

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**CLARA CRISTINA ANSOLIN  
GABRIELA CASSIM RISSI**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE APLICAÇÃO DE CARVACROL E CAPSAICINA  
MICROENCAPSULADOS PARA CONSERVAÇÃO MICROBIANA E OXIDATIVA DE  
HAMBÚRGUER BOVINO**

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2025**

**CLARA CRISTINA ANSOLIN  
GABRIELA CASSIM RISSI**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE APLICAÇÃO DE CARVACROL E CAPSAICINA  
MICROENCAPSULADOS PARA CONSERVAÇÃO MICROBIANA E OXIDATIVA DE  
HAMBÚRGUER BOVINO**

**Evaluation of the potential application of microencapsulated carvacrol and  
capsaicin for microbial and oxidative preservation of beef hamburgers**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia de Alimentos da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Orientador: Dr. Alexandre da Trindade Alfaro

Coorientadora: Dra. Alessandra Machado Lunkes

Coorientadora: Dra. Ana Paula Romio

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2025**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**CLARA CRISTINA ANSOLIN**

**GABRIELA CASSIM RISSI**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE APLICAÇÃO DE CARVACROL E CAPSAICINA  
MICROENCAPSULADOS PARA CONSERVAÇÃO MICROBIANA E OXIDATIVA DE  
HAMBÚRGUER BOVINO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia de Alimentos da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Data de aprovação: 01 de dezembro de 2025

---

Alexandre da Trindade Alfaro

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *campus* Francisco Beltrão

---

Heloísa Helena Scorsato de Almeida

Doutorado

Instituto Politécnico de Bragança

---

Marianne Ayumi Shirai

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Londrina

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2025**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos primeiramente a Deus pela força, sabedoria e serenidade concedidas ao longo desta caminhada acadêmica. Em Sua presença encontramos inspiração nos momentos de dúvida, coragem diante dos desafios e esperança para seguir em frente.

Somos profundamente gratas aos nossos pais, que mesmo distantes estiveram presentes em cada etapa, oferecendo apoio, incentivo e amor incondicional. Sua confiança e dedicação foram essenciais para que superássemos os obstáculos e alcançássemos nossas metas. Estendemos também nossa gratidão aos familiares, que nos acompanharam com palavras de encorajamento, gestos de carinho e compreensão, tornando esta jornada mais leve.

Um agradecimento especial ao nosso amigo Alexandre Visentin, cuja parceria, apoio constante e disposição em ajudar foram determinantes ao longo deste processo. Sua presença fez diferença não apenas no desenvolvimento do trabalho, mas também na forma leve e motivadora com que enfrentamos os desafios. À nossa orientadora, Dra. Alessandra Machado Lunkes, registramos nosso agradecimento, sua paciência, dedicação, orientação e confiança foram essenciais, seus ensinamentos contribuíram para nosso crescimento acadêmico e pessoal.

Agradecemos também aos amigos Alex Hein, João Roberto de Oliveira, Vanessa Mara Longo e aos demais amigos que, de perto ou de longe, contribuíram com colaboração, incentivo e companheirismo, tornando essa jornada mais leve.

Registramos nossa gratidão aos professores Dr. Alexandre da Trindade Alfaro e Dra. Ana Paula Romio, pela paciência, orientação e confiança depositada em nós. Sua experiência e disponibilidade em compartilhar conhecimento nos guiaram em cada etapa, contribuindo não apenas para o êxito acadêmico, mas também para nosso crescimento pessoal e profissional. Também agradecemos aos técnicos da UTFPR – Câmpus Francisco Beltrão, cujo apoio e dedicação foram fundamentais ao longo de toda a nossa graduação.

Por fim, agradecemos ao Laboratório de Análises (LabAna) da UTFPR – Francisco Beltrão, em especial ao João Paulo Fernando Mileski e a Sinara Queli Welter Nardi pelo suporte técnico; ao Laboratório Central Analítica Multiusuário (CEANMED) da UTFPR – Medianeira, pela liofilização das microcápsulas; ao Laboratório Multiusuário (LabMult) da UTFPR – Londrina, pela obtenção das imagens

de microscopia eletrônica de varredura; ao Laboratório Central Analítica Multiusuário (CAMulti) da UTFPR – Campo Mourão, pelas análises de infravermelho com transformada de Fourier; à Unidade Mista de Pesquisa e Transferência de Tecnologia (UMIPTT/Embrapa) pelo apoio financeiro ao desenvolvimento do projeto e empresa Gelita pelo fornecimento da gelatina utilizada neste estudo.

## RESUMO

A deterioração de produtos cárneos representa um desafio significativo para a indústria alimentícia, assim para aumentar a vida útil desses produtos e reduzir a necessidade de conservantes sintéticos, produtos naturais que apresentam atividade antioxidante e antimicrobiana vêm sendo estudados. O carvacrol e a capsaicina são compostos bioativos promissores, no entanto, sua aplicação direta enfrenta limitações, desta maneira, a microencapsulação surge como uma solução tecnológica para aumentar a estabilidade e a eficiência desses compostos. O objetivo deste estudo foi produzir microcápsulas contendo carvacrol e capsaicina combinados para uso na conservação de hambúrguer durante o armazenamento. Para isto, inicialmente, foi determinada a atividade antioxidante e antimicrobiana do carvacrol e da capsaicina e após foram produzidas microcápsulas pelo método de coacervação complexa usando como material de parede gelatina e goma arábica. Foram produzidas e caracterizadas microcápsulas brancas (MB) e microcápsulas contendo os compostos ativos (MC) e aplicadas nas formulações de hambúrgueres bovinos. Os resultados demonstraram que o carvacrol possui potente atividade antimicrobiana *in vitro* (CIM de 221 µg/mL) e a capsaicina tem forte ação antioxidante (IC<sub>50</sub> = 29,066 µg/mL e IC<sub>50</sub> = 3,463 µg/mL) pelo método DPPH e ABTS, respectivamente. As microcápsulas (MC) apresentaram 38,57 µm de tamanho e os métodos analíticos (CLAE e FTIR) comprovaram a presença dos compostos ativos no material de recheio. Na aplicação de MC durante o armazenamento de hambúrgueres sob refrigeração, a atividade de água, cor, contagem total de bactérias não sofreram alterações significativas ( $p > 0,05$ ). O pH dos hambúrgueres formulados com microcápsulas (MB e MC) e o controle sem microcápsulas aumentou ao longo do armazenamento (5,6 até 7,3). Na quantificação das substâncias reativas ao ácido Tiobarbitúrico ao final do armazenamento demonstrou que os hambúrgueres com ativos (MC) sofreram uma proteção antioxidante tardia devido a liberação controlada do carvacrol e da capsaicina. Assim, a microencapsulação de carvacrol e capsaicina favoreceu sua liberação controlada contudo, nas concentrações estudadas o efeito protetivo microbiano e lipídico, indicam a necessidade de avaliar concentrações superiores dos ativos.

**Palavras-chaves:** compostos bioativos; microcápsula; coacervação complexa; gelatina; goma arábica.

## ABSTRACT

The deterioration of meat products represents a significant challenge for the food industry. Thus, to increase the shelf life of these products and reduce the need for synthetic preservatives, natural products with antioxidant and antimicrobial activity have been studied. Carvacrol and capsaicin are promising bioactive compounds; however, their direct application faces limitations. In this way, microencapsulation emerges as a technological solution to enhance the stability and efficiency of these compounds. The aim of this study was to produce microcapsules containing combined carvacrol and capsaicin for use in hamburger preservation during storage. For this purpose, the antioxidant and antimicrobial activity of carvacrol and capsaicin was first determined, and subsequently, microcapsules were produced by the complex coacervation method using gelatin and gum arabic as wall materials. White microcapsules (WM) and microcapsules containing the active compounds (AC) were produced and characterized, and then applied to beef hamburger formulations. The results showed that carvacrol has potent *in vitro* antimicrobial activity (MIC of 221  $\mu\text{g/mL}$ ), and capsaicin has strong antioxidant action ( $\text{IC}_{50} = 29.066 \mu\text{g/mL}$  and  $\text{IC}_{50} = 3.463 \mu\text{g/mL}$ ) by the DPPH and ABTS methods, respectively. The microcapsules (AC) had a size of 38.57  $\mu\text{M}$ , and analytical methods (HPLC and FTIR) confirmed the presence of the active compounds in the core material. When AC was applied during refrigerated hamburger storage, water activity, color, and total bacterial count did not undergo significant changes ( $p > 0.05$ ). The pH of hamburgers formulated with microcapsules (WM and AC) and the control without microcapsules increased during storage (from 5.6 to 7.3). The quantification of thiobarbituric acid reactive substances at the end of storage demonstrated that hamburgers with actives (AC) experienced late antioxidant protection due to the controlled release of carvacrol and capsaicin. Thus, the microencapsulation of carvacrol and capsaicin favored their controlled release; however, at the studied concentrations, the protective microbial and lipid effects indicate the need to evaluate higher concentrations of the actives.

**Keywords:** bioactive compounds; microcapsule; complex coacervation; gelatin; gum arabic.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura molecular do carvacrol .....	16
Figura 2 - Estrutura molecular da capsaicina .....	18
Figura 3 - Esquema ilustrativo do processo de coacervação complexa para encapsulamento de ingredientes ativos .....	22
Figura 4 - Montagem da microplaca para determinação da CIM dos compostos puros .....	32
Figura 5 - Montagem da microplaca para determinação da CIM dos compostos combinados .....	33
Figura 6 - Gelificação parcial dos polímeros: gelatina e goma arábica, respectivamente .....	35
Figura 7 - Hambúrgueres acondicionados individualmente em bandejas de poliestireno cobertos com filme de policloreto de vinila.....	39
Figura 8 – Isoblograma: capsaicina e carvacrol combinados.....	50
Figura 9 - Microcápsulas com os compostos após lavagem .....	53
Figura 10 - Imagem obtida por microscopia óptica dos coacervados formados .....	53
Figura 11 - Microcápsulas brancas e microcápsulas com compostos liofilizadas respectivamente .....	54
Figura 12 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas brancas com ampliação de: a) 160x; b) 160x; c)1000x; d)3000x .....	55
Figura 13 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas contendo carvacrol e capsaicina com ampliação de: a) 160x; b) 160x; c)1000x; d)2000x.....	56
Figura 14 - Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das Microcápsulas de compostos bioativos (MC); Microcápsulas brancas (MB); Capsaicina (CAP); Goma Arábica e (GA) e Gelatina tipo A (GE), respectivamente. ....	59
Figura 15 - Inibição de DPPH (%) das microcápsulas .....	60
Figura 16 - Cromatograma: Carvacrol .....	62
Figura 17 - Cromatograma: Capsaicina.....	62
Figura 18 - Cromatograma: Microcápsulas contendo os compostos .....	63
Figura 19 - Atividade de água (aw) de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento .....	65
Figura 20 - Hambúrgueres no dia 0 de armazenamento .....	66
Figura 21 - Hambúrgueres no dia 4 de armazenamento .....	66
Figura 22 - Hambúrgueres no dia 8 de armazenamento .....	66
Figura 23 - Hambúrgueres no dia 16 de armazenamento .....	67
Figura 24 - Evolução da oxidação lipídica de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento.....	69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos recentes sobre a microencapsulação pelo método de coacervação complexa do carvacrol e da capsaicina .....	24
Tabela 2 - Estudos recentes sobre microcápsulas contendo compostos bioativos aplicados à conservação de hambúrguer bovino.....	28
Tabela 3 - Composição das formulações de hambúrgueres .....	38
Tabela 4 - Atividade antibacteriana carvacrol e capsaicina puros ( $\mu\text{M}$ ) .....	43
Tabela 5 - Combinação de capsaicina e carvacrol frente a <i>Escherichia coli</i> .....	45
Tabela 6 - Combinação de capsaicina e carvacrol frente a <i>Salmonella</i> spp .....	47
Tabela 7 - Combinação de capsaicina e carvacrol frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	48
Tabela 8 - Atividade antioxidante carvacrol e capsaicina puros (IC50) .....	51
Tabela 9 - Números de onda e atribuições de acordo com dados da literatura obtidos por análise FTIR para goma arábica, gelatina, capsaicina e o carvacrol. ....	58
Tabela 10 - Valores de pH de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento .....	64
Tabela 11 – Parâmetros de cor L*, a *, b * e $\Delta E$ de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento.....	67
Tabela 12 - Valores da contagem total de bactérias de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento .....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
AOAC	<i>Association of official analytical chemists</i>
BHA	Butil hidroxianisol
BHT	Butil hidroxitolueno
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FTIR	Espectroscopia de infravermelho médio com transformada de fourier
GA	Goma arábica
GE	Gelatina
IC 50	Concentração inibitória 50%
MAPA	Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento
MDA	Malondialdeído
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MHI	Caldo Mueller Hinton
PVC	Policloreto de vinila
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido Tricloroacético
TEP	Tetraetoxipropano
UFC	Unidade formadora de colônias
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>15</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1 Carvacrol</b> .....	<b>16</b>
<b>3.2 Capsaicina</b> .....	<b>18</b>
<b>3.3 Combinação de compostos bioativos</b> .....	<b>19</b>
<b>3.4 Microencapsulação por coacervação complexa</b> .....	<b>21</b>
<b>3.5 Produtos cárneos</b> .....	<b>25</b>
3.5.1 Oxidação lipídica .....	27
3.5.2 Antioxidantes naturais e sintéticos .....	27
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1 Materiais</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2 Métodos</b> .....	<b>31</b>
4.2.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) .....	31
4.2.1.1 CIM dos compostos puros .....	31
4.2.1.2 CIM dos compostos combinados .....	32
<b>4.3 Determinação da capacidade antioxidante</b> .....	<b>34</b>
4.3.1 Método do sequestro de radicais livres DPPH .....	34
4.3.2 Método do sequestro de radicais livres ABTS <sup>•+</sup> .....	34
<b>4.4 Produção das microcápsulas</b> .....	<b>35</b>
<b>4.5 Caracterização das microcápsulas</b> .....	<b>36</b>
4.5.1 Microscopia óptica .....	36
4.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	36
4.5.3 Diâmetro médio e índice de polidispersão .....	36
4.5.4 Espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) .....	37
4.5.5 Determinação da capacidade antioxidante .....	37
4.5.6 Cromatografia líquida de alta eficiência para confirmação dos compostos ativos encapsulados .....	37
<b>4.6 Avaliação da vida útil de hambúrguer de carne bovina com adição de microcápsulas de capsaicina e carvacrol sob armazenamento refrigerado</b> .....	<b>38</b>
4.6.1 Produção dos hambúrgueres .....	38
4.6.2 Caracterização físico-química do hambúrguer .....	39

4.6.3 Avaliação da estabilidade oxidativa dos hambúrgueres: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	40
4.6.4 Análises microbiológicas .....	40
<b>4.7 Análise estatística .....</b>	<b>41</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>5.1 Atividade antibacteriana dos compostos puros.....</b>	<b>42</b>
<b>5.2 Atividade antibacteriana dos compostos combinados.....</b>	<b>44</b>
<b>5.3 Atividade antioxidante .....</b>	<b>51</b>
<b>5.4 Caracterização das microcápsulas.....</b>	<b>52</b>
5.4.1 Morfologia por microscopia eletrônica de varredura (MEV), diâmetro médio e índice de polidispersão das microcápsulas .....	55
5.4.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	58
5.4.3 Atividade antioxidante das microcápsulas .....	60
5.4.4 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	61
<b>5.5 Avaliação da vida útil de hambúrguer de carne bovina com adição de microcápsulas de capsaicina e carvacrol sob armazenamento refrigerado.....</b>	<b>63</b>
5.5.1 pH e atividade de água.....	63
5.5.2 Análise de cor .....	66
5.5.3 Oxidação lipídica .....	68
5.5.4 Contagem total de bactérias.....	70
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A deterioração das matérias primas, insumos e produtos alimentícios é um problema significativo para a indústria de transformação. No caso de produtos oriundos do processamento ou semi-processados, sua vida útil pode ser estendida com a adição de conservantes naturais ou artificiais (Sánchez *et al.*, 2016). O uso de conservantes químicos, como BHT (hidroxitolueno butilado) e BHA (hidroxilanisol butilado) são amplamente utilizados para controlar a atividade microbiana e oxidativa em produtos de origem animal. Contudo, a crescente preocupação da população com os riscos à saúde associados aos conservantes sintéticos, vem impulsionando pesquisas em relação a alternativas naturais aos aditivos artificiais com o objetivo de garantir a qualidade e a segurança dos alimentos (Alirezalu *et al.*, 2020, Fernandes *et al.*, 2017).

Frente a isto, os produtos cárneos são alimentos de alto valor nutricional, sendo considerados boas fontes de nutrientes essenciais, como vitaminas do complexo B, ferro e proteínas contendo aminoácidos essenciais (Espinales *et al.*, 2024). Entretanto, é um alimento que possui uma alta atividade de água e pH próximo a neutralidade, tornando-se um meio rico para a proliferação de microrganismos. Além disso, a presença de lipídios favorece a ocorrência de reações oxidativas, resultando em perdas sensoriais e nutricionais (Gómez *et al.*, 2020; Ribeiro *et al.*, 2019). Assim, constitui-se um material que necessita o uso de aditivos para manutenção das suas características de identidade e qualidade (Pressman *et al.*, 2017).

Entre os aditivos naturais, o carvacrol é um componente presente em óleos essenciais obtidos em algumas plantas como o orégano (*Origanum vulgare*) e o tomilho (*Thymus vulgaris*) (Maćzka *et al.*, 2023). Esse composto fenólico tem sido amplamente estudado como uma alternativa promissora aos conservantes sintéticos, por suas propriedades antioxidantes e antimicrobiana de amplo espectro contra patógenos transmitidos por alimentos (Marinelli, Di Stefano e Cacciatore, 2018). A capsaicina é um fitoquímico derivado da pimenta vermelha (*Capsicum sp.*) e exibe vários efeitos biológicos potencialmente benéficos, incluindo atividades antioxidantes, anticancerígenas, anti-inflamatórias e de regulação metabólica (Akyuz *et al.*, 2018; Lu *et al.*, 2020, Yang *et al.* 2020).

O carvacrol e a capsaicina são compostos com propriedades antimicrobianas e antioxidantes promissoras, mas apresentam limitações quando expostos a altas

temperaturas, luz e oxigênio (Benincá *et al.*, 2024; Qiu, Xie e Mei, 2025). Além disso, seu sabor e aroma intensos podem afetar negativamente as características sensoriais dos alimentos aos quais são adicionados, o que restringe seu uso direto como conservantes naturais (Maharjan, Vasamsetti e Park, 2024; Wang; Wu, 2021).

