq 0,05$) para 39,87% de compostos fenólicos liberados.

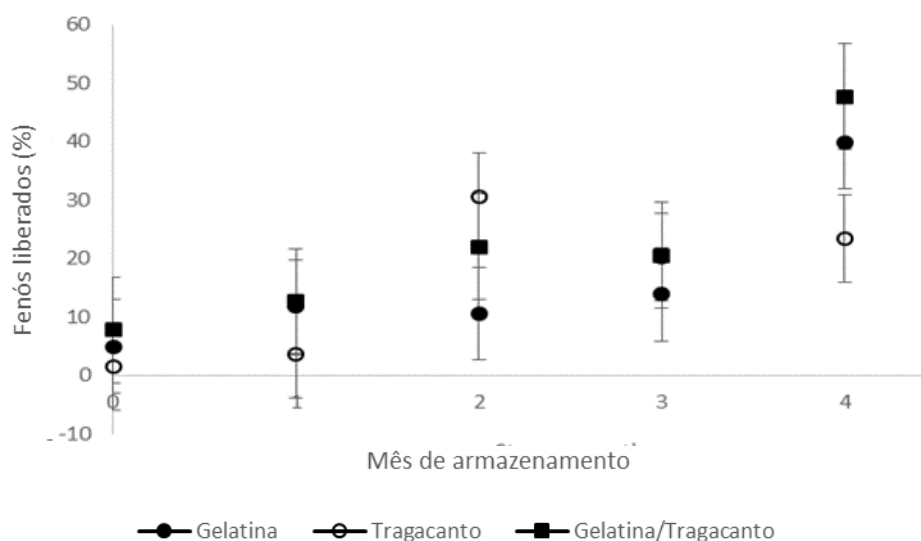


Figura 11 – Perfil de liberação de fenóis do extrato de folha de oliveira encapsulado e aplicado em hambúrgueres durante quatro meses de armazenamento a $-15 \pm 1,0$ °C. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. $n=3$.

Nos hambúrgueres adicionados de partículas com tragacanto, inicialmente cerca de 1,57% de compostos fenólicos foram liberados, mantendo um perfil de liberação constante até o primeiro mês. No segundo mês observou-se aumento significativo ($p \leq 0,05$) para 30,66%, chegando a máxima liberação, e manteve-se constante no restante do período de armazenamento.

As partículas com gelatina/tragacanto adicionados aos hambúrgueres liberaram 7,81% de compostos fenólicos no início do armazenamento. A liberação permaneceu controlada até o terceiro mês, em que se obteve 20,54% de liberação. No quarto mês observou-se aumento significativo ($p \leq 0,05$), sendo obtido o máximo de 47,73% de liberação dos compostos fenólicos.

Ao se comparar a liberação dos compostos fenólicos pelas partículas adicionadas aos hambúrgueres (Apêndice C) em cada tempo de armazenamento, pode-se observar que até o segundo mês de armazenamento, as partículas com gelatina e gelatina/tragacanto apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) os maiores valores de liberação em relação as partículas com tragacanto. Isso possivelmente tenha influenciado na redução da oxidação lipídica, como demonstrado nas análises de índice de peróxidos e TBARS.

São escassas as pesquisas que realizam a aplicação de micropartículas em sistemas alimentícios visando avaliar a liberação de compostos bioativos, sendo necessários mais estudos para a compreensão dos fenômenos observados.

De maneira geral, ao longo de todo o armazenamento, a adição de partículas de gelatina e gelatina/tragacanto com extrato de folha de oliveira nos hambúrgueres exerceu uma ação antioxidativa, e não foram mais eficientes contra a oxidação apenas do que a vitamina C. Assim, os extratos encapsulados poderiam substituir o eritorbato de sódio, um antioxidante artificial usualmente utilizado para prevenir reações oxidativas neste tipo de produto.

3.4 Conclusão

A coacervação entre a gelatina do tipo B e a goma tragacanto ocorreu em pH 4, na proporção de 1:1 (p/p), sendo a interação confirmada pela FTIR.

Ocorreu a encapsulação dos compostos fenólicos presentes no extrato da folha de oliveira nas matrizes com gelatina, com tragacanto e com gelatina/tragacanto. Entretanto, as matrizes com gelatina e com gelatina/tragacanto propiciaram a obtenção dos maiores valores de eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos presentes no extrato da folha de oliveira e de atividade antioxidante. Não havendo influência do método de encapsulação nos resultados. A encapsulação foi confirmada através das análises de DSC e FTIR, sendo que todas as partículas obtidas apresentaram formato irregular.

Na aplicação das partículas em hambúrguer de carne ovina ficou demonstrado que as partículas com gelatina e com gelatina/tragacanto apresentaram maior capacidade de reduzir as reações oxidativas, em relação as partículas com tragacanto, por propiciar os maiores percentuais de liberação dos compostos fenólicos nos dois primeiros meses de armazenamento. Além disto, em função da atividade antioxidativa observada no final do período de armazenamento, estas partículas poderiam substituir o aditivo artificial eritorbato de sódio.

Assim, os resultados deste estudo demonstram que as partículas com gelatina e com gelatina/tragacanto, ambas com extrato de folha de oliveira, têm potencial para aplicação em produtos cárneos ovinos visando a redução da oxidação lipídica, além disso são ingredientes que possibilitam a utilização de antioxidantes naturais em substituição aos artificiais na elaboração destes produtos.

4 Capítulo 2 – Aplicação de partículas de tragacanto com extrato de arará vermelho no controle da oxidação lipídica de hambúrguer de carne ovina

4.1 Introdução

A goma tragacanto é um polissacarídeo aniônico obtido dos caules e ramos de uma espécie asiática de *Astragalus*, que crescem em terras altas e desertos da Turquia, Irã, Iraque, Síria, Líbano, Afeganistão, Paquistão e Rússia (RODRIGUES et al., 2017; WEIPING, 2000). É utilizada na indústria de alimentos como estabilizante, emulsificante e espessante (CODEX ALIMENTARIUS, 2018), estando fixada como excipiente geralmente reconhecido como seguro (GRAS) nos Estados Unidos, desde 1961. Sua ingestão não traz efeitos toxicológicos, alergênicos, teratogênicos ou carcinogênicos (GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2015).

Ainda, a goma tragacanto apresenta boa estabilidade térmica, excelente solubilidade, comportamento pseudoplástico, longa durabilidade, sendo promissora em pesquisas de encapsulação de extratos vegetais e compostos bioativos (DEHCESHMEH; FATHI, 2019; GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2015; GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2016; JAIN et al., 2016; SINGH; SHARMA, 2014; VERMA; TARAFDAR; BADGUJAR, 2021). Dependendo do método de encapsulação e de fatores como concentração de material de parede e interação com o composto ativo, as partículas podem apresentar diferenças na eficiência de encapsulação, características morfológicas e de liberação *in vitro*, propriedades antioxidantes, dentre outras (BELSCAK-CVITANOVIĆ et al., 2015; RÉ, 1998; ŞAHIN-NADEEM et al., 2013; SUAVE et al., 2006).

Um método utilizado para a encapsulação de extratos vegetais, favorável a estabilidade do composto ativo, consiste na liofilização. Essa técnica utiliza baixas temperaturas e quantidades restritas de oxigênio, fornecendo uma proteção adicional aos extratos sensíveis ao calor e a oxidação (BORCHANI et al., 2011; DESAI, PARK, 2005; POLAK, PITOMBO, 2011).

Não há na literatura trabalhos que investiguem a produção de partículas de tragacanto utilizando somente a liofilização, geralmente este material é combinado a outro ou são utilizadas distintas técnicas de encapsulação (DEHCESHMEH, FATHI, 2019; GORJI; GORJI; MOHAMMADIFAR, 2014; GUAYEMPOUR, MONTAZER; RAD, 2015, 2016; JAIN et al., 2016; SHEORAIN et al., 2019). Também são necessários

estudos da aplicação das partículas em alimentos, para o conhecimento do comportamento destas durante o processamento na matriz alimentar, uma vez que, com a encapsulação de extratos vegetais ativos, espera-se a liberação controlada dos compostos encapsulados (GOUIN, 2004).

Um extrato vegetal que pode ser encapsulado e aplicado em alimentos é o extrato de araçá vermelho (*Psidium Cattleianum* Sabine, Myrtaceae), pois este fruto tem alto conteúdo de compostos fenólicos, os quais são reconhecidos pela ação antioxidante, sendo os mais abundantes a epicatequina (69,2%) e o ácido gálico (29,5%), e em menores proporções o ácido cumárico, o ácido ferúlico, a miricetina e a quercetina (HAAS, 2011; MEDINA et al., 2011). Entretanto, são escassos os estudos da aplicação de extrato de araçá em produtos cárneos, sendo encontrado apenas a aplicação dos compostos majoritários, individualmente, neste tipo de produto. Fang et al. (2018) ao utilizarem um revestimento comestível de ácido gálico/quitosana, observaram menor oxidação de lipídios e de mioglobina no lombo de porco fresco armazenado a 4 °C, em embalado sob atmosfera modificada. Li e Ji (2019) observaram efeitos protetores do polifenol epicatequina frente a oxidação de proteínas da carne suína, o que promoveu a redução da produção de aminas secundárias indesejadas.

A carne ovina é susceptível as reações oxidativas, pois é composta de aproximadamente 45% de ácidos graxos monoinsaturados e 10% de ácidos graxos poli-insaturados do total de ácidos graxos presentes (CUNHA, 2018). A peroxidação lipídica é responsável por *off-flavors* e *off-odors* em carne e produtos cárneos, e são os causadores da rejeição pelos consumidores (BERTOLINI et al., 2010; WEEB; O'NIELL, 2008).

Portanto, o objetivo deste estudo foi encapsular extrato de araçá vermelho em diferentes concentrações de goma tragacanto, por liofilização, e avaliar a eficiência de encapsulação, a atividade antioxidante, a morfologia, o comportamento térmico e o efeito das partículas na redução da oxidação lipídica de hambúrguer de carne ovina.

4.2 Materiais e métodos

4.2.1 Materiais

Neste trabalho foi utilizado araçá vermelho oriundo da Embrapa Clima

Temperado – Pelotas, RS, Brasil. Os frutos foram colhidos manualmente e posteriormente foram lavados e acondicionados em embalagens pretas de polietileno de baixa densidade e congeladas em *freezer* com temperatura entre -25 a -18 °C.

A encapsulação foi realizada com goma tragacanto (Squires Kitchen, Liss, UK).

A carne ovina foi proveniente de comércio local de Pelotas (RS/BRA), em torno de 6 kg de contrafilé (lombo), congelados e acondicionados em embalagens transparentes de polietileno de baixa densidade.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada com radical 2,2-difenil-1- picril-hidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich, São Paulo, BRA). Foram utilizados os antioxidantes vitamina C (Neon Comercial, Suzano, SP, Brasil) e eritorbato de sódio (Adicel, Belo Horizonte, Brasil). O restante dos reagentes utilizados foram de grau P.A.

4.2.2 Obtenção do extrato de araçá

Para a obtenção do extrato de araçá as amostras foram maceradas em Gral com pistilo. Para cada 250 g de amostra foi adicionado o total de 1 L de álcool de cereais. A extração foi de forma sequencial, em que primeiramente foram adicionados 250 mL de solvente extrator, com posterior agitação por 1 h (Solab, SL - 180/A, Brasil). Após foi realizada uma filtração em papel filtro, sendo o sobrenadante reservado em um frasco âmbar, enquanto que ao *pellet* foi adicionado mais 250 mL do solvente, sendo novamente submetido a agitação por 1 h e filtrado. O sobrenadante foi misturado ao anterior. Repetiu-se a operação até completar o volume de 1 L de solvente extrator. Após a combinação de todas as extrações, o extrato foi concentrado em rotaevaporador (Heidolph, Laborata 4000, Alemanha), liofilizado (Terroni, Enterprise II, Brasil) e armazenado em ultrafreezer (-75 °C).

4.2.3 Determinação de compostos fenólicos

A determinação de compostos fenólicos foi adaptada da metodologia de Singleton et al. (1959). Para isso, 0,5 g de amostra (extrato liofilizado, partículas ou hambúrguer) foi homogeneizada em 20 mL de etanol, sendo 0,5 mL desta mistura adicionada em 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteau (0,2 mol.L⁻¹). A mistura foi agitada e mantida em repouso por 5 min para reação. Decorrido esse tempo, foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio (7,5%), agitado e mantido por 2 h no escuro

para posterior leitura de absorvância em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis, Espanha), a 725 nm. A quantificação foi realizada utilizando a curva de calibração realizada com o ácido gálico nas concentrações de 30 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($y=0,014x + 0,0169$, $R^2=0,999$). Os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico por g de amostra (mg EAG.g^{-1}).

4.2.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método adaptado de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Primeiramente, 0,5 g de amostra (extrato liofilizado ou partículas rompidas em Ultra-Turrax a 12000 rpm por 1 min) foram homogeneizadas em 20 mL de etanol, por 24 h em homogeneizador de soluções (Phoenix, AP 22, Brasil). Posteriormente, 0,1 mL dessa mistura foi adicionada de 3,9 mL do radical DPPH (solução de DPPH 0,06 mmol.L^{-1}). Após homogeneização, a mistura permaneceu em repouso por 100 min. Após esse tempo foi realizada a leitura em espectrofotômetro (JENWAY, 6705 UV/Vis, Espanha), a 515 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição.

4.2.5 Preparação das partículas

As partículas foram preparadas conforme Rodrigues et al. (2017), com algumas alterações. Para isso, foram avaliadas diferentes proporções de goma tragacanto:extrato de araçá (p/p), as quais foram: 1:1, 3:1, 5:1 (RODRIGUES et al., 2017; SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015). As dispersões aquosas de 100 mL, 300 mL e 500 mL de goma tragacanto (1%) foram preparadas a 40 °C sob agitação, ficando as mesmas em *overnight* a 5 °C para total solubilização (JAIN et al., 2016).

Em cada dispersão foi adicionado 1 g de extrato e as misturas foram homogeneizadas em Ultra-Turrax (IKA, T18 básica, Alemanha) (14000 rpm durante 3 min) (ALVIM; GROSSO, 2010; SIOW; ONG, 2013). Por fim, as amostras foram congeladas a -75 °C e liofilizadas (Terroni, Enterprise II, Brazil).

O desenho experimental usado na eficiência de encapsulação, atividade antioxidante, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e calorimetria diferencial de varredura foi inteiramente aleatório, em um esquema fatorial 5 x 1, com 5 tratamentos (1: extrato de araçá vermelho; 2: partícula de

tragacanto:extrato 1:1 (p/p); 3: partícula de tragacanto:extrato 3:1 (p/p); 4: partícula de tragacanto:extrato 5:1 (p/p); 5: partícula controle de tragacanto), e 1 período de avaliação.

Na análise morfológica, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 1, com 3 tratamentos (1: partícula de tragacanto:extrato 1:1 (p/p); 2: partícula de tragacanto:extrato 3:1 (p/p); 3: partícula de tragacanto:extrato 5:1 (p/p)), e 1 período de avaliação.

4.2.6 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi determinada em relação ao teor de compostos fenólicos (seção 4. 2. 3), conforme o método de Alishahi et al. (2011), com algumas modificações. Para tanto, foi determinado o teor de compostos fenólicos na superfície das partículas, assim como nas partículas após a ruptura.

Para a quantificação do teor de compostos fenólicos presentes na superfície das partículas, 20 mg de partículas foram dispersas em 10 mL de etanol, sendo realizada a homogeneização em vórtex por 1 min, seguido por centrifugação (Eppendorf 5430 R, Alemanha) a 4200 g por 15 min. Após, 1 mL do sobrenadante foi coletado para proceder a análise de compostos fenólicos, e os 9 mL restantes foram utilizados para a abertura das partículas, sendo submetidos a sonicação (Unique, 1400A, Brasil) por 10 min e homogeneização (IKA, T18 básica, Alemanha) a 12000 rpm por 1 min. Posteriormente, foram mantidos sob agitação por 24 h em homogeneizador de soluções (Phoenix, AP 22, Brasil) para que houvesse a ruptura e liberação dos compostos de interesse das partículas.

A eficiência de encapsulação (ET%) foi realizada em triplicata e os resultados calculados usando a Equação 2, em que C_t representa o total de compostos fenólicos presente nas partículas e C_s representa o teor de compostos fenólicos na superfície das partículas.

$$ET\% = \frac{C_{Total} - C_{Superfície}}{C_{Total}} \times 100 \quad (Eq.2)$$

4.2.7 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das partículas foi determinada através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (JEOL JSM-6060 LV, Japão). No microscópio, as amostras foram fixadas em um suporte metálico com auxílio de uma fita dupla-face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro. A visualização foi realizada em aumentos de 100 e 5000 vezes, com uma voltagem de excitação de 15 kV, conforme Rutz et al. (2016). As análises foram realizadas em duplicata.

4.2.8 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

As análises de infravermelho foram realizadas utilizando espectrômetro de infravermelho (IRAffinity-1, Shimadzu, Japan), acoplado com acessório de refletância total atenuada horizontal (ATR), empregando um cristal de seleneto de zinco. Todos os espectros foram obtidos na faixa de 400-4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 60 varreduras. Antes das medições das amostras, o espectro infravermelho denominado “branco” foi medido usando o cristal sem amostra. Os espectros das amostras foram obtidos da seguinte forma: primeiro a amostra foi espalhada na superfície do cristal ATR, depois o espectro foi obtido e, finalmente, para obter novos espectros, a célula foi limpa com hexano P.A. e acetona P.A. Para análise de grupo, foi utilizado o programa IRsolution1.60 (Shimadzu) (JANSEN-ALVES et al., 2019). As análises foram realizadas em duplicata.

4.2.9 Calorimetria Diferencial de Varredura

Para a análise foram utilizadas 5 mg das amostras acondicionadas em células herméticas de alumínio (Shimadzu), as quais foram seladas para posterior análise. A análise das amostras foram realizadas em equipamento DSC-60 (Shimadzu) sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, temperatura inicial de 30 $^{\circ}\text{C}$, taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ até alcançar temperatura final de 300 $^{\circ}\text{C}$ (ELBAZ et al., 2016). As análises foram realizadas em duplicata.

4.2.10 Aplicação e avaliação das partículas em matriz alimentícia

4.2.10.1 Preparação dos hambúrgueres

A carne ovina desossada e sem gordura foi moída em moedor de carne (MB Braesi, BMC 05, Brasil), com disco de 8 mm, por 2 vezes. Uma massa base de hambúrguer foi preparada conforme a Tabela 5, e os ingredientes foram homogeneizados manualmente por 3 min.

Tabela 5 – Formulação da massa base de hambúrguer ovino.

Ingredientes	% (p/p)
Matéria prima	
Carne ovina magra	90
Toucinho	10
Condimentos*	
Sal	2
Alho em pó	0,1
Pimenta do reino em pó	0,15
Cebola em pó	0,2
Sacarose	0,2
Água*	5

* Os percentuais de condimentos e água adicionados foram calculados sobre o total de matéria-prima, sendo essa quantidade acrescida em 100% de matéria-prima.

Após a preparação da massa base, foram adicionados os antioxidantes conforme Reis et al. (2017), com algumas modificações. A mistura de ingredientes foi dividida em sete lotes (de acordo com a aplicação de antioxidante): 1- extrato de araçá (0,91 g.56 g⁻¹); 2- partículas de tragacanto:extrato de araçá 1:1, p/p (1,89 g. 56 g⁻¹); 3- partículas de tragacanto:extrato de araçá 3:1, p/p (2,50 g.56 g⁻¹); 4- partículas de tragacanto:extrato de araçá 5:1, p/p (2,87 g.56 g⁻¹); 5- vitamina C (0,17 g.56 g⁻¹); 6- antioxidante comercial eritorbato de sódio (0,028 g.56 g⁻¹); e 7- controle (sem antioxidante).

A quantidade de extrato de araçá e das partículas (encapsulados) foram calculadas em relação ao teor de compostos fenólicos, de acordo com Fernandes et

al. (2016b) e a quantidade de eritorbato de sódio foi adicionada de acordo com Fernandes et al. (2018).

Após a mistura com os antioxidantes e posterior moldagem manual dos hambúrgueres (± 56 g) em placa de Petri, as amostras foram embaladas em filme de policloreto de vinila (PVC), e armazenadas a 4 °C durante 12 dias. Foram realizadas as determinações de TBARS, índice de peróxidos e liberação controlada *in vitro*, nos dias 0, 3, 6, 9 e 12.

Para a análise do índice de peróxidos e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente aleatório, em esquema fatorial 7 x 5, com 7 tratamentos (1: hambúrguer adicionado de extrato de araçá vermelho; 2: hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 1:1, p/p; 3: hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 3:1, p/p; 4: hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 5:1, p/p; 5: hambúrguer adicionado de vitamina C; 6: hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio; e 7: tratamento controle (sem adição de antioxidante), e 5 períodos de avaliação. No perfil de liberação de compostos fenólicos em hambúrguer, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 5, com 3 tratamentos (1: hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 1:1, p/p; 2: hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 3:1, p/p; 3: hambúrguer adicionados com partículas de tragacanto: extrato de araçá vermelho 5:1, p/p), e 5 períodos de avaliação.

4.2.10.2 Índice de peróxido

Esse índice foi determinado de acordo com o MAPA (1999), baseado em metodologia oficial AOAC (2000). Previamente à análise, a gordura da carne foi extraída com 25 mL de clorofórmio e 1,5 g de sulfato de sódio anidro, a partir 2,5 g de hambúrguer. Na determinação iodométrica do índice de peróxido, em 25 mL do extrato clorofórmico foram adicionados 37 mL de ácido acético e 1 mL de solução saturada de iodeto de potássio. A mistura foi deixada no escuro por 1 min, e após 30 mL de água foram acrescentados. Por fim, a mistura foi titulada com solução de tiosulfato de sódio 0,01 mol. L⁻¹, usando solução de amido a 1% como indicador.

Para a determinação da massa de gordura no extrato, 25 mL do extrato clorofórmico foram transferidos para cápsula previamente desengordurada e tarada. Sob exaustão, o solvente foi evaporado em banho-maria a 60 °C e após o resíduo foi seco em estufa a 105 °C por 30 min. A massa de gordura obtida foi utilizada para expressar os resultados em mEq. kg⁻¹ de lipídeos. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.10.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Para a determinação de compostos secundários da oxidação, foi utilizado o método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) descrito por Vyncke (1970), com modificações. Para isso, 2,5 g de amostra de hambúrgueres foram homogeneizados com 12,5 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5% (p/v), por 1 min em vórtex e após, filtrado em algodão. Em seguida, em 2 mL do filtrado foi adicionado de 0,5 mL da solução de TCA 7,5% e 2,5 mL da solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 mol.L⁻¹. A amostra foi colocada em banho-maria (Fisatom, 550, Brasil) a 100 °C por 40 min. Após as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e levadas a banho ultrassônico (Quimis, Q335D, Brasil) por 5 min, para eliminação dos gases. A absorbância das amostras foi medida a 538 nm em espectrofotômetro (JENWAY, 6705 UV/Vis, Espanha). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em mg de malonaldeído.kg⁻¹ de amostra, usando uma curva padrão estabelecida com 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP).

4.2.10.4 Liberação dos compostos fenólicos no hambúrguer

O perfil de liberação de compostos fenólicos encapsulados durante o armazenamento foi avaliado de acordo com a metodologia descrita por Rutz (2016), imediatamente após o processamento e nos dias 3, 6, 9 e 12 de armazenamento. Para isso, 5 g de hambúrguer foram adicionados de 10 mL de etanol, e a mistura foi centrifugada (Eppendorf 5430 R, Alemanha) a 4200 g por 15 min. Posteriormente, foi realizada a diluição e a quantificação dos compostos fenólicos liberados, conforme descrito anteriormente (Seção 4. 2. 3). Os resultados foram expressos como

porcentagem de compostos fenólicos liberados, sendo descontados os valores de compostos fenólicos das amostras controle. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.11 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e a comparação de médias entre os tratamentos foi realizada usando teste de Tukey com nível de significância de 5%, no programa Statistix 10. Para avaliação dos hambúrgueres em relação ao tempo de armazenamento, foi calculado o intervalo de confiança de 95%.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Eficiência de encapsulação e atividade antioxidante

Pode-se observar uma influência significativa da concentração de tragacanto na eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos do extrato de araçá vermelho (Tabela 6). As partículas produzidas com a maior concentração de tragacanto (5:1, p/p) apresentaram os maiores valores de eficiência de encapsulação ($p \leq 0,05$).

A maior eficiência pode ter ocorrido porque a goma tragacanto pode interagir com compostos fenólicos do extrato de araçá formando ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. As ligações de hidrogênio são formadas entre as hidroxilas dos polifenóis e os átomos de oxigênio das ligações glicosídicas do polissacarídeo (JAKOBEK, 2015).

Assim sugere-se que o aumento da concentração de tragacanto tenha propiciado a formação de novas ligações com o extrato de araçá vermelho, aumentando com isto, a eficiência de encapsulação. Comportamento semelhante foi observado por Belcak-Cvitanović et al. (2015) ao produzir partículas carregadas com extrato fenólico de *Camellia sinensis* L., utilizando diferentes concentrações de goma de acácia, goma guar, goma locusta e xantana. Os autores observaram que em concentrações mais baixas do material de parede houve menor eficiência de encapsulação dos polifenóis, enquanto que em concentrações mais altas ocorreu aumento da eficiência. Por outro lado, Şahin-Nadeem et al. (2013) demonstraram que uma maior concentração de maltodextrina e de goma arábica, reduziram a eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos do extrato de sálvia.

O caráter polimérico, a interatividade dos polissacarídeos, a afinidade, o tamanho molecular, a mobilidade conformacional e a forma dos polifenóis, podem governar as interações entre os compostos fenólicos e o material de parede (AKHAVAN MAHDAVI et al., 2016, NAVARRO-FLORES et al., 2020).

Tabela 6 – Eficiência de encapsulação (%) e atividade antioxidante (%) de extrato de araçá vermelho e das partículas com extrato de araçá vermelho.

Amostra	Eficiência de encapsulação (%)	DPPH (% de inibição)
Extrato de araçá vermelho	-	92,38 ± 0,09 ^a
Partícula de tragacanto:extrato de araçá vermelho 1:1, p/p	25,69 ± 0,18 ^c	91,11 ± 0,03 ^a
Partícula de tragacanto:extrato de araçá vermelho 3:1, p/p	54,15 ± 3,25 ^b	42,54 ± 2,62 ^b
Partícula de tragacanto:extrato de araçá vermelho 5:1, p/p	67,10 ± 0,91 ^a	34,10 ± 0,11 ^c

Média de três repetições ± desvio padrão. Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). $n=3$.

Castro-López et al. (2021) encapsularam extrato fenólico de folha de moringa em goma tragacanto utilizando a técnica de *spray-dryer*, e obtiveram uma eficiência de encapsulação de 31,79%. Ghayempour et al. (2016), ao avaliarem a eficiência de encapsulação de partículas de extrato de Aloe Vera revestidas com goma tragacanto por microemulsão com base sonoquímica, obtiveram eficiência de encapsulação de 91%, superior aos valores obtidos no presente estudo, para todas as concentrações avaliadas.