Uma solução eficiente para superar essas limitações é microencapsular esses compostos em uma ou mais camadas de materiais de revestimento, o que evita sua interação direta com os componentes dos alimentos, aumenta sua estabilidade e bioatividade, além de permitir a liberação controlada dos compostos (Gómez *et al.*, 2018). Essa técnica também é eficaz para mascarar os odores e sabores intensos associados ao carvacrol e à capsaicina (Franco *et al.*, 2017; Vinceković *et al.*, 2017).

O uso de compostos bioativos é eficaz na inibição do crescimento de diversas bactérias patogênicas e microrganismos deteriorantes, incluindo alguns que compostos sintéticos não conseguem eliminar. Além disso, esses compostos trazem benefícios com menos efeitos colaterais e possuem propriedades funcionais. No entanto, muitas vezes é preciso utilizá-los em concentrações mais altas para alcançar o mesmo efeito que os aditivos comerciais, o que pode resultar em efeitos indesejados no produto ou até mesmo em problemas de toxicidade (Ju *et al.*, 2019).

A partir disso, é importante considerar o uso combinado de diferentes compostos, visando um efeito sinérgico que permita obter maior eficiência em concentrações menores, mas ainda suficientes para evitar reações adversas (Pateiro *et al.*, 2018).

Neste contexto, pesquisas atuais vêm demonstrando que a microencapsulação surge como uma estratégia tecnológica eficaz, proporcionando maior proteção, estabilidade, liberação controlada dos compostos bioativos e potencialização de sua eficácia mesmo em menores concentrações, minimizando impactos sensoriais e riscos de toxicidade (Huang *et al.*, 2021). Além disso, a microencapsulação pode alterar características físico-químicas de compostos como a capsaicina, transformando seu caráter lipofílico em hidrofílico, o que amplia sua aplicabilidade em matrizes aquosas (Zhang *et al.*, 2022).

Apesar dos avanços no uso de antimicrobianos naturais, não há estudos que avaliam o carvacrol e a capsaicina de forma combinada e microencapsulada. Considerando que ambos apresentam reconhecidas atividades antioxidante e antimicrobiana, sua aplicação pode representar uma alternativa natural aos conservantes sintéticos amplamente utilizados em produtos cárneos. Dessa forma,

este estudo atende à demanda crescente por alimentos mais naturais e saudáveis e explora uma lacuna científica relevante ao avaliar o uso conjunto e microencapsulado desses compostos em matrizes cárneas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso de microcápsulas de carvacrol e capsaicina combinados na proteção microbiana e oxidativa de hambúrguer bovino.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Definir a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima da capsaicina e do carvacrol contra *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli* e *Salmonella Typhimurium*;
- Testar o carvacrol e a capsaicina combinados para avaliação da atividade antibacteriana frente a *S. aureus*; *E. coli* e *S. Typhimurium*;
- Avaliar a capacidade antioxidante do carvacrol e da capsaicina isolados;
- Produzir pelo processo de coacervação complexa e caracterizar físico-quimicamente as microcápsulas contendo carvacrol e capsaicina combinados nas concentrações mais adequadas para a expressão da atividade antibacteriana e antioxidante;
- Determinar o pH, atividade de água, cor, contagem total de bactérias, e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico dos hambúrgueres durante o armazenamento refrigerado.

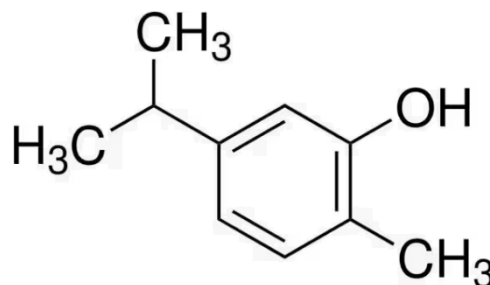
### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Carvacrol

O carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol) é um composto bioativo encontrado em plantas da família *Lamiaceae*, sendo encontrado em maior concentração no orégano (*Origanum vulgare*) e no tomilho (*Thymus vulgaris*). O óleo essencial de orégano, pode conter até 80% de carvacrol em sua composição (Krause *et al.*, 2021; Vinciguerra *et al.*, 2019).

Este composto pertence à classe dos monoterpenos fenólicos e é derivado do p-cimeno, apresentando fórmula molecular  $C_{10}H_{14}O$ , estrutura molecular apresentada na Figura 1, massa molar de 150,217 g/mol e densidade de 0,83 g/L a 25°C (Sow *et al.*, 2017). Seu ponto de fusão é de 2 °C e seu ponto de ebulição é de 234 - 236°C, apresenta-se em forma líquida de coloração amarelo claro, possui característica pungente e odor aromático. Apesar de insolúvel em água, é solúvel em solventes orgânicos como etanol, acetona e éter dietílico (Gandova *et al.*, 2023).

Figura 1 - Estrutura molecular do carvacrol



Fonte: Jeon *et al.* (2018)

A atividade antimicrobiana do carvacrol abrange um espectro diversificado de microrganismos, incluindo bactérias patogênicas, fungos filamentosos e leveduras (Marinelli, Di Stefano e Cacciatore, 2018). O mecanismo de ação do carvacrol está relacionada à sua ação danosa sobre as propriedades bioquímicas e estruturais dos microrganismos, interferindo na permeabilidade celular, causando danos às membranas e resultando na deterioração das células bacterianas (Calo *et al.*, 2015). Essa propriedade é atribuída à presença do grupo hidroxila (-OH) em sua estrutura química, localizado na posição orto. Esta potente ação bactericida se dá especialmente contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Maćzka *et al.*, 2023).

Segundo Araújo (2016), o mecanismo de ação do carvacrol está relacionado à sua natureza lipofílica, que permite sua inserção na bicamada lipídica da membrana citoplasmática bacteriana. Essa inserção desorganiza a estrutura da membrana, aumentando sua permeabilidade e promovendo a liberação de componentes intracelulares essenciais, como íons e ATP, comprometendo a viabilidade celular. A presença do grupo hidroxila (–OH) é fundamental para essa atividade, pois facilita a formação de ligações de hidrogênio com os fosfolipídios da membrana, intensificando sua desestabilização. Ultee *et al.* (2002) demonstraram que essa desorganização leva à perda do gradiente de pH e à interrupção do transporte de prótons, afetando diretamente o metabolismo bacteriano.

A incorporação do carvacrol em produtos alimentícios tem o potencial de reduzir ou inativar patógenos transmitidos por alimentos (Memar *et al.*, 2017; Benincá *et al.*, 2024). Estudos relatam valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do carvacrol majoritariamente entre 200 e 375 µg/mL, com variações entre espécies bacterianas. Para bactérias Gram-negativas como *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., os valores reportados variam entre 250 e 375 µg/mL (Asadi *et al.*, 2023; Du *et al.*, 2015; Miladi *et al.*, 2016). Já para *Staphylococcus aureus*, uma bactéria Gram-positiva, os valores são ligeiramente menores, variando de 200 a 250 µg/mL (Guarda *et al.*, 2011; Shi *et al.*, 2017).

O carvacrol apresenta potencial antioxidante, sendo capaz de neutralizar radicais livres responsáveis por estresse oxidativo (Lovison, 2017). O potencial antioxidante do carvacrol, está associado à sua habilidade de doar átomos de hidrogênio para espécies reativas, neutralizando-as e prevenindo danos oxidativos (De Oliveira *et al.*, 2021). Estudos recentes demonstram sua capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, protegendo alimentos da oxidação lipídica e evitando alterações sensoriais indesejadas (Ebhoimen *et al.*, 2023; Rathod *et al.*, 2021).

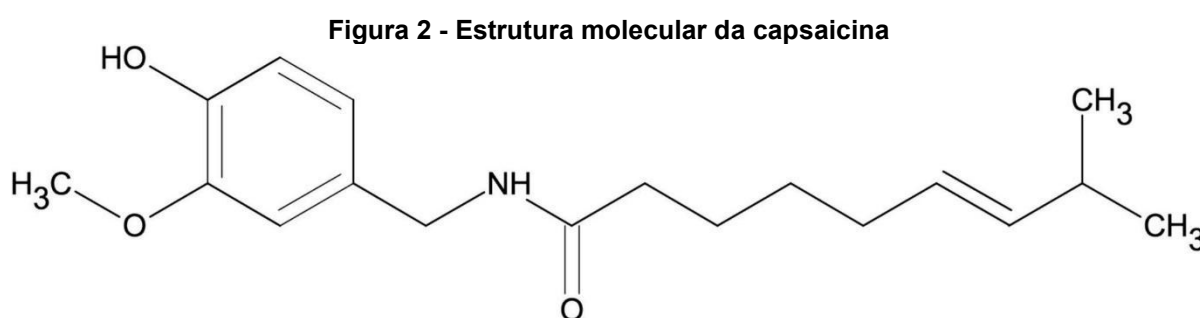
Na indústria de alimentos, essas propriedades são essenciais para preservar a qualidade de produtos, reduzindo a degradação microbiana, a oxidação de lipídios, proteínas, carboidratos e outras moléculas presentes em alimentos de origem vegetal ou animal (Maddaloni *et al.*, 2025). No entanto, o uso do carvacrol é limitado, pois as concentrações antimicrobianas e antioxidantes eficazes podem exceder os níveis sensoriais aceitáveis, um possível método para reduzir o impacto sensorial adverso e diminuir a dose necessária é usar associações sinérgicas (Jilani *et al.*, 2025).

### 3.2 Capsaicina

A capsaicina é um alcalóide natural extraído dos frutos do gênero *Capsicum*, como pimentas vermelhas e pimentões, e nomeada como (E)-N-[(4-hidroxi-3-metoxifenil)metil]-8-metilnon-6-enamida,  $C_{18}H_{27}NO_3$  (Maharjan; Vasamsetti; Park, 2024). As pimentas, conhecidas por seu sabor picante, estão entre os temperos e aditivos alimentares mais populares e amplamente consumidos e usados em todo o mundo (Alonso-Villegas *et al.*, 2023).

A pungência característica das pimentas vermelhas é atribuída aos capsaicinóides, metabólitos secundários presentes nesses frutos. A capsaicina, que é o principal composto dos capsaicinóides, destaca-se pelos inúmeros efeitos biológicos potencialmente benéficos, incluindo atividades antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas, anti-inflamatórias e de regulação metabólica (Akyuz *et al.*, 2018; Lu *et al.*, 2020). Devido a suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes, vem tornando-se também, uma opção promissora para a conservação de alimentos (Liu *et al.*, 2015; Si *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2020).

A capsaicina é uma amida formada pela condensação de vanililamina com ácido caprílico, pertencente à família dos vaniloides. Esses compostos possuem uma fração vanilil (4-hidroxi-3-metoxibenzil), responsável por induzir sua atividade biológica. Estruturalmente, a capsaicina é composta por um anel benzênico, uma cauda hidrofóbica de carbono e um grupo amida polar (Figura 2) (Al-Samydai *et al.*, 2019; Akyuz *et al.*, 2018). Possui ponto de fusão de 65 °C e massa molar de 305,4 g/mol. É uma substância incolor, cristalina e lipofílica, com solubilidade muito baixa em água, mas altamente solúvel em solventes orgânicos como etanol, éter, benzeno e clorofórmio (Zhang *et al.*, 2024).



Fonte: Sandu e Pandey (2024)

A atividade antimicrobiana da capsaicina está associada a diversos mecanismos, incluindo a indução de estresse osmótico, a destruição da membrana celular, a inibição da expressão de genes relacionados aos componentes ribossômicos e ao crescimento celular, além de sua capacidade de penetrar nas células e causar toxicidade (Marini *et al.*, 2015).

Com uma atividade antioxidante promissora a capsaicina pode inibir a peroxidação lipídica mediada por ferro e a oxidação dependente de cobre da lipoproteína de baixa densidade, efeito atribuído à sua capacidade de formar complexos com metais reduzidos e atuar como doadora de hidrogênio (Pérez-González *et al.*, 2020). Além disso, a capsaicina é eficaz na prevenção da oxidação do ácido oleico em temperaturas de cozimento, bem como na formação de hidroperóxidos lipídicos decorrentes da autooxidação do ácido linoleico (Rosa *et al.*, 2002).

Um estudo realizado por Gang *et al.* (2008) investigou e comparou os efeitos antioxidantes do extrato de pimenta vermelha e da capsaicina. Os resultados demonstraram que a capsaicina possui uma atividade antioxidante maior do que o extrato de pimenta vermelha. Os autores atribuíram essa diferença ao teor de compostos fenólicos na capsaicina, na qual estão associados a neutralização de radicais livres e na prevenção do estresse oxidativo. Esses resultados destacam a relevância da capsaicina como um composto bioativo de grande potencial.

Lu *et al.* (2020) destacam que, apesar das propriedades promissoras da capsaicina, sua baixa solubilidade em água e a tendência de causar sensação de queimação e irritação estomacal, limitam sua eficácia quando consumida por via oral. Para contornar esses desafios, pesquisadores vêm desenvolvendo sistemas avançados de administração para melhorar a biodisponibilidade da capsaicina e reduzir os efeitos adversos. Quando encapsulada, como em microcápsulas, a capsaicina apresenta comportamento de liberação controlada, o que potencializa sua eficácia como agente antioxidante e antimicrobiano na conservação de alimentos a longo prazo (Soussi *et al.*, 2025).

### **3.3 Combinação de compostos bioativos**

Diversos estudos vêm sendo realizados para avaliar a ação entre a combinação de diferentes compostos bioativos. Em combinações, as interações entre

os compostos podem levar a três resultados primários, ou seja, (i) aditividade, (ii) sinergismo e (iii) antagonismo, nos quais os compostos que interagem exibem atividade semelhante, mais forte e mais fraca, respectivamente, em comparação com seus perfis individuais combinados em uma dosagem equivalente (Ilyas *et al.*, 2019).

Estudos recentes têm relatado que a aplicação de compostos bioativos deve envolver o uso de altas concentrações nos alimentos para atingir os mesmos efeitos demonstrados *in vitro*. Entretanto, essas altas concentrações podem alterar as características sensoriais dos alimentos e/ou causar toxicidade (Bukvicki *et al.*, 2023).

Uma solução eficiente para esta desvantagem é usar o efeito sinérgico das combinações de diferentes compostos. Portanto, muitos pesquisadores se concentraram em estudar os efeitos combinados dos compostos bioativos para aumentar sua eficiência, diminuindo assim a dose efetiva (Chaachouay, 2025) e a mitigação do impacto sensorial que pode afetar a qualidade organoléptica dos alimentos (Ouedrhiri *et al.*, 2017). De acordo com Vaou *et al.* (2022) o sinergismo ocorre quando uma interação entre dois ou mais compostos resulta em um efeito superior ao esperado com base em suas ações individuais.

Pei *et al.* (2009) relataram efeitos sinérgicos de combinações pareadas de carvacrol, eugenol e timol contra *E. coli*, enquanto Gallucci *et al.* (2009) encontraram efeitos sinérgicos de mentol/timol e timol/eugenol contra *S. aureus* e *B. cereus*, respectivamente, ao estudar combinações pareadas de carvacrol, eugenol, mentol e timol. Maksimova *et al.* (2016) a partir das características de voltamogramas, observaram indicações de interações sinérgicas entre a capsaicina e a vitamina E, quercetina e ácido ascórbico para a atividade antioxidante.

Apesar de seu potencial como composto funcional, a aplicação da capsaicina em alimentos enfrenta limitações significativas, como seu caráter lipofílico, baixa solubilidade em água, irritação causada pela pungência, baixa biodisponibilidade e estabilidade química reduzida (Feng *et al.*, 2018). Já o carvacrol apresenta como limitações sua alta volatilidade, baixa solubilidade em água, além de seu aroma e sabor intensos e pungentes (Krause *et al.*, 2021). Neste caso, a técnica de encapsulação surge como uma solução eficaz para superar os desafios associados à utilização destes compostos, pois a partir dela é possível minimizar características sensoriais indesejadas e possibilitar uma liberação controlada (Cardoso *et al.*, 2023; Tópor *et al.*, 2024).

### 3.4 Microencapsulação por coacervação complexa

A microencapsulação é uma técnica amplamente utilizada nas indústrias farmacêutica e alimentícia, com diversos objetivos. Entre seus principais objetivos, destacam-se a proteção de compostos sensíveis contra fatores ambientais adversos, como luz, calor e umidade, o controle e a liberação controlada de compostos ativos e a mitigação de sabores ou aromas indesejáveis e a modificação de texturas (Lam e Gambari, 2014; Ye; Georges; Selomulya, 2018).

O processo de microencapsulação consiste no revestimento de um composto ativo com um material, formando partículas capazes de protegê-lo. A substância encapsulada é chamada de “núcleo” e constitui de 30 a 99% do peso total da cápsula, e o polímero que envolve a cápsula é chamado de “parede”. O material da parede geralmente é insolúvel e não reativo com o material do núcleo (Napiórkowska e Kurek, 2022). Esse método resulta em partículas de tamanhos que variam desde a escala nanométrica até a milimétrica (Souza *et al.*, 2018).

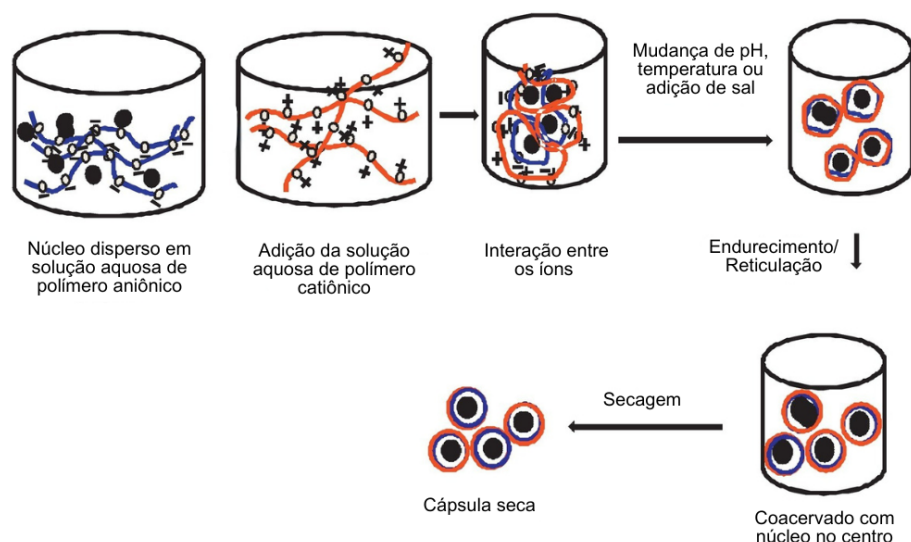
Diversas técnicas são aplicadas na produção de microcápsulas, sendo que as mais utilizadas são: a secagem por pulverização (Zhang *et al.*, 2022), a liofilização (Santos-Silva *et al.*, 2022) e a coacervação complexa (Eghbal e Choudhary, 2018; Napiórkowska *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2015). Entre essas, a coacervação destaca-se como uma das abordagens mais eficazes para o micro e nanoencapsulação, especialmente na indústria de alimentos. Esse método é amplamente reconhecido por sua simplicidade, baixo custo, escalabilidade e alta reprodutibilidade, além de permitir a realização do processo em baixas temperaturas, preservando compostos sensíveis ao calor e garantindo altos níveis de eficiência na encapsulação de diversos ingredientes alimentares (Timilsena *et al.*, 2019).