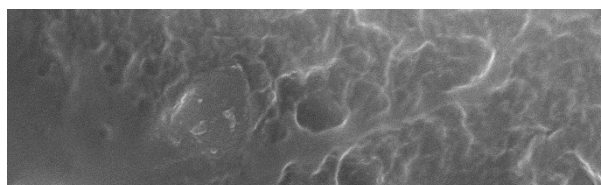
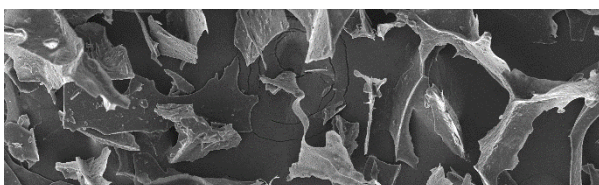
O aumento na concentração de tragacanto reduziu significativamente os valores de atividade antioxidante do extrato ($p \leq 0,05$). Na Tabela 6, pode-se observar que não houve diferença significativa nos valores de atividade antioxidante entre o extrato de araçá vermelho e a partícula com a menor concentração de tragacanto (1:1, p/p) ($p \geq 0,05$), sendo que estas amostras apresentaram significativamente os maiores percentuais de inibição dentre as amostras avaliadas.

A redução da atividade antioxidante com o aumento da eficiência de encapsulação sugere uma interação forte entre os compostos fenólicos do extrato de araçá vermelho e a goma tragacanto, afetando negativamente a interação destes compostos com o DPPH (RADÜNZ et al., 2021). Segundo Ravichandran et al. (2014), a menor atividade de eliminação do radical DPPH pode ser afetada pela exposição limitada de grupos ativos que estão ligados aos biopolímeros, dificultando sua capacidade de doação de íons hidrogênios para extinguir o radical. Nguyen et al.

(2021), ao encapsularem extrato de arbusto marrom (*Scaevola spinescens* R. Br.) enriquecido com compostos bioativos, também observaram que pelo aumento da concentração de material de parede ocorreu uma redução da atividade antioxidante.

4.3.2 Morfologia

Todas as partículas apresentaram morfologia semelhante, com formato irregular (Figura 12), independente da concentração de material de parede utilizada. Um formato irregular também foi observado por outros autores, ao produzirem partículas pelo método de liofilização (CHANDRASEKAR; COUPLAND; ANANTHESWARAN, 2017; RUTZ et al., 2016; SÁEZ-ORVIZ et al., 2019).



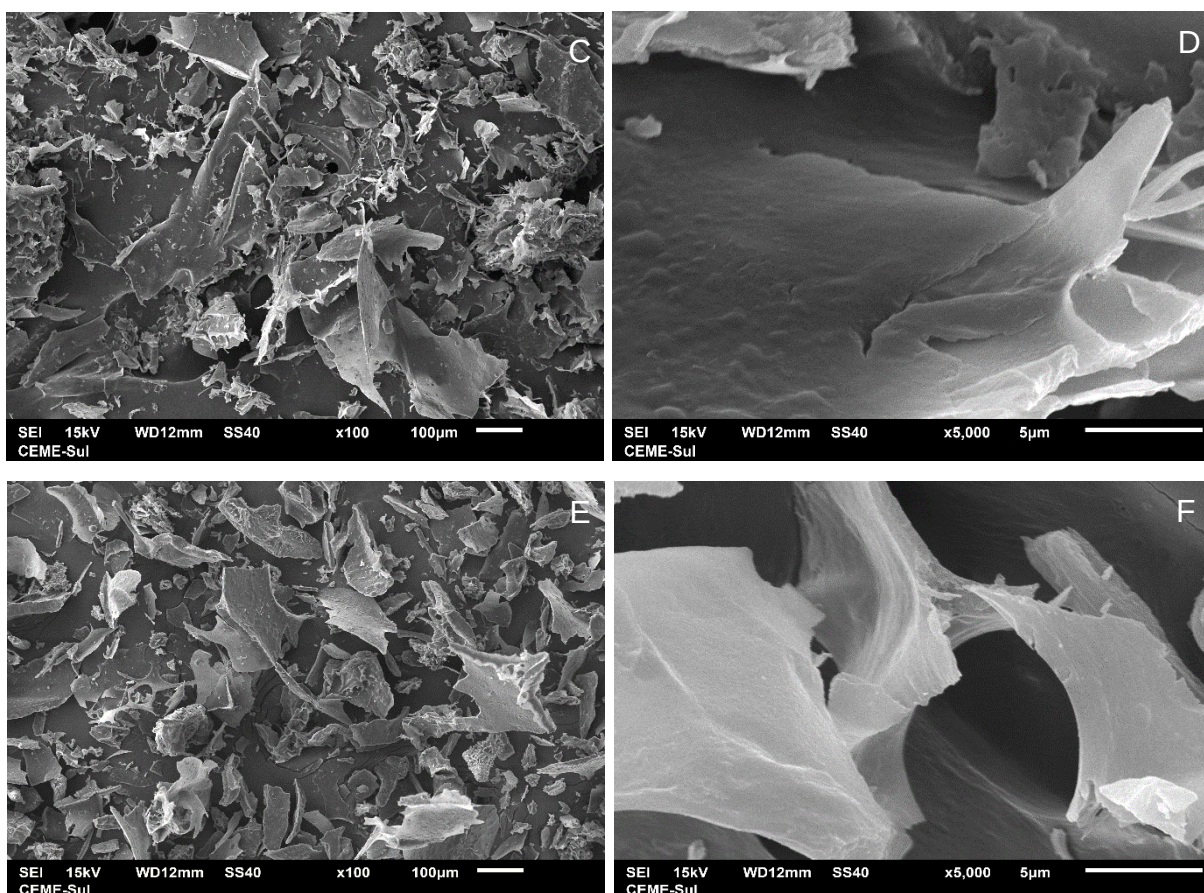


Figura 12 – Micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das partículas nas concentrações de tragacanto com extrato de araçá vermelho 1:1, p/p (A- 100x e B- 5000x), de 3:1, p/p (C- 100x e D- 5000) e de 5:1, p/p (E-100x e F- 5000x).

4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

A espectroscopia FTIR foi utilizada na investigação das interações entre o extrato de araçá vermelho e a goma tragacanto, em diferentes concentrações (Figura 13).

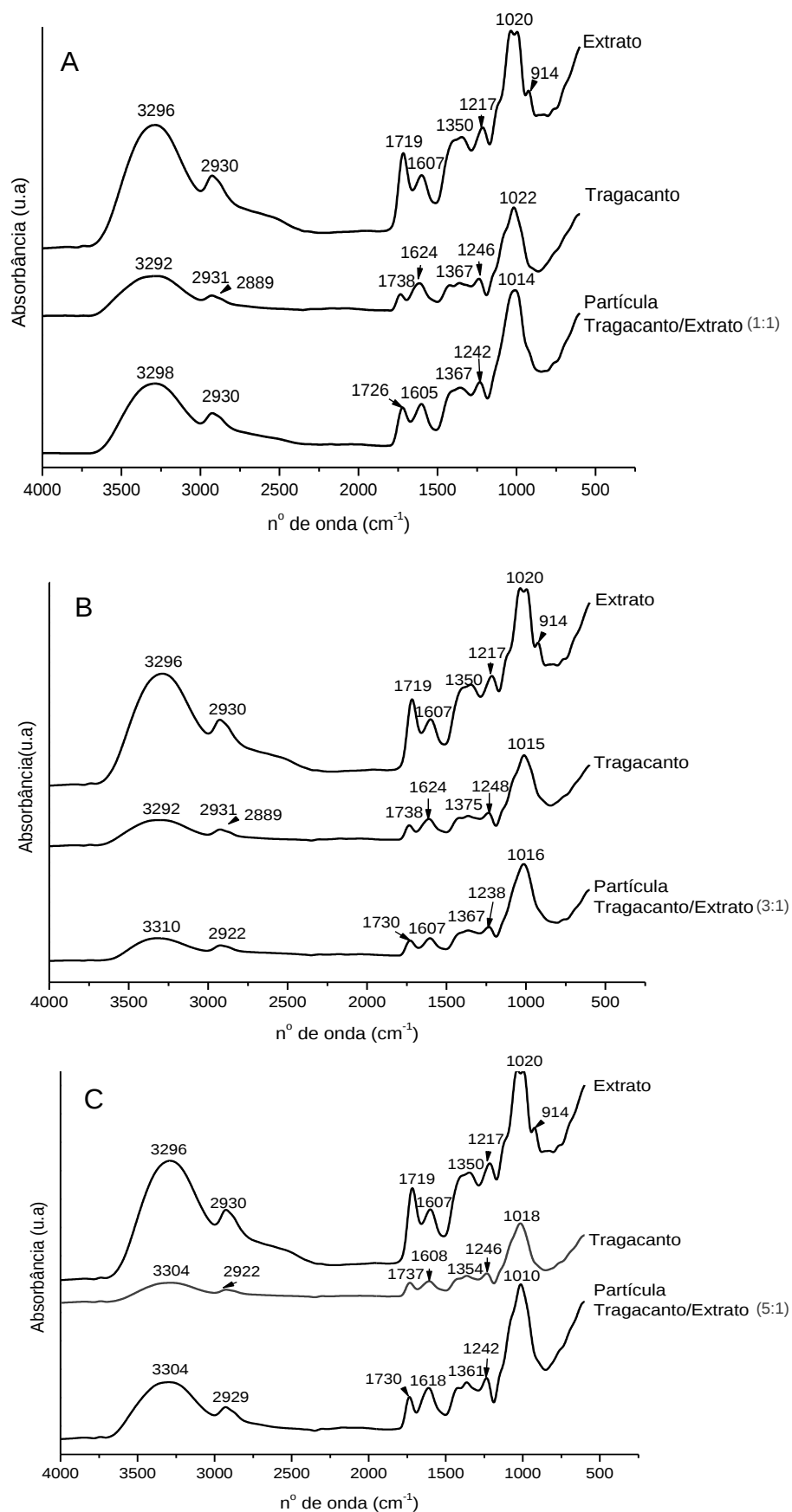


Figura 13 – Espectros de FTIR do extrato de araçá vermelho, da tragacanto e das partículas com o extrato de araçá vermelho. A- 1:1, B- 3:1 e C- 5:1 (tragacanto:extrato, p/p).

O espectro do extrato de araçá vermelho (Figura 13 A, B e C) demonstrou bandas em 3296 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$), que estão presentes em diferentes cadeias (celulose, ácidos orgânicos, etc.); em 2930 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{C-H}$), presente em qualquer cadeia carbônica; em 1719 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$), presente em ácidos carboxílicos; em 1607 cm^{-1} ($\nu\text{C=C}$), característico de anel aromático; em 1350 cm^{-1} ($\delta_{\text{a}}\text{O-H}$; $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$), característicos de ácido carboxílico e compostos fenólicos; em 1217 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-O}$), presentes em ésteres saturados; e por fim, foi observada banda em 1020 cm^{-1} ($\nu\text{C-O}$), característica da cadeia endocíclica e exocíclica dos carboidratos. Não foram encontrados estudos que analisaram extratos de araçá por espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), para possível comparação com os dados do presente estudo.

No espectro de tragacanto (Figura 13 A, B e C) foram observadas bandas em 3292 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}$), correspondente aos grupos hidroxila; em $2931 - 2889\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$; $\nu_{\text{a}}\text{C-H}$), característica das ligações $-\text{CH}$; em 1738 cm^{-1} e 1624 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$), correspondentes a carboxila e carbonila, respectivamente; em 1367 cm^{-1} ($\delta_{\text{a}}\text{O-H}$; $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$), correspondente ao éter cíclico; em 1246 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-O}$) relativo ao éter alifático; e por fim, a banda em 1022 cm^{-1} ($\nu\text{C-O}$), correspondente da cadeia (GHAYEMPOUR; MONTAZER; RAD, 2016; MORAIS; SIMÕES; CURTO, 2020).

Nos espectros das partículas com tragacanto/extrato de araçá (Figura 13 A, B e C) foram observadas algumas mudanças que sugerem o arranjo molecular entre o extrato de araçá vermelho e o material de parede, como os deslocamentos nas bandas da carboxila, e na banda do éter alifático, além do desaparecimento de outras bandas do extrato de araçá vermelho e do material de parede. Essas alterações no espectro FTIR são apontados por diversos autores para confirmação da ocorrência de encapsulação (CASTRO-LÓPEZ et al., 2021; EVANGELHO et al., 2019; JANSEN-ALVES et al., 2018; STEINER, 2015).

Portanto, a utilização da goma tragacanto demonstrou-se eficiente na encapsulação do extrato de araçá vermelho por liofilização, independente da concentração utilizada neste estudo.

4.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura

Os resultados de calorimetria exploratória diferencial das amostras são demonstrados na Figura 14. O extrato de araçá vermelho apresentou quatro eventos

endotérmicos, nas temperaturas de 110 °C, 155°C, 162°C e de 168°C, referentes a decomposição da amostra. A formação de vários picos endotérmicos pode estar associada a uma ampla variedade de metabólitos secundários, principalmente de compostos fenólicos presentes no extrato de araçá vermelho (FELIPE et al., 2013).

As partículas com 1:1 (p/p); 3:1 (p/p) e 5:1 (p/p) de tragacanto:extrato, apresentaram dois eventos térmicos, o primeiro endotérmico e o segundo exotérmico. A endoterma de fusão das amostras apresentaram temperaturas muito próximas, de 107 °C; 112 °C e de 117 °C para as partículas com 1:1; 3:1 e 5:1 (tragacanto:extrato, p/p), respectivamente. Zarekhalili et al. (2017) observaram, na goma tragacanto, um evento endotérmico em 89 °C, correspondente a desidratação do polímero, e Ranjbar-Mohammadi e Bahrami (2015) observaram o mesmo evento em 120 °C.

Os eventos exotérmicos nas partículas também foram em temperaturas próximas, 251°C; 253 °C e 252 °C, para as partículas com 1:1; 3:1 e 5:1 (tragacanto:extrato, p/p), respectivamente. Nur e Vasiljevic (2018) observaram um evento exotérmico na goma tragacanto em 256 °C, o qual está associado à temperatura de decomposição da amostra.

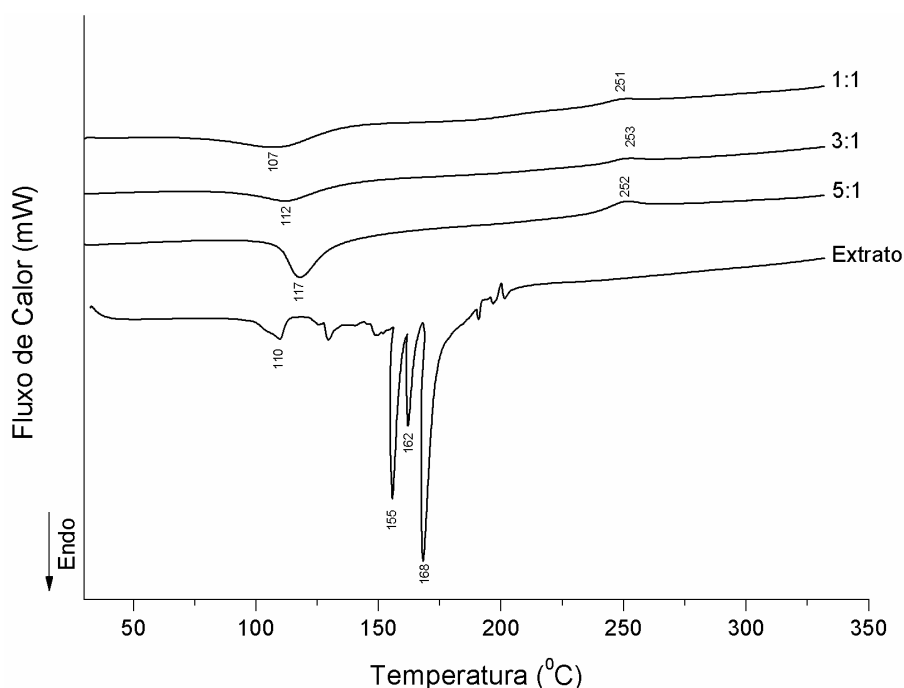


Figura 13 – Termograma da análise DSC; 1:1, 3:1 e 5:1 correspondem as partículas de tragacanto com o extrato de araçá vermelho (tragacanto:extrato, p/p).

Como pode ser observado (Figura 13), todas as partículas apresentaram ausência de picos do extrato de araçá vermelho, o que sugere a ocorrência da

encapsulação, pois indica que houve interação da matriz com o material encapsulado (NOGUEIRA; PRESTES; BURKERT, 2017; RUTZ et al., 2017).

4.3.5 Índice de peróxidos

Ao longo dos doze dias de armazenamento refrigerado a 4 °C, observou-se o aumento significativo ($p \leq 0,05$) no índice de peróxidos (Figura 14), com exceção do tratamento controle (T7), no qual ocorreu oscilações neste valor. Essas oscilações nos valores de peróxidos durante o armazenamento ocorrem devido a sua decomposição em compostos secundários (aldeídos, cetonas, hidroxiácidos, hidrocarbonetos, polímeros, dentre outros), sendo alguns destes responsáveis pelo gosto e odor característicos do ranço, o que é uma percepção indesejável aos consumidores (CUNHA et al., 2018).

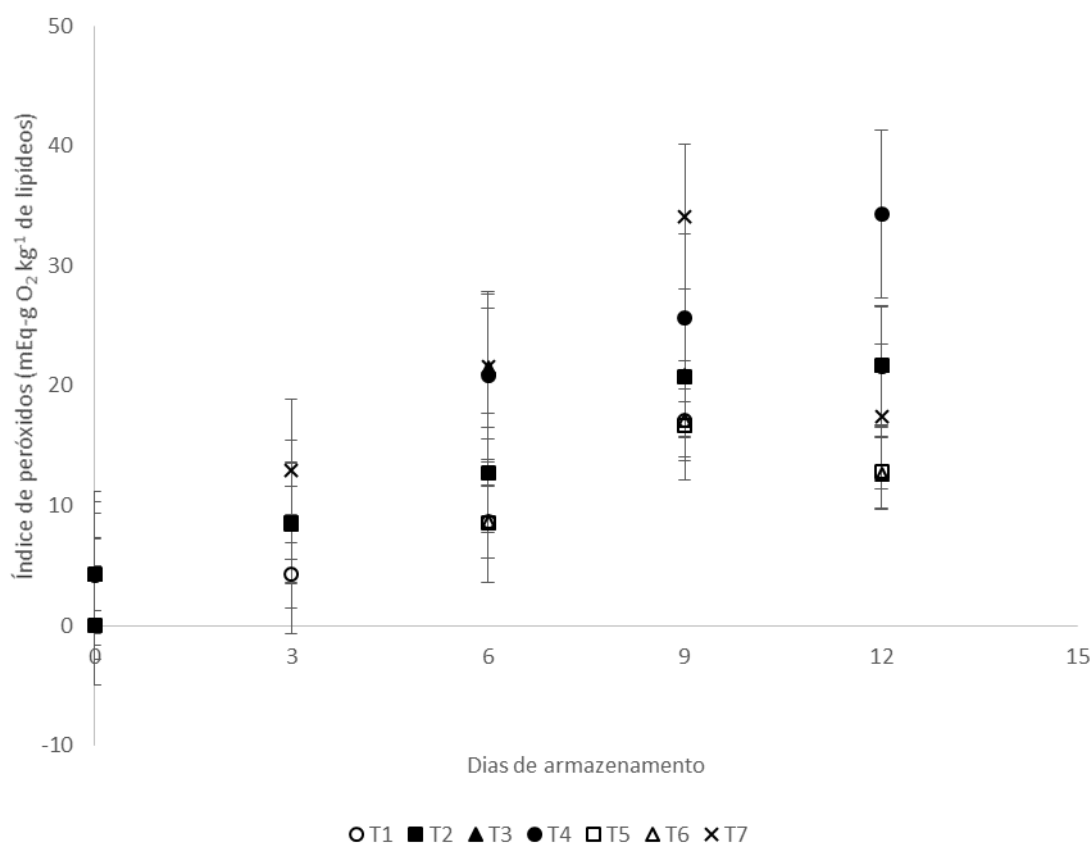


Figura 14 – Evolução dos valores do índice de peróxidos ($\text{mEq-g O}_2 \text{ kg}^{-1}$ de lipídeos) nos hambúrgueres durante o armazenamento a $4 \pm 1,0$ °C. T1: Hambúrguer adicionado de extrato de araçá vermelho; T2: Hambúrguer adicionado de partículas de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 1:1 (p/p); T3: Hambúrguer adicionado de partículas de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 3:1 (p/p); T4: Hambúrguer adicionado de partículas de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 5:1 (p/p); T5: Hambúrguer adicionado de vitamina C; T6: Hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio e; T7: Tratamento controle (sem adição de antioxidante). As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. $n=3$.

Quando comparados os valores de peróxidos em relação aos tratamentos (Apêndice D), observou-se que no terceiro dia de armazenamento refrigerado, que o hambúrguer adicionado de extrato de araquê vermelho (T1) apresentou significativamente o menor valor no índice de peróxidos ($p \leq 0,05$), sendo mais eficiente que o restante dos antioxidantes. No sexto e nono dia de armazenamento, o extrato de araquê vermelho (T1) e os antioxidantes comerciais, vitamina C e eritorbato de sódio (T5 e T6), foram mais eficientes na redução da oxidação lipídica dos hambúrgueres, em relação as partículas de tragacanto que continham o extrato nas proporções de tragacanto:extrato de araquê vermelho (p/p) de 1:1, 3:1 e 5:1 (T2, T3 e T4). No entanto, os hambúrgueres que continham partículas de tragacanto:extrato de araquê vermelho nas proporções (p/p) de 1:1, 3:1 e 5:1 (T2, T3 e T4), foram mais eficientes na retardação oxidativa do que no hambúrguer controle (T7). Ainda, neste período o hambúrguer com partículas de tragacanto:extrato de araquê vermelho 1:1 (p/p) apresentou-se apropriado para o consumo, pois não ultrapassou o valor de 20 mEq. - g O₂ kg⁻¹ de lipídeos, considerado o limite máximo de peróxidos recomendado para consumo humano (OZOGUL; UÇAR, 2013). O que não ocorreu nos hambúrgueres controle (T7), e naqueles adicionados de partículas com maior concentração de material de parede (tragacanto:extrato, p/p, de 3:1 e 5:1; T3 e T4), sendo assim impróprios para consumo a partir deste período.

Visualmente foi observado uma degradação dos hambúrgueres após o período de 9 dias de estocagem.

De maneira geral, ao longo do armazenamento o extrato de araquê vermelho e os antioxidantes comerciais eritorbato de sódio e vitamina C foram os que demonstraram maior eficácia na redução da oxidação lipídica até o final do período de armazenamento.

4.3.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Em todos os tratamentos foi observado (Figura 15) um aumento significativo nos valores de TBARS ($p \leq 0,05$) durante o período de armazenamento; portando, nenhum dos antioxidantes aplicados nos hambúrgueres impediu a decomposição de hidroperóxidos oriundos da oxidação lipídica durante o tempo de armazenamento. O mesmo foi relatado por Mancini et al. (2015), ao adicionarem o ácido ascórbico ou a cúrcuma em hambúrgueres de carne de coelho. Segundo os autores, mesmo os

antioxidantes comerciais não são capazes de impedir a peroxidação lipídica, apenas de reduzir a velocidade em que ocorrem estas reações.

Imediatamente após a produção dos hambúrgueres, as amostras com eritorbato de sódio (T6) e com vitamina C (T7), foram as que apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) os menores valores de TBARS (Apêndice E). O contrário ocorreu nos hambúrgueres adicionados de partículas com tragacanto:extrato de araçá vermelho 3:1, p/p (T3) e com os hambúrgueres sem a adição de antioxidante (T7), os quais apresentaram os maiores valores.

Do terceiro dia ao fim do armazenamento, os hambúrgueres com antioxidantes comerciais (vitamina C e eritorbato, T5 e T6) foram os que apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) os menores valores de TBARS. De maneira geral, além destes antioxidantes, o extrato de araçá vermelho (T1) foi o que apresentou melhores resultados no decorrer do armazenamento, sendo inferiores na maioria dos dias aos valores encontrados nos hambúrgueres adicionados de partículas de tragacanto/extrato de araçá vermelho 1:1 (p/p), 3:1 (p/p) e 5:1 (p/p) (T2, T3 e T4) e do hambúrguer sem a adição de antioxidante (T7). Ainda, até o sexto dia de armazenamento, todos os hambúrgueres adicionados de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho (T2, T3 e T4) apresentaram menores valores para TBARS, em relação aos hambúrgueres sem antioxidante (T7), apresentando neste período um efeito na redução de conversão de hidroperóxidos, e consequente formação de produtos secundários da oxidação lipídica.

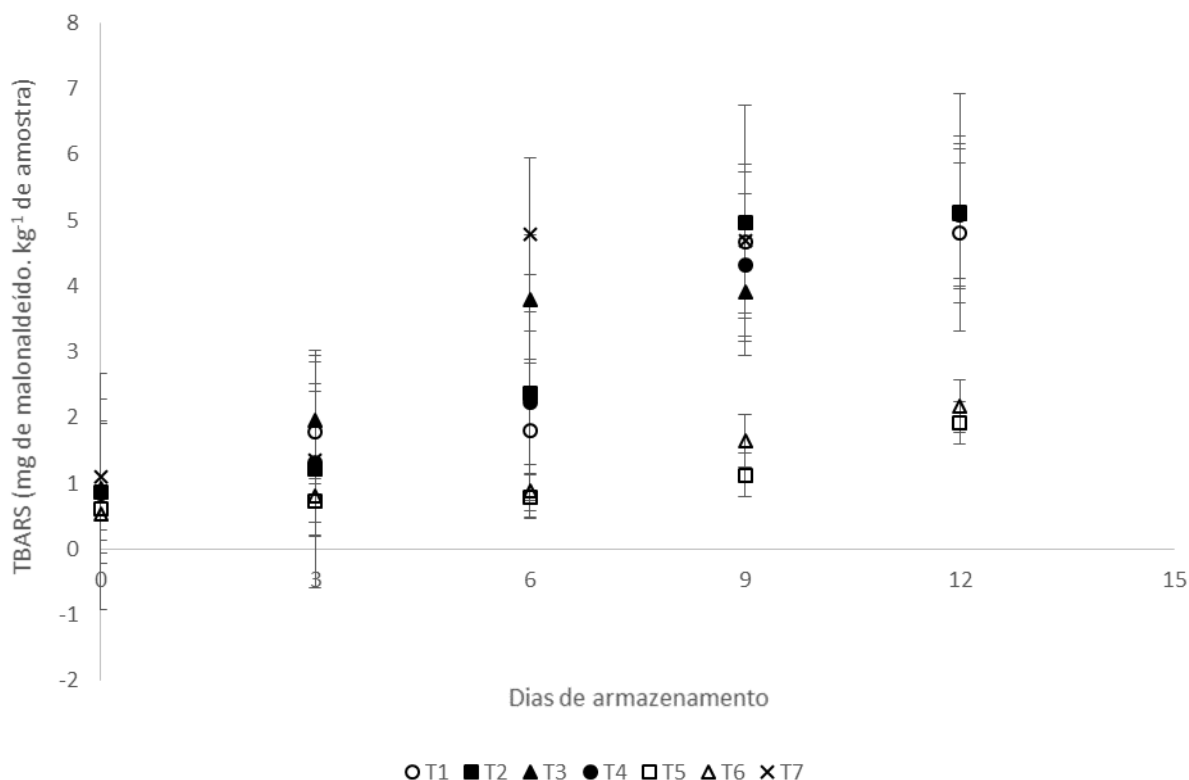


Figura 15 – Evolução de TBARS (mg de malonaldeído. kg⁻¹ de amostra) nos hambúrgueres durante o armazenamento a 4 ± 1,0 °C. T1: Hambúrguer adicionado de extrato de araçá vermelho; T2: Hambúrguer adicionado de partículas de partículas de tragacanto:extrato de araçá (1:1, p/p); T3: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá (3:1, p/p); T4: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá (5:1, p/p); T5: Hambúrguer adicionado de vitamina C; T6: Hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio e; T7: Tratamento controle (sem adição de antioxidante). As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. n=3.