A coacervação complexa ocorre quando dois polímeros com cargas opostas são combinados em um pH específico, promovendo a separação de fases e originando partículas insolúveis em água. Na encapsulação de ingredientes alimentícios, esse método emprega, predominantemente, como biopolímeros de proteínas e polissacarídeos, que interagem de maneira complementar para criar uma camada envolvente ao redor do material do núcleo (Singh *et al.*, 2016).

O processo de coacervação complexa ocorre por meio da interação eletrostática entre polímeros com cargas opostas. Além disso, é caracterizado por um sistema trifásico que envolve o solvente, o material ativo e o material de revestimento.

Geralmente, ele ocorre em quatro etapas principais: (a) preparo de uma solução aquosa contendo dois ou mais polímeros, realizada em condições acima da temperatura de gelificação e do ponto isoelétrico da proteína; (b) adição de uma fase hidrofóbica à solução aquosa do polímero, usualmente uma proteína, seguida de homogeneização para formar uma emulsão estável; (c) ajuste do pH e da temperatura para níveis específicos que induzem a coacervação e promovem a separação de fases; e (d) endurecimento das matrizes poliméricas utilizando baixas temperatura, agentes de dessolvatação ou reticuladores (Fu *et al.*, 2025) conforme esquema mostrado na Figura 3.

**Figura 3 - Esquema ilustrativo do processo de coacervação complexa para encapsulamento de ingredientes ativos**



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

O processo inicial resulta na formação de partículas extremamente pequenas de coacervado, conferindo uma aparência turva à solução previamente transparente, essa fase é denominada microcoacervação. Conforme o processo avança, as micropartículas começam a se unir, formando partículas maiores, que possuem maior densidade e tendem a se depositar no fundo do recipiente. Esse estágio, caracterizado pela formação de duas fases visíveis no sistema, é conhecido como macrocoacervação (Timilsena *et al.*, 2019).

No método de coacervação complexa, a formação do coacervado ocorre devido à redução da energia eletrostática livre promovida pelas interações entre polímeros. Esse mecanismo depende das condições do meio, como o pH, que deve estar abaixo do ponto isoelétrico do biopolímero, a razão núcleo:parede e o tipo de

composto ativo a ser encapsulado. A intensidade de agitação também é determinante, pois controla o tamanho das gotículas formadas e, conseqüentemente, o diâmetro final das microcápsulas. Como resultado, obtém-se uma estrutura encapsulada em que o material ativo permanece confinado no núcleo, protegido por uma camada de parede polimérica (Napiórkowska e Kurek, 2022).

Os materiais de parede mais utilizados na coacervação complexa são a gelatina (GE) e goma arábica (GA). Nesse sistema, o mecanismo é sustentado pela atração entre os grupos amino protonados da gelatina ( $\text{NH}_3^+$ ) e os grupos carboxilato carregados negativamente da goma arábica ( $\text{COO}^-$ ). Durante o processo, as gotículas contendo o núcleo são recobertas gradualmente por essa fase coacervada, que posteriormente é estabilizada por resfriamento ou reticulação, originando microcápsulas estruturadas e estáveis (Napiórkowska e Kurek, 2022).

A gelatina utilizada nesse sistema corresponde ao tipo A, à qual é obtida por hidrólise parcial do colágeno em condições ácidas. Esse tipo de gelatina apresenta ponto isoelétrico mais elevado e, portanto, permanece carregada positivamente em intervalos de pH inferiores a 9, condição na qual favorece a interação eletrostática com a goma arábica. Essa característica torna a gelatina tipo A adequada para processos de coacervação com polissacarídeos aniônicos, garantindo maior eficiência na formação da matriz encapsulante e melhor estabilidade da estrutura formada (Napiórkowska e Kurek, 2022).

A goma arábica complementa esse sistema atuando como polímero aniônico, devido à sua elevada densidade de cargas negativas e à presença de frações de arabinogalactano e glicoproteínas. Suas propriedades de emulsificação, permitem a encapsulação eficaz de ingredientes ativos, especialmente os voláteis, como o carvacrol. Sua baixa viscosidade em solução e capacidade de formar filmes protetores reforçam sua eficiência como material de parede, contribuindo para a estabilidade e funcionalidade das microcápsulas obtidas (Shaddel *et al.*, 2018).

Dentre as várias técnicas de encapsulação de capsaicina e carvacrol, a coacervação complexa destaca-se pois possibilita ajustes nas condições de processamento, como pH, temperatura e relação entre os biopolímeros utilizados, tendo em vista que tanto a capsaicina quanto o carvacrol apresentam baixa solubilidade em água e sensibilidade a altas temperaturas (Sun *et al.*, 2022; Xing, Cheng, Yi, 2006).

Os estudos mais recentes que exploraram o uso do método de coacervação complexa para a microencapsulação individual do carvacrol e da capsaicina, utilizando diferentes combinações de polímeros estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1 - Estudos recentes sobre a microencapsulação pelo método de coacervação complexa do carvacrol e da capsaicina**

<b>Composto</b>	<b>Polímeros</b>	<b>Referência</b>
Capsaicina	Gelatina, acácia e taninos	Xing, Cheng, Yi, 2006
Capsaicina	Gelatina e goma arábica	Kim, Nam, Bae, 2017
Capsaicina	Gelatina e acácia	Jincheng, Xiaoyu, Sihao, 2010
Capsaicina	Quitosana e carboximetilquitosana	Cui <i>et al.</i> , 2022
Carvacrol	Isolado de proteína de soro de leite (WPI) e pectina de alto metoxil (HMP)	Guo <i>et al.</i> , 2022
Carvacrol	Lactoferrina e $\beta$ -lactoglobulina	Nehme <i>et al.</i> , 2025
Carvacrol	Isolado de proteína de farinha de noz (WMPI) e goma arábica (GA)	Sun <i>et al.</i> , 2022

**Fonte: Autoria própria (2025)**

Kim, Nam e Bae (2017) avaliaram as propriedades físico-químicas e sensoriais do queijo Gouda suplementado com microcápsulas de capsaicina. Os autores relatam a obtenção de partículas com diâmetros de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  com formato esférico regular e superfície lisa. Já no estudo de Sun *et al.* (2022) microcápsulas contendo carvacrol por meio do método de coacervação complexa, foram preparadas, caracterizadas e avaliadas quanto à sua atividade biofuncional, resultando em partículas com tamanho médio de 43,2  $\mu\text{m}$  e eficiência de encapsulamento de 89,87%. Esses resultados evidenciam a eficácia da coacervação complexa como técnica de microencapsulação para os compostos em estudo.

A microencapsulação de compostos bioativos tem sido amplamente estudada como uma estratégia para aumentar a estabilidade e bioatividade (Quero *et al.*, 2021). O carvacrol e a capsaicina são compostos fenólicos com atividade antimicrobiana e antioxidante comprovada como citado anteriormente nos itens 3.1 e 3.2. No entanto, a aplicação conjunta desses compostos microencapsulados ainda não foi explorada na literatura. Assim, este estudo busca propor uma abordagem inovadora para substituir conservantes sintéticos por ativos naturais avaliando sua combinação, garantindo maior segurança e estabilidade oxidativa aos alimentos.

Além disso, a técnica de microencapsulação por coacervação complexa se destaca como uma das mais eficientes para a incorporação de compostos hidrofóbicos, como é o caso da capsaicina e do carvacrol (Muhoza *et al.*, 2022). Essa eficácia está relacionada à formação de regiões hidrofóbicas dentro da matriz encapsulante, capazes de capturar e reter esses compostos com elevado grau de proteção (Muhoza *et al.*, 2019). Esse método resulta em um material em pó com baixa quantidade de óleo superficial, favorecendo a formação de uma membrana interfacial espessa que contribui para maior estabilidade frente à oxidação.

A lecitina de soja foi um composto empregado no núcleo das microcápsulas, pois atua como agente emulsificante capaz de promover a dispersão e a estabilização de compostos lipofílicos como a capsaicina e o carvacrol. Sua ação está relacionada à natureza molecular, que apresenta uma porção lipofílica, composta por cadeias de ácidos graxos, e uma porção hidrofílica, representada por grupos fosfatos. Essa dualidade permite à lecitina reduzir a tensão interfacial entre fases imiscíveis, favorecendo a formação de emulsões estáveis e, conseqüentemente, o encapsulamento eficiente da capsaicina (Xue e Zhong, 2014).

### **3.5 Produtos cárneos**

O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) conceitua as carnes como “as massas musculares e os demais tecidos que as acompanham, incluída ou não a base óssea correspondente, procedentes das diferentes espécies animais, julgadas aptas para o consumo pela inspeção veterinária oficial”. De acordo com a literatura, a definição de carne abrange não apenas os produtos in natura, mas também os produtos processados, conhecidos como produtos cárneos (Brasil, 2017).

Os alimentos cárneos processados passam por transformações físicas ou químicas que visam aumentar sua aceitação pelo consumidor e ampliar o tempo de conservação. Entre esses produtos, o hambúrguer se destaca, pois tornou-se parte do padrão alimentar dos brasileiros. Uma pesquisa publicada em 2019 mostrou que 68,7% dos participantes afirmaram consumir hambúrguer com frequência (Vessoni; Piaia; Bernardi, 2019). Segundo o RIISPOA hambúrguer é “o produto cárneo obtido de carne moída das diferentes espécies animais, com adição ou não de ingredientes,

moldado na forma de disco ou na forma oval e submetido a processo tecnológico específico” (Brasil, 2017).

Os hambúrgueres de carne bovina apresentam características físico-químicas essenciais para assegurar sua qualidade e segurança microbiológica. O pH típico varia entre 5,3 e 5,9 (Dilek, 2025), enquanto a atividade de água situa-se entre 0,96 e 0,98 (Nascimento, 2025), condições que influenciam diretamente a estabilidade do produto e o crescimento microbiano. A contagem bacteriana total deve permanecer inferior a  $10^5$ – $10^6$  UFC/g (El-Hawary, 2025), garantindo conformidade com padrões sanitários e prolongando a vida útil. Quanto aos atributos de cor, parâmetros instrumentais indicam valores de luminosidade ( $L^*$ ) entre 39 e 56 e intensidade de vermelho ( $a^*$ ) entre 14,5 e 44, sendo que o  $a^*$  acima de 14,5 é relevante por conferir ao hambúrguer a aparência vermelha característica (Dilek, 2025), associada à sua qualidade e aceitabilidade sensorial. Esses valores em conjunto refletem um produto com boa estabilidade, segurança e atributos visuais desejáveis ao consumidor.

As carnes são uma boa fonte de nutrientes, como proteínas de alta qualidade, ácidos graxos e vários micronutrientes, incluindo ferro, zinco, selênio, vitamina D e B12 (Salter, 2018). Além de possuir uma composição complexa, rica em lipídios saturados e insaturados, pigmentos e outros componentes que apresentam alta suscetibilidade às reações de oxidação (Lorenzo *et al.*, 2019). Essas reações são intensificadas por processos como corte, moagem e trituração, na qual rompem as membranas musculares, expondo os ácidos graxos insaturados a substâncias pró-oxidantes, como o ferro liberado da proteína heme (Pereira *et al.*, 2017).

No estudo realizado por Eskander e Taher (2023) que avaliou o óleo de semente de pimentão doce (*Capsicum annuum* L.) aplicado em hambúrgueres bovinos, os resultados indicaram uma redução significativa na oxidação lipídica ao longo de dez dias de armazenamento refrigerado, sem alterações sensoriais significativas. Esses resultados reforçam a aplicação de compostos bioativos na conservação de produtos cárneos. A incorporação desses compostos não apenas potencializa a atividade antimicrobiana e antioxidante, mas também contribui para a melhoria da estabilidade oxidativa e microbiológica, promovendo alternativas naturais aos conservantes sintéticos.

### 3.5.1 Oxidação lipídica

Os lipídios desempenham um papel importante na qualidade dos produtos cárneos, influenciando diretamente suas propriedades organolépticas, como textura, aroma, sabor e cor. No entanto, durante o processamento e o armazenamento, os lipídios podem sofrer oxidação, resultando na perda de valor nutricional e na formação de off-flavors (Pereira *et al.*, 2017).

A oxidação é um dos maiores desafios enfrentados pela indústria de alimentos no que diz respeito ao aumento da vida útil de produtos cárneos (Ribeiro *et al.*, 2019). Neste contexto, a oxidação lipídica refere-se a reações químicas em que os ácidos graxos insaturados reagem com o oxigênio, resultando na formação de compostos como aldeídos, cetonas, álcoois, furanos, hidrocarbonetos e ácidos, na qual são responsáveis pela rancidez oxidativa de alimentos deteriorados, comprometendo sua qualidade (Fennema; Damodaran; Parkin, 2010; Sainsbury *et al.*, 2016). Esse processo é considerado autocatalítico, pois os produtos formados nas etapas iniciais podem acelerar a reação ao atuarem como catalisadores (Borges *et al.*, 2011).

Ainda, a oxidação lipídica é um fenômeno que impacta diretamente no valor comercial, na qualidade, na aceitação e na estabilidade da carne e de seus derivados, exigindo estratégias eficazes para sua prevenção. Uma das abordagens mais comuns é a utilização de compostos antioxidantes, que atuam para inibir ou retardar esse processo oxidativo (Bhat *et al.*, 2024).

### 3.5.2 Antioxidantes naturais e sintéticos

Nos últimos anos, os hábitos alimentares da população mudaram significativamente, influenciados por fatores como urbanização, industrialização, redução do tempo disponível para o preparo e consumo de alimentos, além da crescente demanda por produtos práticos e de rápido preparo. Nesse contexto, o hambúrguer ganhou popularidade por sua praticidade, atendendo às demandas do estilo de vida moderno, especialmente nos grandes centros urbanos (Mendonça, 2023).

Após a pandemia, os consumidores têm demonstrado maior preocupação com a saúde, o que tem influenciado suas escolhas, priorizando alimentos funcionais e opções mais saudáveis (Nguyen *et al.*, 2022). Nesse cenário, a indústria tem

adotado estratégias focadas na reformulação de produtos, com a incorporação de ingredientes benéficos à saúde e a redução de componentes sintéticos (Paglarini *et al.*, 2018).

A Instrução Normativa nº 51/2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) regulamenta o uso de antioxidantes em produtos cárneos, determinando um limite máximo de 0,01 g/100 g (100 ppm) de BHT ou BHA. Apesar dessa regulamentação, estudos apontam que o consumo contínuo de antioxidantes sintéticos, mesmo em quantidades permitidas, pode levar à sua acumulação no organismo ao longo da vida, representando um fator de risco para o desenvolvimento de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNTs) (Fernandes *et al.*, 2018; Pateiro *et al.*, 2018).

O uso de antioxidantes naturais pode ser considerado uma das principais estratégias para controlar e reduzir a oxidação de lipídios, proteínas, além de auxiliarem na inibição do crescimento microbiano, contribuindo para a preservação e aumento da vida útil de produtos cárneos (Hadidi *et al.*, 2022). Estudos indicam que, em alguns casos, o efeito dos antioxidantes naturais pode superar os efeitos dos antioxidantes sintéticos (Oswell; Thippareddi; Pegg, 2018).

Nesta abordagem, microcápsulas com compostos bioativos vêm sendo utilizadas para preservar produtos cárneos, melhorando sua estabilidade oxidativa e microbiológica e prolongando a vida útil. Estudos recentes analisam os efeitos da microencapsulação na conservação de produtos cárneos, considerando oxidação lipídica, contagem microbiana e qualidade sensorial. A Tabela 2 reúne algumas pesquisas que investigaram essa aplicação em hambúrguer bovino.

**Tabela 2 - Estudos recentes sobre microcápsulas contendo compostos bioativos aplicados à conservação de hambúrguer bovino**

<b>Ingredientes Ativos</b>	<b>Método de Microencapsulação</b>	<b>Principais conclusões</b>	<b>Referência</b>
Óleo essencial de tomilho ( <i>Thymus vulgaris</i> )	Secagem por atomização	Eficácia significativa contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> e potencial antioxidante.	Radünz <i>et al.</i> , 2020.
Óleo essencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> )	Secagem por atomização	Conservante eficaz, reduzindo a contagem microbiana e prolongando a vida útil durante o armazenamento refrigerado.	Mehaya <i>et al.</i> , 2024.
Óleo essencial de tomilho ( <i>Thymus vulgaris</i> )	Gelificação iônica	Melhoramento da vida útil e liberação controlada, mantendo a atividade antioxidante e antimicrobiana durante o armazenamento.	Ghaderi-Ghahfarokhi <i>et al.</i> , 2016

Ácido gálico	Coacervação complexa	Redução da oxidação e inibição de microrganismos deteriorantes durante o armazenamento.	Asghari-Varzaneh <i>et al.</i> , 2024
Óleo de fígado de bacalhau	Gelificação iônica	Alta estabilidade, redução da oxidação e boa aceitação sensorial sem o sabor indesejado do óleo.	Morsy e Elsabagh, 2021
Bagaço de uva processado ( <i>Vitis labrusca. Isabella Var</i> )	Liofilização	Melhoramento da estabilidade oxidativa e maior estabilidade na cor dos hambúrgueres.	Dos Santos Silva <i>et al.</i> , 2022.

**Fonte: Autoria própria (2025)**

Nos estudos descritos por Mehaya *et al.* (2024) e Radünz *et al.* (2020), foram microencapsulados os óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* respectivamente, ambos compostos majoritariamente por carvacrol. Os autores atribuíram a atividade antimicrobiana a esse composto, na qual foi responsável por alterar a permeabilidade da membrana celular, mantendo a qualidade microbiológica e prolonga a vida útil, bem como melhora as propriedades organolépticas da durante o armazenamento.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

A infraestrutura, bem como os materiais, equipamentos e reagentes necessários para a execução das análises descritas neste trabalho foram disponibilizados pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Francisco Beltrão (UTFPR-FB) e parte dos recursos financeiros foram oriundos da aprovação em edital misto celebrado entre a Unidade Mista de Pesquisa e Transferência de Tecnologia (UMIPTT)/Embrapa e UTFPR-FB.