Os resultados encontrados estão em acordo com os apontados por outros autores (FERNANDES et al., 2016; FOURATI et al. 2020), que aplicaram extratos vegetais em hambúrguer ovino e em carne bovina sob armazenamento refrigerado; porém estes autores obtiveram resultados positivos para valores de TBARS, em relação a antioxidantes comerciais, o que não foi observado no presente estudo.

O valor de TBARS é indicativo da formação de compostos secundários na oxidação lipídica, que juntamente com o valor de peróxidos fornece uma análise mais abrangente sobre os processos oxidativos que ocorrem na carne (BARRIUSO; ASTIASARÁN; ANSORENA, 2013).

Relacionando os resultados obtidos pelas análises do índice de peróxidos e de TBARS, observa-se que a adição do extrato de araçá vermelho e de partículas produzidas com tragacanto:extrato de araçá vermelho nas proporções de peso de 1:1, 3:1 e 5:1, não foram tão eficazes contra a oxidação lipídica como os antioxidantes

comerciais testados neste estudo; entretanto, seus resultados foram mais eficazes aos dos hambúrgueres sem a adição de antioxidantes (T7- amostra controle) até o sexto dia de estocagem, proporcionando uma leve redução da oxidação lipídica.

4.3.7 Liberação de compostos fenólicos durante o armazenamento dos hambúrgueres

A Figura 16 demonstra o perfil de liberação de compostos fenólicos dos extratos de arará vermelho ao longo do armazenamento a 4 °C por 12 dias. Pode-se observar que todas as partículas liberaram compostos fenólicos logo após o preparo dos hambúrgueres.

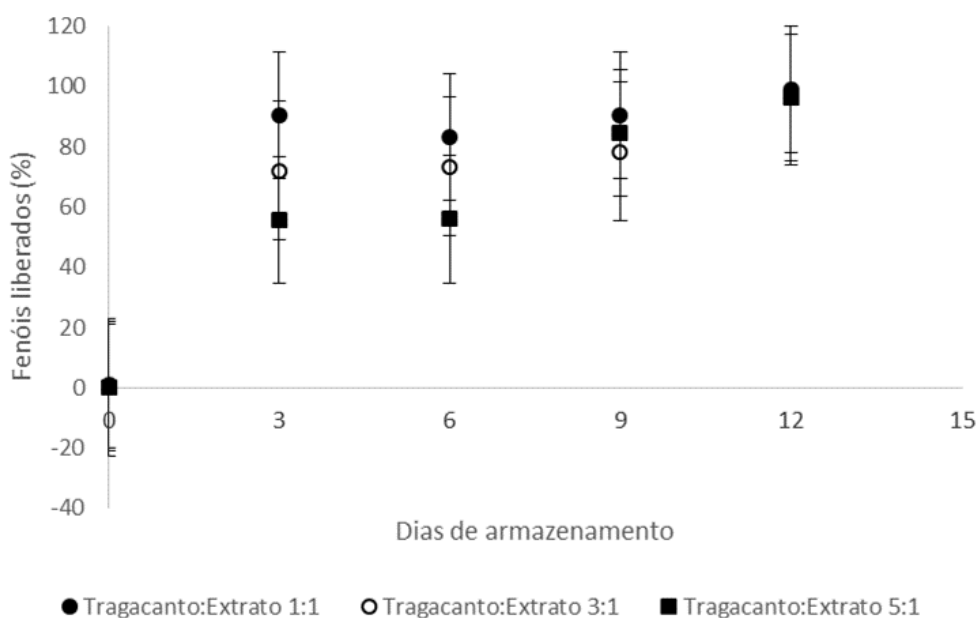


Figura 16 – Perfil de liberação de compostos fenólicos do extrato de arará vermelho encapsulado e aplicado em hambúrgueres durante 12 dias de armazenamento a $4 \pm 1,0$ °C. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. As proporções 1:1, 3:1, 5:1 são p/p. $n=3$.

Independente da concentração de tragacanto nas partículas, pode-se observar aumento significativo ($p \leq 0,05$) na liberação dos compostos fenólicos das partículas até o terceiro dia de armazenamento. Após esse período a liberação foi mais lenta até o fim do armazenamento, chegando a 98,99% para as partículas com a proporção de tragacanto:extrato de 1:1, p/p, a 97,11% para as partículas na proporção de tragacanto:extrato de 3:1, p/p, e de 96,36% para as partículas de tragacanto:extrato na proporção 5:1, p/p.

Ao comparar a liberação dos compostos fenólicos das partículas adicionadas aos hambúrgueres (Apêndice F) em cada tempo de armazenamento, pode-se observar que a concentração de goma tragacanto teve influência sobre a liberação de compostos fenólicos. Do terceiro até o nono dia de armazenamento, as partículas com menor concentração de tragacanto em relação ao extrato (1:1, p/p) apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) os maiores valores de liberação em relação as demais partículas. Porém, todas as partículas liberaram altos percentuais de compostos fenólicos já no terceiro dia de armazenamento, demonstrando uma baixa estabilidade na matriz alimentícia. Ao realizar a encapsulação espera-se que ocorra uma liberação controlada do extrato no alimento, o que provavelmente seria benéfico em termos de reduzir a velocidade das reações oxidativas nos hambúrgueres. Além de que o material de parede deve ser capaz de preservar o encapsulado contra o oxigênio, aumentando sua estabilidade e consequentemente podendo prolongar sua ação antioxidante (GHARSALLAOUI, ROUDAUT; CHAMBIN; VOILLEY; SAUREL, 2007; LIM et al., 2012). No entanto, isto não foi observado de uma maneira expressiva neste estudo, tendo em vista os resultados do índice de peróxido e TBARS durante o período de armazenamento, nos quais as partículas com extrato foram mais eficientes na redução de reações de oxidação lipídica apenas do que ocorreu na amostra controle (T7).

Por fim, em produtos cárneos ovinos é relevante o controle da oxidação considerando o alto conteúdo de ácidos graxos mono e poli-insaturados, e a presença de agentes pró-oxidantes, como a mioglobina (CUNHA et al., 2018), e alternativas de antioxidantes naturais, seja na forma de encapsulados ou não, devem ser mais exploradas.

4.4 Conclusão

A goma tragacanto foi capaz de encapsular o extrato de aração vermelho, produzindo partículas com formato irregular.

A eficiência de encapsulação e a atividade antioxidante foram influenciadas pela concentração de material de parede. O aumento da concentração de tragacanto nas partículas, aumentou a eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos do extrato, entretanto, reduziu os valores de atividade antioxidante.

Dentre os antioxidantes utilizados no estudo, os que demonstraram maior efetividade frente a oxidação lipídica foram o extrato de araçá vermelho, o eritorbato de sódio e a vitamina C, evidenciando que a encapsulação do extrato de araçá vermelho com goma tragacanto por liofilização não trouxe grandes benefícios para aplicação em hambúrguer de carne ovina.

Os extratos encapsulados apresentaram maior efetividade no incremento do índice de peróxidos e TBARS apenas quando comparados com a amostra de hambúrguer sem antioxidantes.

Com isto se observa perspectivas de utilização do extrato de araçá vermelho na carne ovina, explorando diferentes concentrações de extratos ou de extratos encapsulados com diferentes materiais de parede.

5 Considerações Finais

No presente estudo foram elaboradas partículas carregadas com extratos de folha de oliveira e araçá vermelho, utilizando gelatina e/ou tragacanto, por diferentes técnicas de encapsulação. Os resultados obtidos foram influenciados pelo tipo de extrato e pelos métodos de encapsulação.

No primeiro estudo, relativo ao capítulo I, as partículas carregadas com extrato de folha de oliveira nas matrizes de gelatina e gelatina/tragacanto produzidas por liofilização e coarervação complexa, respectivamente, demonstraram maior potencial para reduzir reações oxidativas em relação ao extrato não encapsulado, e partículas produzidas apenas com tragacanto e o antioxidante eritorbato de sódio. Apenas com a vitamina C os resultados obtidos foram superiores.

No segundo estudo, referente ao capítulo II, foram utilizadas diferentes concentrações de tragacanto para produção de partículas com extrato de araçá vermelho, por liofilização. Neste estudo, os hambúrgueres adicionados de extrato de araçá vermelho, vitamina C e eritorbato de sódio apresentaram menor peroxidação lipídica, em relação àqueles hambúrgueres que continham as partículas de tragacanto com o extrato de araçá vermelho. No entanto, as partículas de tragacanto com o extrato de araçá vermelho, nas proporções em peso de 1:1, 3:1 e 5:1, foram mais eficientes nos primeiros 6 dias de armazenamento no retardamento das reações oxidativas, quando comparadas ao controle. Entretanto, a ação dos antioxidantes é dependente de sua composição, das concentrações e da composição da matriz alimentícia, sendo importante o avanço nas pesquisas realizadas com extratos vegetais encapsulados, na busca de alternativas na elaboração de produtos cárneos ovinos, para substituição de antioxidantes sintéticos.

Referências

- ACH, D.; BRIANÇON, S.; DUGAS, V.; PELLETIER, J.; BROZE, G.; CHEVALIER, Y. Influence of main whey protein components on the mechanism of complex coacervation with Acacia gum. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.481, p.367-374, 2015.
- AEWSIRI, T.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; WIERENGA, P. A; GRUPPEN, H. Improvement of foaming properties of cuttlefish skin gelatin by modification with Nhydroxysuccinimide esters of fatty acid. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1277-1284, 2011.
- AGNIHOTRI, N.; MISHRA, R.; GODA, C.; ARORA, M. Microencapsulation - A novel approach in drug delivery: A Review. **Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2012.
- ALIAKBARLU, J.; SADAGHIANI, S. K. Effect of Avishane Shirazi (*Zataria Multiflora*) and Clove (*Syzygium Aromaticum*) essential oils on microbiological, chemical and sensory properties of ground sheep meat during refrigerated storage. **Journal of Food Quality**, v. 38, n. 4, p. 2040-247, 2015.
- ALISHAHI, A.; MIRVAGHEFI, A.; TEHRANI M. R.; FARAHMAND. H; SHOJAOSADATI, S. A.; DORKOOSH, F. A.; ELSABEE, M. Z. Shelf life and delivery enhancement os vitamin C using chitosan nanopartocles. **Food Chemistry**, v. 126, p. 935-940, 2011.
- AL-RIMAWI, F.; TARAWA, M. S.; ELÄMÄ, C. Olive leaf extract as natural antioxidant additive of fresh hamburger stored at 4°C. **American Journal of Food Science and Technology**, v. 5, n. 4, p. 162-166, 2017.
- ALVIM, I.D.; GROSSO, C.R.F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.4, p.1069-1076, 2010.
- ANCHEOL, L.; YOUNHO, H. Coacervate formation of α -lactalbumin-chitosan and β -lactoglobulin-chitosan complexe. **Food Research International**, v. 42, p. 733-738, 2009.
- ANDRADE, J. C. **Percepção do consumidor brasileiro em relação à carne ovina e produtos derivados**. 108 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.
- AOAC. Official Methods of the Association of Official Agricultural Chemist's International. 17th ed. Washington, DC, 2000.
- AOUIDI, F.; DUPUY, N.; ARTAUD, J.; ROUSSOS, S.; MSALLEM, M.; PERRAUD-GAIME, I.; HAMDY, M. Discrimination of five Tunisian cultivars by mid infrared spectroscopy combined with chemometric analyses of olive *Olea europaea* leaves. **Food Chemistry**, v. 131, p. 360-366, 2012.

AOUIDI, F.; DUPUY, N.; ARTAUD, J.; ROUSSOS, S.; MSALLEM, M.; PERRAUD-GAIME, I.; HAMDI, M. Rapid quantitative determination of oleuropein in olive leaves (*Olea europaea*) using mid-infrared spectroscopy combined with chemometric analyses. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 292-297, 2012.

ARAÚJO, V. F.; PEREIRA, E. S.; RIBEIRO, J. A.; RAPHAELLI, C. O.; CAMARGO, T. M.; VIZZOTTO, M. Frutas nativas vermelhas e amarelas: a diversidade e suas propriedades funcionais. **Revista Congrega - Urcamp**, v.1, p.1781-1791, 2017.

AZEREDO, H. M. C.; WALDRON, K.W. Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact - A Review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 52, p. 109-122, 2016.

BALDIN, J. C.; MICHELIN, E. C.; POLIZER, Y. J.; RODRIGUES, I.; GODOY, S. H. S.; FREGONESI, R. P.; PIRES, M. A.; CARVALHO, L. T.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; LIMA, C. G.; FERNANDES, A. M.; TRINDADE, M. A. Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. **Meat Science**, v. 118, p. 15-21, 2016.

BALDIN, J. C.; MUNEKATA, P. E. S.; MICHELIN, E. C.; POLIZER, Y. J.; SILVA, P. M.; CANAN, T. M.; PIRES, M. A.; GODOY, S. H. S.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; LIMA, C. G.; FERNANDES, A. M.; TRINDADE, M. A. Effect of microencapsulated Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract on quality and storage stability of mortadella sausage. **Food Research International**, v. 108, p. 551-557, 2018.

BALDINO, L.; PORTA, G. D.; OSSEO, L. S.; REVERCHON, E.; ADAMI, R. Concentrated oleuropein powder from olive leaves using alcoholic extraction and supercritical CO₂ assisted extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 65-69, 2018.

BALLESTEROS, L. F.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623-631, 2017.

BARÃO, C. E. **Inclusão molecular da oleuropeína e do butil hidroxianisol (BHA) em alfa e beta-ciclodextrina**. 123f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

BEKHIT, A. E. D.; GEESINK, G. H.; ILIAN, M. A.; MORTON, J. D.; BICKERSTAFFE, R. The effects of natural antioxidants on oxidative process and metmyoglobin reducing activity in sheep meat patties. **Food Chemistry**, v. 81, p. 175-187, 2003.

BELLÉS, M.; ALONSO, V.; RONCALÉS, P.; BELTRÁN, J. A. Effect of borage and green tea aqueous extracts on the quality of lamb legchops displayed under retail conditions. **Meat Science**, v. 129, p. 153-160, 2017.

BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J.; LORENTE, J.; ORTUNO, A.; DEL RIO, J. A. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. **Food Chemistry**, v. 68, p. 457-462, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2011.

BIEGELMEYER, R.; ANDRADE, J. M. M.; ABOY, A. L.; APEL, M. A.; DRESCH, R. R.; MARIN, R.; RASEIRA, M. do C. B.; HENRIQUES, A. T. Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Red (*Psidium cattleianum*) and Yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) Strawberry Guava Fruit. **Journal of Food Science**, v. 76, n.7, p. 991– 996, 2011.

BIGI, A.; BORGHI, M.; COJAZZI, G.; FICHERA, A. M.; PANZAVOLTA, S.; ROVERI, N. Structural and mechanical properties of crosslinked drawn gelatin films. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 61, n. 2, p. 451-459, 2000.

BOTSOGLOU, E.; GOVARIS, U.; AMBROSIADIS, I.; FLÉTOURIS, D.; PAPAGEORGIOU, G. Effect of olive leaf (*Olea europaea* L.) extracts on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties enriched with n-3 fatty acids. **Journal of the Science of the Food and Agriculture**, v. 94, n. 2, p. 227-234, 2014.

BRACK, P.; KINUPP, V. F.; SOBRAL, M. E. G. Levantamento preliminar de espécies frutíferas de árvores e arbustos nativos com uso atual ou potencial do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.1, fev. 2007.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRANNAN, R.G. Effects of grape seeds extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken, thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. **Journal of Food Science**, v. 73, p. C36-C40, 2008.

BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Caprinos e Ovinos**. Brasil, 2015. <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos>>. Acesso em 18 de mai. de 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006. Regulamento técnico de atribuição de aditivos, e seus limites das seguintes categorias de alimentos: categoria 8: carne e produtos cárneos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 4 de janeiro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos oficiais para análise de produtos cárneos e seus ingredientes, sal e salmoura**. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer**. Instrução Normativa nº 20, de 1 de julho de 2000.

BUREY, P.; BHANDARI, B. R.; HOWES, T.; GIDLEY, M. J. Hydrocolloid gel particles: Formation, characterization, and application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 5, p. 361-377, 2008.

CHANDRASEKAR, V.; COUPLAND, J. N.; ANANTHESWARAN, R. C. Caracterização de micropartículas de quitosana-alginato contendo nisina. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 301-307, 2017.

CHIBITO. **Produtos**. Disponível em: < <http://www.chibito.com.br/produtos/>>. Acesso em 01 de out. de 2020.

Codex Alimentarius. **Official Standards. General Standard for food additives**. CODEX STAN 192-1995. Adotado em 1995. Revisado em 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>> Acesso em: 01 mai. 2019.

COPPA, C. F. S. C.; ROSIM, R. E.; OLIVEIRA, C. A. F.; RODRIGUES, C. E. C.; GONÇALVES, C. B. Extração de oleuropeína a partir de folhas de oliveira utilizando solvente hidroalcoólico. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, e2016169, 2017.

COUTINHO, E. F. **A cultura da Oliveira**. 1 ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007.

CUNHA, L. C. M.; MONTEIRO, M. L. G; LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E.S.; MUCHENJE, V.; FRANCISCO DE CARVALHO, F. A. L.; CONTE-JUNIOR, C. A. Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. **Food Research International**, v. 111, p. 379-390, 2018.

DAVIDSON, P. M.; JUNEJA, V. K. **Antimicrobial agentes**. In: Brannen, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S. (Eds.). Food Additives. New York: Marcel Dekker, 1990.

DEHCHESHMEH, M. A.; FATHI, M. Production of core-shell nanofibers from zein and tragacanth for encapsulation of saffron extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 272-279, 2019.

DEVI, N.; SARMAH, M.; KHATUN, B.; MAJI, T. K. Encapsulation of active ingredients in polysaccharide–protein complex coacervates. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 239, p. 136-145, 2017.

DIMA, C.; COTÂRLET, M.; ALEXE, P.; DIMA, S. Microencapsulation of essential oil of pimento [Pimenta dioica (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.22, p.203-211, 2014.

DOM PEPER. **Linguiça cuiabana**. Disponível em: <<https://www.dompeter.ind.br/cuiabana-ovina>>. Acesso em 01 de out. de 2020.

DONG, Z.; MA, Y.; HAYAT, K.; JIA, C.; XIA, S.; ZHANG, X. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 455-460, 2011.

DONG, D.; HUA, Y. Emulsifying behaviors and interfacial properties of different protein/ gum arabic complexes: Effect of pH. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 289-295, 2018.

DUA, S.; BHAT, Z. F.; KUMAR, S. Effect of oleuropein on the oxidative stability and storage quality of Tabaq-Maz, fried mutton ribs. **Food Bioscience**, v. 12, n. 1, p. 84-92, 2015.

DUBIN, P. L.; MUHOBERAC, B. B.; XIA, J. (1998). Preparation of enzyme-polyelectrolyte coacervate complexes and their properties. US 5834271 A

EFMORFOPOULOU, E.; RODIS, P. Complexation of oleuropein and trans-cinnamic acid with cyclodextrins. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 40, n.4, p. 362-366, 2004.

ELBAZ, N. M.; KHALIL, I. A.; ABD-RABOU, A. A.; EL-SHERBINY, I. M. Chitosan-based nano-in-microparticle carriers for enhanced oral delivery and anticancer activity of propolis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 254-269, 2016.

EVANGELHO, J. A.; CRIZEL, R. L.; CHAVES, F. C.; PRIETTO, L.; PINTO, V. Z.; MIRANDA, M. Z.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. R. Thermal and irradiation resistance of folic acid encapsulated in zein ultrafine fibers or nanocapsules produced by electrospinning and electrospraying. **Food Research International**, v. 124, p. 137-146, 2019.

FANG, Z.; LIN, D.; WARNER, R. D.; HA, M. Effect of gallic acid/chitosan coating on fresh pork quality in modified atmosphere packaging. **Food Chemistry**, v. 260, p. 90-96, 2018.

FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J.; RODRÍGUEZ, G.; RODRÍGUEZ, R.; GUILLÉN, R.; JIMÉNEZ, A. Potential use of olive by-products, extraction of interesting organic compounds from olive oil waste. **Grasas y Aceites**, v. 57, p. 95-106, 2006.

FERNANDES, R. P. P. **Uso de extratos antioxidantes naturais obtidos de ervas aromáticas na elaboração de produtos a base de carne ovina**. 2015. 253f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

FERNANDES, R. P. P.; TRINDADE, M. A.; LORENZO, J. M.; MELO, M. P. Assessment of the stability of sheep sausages with the addition of diferente concentrations of *Origanum vulgare* extract during storage. **Meat Science**, v. 137, p. 244-257, 2018.

FERNANDES, R. P. P.; TRINDADE, M. A.; LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E. S.; MELO, M. P. Effects of oregano extract on oxidative, microbiological and sensory

stability of sheep burgers packed in modified atmosphere. **Food Control**, v. 63, p. 65-75, 2016.

FERNANDES, R. P. P.; TRINDADE, M. A.; TONIN, F. G.; LIMA, C. G.; PUGINE, S. M. P.; MUNEKATA, P. E. S.; LORENZO, J. M.; MELO, M. P. Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 451-460, 2016.

FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992.

FRANZON, R.C. **Espécies de arazás nativos merecem maior atenção da pesquisa**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. <<http://www.cpact.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/133/>>. Acesso em 01 de out. de 2020.

GHAYEMPOUR, S.; MONTAZER, M.; RAD, M. M. Encapsulation of Aloe Vera extract into natural Tragacanth Gum as anovel green wound healing product. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 344-349, 2016.

GHAYEMPOUR, S.; MONTAZER, M.; RAD, M. M. Tragacanth gum as a natural polymeric wall for producing antimicrobial nanocapsules loaded with plant extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 514-520, 2015.

GIBBS, B.F.et al. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal Food Science and Nutrition**, v.50, p.213-224, 1999.

GÓMEZ-ESTACA, J.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Encapsulation of curcumin in electrosprayed gelatin microspheres enhances its bioaccessibility and widens its uses in food applications. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 29, p. 302-307, 2015.

GOIS. C. G.; PESSOA R.M.S.; SILVA E.G.; MACEDO A., LAURENTINO A.B.; BATISTA M.V.S. Composição de ácidos graxos na carne ovina. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.12, n.3, 2016.

GORJI, S. G.; GORJI, E. G.; MOHAMMADIFAR, M. A. Characterisation of gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*)/sodium caseinate complex coacervation as a function of pH in an aqueous médium. **Food Hydrocolloids**, v. 34, p. 161-168, 2014.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing Technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 330-347, 2004.

GRAU, A.; GUARDIOLA, F.; BOATELLA, J.; BARROETA, A.; CODONY, R. Measurement of 2-thiobarbituric acid values in dark chicken meat through derivative spectrophotometry: influence of various parameters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1155-1159, 2000.

GUINDA, A. Use of solid residue from the olive industry. **Grasas Y Aceites**, v. 57, p. 107-115, 2006.

HASS, L. I. R. **Caracterização físico-química, fitoquímica, atividade antioxidante in vitro e in vivo, e efeitos antiproliferativos de extratos dos frutos do araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) e da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.)**. 2011. 107f. Tese (Doutorado em Ciências). Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

HAYES, J. E.; STEPANYAN, V.; ALLEN, P.; O'GRADY, M. N.; O'BRIEN, N.M.; KERR, J. P. The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. **Meat Science**, v. 83, p. 201-208, 2009.

HYGREEVA, D.; PANDEY, M. C.; RADHAKRISHNA, K. Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. **Meat Science**, v. 98, p. 47-57, 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal 2019**. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939> >. Acesso em: 16 de abr. de 2020.

INDRAWATI, R.; SUKOWIJOYOA, H.; INDRIATMOKO., I.; WIJAYANTI, R. D. E.; LIMANTARA, L. Encapsulation of brown seaweed pigment by freeze drying: Characterization and its stability during storage. **Procedia Chemistry**, v.14, p.353–360, 2015.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVRARE, U. S. Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 87, p. 101-113, 2016.

JANSEN-ALVES, C.; FERNANDES, K. F.; CRIZEL-CARDOZO; M. M.; KRUMREICH, F. D.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C. microencapsulation of propolis in protein matrix using spray drying for application in food systems. **Food Bioprocess Technology**, v. 11, p. 1422-1436, 2018.

JANSEN-ALVES, C.; MAIA, D. S. V.; KRUMREICH, F. D.; CRIZEL-CARDOSO, C. M.; FIORAVANTE, J. B.; SILVA, W. P.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C. Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 703-711, 2019.

JRIDI, M.; HAJJ, S.; AYED, H. B.; LASSOUED, I.; MBAREK, A.; KAMMOUN, M.; NASRI, M. Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 373-379, 2014.

JUN-XIA, X.; HAI-YAN, Y.; JIAN, Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. **Food Chemistry**, v.125, p. 1267-1272, 2011.

JUNYAPRASERT, V. B.; MITREVEJ, A.; SINCHAIPANID, N.; BOONME, P.; WURSTER, D. E. Effect of process variables on the microencapsulation of vitamin A palmitate by gelatin-acacia coacervation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, p. 561-566, 2001.

KARABAGIAS, I.; BADEKA, A.; KONTOMINAS, M.G. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. **Meat Science**, v. 88, p. 109-116, 2011.

KARAYANNAKIDIS, P. D.; ZOTOS, A. Fish processing by-products as a potential source of gelatin: a review. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 25, p. 65-92, 2016.

KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, v.4, p. 868-881, 2015.

KHEMAKHEM, I.; GARGOURI, O. D.; DHOUB, A.; AYAD, M. A.; BOUAZIZ, M. Oleuropein rich extract from olive leaves by combining microfiltration, ultrafiltration and nanofiltration. **Separation and Purification Technology**, v. 172, p. 310-317, 2017.