As microcápsulas foram liofilizadas no Laboratório Central Analítica Multiusuário (CEANMED) da UTFPR - Medianeira. As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas no Laboratório Multiusuário (LabMult) da UTFPR - Londrina. As análises de infravermelho com transformada de Fourier foram feitas no Laboratório Central Analítica Multiusuário (CAMulti) da UTFPR - Campo Mourão.

Para os ensaios antibacterianos foram utilizadas cepas padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028). Os compostos em estudo foram a capsaicina (96,54% de pureza) adquirida da Global Merchants e o carvacrol (98% de pureza) da (Sigma-Aldrich, Estados Unidos). Como reagentes foi utilizado a ampicilina (Sigma-Aldrich, Estados Unidos), e o meio de cultura caldo Mueller Hinton (MHI) (Himedia, Índia). As análises foram conduzidas no laboratório de microbiologia da UTFPR-FB.

Os reagentes utilizados para a avaliação da atividade antioxidante e da estabilidade oxidativa foram o DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, ácido tricloroacético e 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (Sigma-Aldrich, Estados Unidos), álcool etílico absoluto (Vetec, Brasil), água deionizada e persulfato de potássio (Vetec, Brasil). Para a preparação das microcápsulas foi utilizado a gelatina do tipo A (Gelita, Brasil), goma arábica (Dinâmica, Brasil), Miglyol ® 812 (Sasol, Alemanha) e lecitina (Thermo Scientific, Holanda).

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

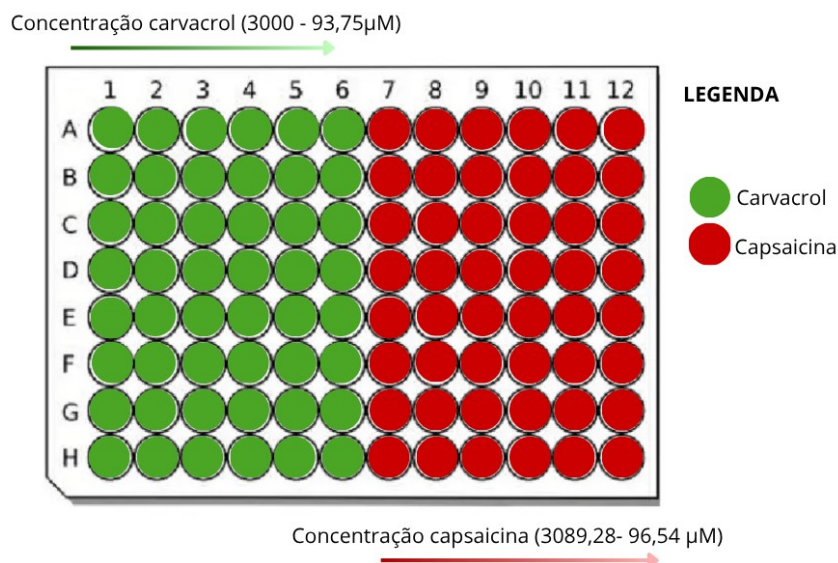
A CIM foi determinada por meio da técnica de microdiluição em caldo descrito por Fieira *et al.* (2013) com adaptações em microplaca de 96 poços frente às cepas de *S. aureus*; *E. coli* e *Salmonella Typhimurium*. As soluções-estoque da capsaicina e do carvacrol foram preparadas em acetona e em etanol, respectivamente, nas concentrações de 31 mM e 30 mM. Diluições seriadas dos compostos foram realizadas em água estéril e as concentrações estudadas foram 31–0,96 mM para a capsaicina e 31–0,05 mM para o carvacrol. Posteriormente, nos poços contendo capsaicina, foi adicionada uma solução de 2% (v/v) DMSO em água estéril. A ampicilina (100 µM) foi diluída em água destilada estéril e as concentrações avaliadas variaram de 100 a 0,19 µM. Os ensaios para os compostos isolados e combinados foram realizados em duplicata.

#### 4.2.1.1 CIM dos compostos puros

A partir das soluções estoques foi realizada a montagem da microplaca de 96 poços de fundo chato estéril, disposta em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H), conforme apresentado na Figura 4. As colunas 1 a 6 foram destinadas à diluição seriada do carvacrol, com concentrações variando de 3000 a 5,89 µM, enquanto as colunas 7 a 12 foram utilizadas para a diluição da capsaicina, na faixa de 3089,28 a 96,84 µM. O gradiente de concentração foi disposto de forma decrescente.

Poços contendo compostos controle conforme descrito no item 4.2.1.2 foram incluídos apenas nas placas referente a análise dos compostos isolados, sendo estes controles: controle positivo de crescimento (água + inóculo), controle de esterilidade do meio (caldo MHI), controles de solventes e controle com antibiótico. Para os ensaios, cada poço recebeu 10 µL da solução do composto e 90 µL da suspensão bacteriana padronizada e diluída a  $10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

**Figura 4 - Montagem da microplaca para determinação da CIM dos compostos puros**



Fonte: Autoria própria (2025)

Após a montagem, a microplaca foi incubada a 37 °C por 24 horas sob agitação constante de 190 rpm em agitador orbital (shaker). Em seguida, os poços que apresentaram inibição do crescimento microbiano, ou seja, que não apresentavam turbidez, foram estriados em ágar Müeller-Hinton com auxílio de uma alça descartável estéril de 1  $\mu$ L e incubados a 37 °C por 24 horas em modo estático para determinação da concentração bactericida mínima (CBM).

Posteriormente ao estriamento, aplicou-se um método colorimétrico como indicador de crescimento microbiano na microplaca de 96 poços para confirmação da CIM. Para isso, foram adicionados 30  $\mu$ L da solução de resazurina (0,01%) em cada poço, e as placas foram reencubadas por 2 horas a 37 °C sob agitação constante de 190 rpm em agitador orbital (shaker). Assim, a coloração azul no poço indica ausência de crescimento (atividade inibitória), enquanto a coloração rosa indica crescimento bacteriano, confirmando a CIM inicial. O poço que manteve a coloração azul na menor concentração testada foi considerado a concentração inibitória mínima (CIM (Silva *et al.*, 2018).

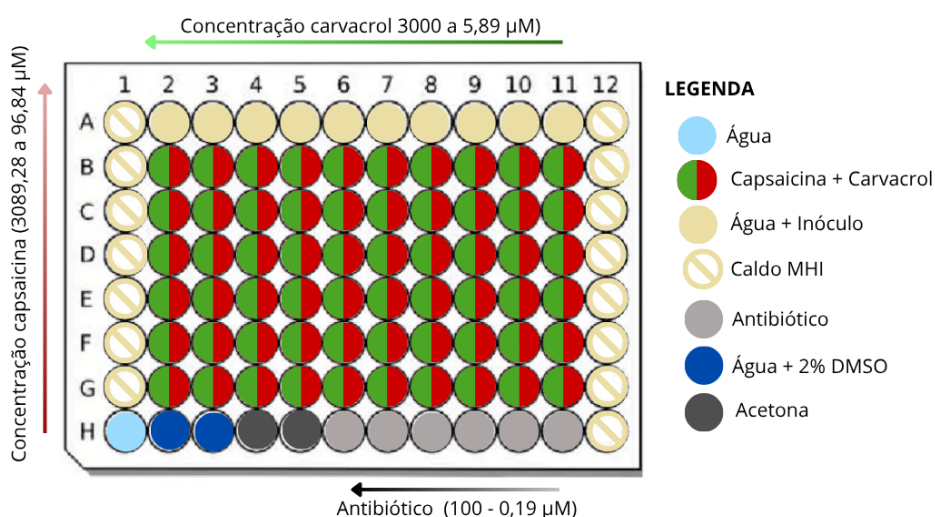
#### 4.2.1.2 CIM dos compostos combinados

O potencial sinérgico do carvacrol e da capsaicina na expressão da atividade antibacteriana foi avaliado em diferentes combinações de concentrações desses compostos, utilizando a técnica de diluição seriada descrita no item 4.2.1. As concentrações de carvacrol (5,89 a 3000  $\mu$ M) foram distribuídas horizontalmente nas

colunas da microplaca (1 a 12), enquanto as concentrações de capsaicina (96,84 a 3089,28  $\mu\text{M}$ ) foram dispostas verticalmente nas linhas (A a H), conforme representado na Figura 5.

Em cada poço foram adicionados 10  $\mu\text{L}$  de carvacrol, 10  $\mu\text{L}$  de capsaicina e 80  $\mu\text{L}$  do inóculo bacteriano. Os controles foram aplicados da seguinte forma: o controle positivo foi composto por 10  $\mu\text{L}$  de ampicilina e 90  $\mu\text{L}$  do inóculo bacteriano; o controle de solvente, por 20  $\mu\text{L}$  da solução de água com 2% de DMSO e 80  $\mu\text{L}$  do inóculo bacteriano; e o controle negativo 100  $\mu\text{L}$  de caldo Müeller-Hinton estéril, sem adição de inóculo e 100  $\mu\text{L}$  de água estéril para controle de esterilidade.

**Figura 5 - Montagem da microplaca para determinação da CIM dos compostos combinados**



Fonte: Autoria própria (2025)

Após a montagem, a microplaca foi incubada a 37 °C por 24 horas sob agitação constante a 190 rpm em *shaker*. A identificação da CIM e da CBM foi realizada conforme a determinação para os compostos puros descrito no item 4.2.1.1. Para classificar qualitativamente o efeito, foi utilizada a metodologia proposta por Ouedrhiri *et al.* (2017) empregando a Equação 1:

$$\Sigma FICI = FIC(A) + FIC(B) \quad (1)$$

$$\text{Onde: } FIC(A) = \frac{MIC(A) \text{ em combinação}}{MIC(A) \text{ sozinho}} \text{ e } FIC(B) = \frac{MIC(B) \text{ em combinação}}{MIC(B) \text{ sozinho}}.$$

Quando os valores de  $\Sigma FICI$  forem:  $\leq 0,5$  = sinergismo;  $0,5 - 0,75$  = sinergismo parcial;  $0,76 - 1,0$  = aditivo;  $1,0 - 4,0$  indiferente (não-interativo) e  $> 4,0$  = antagonismo (Ouedrhiri *et al.*, 2017).

### 4.3 Determinação da capacidade antioxidante

#### 4.3.1 Método do sequestro de radicais livres DPPH

A capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil foi realizada conforme adaptação da metodologia descrita por Sousa *et al.* (2007). Foi preparado soluções estoques de carvacrol e capsaicina em etanol absoluto na concentração de 0,025 g.mL<sup>-1</sup>. Em seguida, preparou-se diluições sucessivas em etanol 99,9% nas concentrações de (100; 200; 400 e 800 µg.mL<sup>-1</sup>) e (2000, 3000, 4000, 5000, 6000 µg.mL<sup>-1</sup>) para a capsaicina e carvacrol, respectivamente. Alíquotas de 0,5 mL de cada diluição foram adicionadas a 4,5 mL da solução de DPPH em etanol e incubadas em repouso e ao abrigo da luz por 1 hora. As leituras de absorvância foram realizadas a um comprimento de onda de 515 nm em triplicata.

A porcentagem de inibição do radical foi calculada a partir da Equação 2 de Rufino *et al* (2007), onde Abs controle é a absorvância do controle em t = 0 min e Abs amostra é a absorvância do antioxidante em t = 1 h:

$$Inibição (\%) = \frac{(Abs_{controle} - Abs_{amostra})}{Abs_{controle}} * 100 \quad (2)$$

A partir dos valores de percentual de inibição foi plotado gráfico da porcentagem de inibição em função da concentração da diluição e através da regressão linear foi calculada a concentração inibitória IC<sub>50</sub> (µg/mL), valor que estima a concentração de antioxidante necessária para inibir 50% do radical DPPH.

#### 4.3.2 Método do sequestro de radicais livres ABTS<sup>•+</sup>

A determinação da capacidade antioxidante de sequestro de radicais (ABTS<sup>•+</sup>) foi realizada utilizando o método descrito por Rufino *et al.* (2007), com adaptações. O radical ABTS<sup>•+</sup> foi obtido a partir de uma solução estoque de ABTS e uma solução de persulfato de potássio, sendo a mistura reacional pré-incubada no escuro por 16 horas. Ajustou-se a solução de ABTS<sup>•+</sup> para uma absorvância de 0,70 ± 0,05 a 734 nm em espectrofotômetro, por meio de diluição em etanol absoluto.

Foi preparado soluções estoques de carvacrol e capsaicina em etanol absoluto na concentração de 0,0025 g.mL<sup>-1</sup>. Em seguida, preparou-se diluições

sucessivas em etanol 99,9% nas concentrações de (156,25; 312,5; 625; 1250  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e (312,5; 625; 1250; 1875; 2500  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) para a capsaicina e carvacrol, respectivamente. Em seguida, alíquotas de 40  $\mu\text{L}$  da amostra diluída foram misturadas a 4 mL da solução diluída de ABTS. A mistura reacional foi incubada por 6 minutos à temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 734 nm. A porcentagem de inibição do radical ABTS<sup>•+</sup> foi calculada conforme procedimento descrito no item 4.3.1.

#### 4.4 Produção das microcápsulas

A gelatina e a goma arábica na concentração de 2,5% (m/v) foram solubilizadas separadamente em 250 mL de água destilada estéril e mantidas sob agitação magnética branda à temperatura ambiente por 24 horas. Após, separadamente foram aquecidas a 50 °C em banho-maria sob agitação constante por 20 minutos, conforme ilustrado na Figura 6.

**Figura 6 - Gelificação parcial dos polímeros: gelatina e goma arábica, respectivamente**



Fonte: Autoria própria (2025)

As concentrações dos compostos ativos foram estabelecidas a partir dos valores de CIM, utilizando-se carvacrol (14,70 mM) e capsaicina (7,72 mM). Para a formulação das microcápsulas contendo compostos ativos (MC), foi preparada uma microemulsão composta por 0,012 g de capsaicina, 0,011 g de carvacrol, 0,52 g de lecitina de soja como surfactante e 2,5 g de Miglyol® 812 compondo estes a fase oleosa e a solução de gelatina como fase aquosa. A fase oleosa foi adicionada sob agitação magnética a solução de gelatina a 50 °C por 10 min e em seguida homogeneizada usando homogeneizador modelo D-500 (Dragon Lab), em 24.000 rpm

por 2 minutos. Para a formulação das microcápsulas brancas (MB) foi preparado uma solução contendo Miglyol ® 812 e lecitina de soja nas mesmas quantidades de MC.

A emulsão obtida foi adicionada a 400 mL de água destilada a 50 °C sob agitação magnética constante e em seguida foi adicionado à solução de goma arábica a 50 °C. A dispersão resultante foi mantida sob agitação branda e o pH da mistura foi ajustado para 4,0 com auxílio da solução de ácido clorídrico 0,1 mol·L<sup>-1</sup>.

As partículas formadas foram resfriadas gradualmente até 30 °C e, posteriormente, submetidas a imersão em banho de gelo até atingirem 4 °C, favorecendo a solidificação das microcápsulas. Por fim, as microcápsulas foram submetidas a lavagem por substituição de água, congelamento e liofilização em liofilizador de bancada L-101 (LIOTOP, Brasil).

## 4.5 Caracterização das microcápsulas

### 4.5.1 Microscopia óptica

Para avaliação da morfologia, as microcápsulas MB e MC foram analisadas por microscopia óptica. Para isso, duas gotas da suspensão foram depositadas diretamente sobre uma lâmina de vidro e observadas em microscópio óptico DM500(LEICA, Alemanha), utilizando objetivas de 4X e 10X.

### 4.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada para avaliar a morfologia das microcápsulas usando o microscópio Tescan Vega com uma voltagem de aceleração de 20 kV com ampliação de 160, 1000 e 3000 vezes.

### 4.5.3 Diâmetro médio e índice de polidispersão

O diâmetro médio das microcápsulas foi calculado com base nas imagens de MEV, analisadas no software *ImageJ*, considerando 100 microcápsulas. E o índice de polidispersão (IPD) foi obtido a partir da Equação 3:

$$IPD = \frac{\sigma^2}{D^2} \quad (3)$$

Onde:  $\sigma$  – desvio padrão das medidas de diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ );

D – Diâmetro médio das microcápsulas ( $\mu\text{m}$ ).

#### 4.5.4 Espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR)

A análise de Espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada para caracterizar as interações químicas e identificar grupos funcionais presentes nas microcápsulas. A espectroscopia foi realizada utilizando o espectrofotômetro Frontier (Perkin Elmer, Estados Unidos). Foram realizadas 32 varreduras com uma resolução de  $2\text{ cm}^{-1}$  na faixa espectral entre  $4000$  e  $400\text{ cm}^{-1}$ , pelo método de pastilha de brometo de potássio (KBr).

#### 4.5.5 Determinação da capacidade antioxidante

Para a determinação da capacidade antioxidante,  $50\text{ mg}$  das microcápsulas foram adicionados a  $1,25\text{ mL}$  da solução de DPPH $^{\bullet}$ , em triplicata, e homogeneizados. As amostras foram incubadas em ambiente escuro, e as leituras de absorvância a  $515\text{ nm}$  foram realizadas após  $4$  horas de incubação, conforme o método descrito por Berraaouan *et al.* (2023), com adaptações. A porcentagem de atividade antioxidante foi então calculada de acordo com a Equação 2 do tópico 4.3.1.

#### 4.5.6 Cromatografia líquida de alta eficiência para confirmação dos compostos ativos encapsulados

Previamente, os compostos bioativos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência para avaliação do grau de pureza. As análises foram realizadas em cromatógrafo Thermo Scientific Dionex U300, equipado com coluna de fase reversa Vydac 218 TP C18 ( $0,45 \times 25,0\text{ cm}$ ,  $5\text{ }\mu\text{m}$ ,  $300\text{ \AA}$ ). Foi utilizado como fase móvel o solvente A ( $0,1\%$  de TFA em água) e o solvente B ( $90\%$  de acetonitrila em água), com gradiente linear de  $5$  a  $95\%$  de B em  $30$  minutos, fluxo de  $1\text{ mL/min}$  e detecção em  $210\text{ nm}$ .