KIM, S. K.; MENDIS, E. Bioactive compounds from marine processing byproducts – A review. **Food Research International**, v. 39, p.383-393, 2006.

KIM, Y. H. B.; BODKER, S.; ROSENVOLD, K. Influence of lamb age and high-oxygen modified atmosphere packaging on protein polymerization of long-term aged lamb loins. **Food Chemistry**, v. 135, p. 122-126, 2012.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M. L.; MELLO, J. C. P. DE. Microparticles containing guaraná extract obtained by spray-drying technique: development and characterization. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 3, p. 1-9, 2015.

KOSHANI, R.; AMINIARI, M. Physicochemical and functional properties of ultrasonic-treated tragacanth hydrogels cross-linked to lysozyme. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 948-956, 2017.

LE TUTOUR, B.; GUEDON, D. Antioxidative activities of *Olea europaea* leaves and related phenolic compounds. **Phytochemistry**, v. 31, p.1173-1178, 1992.

LI, L.; JI, H. Protective effects of epicatechin on the oxidation and N-nitrosamine formation of oxidatively stressed myofibrillar protein. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 186-197, 2019.

LIMA, D. M.; RANGEL, A.; URBANO, S.; MITZI, G.; MORENO, G.M. Oxidação lipídica da carne ovina. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 1, p. 14-28, 2013.

LIU, Z. Y.; GE, X. J.; LU, Y.; DONG, S. Y.; ZHAO, Y. Y.; ZENG, M. Y. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 311-317, 2012.

LORENZO, J. M.; CITTADINI, A.; BERMÚDEZ, R.; MUNEKATA, P. E.; DOMINGUEZ, R. Influence of partial replacement of NaCl with KCl, CaCl₂ and MgCl₂ on proteolysis, lipolysis and sensory properties during the manufacture of dry-cured lacón. **Food Control**, v. 55, p. 90-96, 2015.

LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E. S.; SANT'ANA, A. S.; CARVALHO, R. B.; BARBA, F. J.; TOLDRÁ, F.; MORA, L.; TRINDADE, M. A. Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 77, p. 1-10, 2018.

LORENZO, J. M.; PATEIRO, M.; DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; PUTNIK, P.; KOVACEVIC, D. B. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: a review. **Food Research International**, v. 106, p. 1095-1104, 2018.

LUCHIARI F. A. **Pecuária da carne bovina**. 1 ed. São Paulo: LinBife, 2000.

MAHDAVEE KHAZAEI, K.; JAFARI, S. M.; GHORBANI, M.; HEMMATI KAKHKI, A. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, p. 57-62, 2014.

MARQUES, L. G.; SILVEIRA, A. M.; FREIRE, J. T. Freeze-drying characteristics of tropical fruits. **Drying Technology**, v.24, p.457-463, 2006.

MARTINS, S.; MUSSATTO, S. I.; MARTÍNEZ-AVILA, G.; MONTANEZ-SAENZ, J.; AGUILAR, C. N.; TEXEIRA, J. A. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 365-373, 2011.

MARTINS, E.; OMOYEME, I.; CHRISTIANA, I.; OFOEFULE, S.; OLOBAYO, K. Isolation, characterization and compaction properties of Afzelia africana gum exudates in hydrochlorothiazide tablet formulation. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 3, n. 5, p. 265-272, 2009.

MATURANO, A. M. P. **Estudo do efeito do peso de abate na qualidade da carne de cordeiros da raça Merino Australiano e Ile de France x Merino**. 93f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

MAYES, J. M. **Gum tragacanth and karaya**. A. Imeson (Ed.), Food stabilisers, thickeners and gelling agents, John Wiley & Sons, Singapore (2011) (First, p. 167-179).

MEDINA, L. A.; HAAS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBLIAZI, R. C.; SILVA, W. P.; NARA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011.

MELO, D. W. **Propriedades físico-químicas, funcionais e histoquímicas do araçá vermelho (*Psidium catteyanum* Sabine)**. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos

Alimentos) – Centro de ciências Arárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

MICOL, V.; CATURLA, N.; PÉREZ-FONS, L.; MÁS, V.; PÉREZ, L.; ESTEPA, A. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSH). **Antiviral Research**, v. 66, p. 129-136, 2005.

MONTEIRO, E. M. **Influência do cruzamento Ile de France x Corriedale (F1) nos parâmetros de qualidade da carne de cordeiro**.1998. 99f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo,1998.

MOURTZINOS, I.; SALTA, F.; YANNAKOPOULOU, K.; CHIOU, A.; KARATHANOS, V. T. Encapsulation of olive leaf extract in beta-cyclodextrin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 8088-8094, 2007.

MUNEKATA, P. E. S.; DOMINGUEZ, R.; FRANCO, D.; BERMÚDEZ, R.; TRINDADE, M. A.; LORENZO, J. M. Effect of natural antioxidants in Spanish salchichón elaborated with encapsulated n-3 long chain fatty acids in konjac glucomannan matrix. **Meat Science**, v. 124, p. 54-60, 2017.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1/2, p. 95-111, 2004.

NHARI, R. M. H. R.; ISMAIL, A.; YAAKOB, C. M.; NORFAIZAN, A. Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 2, p. 787-791, 2011.

NOGUEIRA, M. B.; PRESTES, C. F.; BURKERT, J. F. M. Microencapsulation by lyophilization of carotenoids produced by *Phaffia rhodozyma* with soy protein as the encapsulating agente. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, p. 1-4, 2017.

NORI, M. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ALENCAR, S. M; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; CASTILLO, C. J. C. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p.429-435, 2011.

NUR, M.; VASILJEVIC, T. Insulin Inclusion into a Tragacanth Hydrogel: An Oral Delivery System for Insulin. **Materials**, v. 11, n. 1, p. 79, 2018.

OZDAL, T.; CAPANOGLU, E.; ALTAY, F. A review on protein–phenolic interactions and associated changes. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 954-970, 2013.

OZOGUL, Y.; UÇAR, Y. The effects of natural extracts on the quality changes of frozen chub mackerel (*Scomber japonicus*) burgers. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 1550-1560, 2013.

PACETTA, C. F. **Estudo de diferentes metodologias para obtenção de extratos de folhas de oliveira (*Olea europaea*) contendo Oleuropeína**. 2013. 82f.

Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

PAIVA, G. B.; TRINDADE, M. A.; ROMERO, J. T.; Da SILVA-BARRETO, A. C. Antioxidant effect of acerola fruit powder, Rosemary and licorice extract in caiman meat nuggets containing mechanically separated caiman. **Meat Science**, v. 173, 108406, 2021.

PELEG, H.; BODINE, K. K.; NOBLE, A. C. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemistry Senses**, v. 23, n. 3, p. 371-379, 1998.

PEREIRA, E. S.; RIBEIRO, J. A.; RAPHAELLI, C. O.; CAMARGO, T. M.; ARAÚJO, V. F.; FRAZON, R.; VIZZOTTO, M. Compostos bioativos e potencial antioxidante de genótipos de araçá avaliados em dois ciclos produtivos. **Revista Congrega - Urcamp**, v.1, p.982-999, 2017.

PINHEIRO, R. S. B; JORGE, A. M; FRANCISCO, C. L; ANDRADE, E. N. Composição química e rendimento da carne ovina *in natura* e assada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p.154-157, 2008.

QUEIROZ, Y. U.; DAUD, K. O.; SOARES, R. A.M.; SAMPAIO; G. R.; CAPRILES, V. D.; TORRES, E. A. F. S. Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas de hambúrgueres com reduzidos teores de gordura e de colesterol. **Revista Nacional da Carne**, v. 338, p. 84-89, 2005.

QUISPE-CONDORI, S.; SALDAÑA, M. D. A.; TEMELLI, F. Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, p.1880–1887, 2011.

RADÜNZ, M.; CAMARGO, T. M.; HACKBART, H. C. S.; BLANK, J. P.; HOFFMANN, J. F.; STEFANELLO, F. M.; ZAVAREZE, E. R. Encapsulation of broccoli extract by electrospraying: Influence of in vitro simulated digestion on phenolic and glucosinolate contents, and on antioxidant and antihyperglycemic activities. **Food Chemistry**, v. 339, 128075, 2021.

RAHMANIAN, N; JAFARI, S. M.; WANI, T. A. Bioactive profile, dehydration, extraction and application of the bioactive components of olive leaves. **Trends in Food Science & Technology**, v. 42, n. 2, p. 150-172, 2015.

RANJBAR-MOHAMMADI, M.; BAHRAMI, S. H. Development of nanofibrous scaffolds containing gum tragacanth/poly (ϵ -caprolactone) for application as skin scaffolds. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 71-79, 2015.

RE, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, p.1195-1236, 1998.

REIS, A. S.; DIEDRICH, C.; MOURA, C.; PEREIRA, D.; ALMEIDA, J. F.; SILVA, L. D.; VICENTE, M. S.; TAVARES, R. A. W.; CARPES, S. T. Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on

storage stability of burger meat during storage at -15°C . **LWT – Food Science and Technology**, v. 76, p. 306-313, 2017.

RODRIGUES; L. M.; DOS SANTOS, S. S.; BERGAMASCO, R. C.; MADRONA, G. S. Jaboticaba by product encapsulation by lyophilization: pH and food application stability. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n. 1, e12639, 2017.

ROY, J. C.; GIRAUD, S., FERRI, A.; MOSSOTTI, R.; JINGPIN, G.; SALAÜN, F. Influence of process parameters on microcapsule formation from chitosan—Type B gelatin complex coacervates. **Carbohydrate polymers**, v. 198, p. 281-293, 2018.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; CRIZEL-CARDOSO, M. M.; KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food Chemistry**, v. 220, p. 59-66, 2017.

RUTZ, J. K.; ZAMBIAZI, R. C.; BORGES, C. D.; KRUMREICH, F. D.; DA LUZ, S. R.; HARTWIG, N.; DA ROSA, C. G. (2013). Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate Polymers**, v.98, p.1256-1265, 2013.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; ROSA, C. G.; SILVA, M. M. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v. 202, p. 324-333, 2016.

SÁEZ-ORVIZ, S; CAMILLERI, P.; MARCET, I.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. Microencapsulation of calcium lactobionate for protection from microorganisms in a solid phase food. **Biochemical Engineering Journal**, v. 150, n. 15, 107281, 2019.

ŞAHİN, S.; SAMLI, R.; BIRTEKSÖZ TAN, A. S.; BARBA, F. J.; CHEMAT, F.; CRAVOTTO, G.; LORENZO, J. M. Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from olive tree leaves: antioxidant and antimicrobial properties. **Molecules**, v. 22, p. 1056-1068, 2017.

SANCHEZ, V.; BAEZA, R.; ALMARINI, M. V.; ZAMORA, M. C. Freeze-Drying Encapsulation of Red Wine Polyphenols in an Amorphous Matrix of Maltodextrin. **Food and Bioproducts Processing**, v. 6, p. 1350-1354, 2013.

DOS SANTOS, L. A. A.; LORENZO, J. M.; GONÇALVES, C. A. A.; DOS SANTOS, B. A.; HECK, R. T.; CISHOSKI, A. J. Production of healthier bologna type sausages using pork skin and green banana flour as a fat replacers. **Meat Science**, v. 121, p. 73-78, 2016.

DOS SANTOS, L. A. A.; LORENZO, J. M.; GONÇALVES, C. A. A.; DOS SANTOS, B. A.; HECK, R. T.; CISHOSKI, A. J. Impact of lysine and liquid smoke as flavor enhancers on the quality of low-fat Bologna-type sausages with 50% replacement of NaCl by KCl. **Meat Science**, v. 123, p. 50-56, 2017.

SEBRAE. Serviço brasileiro de apoio às micro e pequenas empresas. 2005. **Informações de mercado sobre caprinos e ovinos**. Brasil. Disponível em: <http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/>

40B65B09464CA07D032571540041EC16/\$File/NT0003202E.pdf.>. Acesso: em 22 de mai. de 2019.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; THOMAS, F.; HARDY, J. Complex coacervation between β -lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 483-496, 1999.

SHEORAIN, j.; MEHRA, M.; THAKUR, R.; GREWAL, S.; KUMARI, S. In vitro anti-inflammatory and antioxidant potential of thymol loaded bipolymeric (tragacanth gum/chitosan) nanocarrier. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 1069-1074, 2019.

SHIM; S.M.; SUN, H.S.; LEE, Y.; MOON, G. I.; KIM, M. S.; PARK, J. H. Consumers' knowledge and safety perceptions of food additives: Evaluation on the effectiveness of transmitting information on preservatives. **Food Control**, v. 22, n. 7, p. 1054-1060, 2011.

SHINDE, A. U.; NAGARSENKER, M. S. Characterization of Gelatin-Sodium Alginate Complex Coacervation System. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 71, n. 3, p. 313-317, 2009.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, F. C. DA; FONSECA, C. R. da; ALENCAR, S. M. de; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. de C.; PITTIA, P.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, p. 28-36, 2013.

SILVA, D. F.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ROCHA, G. A.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of lycopene by gelatin-pectin complex coacervation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 36, p. 185-190, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.

SINGH, B.; SHARMA, V. Influence of polymer network parameters of tragacanth gum-based pH responsive hydrogels on drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 928-940, 2014.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SLOW, L.; ONG, C. Effect of pH on garlic oil encapsulation by complex coacervation. **Journal of Food Process Technology**, v. 4, n. 1, p. 199, 2013.

ŠOJIĆ, B.; TOMOVIĆ, V.; KOCIĆ-TANACKOV, S.; KOVACEVIĆ, D. B.; PUTNIK, P.; MRKOMJIĆ, Z. Supercritical extracts of wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) by-product as natural antioxidants in ground pork parties. **LWT – Food Science and Technology**, v. 130, 109661, 2020.

SPINELLI, S.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Microencapsulation of extracted bioactive compounds from brewer's spent grain to enrich fish-burgers. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 450-456, 2016.

STAROSZCZYK, H.; SZTUKA, K.; WOLSKA, J.; WOJTASZ-PAJAK, A.; KOŁODZIEJSKA, I. Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films: FT-IR study Spectrochimica. **Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 707-712, 2014.

STATISTIX 10. Data analysis software for researchers. Disponível em: <http://www.statistix.com/free-trial>. Acesso: em 19 de abr. de 2020.

STEINER, A. D. **Aditivos naturais encapsulados em sílicas híbridas**: aplicação em conservação de alimentos. 130f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

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

THERIOS, I. N. **Olives**. Wallingford, UK: CABI, 2009.

TIMILSENA, Y. P.; AKANBI, T. O.; KHALID, N.; ADHIKARI, B.; BARROW, C. J. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 1276-1286, 2019.

TISCHER, C.A.; IACOMINI, M.; GORIN, P.A. Structure of the arabinogalactan from gum tragacanth (*Astragalus gummifer*). **Carbohydrate Research**, v. 337, p. 1647-1655, 2002.

TOLDRÁ, F.; REIG, M. Innovations for healthier processed meats. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 517-522, 2011.

TRIFKOVIĆ, K. T., MILAŠINOVIĆ, N. Z., DJORDJEVIĆ, V. B., KRUŠIĆ, M. T., KNEŽEVIĆ-JUGOVIĆ, Z. D., NEDOVIĆ, V. A., BUGARSKI, B. M. Chitosan microbeads for encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) polyphenols. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 901–907, 2014.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664-668, 2004.

VERMA, A. K.; RAJKUMAR, V.; BANERJEE, R.; BISWAS, S.; DAS, A. K. Guava (*Psidium guajava* L.) powder as an antioxidant dietary fibre in sheep meat nuggets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 26, n. 6, p. 886, 2013.

VERMA, K.; TARAFDAR, A.; BADGUJAR, P. C. Microfluidics assisted tragacanth gum based sub-micron curcumin suspension and its characterization. **LWT - Food Science and Technology**, v. 135, 110269, 2021.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in thricloracetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v. 72, n.12, p.1084-1087, 1970.

VODJANI, C. Immune reactivities against gums. **Alternative Therapies in Health and Medicine**, v. 21, p. 1-95, 2015.

VORON'KO, N. G.; DERKACH, S. R.; KUCHINA, Y. A.; SOKOLAN, N. I. The chitosan-gelatin (bio)polyelectrolyte complexes formation in an acidic medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 265-272, 2016.

VPJALIMENTOS. **Hamburgueres**.< <https://www.vpjalimentos.com.br/catalogodigital/hamburgueres.html>>. Acesso em 01 de out. de 2020.

WANG, Y. F.; JIA, J. X.; TIAN, Y. Q.; SHU, X.; REN, X. J.; GUAN, Y.; YAN, Z. Y. Antifungal effects of clove oil microcapsule on meat products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 604-609, 2018.

WEINBRECK, F.; NIEUWENHUIJSE, H.; ROBIJN, G. W.; DE KRUIF, C. G. Complexformation of whey proteins: exocellular polysaccharide EPS B40. **Langmuir**, v. 19, p. 9404-9410, 2003.

WEIPING, W. **Tragacanth and karaya**. In: PHILLIPS, G.; WILLIAMS, P. (eds.), Cambridge: Handbook of hydrocolloids, 2000, p. 231-246.

YANG, X.; GAO, N.; HU, L.; LI, J.; SUN, Y. Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v.161, p.87-93, 2015.

ZAREKHALILI, Z.; BAHRAMI, S. H.; RANJBAR-MOHAMMADI, M.; MILAN, P. B. Fabrication and characterization of PVA/Gum tragacanth/PCL hybrid nanofibrous scaffolds for skin substitutes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 94, p. 679-690, 2017.

ZARE, E. N.; MAKVANDI, P; TAY, F. R. Recent progress in the industrial and biomedical applications of tragacanth gum: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 212, p. 450-467, 2019.

Apêndices

Apêndice A – Tabela de índices de peróxidos dos hambúrgueres durante armazenamento congelado.

Tabela 7 – Índices de peróxidos (mEq-g O₂ kg⁻¹ de lipídeos) dos hambúrgueres durante o armazenamento a -15 ± 1,0 °C.

Tratamentos	0 dias	1 mês	2 meses	3 meses	4 meses
T1	0,00±0,00 ^a	4,31±0,01 ^c	8,64±0,05 ^b	17,10±0,13 ^b	25,86±0,48 ^b
T2	0,00±0,00 ^a	8,58±0,04 ^{ab}	4,20±0,08 ^d	16,74±0,69 ^b	12,78±0,10 ^e
T3	0,00±0,00 ^a	8,49±0,04 ^b	8,24±0,17 ^c	17,21±0,09 ^b	16,63±1,08 ^d
T4	0,00±0,00 ^a	8,67±0,00 ^a	4,32±0,01 ^d	16,73±0,06 ^b	12,84±0,28 ^e
T5	0,00±0,00 ^a	8,57±0,02 ^{ab}	8,58±0,03 ^{bc}	16,72±0,80 ^b	13,03±0,02 ^e
T6	0,00±0,00 ^a	8,60±0,00 ^{ab}	8,60±0,10 ^b	17,01±0,23 ^b	21,51±0,37 ^c
T7	0,00±0,00 ^a	8,63±0,09 ^{ab}	12,78±0,05 ^a	21,17±0,10 ^a	34,76±0,06 ^a

T1: Hambúrguer adicionado de extrato de folha de oliveira, T2: Hambúrguer adicionado de partículas com gelatina/extrato de folha de oliveira, T3: Hambúrguer adicionado de partículas com tragacanto/extrato de folha de oliveira, T4: Hambúrguer adicionado de partículas com gelatina/tragacanto/extrato de folha de oliveira, T5: Hambúrguer adicionado de vitamina C, T6: Hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio e T7: Tratamento controle (sem adição de antioxidante). Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p < 0,05) pelo teste de Tukey.

Apêndice B – Tabela de valores de TBARS dos hambúrgueres durante armazenamento congelado.

Tabela 8 – Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído. kg⁻¹ de amostra) nos hambúrgueres durante o armazenamento a -15 ± 1,0 °C.

Tratamentos	0 dias	1 mês	2 meses	3 meses	4 meses
T1	0,39±0,01 ^e	0,44±0,00 ^g	0,78±0,00 ^d	1,02±0,03 ^a	0,94±0,00 ^{cd}
T2	0,69±0,03 ^b	1,02±0,00 ^b	0,91±0,00 ^b	1,01±0,00 ^{ab}	0,91±0,00 ^{cd}
T3	0,61±0,00 ^c	0,58±0,00 ^d	0,65±0,02 ^e	0,93±0,02 ^{bc}	1,06±0,01 ^b
T4	0,81±0,02 ^a	0,92±0,00 ^c	0,99±0,01 ^a	0,98±0,01 ^{ab}	0,97±0,03 ^c
T5	0,29±0,00 ^f	0,55±0,00 ^e	0,67±0,00 ^e	0,63±0,00 ^d	0,79±0,00 ^e
T6	0,46±0,00 ^d	0,49±0,00 ^f	0,58±0,00 ^f	0,67±0,00 ^d	0,90±0,01 ^d
T7	0,81±0,00 ^a	1,16±0,01 ^a	0,83±0,00 ^c	0,90±0,02 ^c	1,32±0,03 ^a

T1: Hambúrguer adicionado de extrato de folha de oliveira, T2: Hambúrguer adicionado de partículas com gelatina/extrato de folha de oliveira, T3: Hambúrguer adicionado de partículas com tragacanto/extrato de folha de oliveira, T4: Hambúrguer adicionado de partículas com gelatina/tragacanto/extrato de folha de oliveira, T5: Hambúrguer adicionado de vitamina C, T6: Hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio e T7: Tratamento controle (sem adição de antioxidante). Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p < 0,05) pelo teste de Tukey.

Apêndice C – Tabela de liberação de compostos fenólicos nos hambúrgueres durante armazenamento congelado.

Tabela 9 – Valores médios de compostos fenólicos liberados (%) nos hambúrgueres durante o armazenamento a $-15 \pm 1,0$ °C.

Tratamentos	0 dias	1 mês	2 meses	3 meses	4 meses
Gelatina	4,99±0,11 ^b	11,77±0,23 ^b	10,56±0,00 ^c	13,91±0,64 ^b	39,87±0,00 ^b
Tragacanto	1,57±0,26 ^c	3,63±0,13 ^c	30,66±0,06 ^a	20,28±1,80 ^a	23,43±1,40 ^c
Gelatina/tragacanto	7,82±0,00 ^a	12,62±0,05 ^a	22,03±0,05 ^b	20,54±0,11 ^a	47,73±1,18 ^a

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Apêndice D – Tabela de índices de peróxidos dos hambúrgueres durante armazenamento refrigerado.

Tabela 10 – Índices de peróxidos (mEq-g O₂ kg⁻¹ de lipídeos) dos hambúrgueres durante o armazenamento a 4 ± 1,0 °C.

Tratamentos	0 dia	3º dia	6º dia	9º dia	12º dia
T1	0,00±0,00 ^b	4,29±0,03 ^c	8,65±0,05 ^d	17,10±0,13 ^d	21,55±0,40 ^b
T2	0,00±0,00 ^b	8,59±0,13 ^b	12,72±0,25 ^c	20,71±0,20 ^c	21,71±0,29 ^b
T3	4,33±0,02 ^a	8,50±0,12 ^b	21,48±0,03 ^{ab}	20,82±0,7 ^c	21,68±0,11 ^b
T4	4,20±0,20 ^a	8,47±0,15 ^b	20,84±0,30 ^b	25,68±0,39 ^b	34,33±0,57 ^a
T5	4,30±0,04 ^a	8,57±0,02 ^b	8,58±0,03 ^d	16,72±0,08 ^d	12,79±0,00 ^d
T6	4,25±0,01 ^a	8,57±0,03 ^b	8,67±0,03 ^d	17,12±0,38 ^d	12,63±0,05 ^d
T7	4,33±0,00 ^a	12,89±0,02 ^a	21,61±0,18 ^a	34,08±0,12 ^a	17,44±0,11 ^c

T1: Hambúrguer adicionado de extrato de araçá vermelho, T2: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 1:1 (p/p), T3: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 3:1 (p/p), T4: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto:extrato de araçá vermelho 5:1 (p/p), T5: Hambúrguer adicionado de vitamina C, T6: Hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio e T7: Tratamento controle (sem adição de antioxidante). Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p < 0,05) pelo teste de Tukey.

Apêndice E – Tabela de valores de TBARS dos hambúrgueres durante armazenamento refrigerado.

Tabela 11 – Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído. kg⁻¹ de amostra) nos hambúrgueres durante o armazenamento a 4 ± 1,0 °C.

Tratamentos	0 dia	3º dia	6º dia	9º dia	12º dia
T1	0,84±0,13 ^{abc}	1,78±0,00 ^a	1,81±0,00 ^d	4,66±0,13 ^a	4,80±0,12 ^a
T2	0,86±0,00 ^{ab}	1,21±0,13 ^b	2,37±0,20 ^c	4,95±0,02 ^a	5,12±0,08 ^a
T3	0,92±0,02 ^a	1,96±0,04 ^a	3,80±0,06 ^b	3,91±0,27 ^b	5,10±0,03 ^a
T4	0,87±0,11 ^{ab}	1,30±0,09 ^b	2,24±0,06 ^c	4,31±0,37 ^{ab}	5,07±0,06 ^a
T5	0,60±0,09 ^{bc}	0,73±0,02 ^c	0,79±0,12 ^e	1,12±0,01 ^c	1,92±0,07 ^b
T6	0,54±0,01 ^c	0,80±0,04 ^c	0,89±0,01 ^e	1,65±0,01 ^c	2,17±0,23 ^b
T7	1,10±0,06 ^a	1,35±0,02 ^b	4,78±0,13 ^a	4,68±0,02 ^a	5,12±0,10 ^a

T1: Hambúrguer adicionado de extrato de araçá, T2: Hambúrguer adicionado de partículas de partículas de tragacanto/extrato de araçá vermelho 1:1 (p/p), T3: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto/extrato de araçá vermelho 3:1 (p/p), T4: Hambúrguer adicionado de partículas de tragacanto/extrato de araçá vermelho 5:1 (p/p), T5: Hambúrguer adicionado de vitamina C, T6: Hambúrguer adicionado de eritorbato de sódio e T7: Tratamento controle (sem adição de antioxidante). Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa (p < 0,05) pelo teste de Tukey.

Apêndice F – Tabela de liberação de compostos fenólicos nos hambúrgueres durante armazenamento refrigerado.

Tabela 12 – Valores médios de compostos fenólicos liberados (%) nos hambúrgueres durante o armazenamento a $4 \pm 1,0$ °C.

Tratamentos com as partículas tragacanto:extrato	0 dia	3° dia	6° dia	9° dia	12° dia
1:1, p/p	2,78±0,46 ^a	90,42±0,03 ^a	83,29±1,47 ^a	90,32±1,88 ^a	98,99±1,04 ^a
3:1, p/p	1,64±0,04 ^a	72,09±1,09 ^b	73,37±1,96 ^b	78,26±0,87 ^b	97,11±0,26 ^a
5:1, p/p	1,64±0,01 ^a	55,81±0,84 ^c	55,88±2,48 ^c	84,65±4,14 ^{ab}	96,36±1,28 ^a

Os valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.