Para a análise das microcápsulas, a extração dos compostos ativos seguiu protocolo descrito por Idham, Muhamad e Sarmidi (2012), com adaptações.  $0,2\text{ g}$  de microcápsulas foram homogeneizadas com  $1,0\text{ mL}$  de água destilada a  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  trituradas em almofariz, e agitadas por  $30$  minutos para romper a parede polimérica e liberar os compostos. Em seguida, foi adicionado  $4,0\text{ mL}$  de etanol absoluto e

centrifugado a 4000 rpm por 5 minutos a 20 °C. 20 µL do sobrenadante previamente filtrado foi injetado no cromatógrafo líquido nas mesmas condições de análise empregadas para os compostos puros.

#### 4.6 Avaliação da vida útil de hambúrguer de carne bovina com adição de microcápsulas de capsaicina e carvacrol sob armazenamento refrigerado

##### 4.6.1 Produção dos hambúrgueres

Três formulações de hambúrguer foram desenvolvidas para o experimento, conforme descrito na Tabela 3. A formulação F0 foi utilizada como controle, sem adição de microcápsulas. Na formulação F1, adicionou-se 1% (m/m), em relação à quantidade de carne, de microcápsulas sem material ativo, sendo considerado o controle negativo. Já na formulação F2, incorporou-se 1% (m/m) de microcápsulas contendo capsaicina e carvacrol, caracterizando a formulação com compostos bioativos.

A quantidade de microcápsulas incorporada às formulações foi definida com base no estudo de Mehaya *et al.* (2024). Nesse trabalho, óleo essencial de orégano foi microencapsulado e aplicado em hambúrgueres de carne bovina para avaliar sua eficácia como conservante. Foram testadas quantidades de 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0% (m/m), sendo que a adição de 1% apresentou os melhores resultados, justificando a escolha desse nível para o presente experimento.

**Tabela 3 - Composição das formulações de hambúrgueres**

Ingredientes (g)	Formulações		
	F0	F1	F2
Carne bovina	90	90	90
Sal	1,5	1,5	1,5
Água gelada	8,5	8,5	8,5
Microcápsulas sem compostos ativos	-	1	-
Microcápsulas com compostos ativos	-	-	1

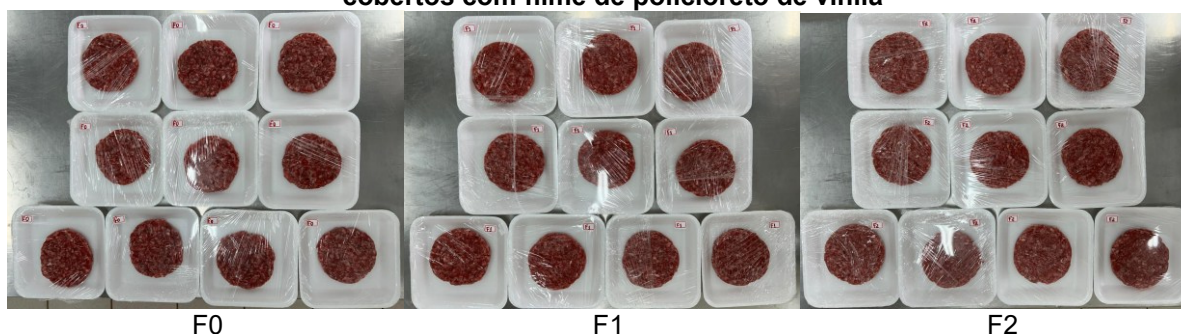
**Legenda: F0: formulação controle; F1: formulação com adição de microcápsulas brancas; F2: formulação com adição de microcápsulas de capsaicina e carvacrol.**

**Fonte: Autoria Própria (2025)**

A carne bovina proveniente do corte de músculo, foi adquirida já moída no comércio da cidade de Francisco Beltrão-PR. A produção dos hambúrgueres foi realizada no Laboratório de Carnes da UTFPR no campus de Francisco Beltrão. Para

a elaboração das formulações de hambúrguer, os ingredientes foram pesados conforme cada tratamento. Em seguida, foi realizada a mistura manual de todos os ingredientes até completa homogeneização. Os hambúrgueres foram então pesados, moldados e acondicionados individualmente em bandejas de poliestireno (150 x 150 x 18 mm), cobertos com filme de policloreto de vinila (PVC) (Figura 7). Foram produzidas 10 unidades de hambúrguer para cada formulação com peso padronizado de 60 g. As amostras foram analisadas nos dias 0, 4, 8 e 16 de armazenamento sob refrigeração a  $6 \pm 2$  °C.

**Figura 7 - Hambúrgueres acondicionados individualmente em bandejas de poliestireno cobertos com filme de policloreto de vinila**



Fonte: Autoria Própria (2025)

#### 4.6.2 Caracterização físico-química do hambúrguer

As avaliações da atividade de água ( $A_w$ ), pH e cor foram realizadas nos dias 0, 4, 8 e 16 de armazenamento. A  $A_w$  foi mensurada utilizando o aparelho LabTouch-aw (Novasina, Suíça). A determinação do pH foi realizada utilizando pHmetro digital portátil (Testo, Germany), misturando-se 10 g de hambúrguer com 75 mL de água destilada e homogeneizando-se por 1 min. A cor foi determinada pela escala de cores internacional (CIE - Commission Internationale de l'Éclairage) e foi realizada em 5 pontos aleatórios da superfície dos hambúrgueres utilizando um colorímetro digital (modelo CR400/410, Konica Minolta, Japan), avaliando os parâmetros  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (intensidade da cor vermelha/verde),  $b^*$  (intensidade da cor amarela/azul) e  $\Delta E$  que mede a diferença entre duas cores e indica a percepção pelo olho humano.

#### 4.6.3 Avaliação da estabilidade oxidativa dos hambúrgueres: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A análise foi realizada conforme metodologia adaptada de Raharjo, Sofos e Schmidt (1992). Para determinar o índice de ácido tiobarbitúrico (TBA), foram pesadas 10 g das amostras de hambúrgueres, às quais foram adicionados 40 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) a 5% e 1 mL de solução de butil hidroxitolueno (BHT) a 0,15%. A mistura foi agitada por 1 minuto e, em seguida, filtrada em papel de filtro. O filtrado foi transferido para um balão volumétrico e o volume ajustado para 50 mL com solução de TCA a 5%. Dessa solução, foram retiradas alíquotas de 5 mL para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 5 mL de solução de TBA 0,02 M em ácido acético 50%.

Os tubos foram homogeneizados e submetidos ao banho-maria em 100°C por 40 minutos, na sequência foi feito o resfriamento das amostras em banho de gelo por 3 minutos. A leitura da absorção foi realizada em espectrofotômetro a 532 nm, utilizando como branco uma mistura de 5 mL de solução de TCA a 5% e 5 mL de solução de TBA 0,02 M em ácido acético 50%. Os resultados foram expressos em mg de malonaldeído/kg de amostra, obtidos a partir da curva analítica com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP). As análises foram realizadas em triplicata e nos dias 0, 4, 8 e 16 de armazenamento.

#### 4.6.4 Análises microbiológicas

As amostras de hambúrguer foram avaliadas quanto à contagem de bactérias aeróbias totais utilizando placas Petrifilm™ AC (Agar para Contagem Total) seguindo as recomendações do fabricante e o método recomendado pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists). As análises foram realizadas nos dias 0, 4, 8 e 16 de armazenamento.

Foram pesados e diluídos 10 g da amostra em 90 mL de solução de peptona tamponada a 1% e homogeneizados por 60 segundos. A partir dessa solução, foram preparadas diluições decimais seriadas e inoculadas 1 mL em placas Petrifilm™. As placas foram incubadas a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  por  $48 \pm 2$  horas. Após a incubação, as contagens foram calculadas em escalas logarítmicas (log UFC/g).

#### **4.7 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) utilizando o teste de Tukey com 95% de confiança através do software R 3.3.0 (R Core Team, 2016).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Atividade antibacteriana dos compostos puros

A determinação da atividade antibacteriana dos compostos puros foi realizada por meio das análises de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), parâmetros que indicam, respectivamente, a menor concentração necessária para inibir o crescimento microbiano e para promover sua eliminação total (Rodríguez-Melcón *et al.*, 2021). Durante os testes preliminares, foi observado que havia uma influência dos solventes utilizados na solubilização dos compostos sobre o crescimento bacteriano (Chapaval *et al.*, 2018). O DMSO a 10% apresentou efeito inibitório, interferindo no ensaio antimicrobiano. Foram então testadas concentrações menores de DMSO (2%, 5% e 10%) e misturas com acetona. Embora a acetona não tenha causado inibição, sua rápida evaporação não mantinha os compostos em solução na placa de 96 poços usadas na análise. Como alternativa, após a aplicação da solução em acetona, foi adicionada uma alíquota de 10  $\mu$ L de DMSO 2% nos poços que continham o composto ativo, o que garantiu a solubilização da capsaicina ou do carvacrol sem afetar o crescimento microbiano.

A atividade antibacteriana do carvacrol e da capsaicina foi avaliada utilizando o método de microdiluição em placa de 96 poços com diluições seriadas em fator 2. Neste caso, para confirmação da ausência de crescimento celular a análise antibacteriana foi conduzida usando resazurina, um composto amplamente utilizado como indicador de viabilidade celular. Em sua forma oxidada, a resazurina apresentava coloração azul, sendo reduzida a resorufina e rosa na presença de células metabolicamente ativas (Silva *et al.*, 2018). Essa mudança de cor permitiu identificar os poços onde houve crescimento e inibição microbiana, o poço que manteve a coloração azul na menor concentração testada foi considerado CIM. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Atividade antibacteriana carvacrol e capsaicina puros ( $\mu\text{M}$ )

Micro-organismos		Capsaicina	Carvacrol	Ampicilina
<i>Escherichia coli</i>	CIM	772,32	1500	2,5
	CBM	> 3089,28	1500	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	CIM	>3089,28	1500	0,625
	CBM	>3089,28	1500	0,625
<i>Salmonella Typhimurium</i>	CIM	>3089,28	1500	2,5
	CBM	>3089,28	1500	5

Fonte: Autoria Própria (2025)

O carvacrol apresentou ação inibitória e bactericida contra todas as cepas analisadas, com CIM e CBM iguais (221  $\mu\text{g/mL}$  ou 0,22  $\text{mg/mL}$ ). De acordo com Duarte *et al.* (2006), um óleo essencial com valor de MIC de até 0,5  $\text{mg/mL}$  é considerado um potente agente antimicrobiano, o que permite classificar o carvacrol como uma substância com forte atividade antimicrobiana frente às cepas avaliadas.

Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura, na qual apresenta a atividade antimicrobiana do carvacrol frente a diversos microrganismos. Para *Escherichia coli*, Asadi *et al.* (2023) relataram CIM e CBM de 250  $\mu\text{g/mL}$ , já Du *et al.* (2015) relataram 375  $\mu\text{g/mL}$  para *Salmonella* spp e para *E.coli* no mesmo estudo. Já Kim *et al.* (1995) e Miladi *et al.* (2016) identificaram CIMs entre 250 e 312  $\mu\text{g/mL}$  para *Salmonella Typhimurium*. Para *Staphylococcus aureus*, Guarda *et al.* (2011) e Shi *et al.* (2017) descreveram CIMs variando de 200 a 250  $\mu\text{g/mL}$ , o que está de acordo com os valores obtidos neste trabalho, considerando as diferenças metodológicas empregadas. As variações entre os resultados podem ser atribuídas a fatores como o método utilizado, as condições experimentais e as cepas testadas (Bertini *et al.*, 2005).

Diferentemente do carvacrol, que apresentou atividade antimicrobiana frente a todas as cepas testadas, a capsaicina demonstrou ação limitada, inibindo apenas *Escherichia coli* (CIM = 236  $\mu\text{g/mL}$  ou 0,24  $\text{mg/mL}$ ). A literatura também descreve variabilidade na atividade antimicrobiana da capsaicina, sugerindo que sua eficácia depende de fatores como pureza, metodologia e solubilidade. Molina-Torres, Chavez e Chavez (1999) relataram valores de CIM entre 200 e 300  $\mu\text{g/mL}$  para *E. coli* utilizando capsaicina comercial com pureza de 74,63%. Em contraste, Goci *et al.* (2021), testando a capsaicina purificada e isolada de *Capsicum annum*, reportaram valores menores (0,312–10  $\mu\text{g/mL}$ ) para *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella typhi*. Essas

diferenças podem estar associadas principalmente à baixa solubilidade da capsaicina em meio aquoso, o que dificulta sua difusão no meio de cultura e reduz o contato efetivo com as células bacterianas, impactando sua ação antimicrobiana (Nascimento, 2014).

Os resultados aqui descritos contrastam com parte da literatura, podendo ser atribuídos a diferenças na pureza do composto, a cepa bacteriana utilizada ou nas condições experimentais. Alguns estudos empregam extratos de diferentes espécies de pimenta, os quais apresentam composições químicas distintas e concentrações variáveis de capsaicina (Ferreira; Bessa; Menezes, 2021). Segundo o certificado de análises fornecido pelo fabricante, a capsaicina foi extraída dos frutos do gênero *Capsicum annuum* utilizando acetato de etila como solvente de extração. Além dos parâmetros analíticos, fatores como gênero e variedade do fruto, condições de cultivo, estágio de maturação, método de extração e tipo de solvente são apontados como determinantes para a variabilidade na distribuição de capsaicina, dihidrocapsaicina e outros capsaicinóides (Batiha *et al.*, 2020).

A presença da membrana externa rica em lipopolissacarídeos nas bactérias Gram-negativas, como *Salmonella* spp., atua como barreira à penetração de compostos hidrofóbicos como a capsaicina (Helander *et al.*, 2000). Apesar disso, a atividade frente à *E. coli* foi relevante, uma vez que bactérias Gram-negativas possuem barreiras estruturais que dificultam a penetração de agentes antimicrobianos (Kaye; Pogue, 2015; Mokhtar *et al.*, 2017).

Embora *S. aureus*, uma bactéria Gram-positiva, teoricamente apresente menor barreira estrutural, os resultados indicam que a capsaicina não foi eficaz. Estudos recentes sugerem que a capsaicina pode atuar como moduladora de resistência bacteriana, inibindo bombas de efluxo e aumentando a sensibilidade a antibióticos convencionais, embora essa ação seja mais evidente em formulações combinadas do que na aplicação isolada (Füchtbauer *et al.*, 2021).

## **5.2 Atividade antibacteriana dos compostos combinados**

Até o momento, não há registros na literatura sobre a combinação de carvacrol e capsaicina frente a microrganismos. A combinação de compostos quimicamente distintos representa uma estratégia promissora para potencializar a atividade antimicrobiana, reduzir a toxicidade de dosagens individuais e ampliar o espectro de

ação frente a microrganismos sensíveis e resistentes (Basavegowda, Baek, 2022). Essas associações podem ser classificadas como sinérgicas (interação positiva com efeito superior à soma dos compostos isolados), aditivas (efeito equivalente à soma), antagônicas (interação negativa) ou indiferentes (sem alteração em relação ao uso individual) (Ilyas *et al.*, 2019).

Para avaliar essas interações, foi utilizado o método descrito por Ouedrhiri *et al.* (2017), que consiste na combinação de diferentes concentrações dos compostos em microplacas de 96 poços, a partir dos valores de concentração inibitória mínima (CIM) previamente determinados. A partir desses dados, foi calculado o índice de concentração inibitória fracionada (FIC), permitindo a classificação da interação entre os compostos.

Os resultados para *E. coli* estão descritos na Tabela 5, é possível observar efeito antagônico nas formulações que continham maiores concentrações de capsaicina, na qual interferiu negativamente na ação do carvacrol, reduzindo sua eficácia frente à *E. coli*. Esse efeito pode estar relacionado à diferença entre as propriedades químicas e mecanismos de ação dos compostos, visto que o carvacrol é um monoterpene fenólico que atua na desestabilização da bicamada lipídica da membrana bacteriana e na dissipação do gradiente de prótons, resultando em perda de integridade celular (Ultee *et al.*, 2002). Já a capsaicina, é um alcaloide de estrutura mais apolar, atua de forma menos eficiente sobre a membrana externa lipopolissacarídica de bactérias Gram-negativas (Helander *et al.*, 2000).

**Tabela 5 - Combinação de capsaicina e carvacrol frente a *Escherichia coli***

COMBINAÇÃO	MIC ( $\mu\text{M}$ )		FIC	INTERAÇÃO
	CAPSAICINA	CARVACROL		
B2	3089,28	2940,0	6,0	Antagonismo
B3	3089,28	1470,0	5,0	Antagonismo
B4	3089,28	735,0	4,5	Antagonismo
B5	3089,28	367,5	4,3	Antagonismo
B6	3089,28	183,8	4,1	Antagonismo
B7	3089,28	91,9	4,1	Antagonismo
B8	3089,28	45,9	4,0	Antagonismo
B9	3089,28	23,0	4,0	Antagonismo

B10	3089,28	11,5	4,0	Antagonismo
B11	3089,28	5,7	4,0	Antagonismo
C2	1544,64	2940,0	4,0	Indiferente (não-interativo)
C3	1544,64	1470,0	3,0	Indiferente (não-interativo)
C4	1544,64	735,0	2,5	Indiferente (não-interativo)
C5	1544,64	367,5	2,3	Indiferente (não-interativo)
C6	1544,64	183,8	2,1	Indiferente (não-interativo)
C7	1544,64	91,9	2,1	Indiferente (não-interativo)
C8	1544,64	45,9	2,0	Indiferente (não-interativo)
C9	1544,64	23,0	2,0	Indiferente (não-interativo)
C10	1544,64	11,5	2,0	Indiferente (não-interativo)
C11	1544,64	5,7	2,0	Indiferente (não-interativo)
D2	772,32	2940,0	3,0	Indiferente (não-interativo)
D3	772,32	1470,0	2,0	Indiferente (não-interativo)
D4	772,32	735,0	1,5	Indiferente (não-interativo)
D5	772,32	367,5	1,3	Indiferente (não-interativo)
D6	772,32	183,8	1,1	Indiferente (não-interativo)
D7	772,32	91,9	1,1	Indiferente (não-interativo)
D8	772,32	45,9	1,0	Indiferente (não-interativo)
D9	772,32	23,0	1,0	Indiferente (não-interativo)
D10	772,32	11,5	1,0	Indiferente (não-interativo)
D11	772,32	5,7	1,0	Indiferente (não-interativo)
E2	386,16	2940,0	2,5	Indiferente (não-interativo)
E3	386,16	1470,0	1,5	Indiferente (não-interativo)
F2	193,08	2940,0	2,3	Indiferente (não-interativo)
F3	193,08	1470,0	1,3	Indiferente (não-interativo)
G2	96,54	2940,0	2,1	Indiferente (não-interativo)
G3	96,54	1470,0	1,1	Indiferente (não-interativo)

---

Fonte: Autoria Própria (2025)

É possível observar que as combinações em que a concentração de capsaicina foi reduzida resultaram em interações indiferentes, com valores de FIC

variando entre 1,0 e 3,0. Desta forma, observou-se que a redução da capsaicina não comprometeu a ação antimicrobiana do carvacrol, sugerindo que a presença da molécula em baixas concentrações não interfere negativamente. Embora não tenha sido observado sinergismo, a combinação manteve a atividade bacteriostática, mesmo com menor teor de capsaicina, é relevante sob o ponto de vista tecnológico, visto que permite o uso reduzido de compostos pungentes sem perda do efeito antibacteriano.

Apesar da ausência de efeito antibacteriano dos compostos isolados frente a *Salmonella* spp., a combinação foi testada para avaliar seu efeito, já que interações entre moléculas bioativas podem ampliar ou modificar sua atividade. Nas combinações testadas frente a *Salmonella* spp. (Tabela 6), foi observado apenas efeito indiferente, com valores de FIC entre 1,0 e 3,0. Mesmo com o uso de carvacrol em altas concentrações (2940  $\mu$ M), não houve potencialização da atividade antimicrobiana quando associado à capsaicina. Esse tipo de interação indica que os compostos atuam de forma independente, sem interferência positiva ou negativa entre si. Embora não tenha ocorrido sinergismo, a ausência de antagonismo é relevante, pois mantém que a eficácia individual dos compostos seja preservada.

**Tabela 6 - Combinação de capsaicina e carvacrol frente a *Salmonella* spp**

COMBINAÇÃO	MIC ( $\mu$ M)		FIC	INTERAÇÃO
	CAPSAICINA	CARVACROL		
B2	3089,28	2940,0	3,0	Indiferente (não-interativo)
C2	1544,64	2940,0	2,5	Indiferente (não-interativo)
C3	1544,64	1470,0	1,5	Indiferente (não-interativo)
D2	772,32	2940,0	2,3	Indiferente (não-interativo)
D3	772,32	1470,0	1,3	Indiferente (não-interativo)
E2	386,16	2940,0	2,1	Indiferente (não-interativo)
E3	386,16	1470,0	1,1	Indiferente (não-interativo)
F2	193,08	2940,0	2,1	Indiferente (não-interativo)
F3	193,08	1470,0	1,1	Indiferente (não-interativo)
G2	96,54	2940,0	2,0	Indiferente (não-interativo)
G3	96,54	1470,0	1,0	Indiferente (não-interativo)

**Fonte: Autoria Própria (2025)**

A limitação da resposta combinada pode estar relacionada à estrutura celular da *Salmonella* spp., uma bactéria Gram-negativa cuja membrana externa lipopolissacarídica atua como barreira à entrada de compostos hidrofóbicos. Essa característica dificulta o acesso do carvacrol à membrana citoplasmática, reduzindo seu impacto direto.

Embora os compostos isolados não tenham apresentado efeito inibitório frente a *Staphylococcus aureus*, a combinação foi avaliada devido ao fato de bactérias Gram-positivas possuírem diferenças estruturais na parede celular que podem tornar-se mais sensíveis a interações químicas, possibilitando efeitos não observados individualmente. A Tabela 7 apresenta os resultados das combinações dos compostos frente a *Staphylococcus aureus*, sendo esta a única bactéria que demonstrou efeito sinérgico em determinadas concentrações. As combinações com altas concentrações de capsaicina e carvacrol resultaram em efeitos indiferentes, enquanto interações com concentrações intermediárias e reduzidas apresentaram efeitos sinérgicos parciais, sinérgicos e aditivos.

**Tabela 7 - Combinação de capsaicina e carvacrol frente a *Staphylococcus aureus***

COMBINAÇÃO	MIC ( $\mu\text{M}$ )		FIC	INTERAÇÃO
	CAPSAICINA	CARVACROL		
B2	3089,28	2940,0	3,0	Indiferente (não-interativo)
B3	3089,28	1470,0	2,0	Indiferente (não-interativo)
B4	3089,28	735,0	1,5	Indiferente (não-interativo)
B5	3089,28	367,5	1,3	Indiferente (não-interativo)
B6	3089,28	183,8	1,1	Indiferente (não-interativo)
B7	3089,28	91,9	1,1	Indiferente (não-interativo)
B8	3089,28	45,9	1,0	Indiferente (não-interativo)
B9	3089,28	23,0	1,0	Indiferente (não-interativo)
B10	3089,28	11,5	1,0	Indiferente (não-interativo)
C2	1544,64	2940,0	2,5	Indiferente (não-interativo)
C3	1544,64	1470,0	1,5	Indiferente (não-interativo)
C4	1544,64	735,0	1,0	Aditivo
C5	1544,64	367,5	0,8	Sinergismo parcial
C6	1544,64	183,8	0,6	Sinergismo parcial

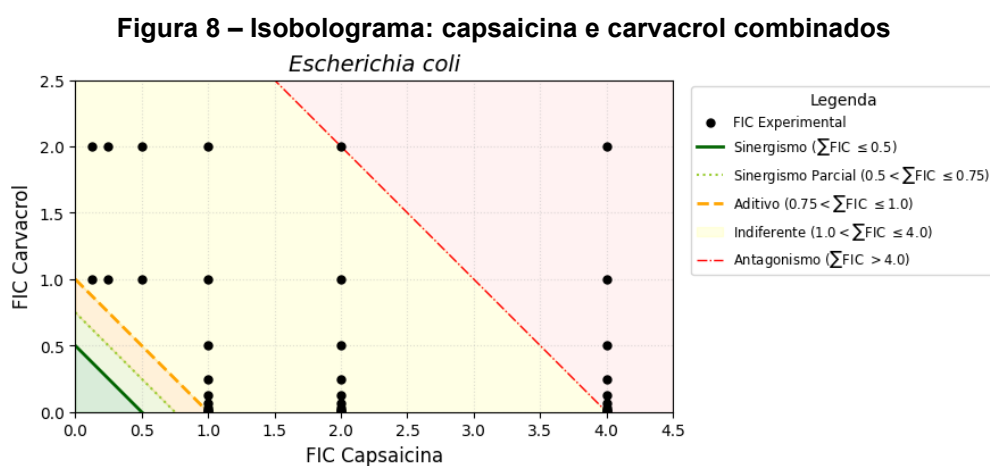
C7	1544,64	91,9	0,6	Sinergismo parcial
C8	1544,64	45,9	0,5	Sinergismo parcial
C9	1544,64	23,0	0,5	Sinergismo parcial
C10	1544,64	11,5	0,5	Sinergismo parcial
C11	1544,64	5,7	0,5	Sinergismo parcial
D2	772,32	2940,0	2,3	Indiferente (não-interativo)
D3	772,32	1470,0	1,3	Indiferente (não-interativo)
D4	772,32	735,0	0,8	Sinergismo parcial
D5	772,32	367,5	0,5	Sinergismo
D6	772,32	183,8	0,4	Sinergismo
D7	772,32	91,9	0,3	Sinergismo
D8	772,32	45,9	0,3	Sinergismo
D9	772,32	23,0	0,3	Sinergismo
D10	772,32	11,5	0,3	Sinergismo
D11	772,32	5,7	0,3	Sinergismo
E2	386,16	2940,0	2,1	Indiferente (não-interativo)
E3	386,16	1470,0	1,1	Indiferente (não-interativo)
E4	386,16	367,5	0,4	Sinergismo
E5	386,16	183,8	0,3	Sinergismo
F2	193,08	2940,0	2,1	Indiferente (não-interativo)
G2	96,54	2940,0	2,0	Indiferente (não-interativo)

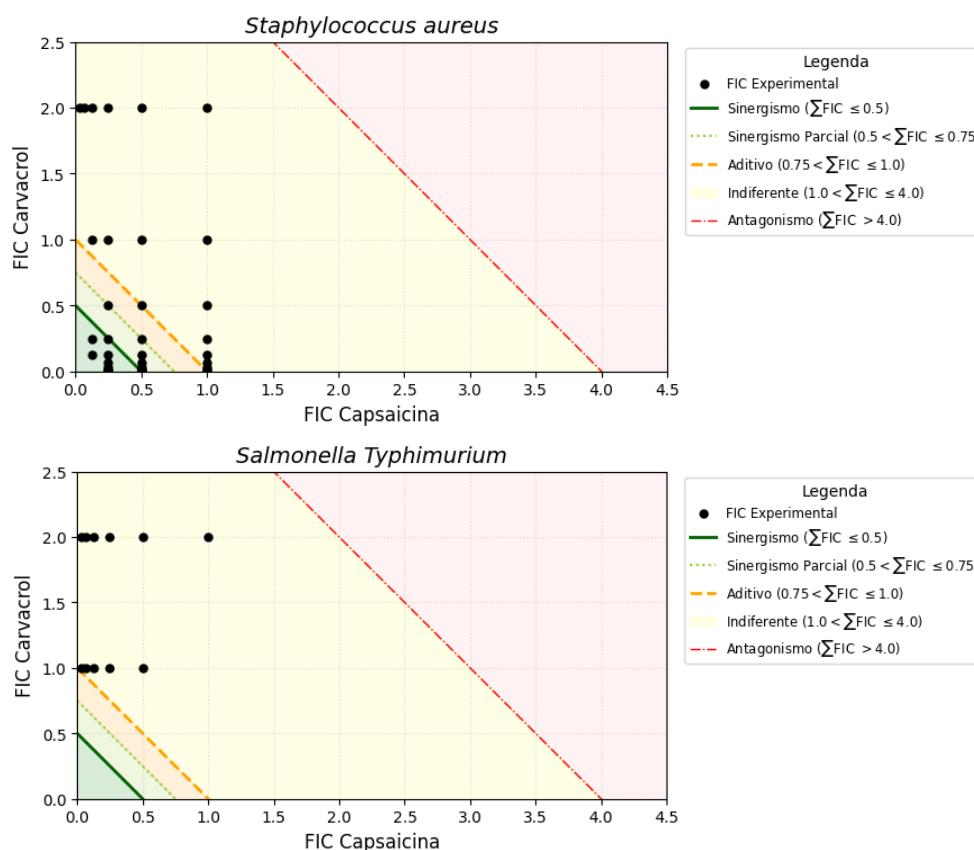
**Fonte: Autoria Própria (2025)**

Esses achados são relevantes, visto que a concentração mínima inibitória da capsaicina isolada foi de 3089,28  $\mu\text{M}$ , as combinações com carvacrol permitiram reduzir essa concentração. Além disso, o efeito sinérgico foi apenas observado frente a *S. aureus*, isso pode ser explicado pelas características estruturais das bactérias Gram-positivas, na qual a parede celular é composta por uma espessa camada de peptidoglicano, sem a presença de uma membrana externa lipopolissacarídica, como ocorre nas Gram-negativas. Essa composição favorece a difusão de compostos hidrofóbicos até a membrana citoplasmática. Dessa forma, tanto o carvacrol quanto a capsaicina conseguem interagir com a bicamada lipídica, ampliando o dano estrutural e intensificando a desestabilização da membrana (Helander *et al.*, 2000).

Para representar estes resultados graficamente, o isoblograma é uma ferramenta utilizada para avaliar o efeito combinado entre compostos antimicrobianos. Esse método baseia-se no cálculo do índice de concentração inibitória fracionada, que compara as concentrações inibitórias mínimas de cada composto isoladamente e em combinação (Zhou *et al.*, 2018). O somatório dos valores de FIC ( $\Sigma$ FIC) possibilita interpretar visualmente o tipo de interação observada, sendo empregado em estudos farmacológicos (Stein *et al.*, 2016).

Nos isobogramas apresentados na Figura 8, é possível observar visualmente as interações entre carvacrol e capsaicina, para *Staphylococcus aureus*, destacam-se efeitos sinérgicos e parcialmente sinérgicos, indicando potencialização da ação antimicrobiana quando os compostos foram combinados. Para *Escherichia coli*, as interações foram indiferentes e antagônicas, sugerindo redução da eficácia conjunta em determinadas proporções. Já para *Salmonella Typhimurium*, apenas interações indiferentes. Esses resultados demonstram que o comportamento das combinações depende dos microrganismos, das concentrações e ação dos compostos.





Fonte: Autoria Própria (2025)

### 5.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos compostos foi avaliada com o objetivo de comparar sua eficiência na neutralização de radicais livres pelos métodos DPPH<sup>•</sup> e ABTS<sup>•+</sup>. A Tabela 8 apresenta os valores de IC<sub>50</sub> obtidos para os compostos puros, evidenciando que a capsaicina apresentou capacidade antioxidante significativamente superior à do carvacrol ( $p < 0,05$ ), uma vez que menores valores de IC<sub>50</sub> correspondem à maior eficiência na neutralização de radicais livres.

**Tabela 8 - Atividade antioxidante carvacrol e capsaicina puros IC<sub>50</sub> (µg/mL)**

Composto ativo	DPPH <sup>•</sup>	ABTS <sup>•+</sup>
Carvacrol	317,719±5,468 <sup>a</sup>	4,728±0,421 <sup>c</sup>
Capsaicina	29,066±2,089 <sup>b</sup>	3,463±0,085 <sup>c</sup>

**Legenda: Valores seguidos por letras diferentes apresentam diferença significativa entre si (Tukey,  $p < 0,05$ )**

Fonte: Autoria Própria (2025)

Essa elevada atividade da capsaicina pode ser explicada por sua estrutura fenólica, capaz de doar átomos de hidrogênio e estabilizar radicais peróxil e alcóxil

(Dini *et al.*, 2018). O grupo metoxil e o carbono benzílico C7 atuam como sítios reativos relevantes, contribuindo para sua ação sequestradora de radicais (Xie *et al.*, 2023). Na literatura, Younes *et al.* (2024) relataram IC<sub>50</sub> de 148,24 µg/mL e Nascimento (2013) 23,1 µg/mL para o radical DPPH<sup>•</sup>, confirmando seu potencial antioxidante. Essa atividade tem sido atribuída não apenas à estrutura isolada da molécula, mas também à sinergia entre os compostos fenólicos presentes nas pimentas, os quais potencializam a eliminação de radicais livres (Zouaoui *et al.*, 2024).

Por outro lado, o carvacrol apresentou menor capacidade antioxidante frente ao DPPH<sup>•</sup> em comparação à capsaicina. Dados da literatura relatam resultados com IC<sub>50</sub> de 249,09 µg/mL para DPPH e 107,88 µg/mL para ABTS (Taibi *et al.*, 2024). O carvacrol atua como antioxidante doador de hidrogênio, podendo neutralizar diretamente radicais livres pelo grupo hidroxila fenólico e à capacidade de quelar metais de transição, o que limita a formação de novas espécies reativas de oxigênio (Horvathova *et al.*, 2014). Além disso, os valores obtidos para o método ABTS neste estudo foram consideravelmente menores que os reportados na literatura, reforçando a maior eficiência antioxidante observada.

#### **5.4 Caracterização das microcápsulas**

As concentrações de carvacrol e capsaicina empregadas nas microcápsulas foram definidas com base nos resultados de atividade antioxidante e antibacteriana. Observou-se que, em concentrações reduzidas, ambos os compostos apresentaram ação antioxidante, porém sem eficácia antimicrobiana. A partir da CIM, os dois bioativos passaram a demonstrar efeitos antioxidantes e antimicrobianos, sendo adicionados 0,011 g de carvacrol (CIM de 14,70 mM) e 0,012 g de capsaicina (CIM de 7,72 mM).

A Figura 9 apresenta as microcápsulas após os processos de solidificação e lavagem, evidenciando a formação de partículas esféricas com distribuição visualmente homogênea e diâmetro uniforme. A coloração clara das partículas sugere a presença predominante do material de parede.

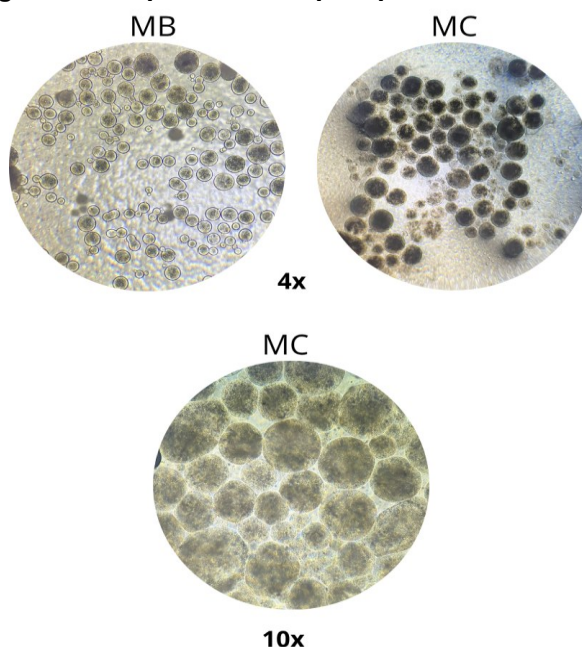
**Figura 9 - Microcápsulas com os compostos após lavagem**



**Fonte: Aatoria própria (2025)**

Na Figura 10 são apresentadas as imagens obtidas através de microscopia óptica das microcápsulas. As amostras foram observadas em diferentes ampliações 4x e 10x, permitindo uma análise comparativa da morfologia e densidade das estruturas.

**Figura 10 - Imagem obtida por microscopia óptica dos coacervados formados**



**Fonte: Aatoria própria (2025)**

Na amostra MB, observada com aumento de 4x, nota-se a presença de estruturas esféricas pequenas e translúcidas, com alguns centros mais escurecidos, isso se deve ao fato do material de recheio ser apenas Miglyol® 812 e lecitina de soja. Por outro lado, a amostra MC, também observada com aumento de 4x,

apresentou estruturas esféricas mais densas e escuras, essa diferença visual indica a presença de substâncias encapsuladas, como carvacrol e capsaicina, além do Miglyol® 812 e lecitina. É possível observar uma maior opacidade das microcápsulas, a ampliação de 10x destaca os contornos bem definidos e o interior escuro das estruturas, reforçando a hipótese de encapsulamento eficiente dos compostos.

Após a produção, os coacervados foram submetidos ao congelamento e, posteriormente, ao processo de liofilização para desidratação das micropartículas. A liofilização foi selecionada por operar em baixas temperaturas, característica essencial para compostos termossensíveis, pois reduz a degradação térmica durante a secagem. Como apresentado na Figura 11, ambas as formulações preservaram a morfologia das partículas após a liofilização.

**Figura 11 - Microcápsulas brancas e microcápsulas com compostos liofilizadas respectivamente**



**Fonte: Autoria própria (2025)**

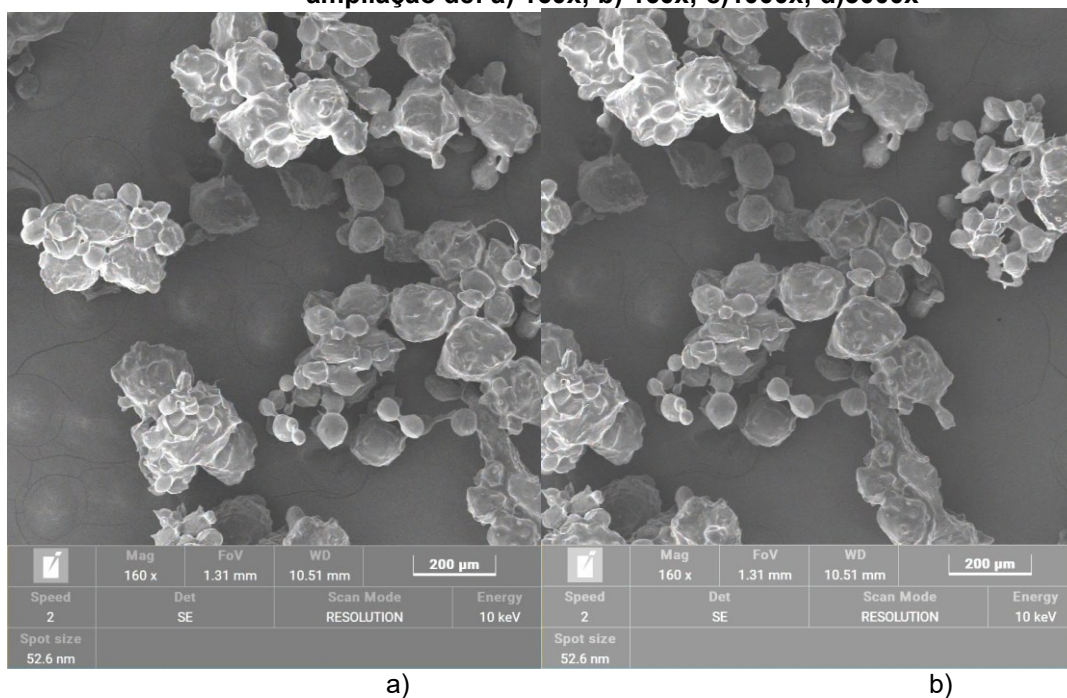
As microcápsulas contendo compostos apresentaram uma morfologia visualmente semelhante às microcápsulas brancas, com coloração branca e partículas pequenas. No entanto, foi possível observar uma distribuição mais homogênea entre as partículas das MC, o que pode estar relacionado com a presença dos compostos, devido a interações físico-químicas entre os componentes, influenciando nas variações na carga superficial.

#### 5.4.1 Morfologia por microscopia eletrônica de varredura (MEV), diâmetro médio e índice de polidispersão das microcápsulas

As microcápsulas obtidas pelo método de coacervação complexa foram caracterizadas morfologicamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV), que permitiu a visualização detalhada da estrutura externa e a avaliação de aspectos como porosidade, integridade e uniformidade. As micrografias das microcápsulas brancas (Figura 12) e das contendo carvacrol e capsaicina (Figura 13) revelaram partículas predominantemente esféricas, com paredes contínuas e superfícies lisas, sem rugosidades aparentes. Não foram observadas rachaduras ou defeitos estruturais relevantes, e a baixa porosidade sugere elevada integridade dos materiais encapsulantes e boa estabilidade dos núcleos (Sun; Cameron, 2019).

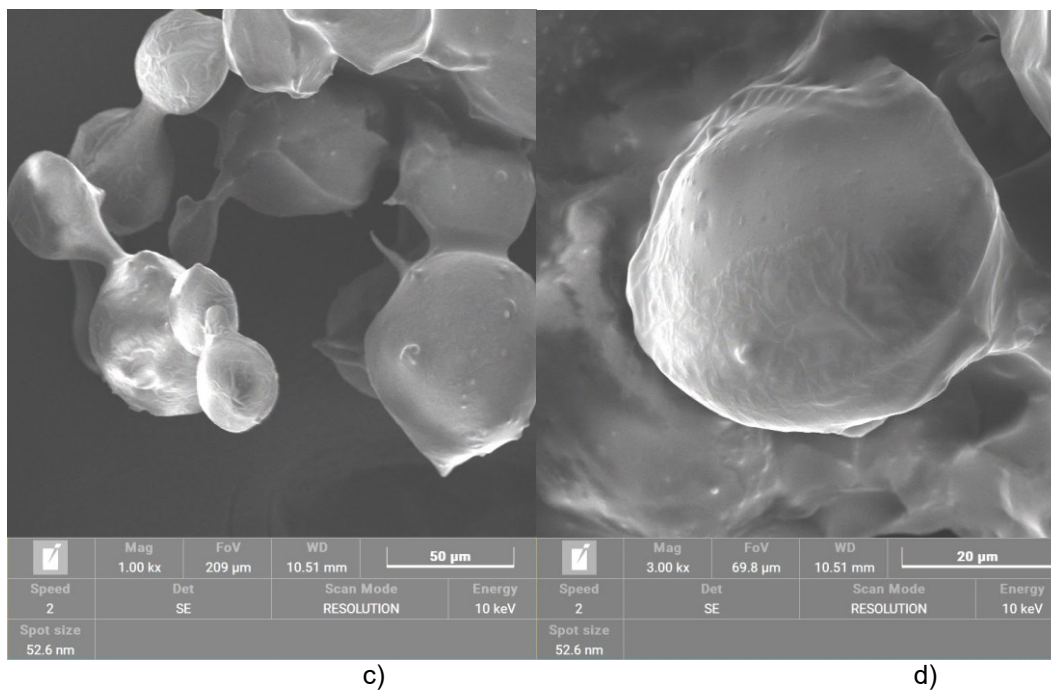
Também foi identificado nas imagens a aglomeração de determinadas microcápsulas, algumas das quais apresentavam conexões entre si por meio de pontes sólidas, característica frequentemente observada em produtos liofilizados (Napiórkowska *et al.*, 2023). Apesar dessas conexões, cada microcápsula atua como núcleo independente de liberação do bioativo.

**Figura 12 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas brancas com ampliação de: a) 160x; b) 160x; c)1000x; d)3000x**



a)

b)

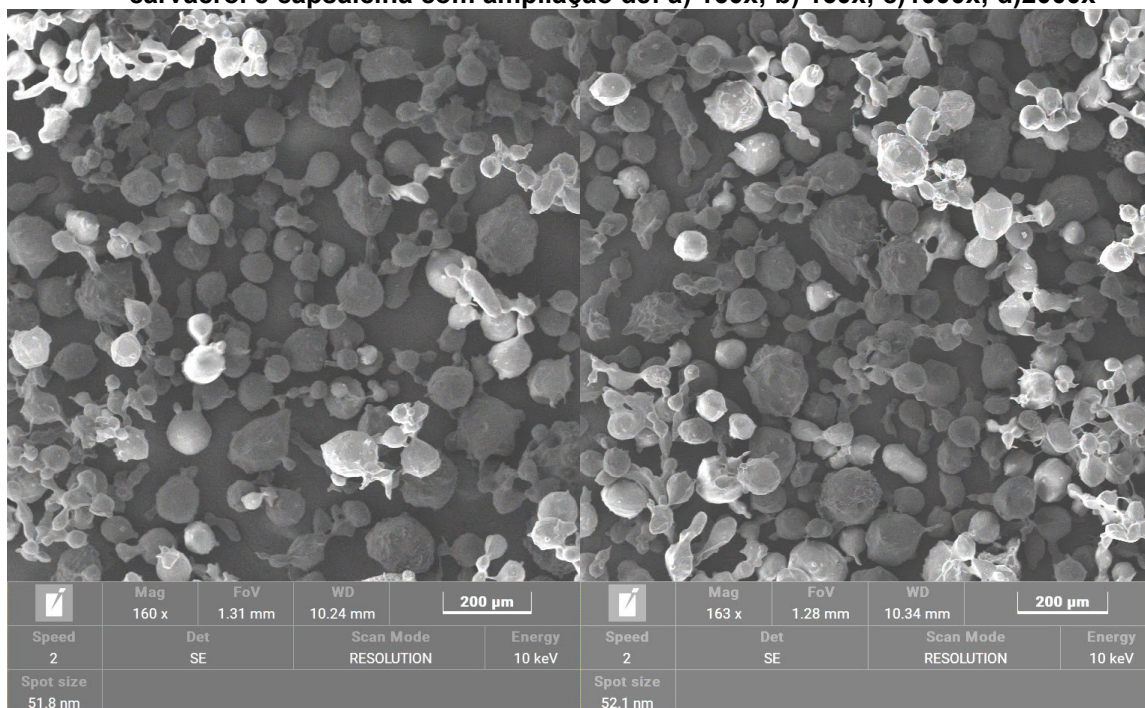


c)

d)

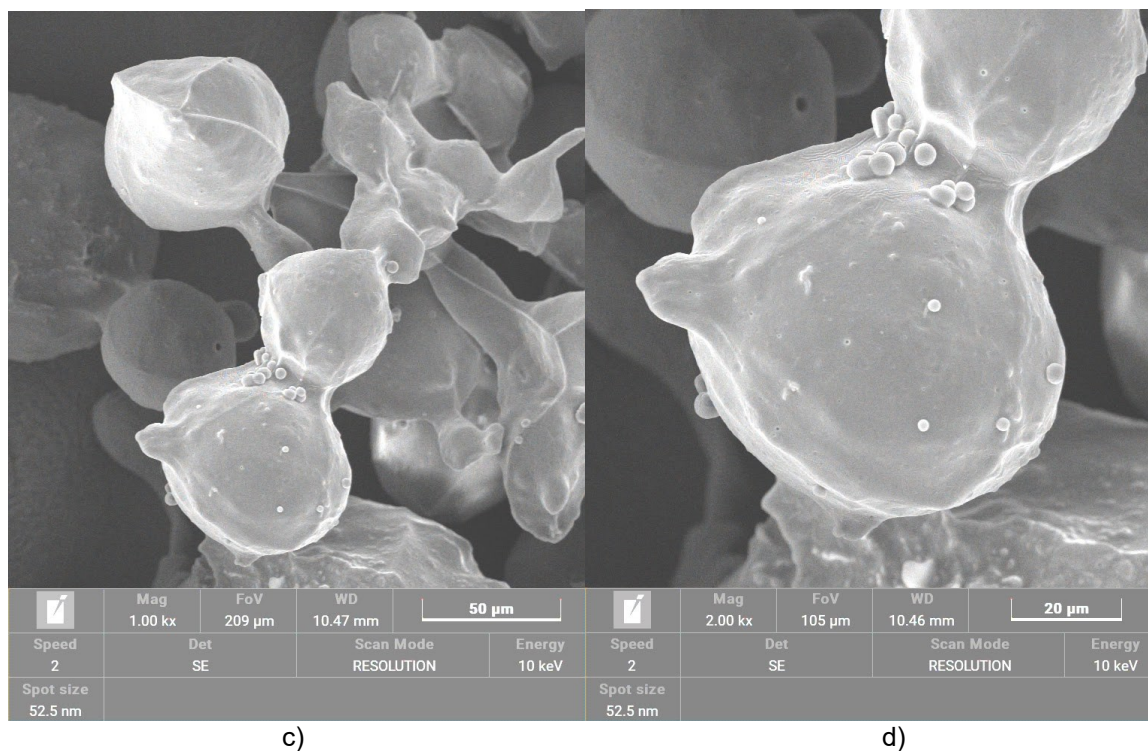
Fonte: Autoria própria (2025)

**Figura 13 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas contendo carvacrol e capsaicina com ampliação de: a) 160x; b) 160x; c)1000x; d)2000x**



a)

b)



c)

d)

Fonte: Autoria própria (2025)

O diâmetro médio das partículas foi calculado a partir das imagens de MEV, analisadas no software *ImageJ*, considerando 100 microcápsulas. As microcápsulas brancas apresentaram tamanho médio de 31,56 µm e PDI de 0,027, enquanto aquelas contendo carvacrol e capsaicina mostraram valores de 38,57 µm e 0,015. O índice de polidispersão (PDI) avalia a uniformidade das partículas em coacervados complexos, sendo essencial para determinar qualidade e estabilidade. Valores inferiores a 0,2 indicam sistemas monodispersos, enquanto superiores a 0,7 refletem alta polidispersão (Johnson; Wang, 2014). Com base nos resultados obtidos, as partículas foram classificadas como monodispersas.

Os valores de tamanho médio estão em consonância com os relatados por Sun *et al.* (2022), que microencapsularam carvacrol por coacervação complexa de isolado protéico de farinha de noz e goma arábica, obtendo microcápsulas de 43,21 µm. De forma semelhante, Xing *et al.* (2004), ao avaliar a microencapsulação de capsaicina utilizando gelatina, acácia e taninos, observaram partículas médias de 20–30 µm, corroborando os resultados do presente estudo.

## 5.4.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização dos materiais de parede e dos compostos bioativos encapsulados foi conduzida por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). As bandas vibracionais apresentadas na Tabela 9 foram selecionadas com base na literatura e correspondem aos principais grupos funcionais presentes na goma arábica, gelatina, capsaicina e carvacrol, servindo como referência para interpretação e comparação dos espectros experimentais.

**Tabela 9 - Números de onda e atribuições de acordo com dados da literatura obtidos por análise FTIR para goma arábica, gelatina, capsaicina e o carvacrol.**

Componente	Banda (cm <sup>-1</sup> )	Ligação	Grupamento característico	Referência
Goma Arábica	3284	-OH (estiramento)		Dong <i>et al.</i> , 2014; Yang <i>et al.</i> , 2015
	2925	CH <sub>2</sub>		
	1604	C=O	Ácido carboxílico	
	1414	C=O	Ácido glucurônico	
	1014	-CO-	Ácido carboxílico	
Gelatina	3298	-NH-	Amida A	Dong <i>et al.</i> , 2014; Yang <i>et al.</i> , 2015
	2838	-OH- =C-H	Amida B	
	1637	C=O	Amida I	
	1552	C-N	Amida II	
Migloyl	2924	O-H	Álcool	Arshad <i>et al.</i> 2019
	2853	C-H	Alcanos	
	1740	C=O	Éster e aldeídos	
	1155	C-O	Álcool terciário	
	1101	C-O	Éter alifático	
Capsaicina	3315-3350	Estiramento N-H	Ligação amida (CONH)	Das <i>et al.</i> , 2025
	2926-2866	Estiramento C-H	Alifático (cadeia longa de hidrocarbonetos)	
	1633-1639	Estiramento C=O	Carbonila amida	
	1442-1556	Estiramento C-C	Vibrações de anel aromático	
	1278-1247	Estiramento assimétrico C-O-C	Grupo metoxi no anel aromático	
	804-775	Flexão C-H	Deformação fora do plano C-H aromático	
Carvacrol	3200 - 3661		Vibração de estiramento OH do fenol	Tópor <i>et al.</i> , 2024
	3020	=CH		
	2925-2832		Vibrações de estiramento CH	
	1620-1458	C=C		
	1600-1430		Vibração de estiramento das ligações do anel aromático	

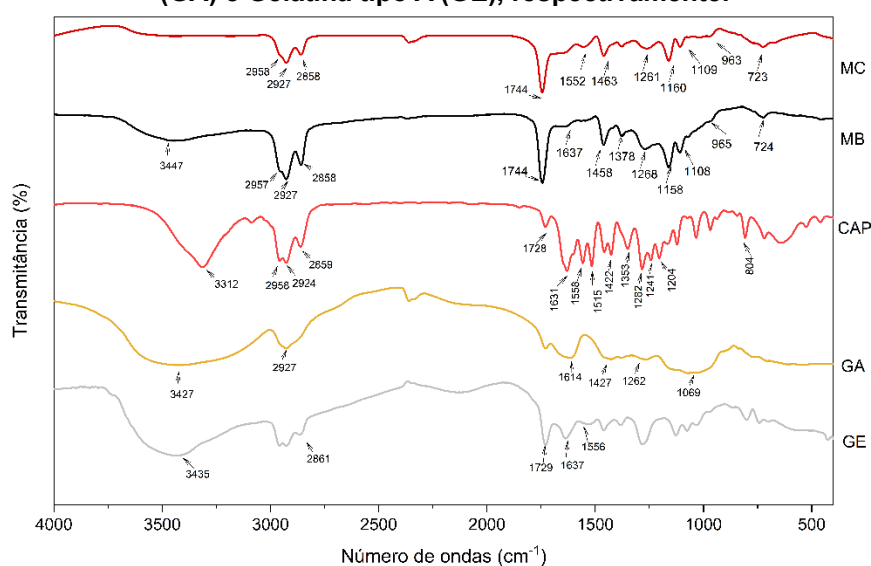
1115 e 1361

C=O e CH<sub>3</sub>Vibração de flexão dos  
grupos

Fonte: Autoria própria (2025)

Na Figura 14 são apresentados, em transmitância, os espectros de infravermelho, dos componentes puros utilizados para a produção de microcápsulas, sendo eles a goma arábica, gelatina tipo A, capsaicina, as microcápsulas brancas e as microcápsulas com os compostos.

**Figura 14 - Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das Microcápsulas de compostos bioativos (MC); Microcápsulas brancas (MB); Capsaicina (CAP); Goma Arábica e (GA) e Gelatina tipo A (GE), respectivamente.**



Fonte: Autoria própria (2025)

A caracterização dos materiais de parede permitiu confirmar a integridade química dos polímeros utilizados na matriz encapsulante. Para a gelatina (GE), as bandas observadas em 1637 cm<sup>-1</sup> (Amida I) e 1556 cm<sup>-1</sup> (Amida II) indicam a preservação da sua estrutura proteica. Esses resultados estão de acordo com Liu *et al.* (2006), que reportaram bandas em 3290 cm<sup>-1</sup> (estiramento O–H), 1656 cm<sup>-1</sup> (Amida I) e 1556 cm<sup>-1</sup> (Amida II), confirmando os mesmos grupos funcionais. Da mesma forma, o espectro da goma arábica (GA) apresentou bandas em 1614 cm<sup>-1</sup> e 1427 cm<sup>-1</sup>, atribuídas aos grupos carbonila característicos dos ácidos carboxílico e glucurônico, reforçando seu perfil polissacarídico esperado (Dong *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2015).

A análise do núcleo foi realizada com base no espectro da capsaicina pura e dados de literatura para o carvacrol (Tópor *et al.*, 2024). A capsaicina exibiu bandas compatíveis com sua estrutura, incluindo o estiramento N-H entre 3400–3200 cm<sup>-1</sup>,

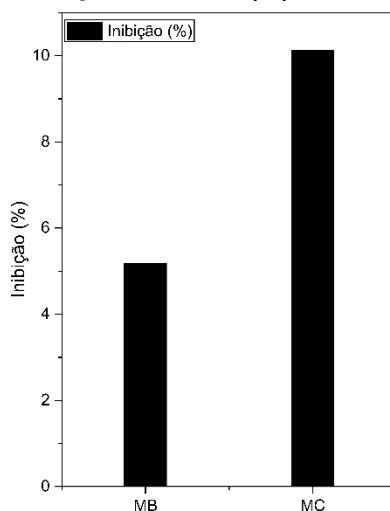
bandas alifáticas entre 2920–2850  $\text{cm}^{-1}$ , a carbonila da amida entre 1650–1630  $\text{cm}^{-1}$ , além de vibrações aromáticas e deformações angulares características (Das *et al.*, 2025). Segundo Tópor *et al.* (2024), o carvacrol apresenta bandas de estiramento O–H fenólico entre 3200–3661  $\text{cm}^{-1}$  e vibrações do anel aromático entre 1620–1458  $\text{cm}^{-1}$ .

A análise confirmou a formação das micropartículas e a efetiva incorporação do núcleo lipídico, evidenciada pela presença das bandas características do Miglyol no espectro das micropartículas MC e MB, especificamente os estiramentos C-H em 2927 e 2858  $\text{cm}^{-1}$  e C=O em 1744  $\text{cm}^{-1}$  (Arshad *et al.*, 2019). No entanto, não foi possível distinguir as bandas específicas do composto ativo encapsulado, uma vez que os sinais intensos dos polímeros de parede e, principalmente, do óleo carreador resultaram em uma sobreposição espectral que mascarou a presença das substâncias. Diante dessa limitação do FTIR para a identificação dos ativos, a qualificação foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência apresentada no item 5.4.4.

#### 5.4.3 Atividade antioxidante das microcápsulas

A atividade antioxidante (DPPH) das microcápsulas foi avaliada por quatro horas (Figura 15). A microcápsula branca foi avaliada como controle para verificar se os materiais utilizados poderiam interferir na atividade antioxidante, permitindo confirmar se o efeito observado seria devido aos compostos bioativos encapsulados e não aos materiais da matriz.

**Figura 15 - Inibição de DPPH (%) das microcápsulas**



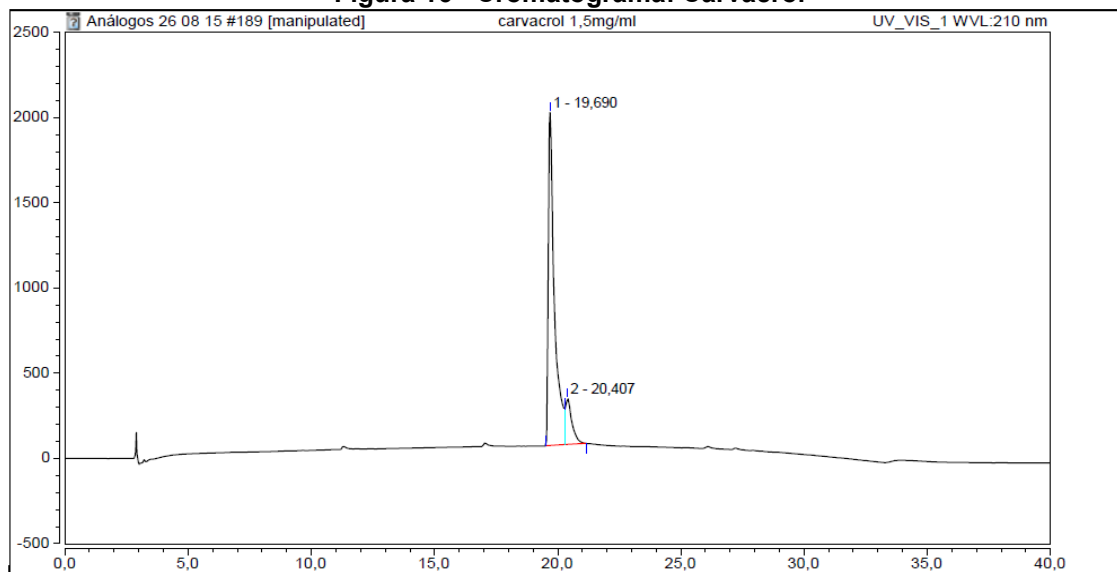
**Fonte: Aatoria própria (2025)**

A microcápsula branca apresentou inibição baixa ao longo do ensaio, indicando que os materiais utilizados na estrutura da microcápsula não possuem atividade antioxidante relevante. A atividade detectada pode estar associada à lecitina de soja, a qual apresenta capacidade de sequestro de radicais devido ao seu teor de fosfolipídios, capazes de interagir com espécies reativas e estabilizar radicais livres (Liu *et al.*, 2008).

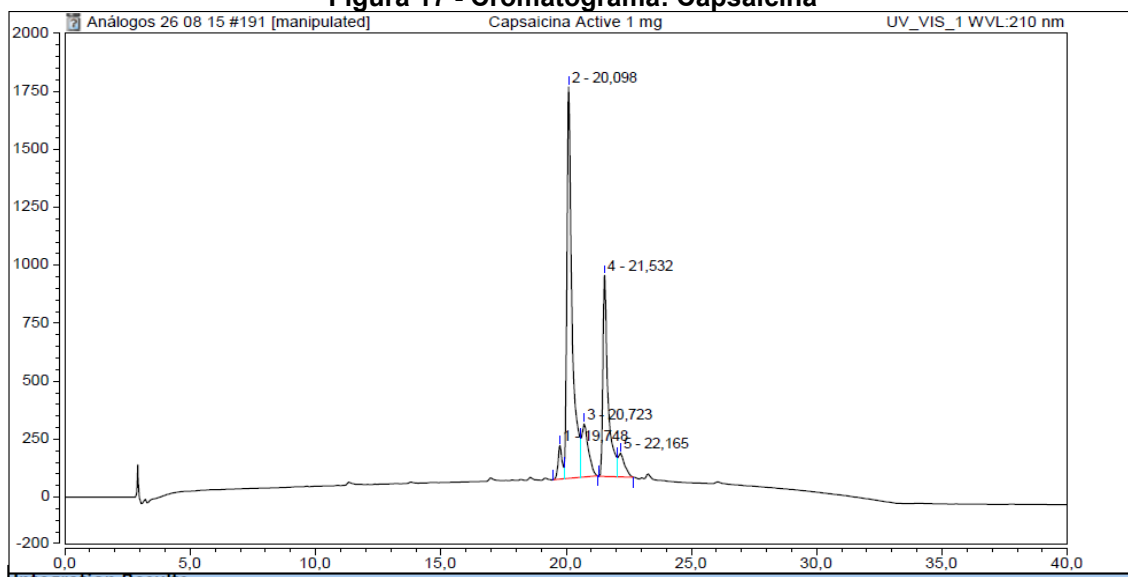
Por outro lado, as microcápsulas contendo carvacrol e capsaicina apresentaram aumento da atividade antioxidante. Esse comportamento indica liberação dos compostos bioativos, característica esperada em sistemas formados por coacervação complexa (Sun *et al.*, 2022; Berraaouan *et al.*, 2023). Dessa forma, as microcápsulas brancas confirmam que o aumento de atividade antioxidante nas microcápsulas contendo carvacrol e capsaicina é resultado da liberação dos compostos bioativos, e não dos componentes estruturais da microcápsula.

#### 5.4.4 Cromatografia Líquida de alta eficiência

Os compostos carvacrol da Sigma Aldrich (pureza >98%) e a capsaicina da Global Merchants (pureza 96,54%) foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. Os tempos de retenção obtidos durante as análises cromatográficas permitiram avaliar a identidade dos compostos bioativos, uma vez que cada substância apresentou picos definidos com 90% ACN em água. Para o carvacrol, foi observado um pico principal em 19,6 min (Figura 16). Já a capsaicina apresentou um perfil mais complexo, composto por múltiplos picos característicos dos diferentes capsaicinóides, com destaque para os picos de 20,098 e 21,532 minutos, correspondentes à capsaicina e dihidrocapsaicina (Figura 17).

**Figura 16 - Cromatograma: Carvacrol**

Fonte: Autoria própria (2025)

**Figura 17 - Cromatograma: Capsaicina**

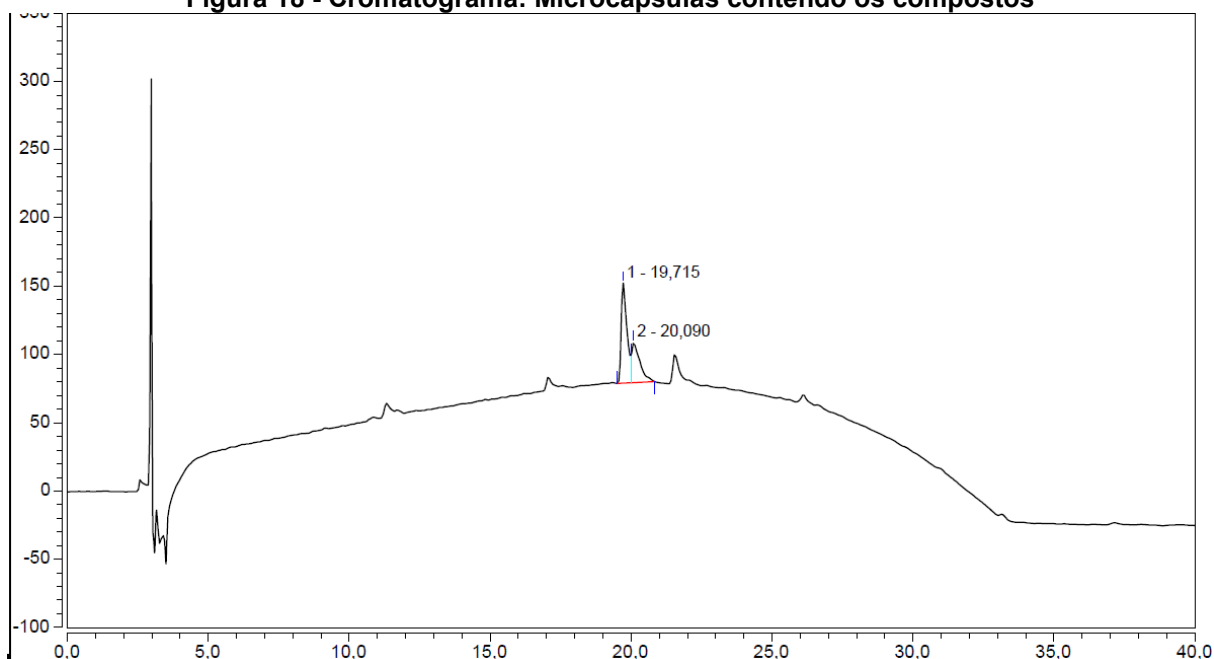
Fonte: Autoria própria (2025)

A análise da capsaicina revelou divergências entre os valores descritos em laudo e os obtidos por CLAE. O laudo indicava uma composição de 69,55% de capsaicina e 25,20% de dihidrocapsaicina. Entretanto, após a determinação por CLAE, verificou-se uma distribuição distinta: 54,72% de capsaicina, 28,10% de dihidrocapsaicina e 17,18% de outros capsaicinóides. Resultados semelhantes foram observados no estudo de Zanotto (2016), que utilizou a fase móvel composta por 60% de acetonitrila em água. Neste trabalho, a amostra CAP SP-Pharma apresentou 55% de capsaicina, 38% de dihidrocapsaicina e 7% de nordihidrocapsaicina. Já a amostra

CAP Sigma-Aldrich apresentou proporções de 52%, 40% e 7%, respectivamente. Esses dados evidenciam que a composição dos capsaicinóides pode variar de acordo com a origem da amostra e as condições analíticas empregadas.

A Figura 18 apresenta a análise cromatográfica da solução de microcápsulas, na qual permitiu confirmar a presença dos compostos bioativos após o processo de encapsulação. No cromatograma das microcápsulas, o carvacrol foi detectado no tempo de retenção próximo ao observado para o padrão puro 19,6 min, indicando correspondência entre os picos e validando a identificação do composto. Da mesma forma, a capsaicina e a dihidrocapsaicina foram identificados com tempos de retenção próximos aos padrões 20,090 min. A concordância entre os tempos de retenção dos padrões e da amostra encapsulada confirma que os compostos mantiveram sua identidade química durante o processo de microencapsulação.

**Figura 18 - Cromatograma: Microcápsulas contendo os compostos**



Fonte: Autoria própria (2025)

## **5.5 Avaliação da vida útil de hambúrguer de carne bovina com adição de microcápsulas de capsaicina e carvacrol sob armazenamento refrigerado**

### **5.5.1 pH e atividade de água**

A determinação do pH constitui um parâmetro fundamental em estudos de vida útil, uma vez que possibilita o monitoramento do crescimento microbiano e a avaliação da eficácia antimicrobiana dos compostos analisados. Além disso, o pH atua

como indicador da estabilidade físico-química do produto e da manutenção da qualidade sensorial ao longo do armazenamento. Os valores médios obtidos, bem como os respectivos desvios padrão das análises de pH, encontram-se apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10 - Valores de pH de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento**

Formulações	Tempo em dias			
	0	4	8	16
	pH			
F0	5,77 <sup>fA</sup> ± 0,01	5,67 <sup>gA</sup> ± 0,03	5,81 <sup>fA</sup> ± 0,02	7,27 <sup>aC</sup> ± 0,02
F1	5,70 <sup>gB</sup> ± 0,02	5,67 <sup>gA</sup> ± 0,03	5,93 <sup>eB</sup> ± 0,01	6,84 <sup>cA</sup> ± 0,02
F2	5,67 <sup>gC</sup> ± 0,02	5,60 <sup>hA</sup> ± 0,04	6,02 <sup>dC</sup> ± 0,02	7,16 <sup>bB</sup> ± 0,02

**Legenda: Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo dia de armazenamento (p < 0,05). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas no mesmo tratamento ao longo do armazenamento (p < 0,05).**

**Fonte: Autoria própria (2025)**

A análise estatística indicou que tanto o tempo quanto a formulação exerceram influência significativa sobre o pH (p < 0,05), indicando que o pH sofre alterações ao longo do período de armazenamento e difere entre as formulações F0, F1 e F2, que apresentam perfis distintos. Além disso, a interação entre os fatores também foi significativa, demonstrando que cada formulação modifica o pH de maneira específica ao longo do tempo.

Observou-se uma sutil redução no pH dos hambúrgueres entre os dias 0 e 4, possivelmente atribuída à glicólise anaeróbica do glicogênio presente na carne, resultando na produção de ácidos orgânicos, como o ácido lático. A partir do quarto dia, verificou-se um aumento nos valores de pH em todas as formulações, o que pode ser explicado pelo acúmulo de metabólitos decorrentes da atividade bacteriana e pela desaminação de proteínas durante o armazenamento (Wang *et al.*, 2022).

As diferenças observadas entre as formulações podem ser justificadas pelas características específicas de cada tratamento. Na formulação controle (F0), o comportamento do pH reflete apenas os processos naturais de deterioração da carne, sem qualquer barreira contra a atividade microbiana, resultando em um aumento mais pronunciado após o quarto dia devido ao crescimento bacteriano e à degradação proteica. Já na formulação F1, contendo microcápsulas sem material ativo, a presença dessas estruturas pode atuar como uma matriz física; podem modificar a retenção de água ou a difusão de metabólitos, ocasionando leves alterações no perfil de pH em

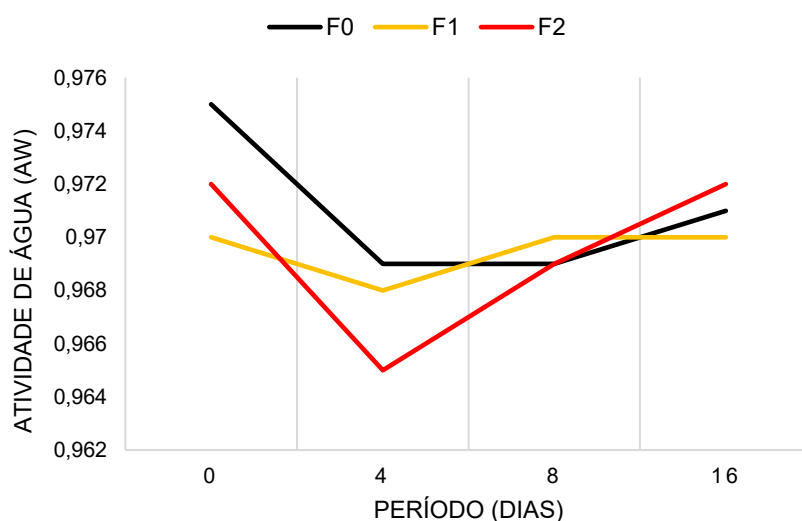
comparação ao controle. Na formulação F2, as microcápsulas contendo carvacrol e capsaicina promovem a liberação gradual de compostos bioativos, que contribui para reduzir a atividade bacteriana e retardar a formação de metabólitos alcalinos, como aminas e amônia, responsáveis pelo aumento do pH durante o armazenamento.

Os resultados obtidos neste estudo são consistentes com os relatados por Hemmatkhah, Zeynali e Almasi (2020), que investigaram o efeito do óleo essencial de semente de cominho encapsulado em hambúrgueres de carne bovina e observaram valores de pH variando entre 5,28 e 7,11 ao final do período de armazenamento.

A atividade de água nos alimentos é um fator importante que contribui para a preservação dos alimentos. Na carne, especificamente, ela influencia o crescimento microbiano e a atividade enzimática. Ao longo do armazenamento, nos dias 0 e 4 pode-se observar (Figura 19) que os tratamentos com adição de microcápsulas (F1 e F2) mantiveram valores menores quando comparados ao tratamento controle. Isso pode ser devido à capacidade hidrofílica do material da parede das microcápsulas, que pode ter capturado água livre durante o armazenamento (Deng *et al.*, 2023).

Os resultados de atividade de água (*aw*) obtidos neste estudo estão em concordância com aqueles reportados por Calderón-Oliver, Escalona-Buendía e Ponce-Alquicira (2020), os quais investigaram o efeito da incorporação de microcápsulas contendo extrato de casca de abacate e nisina sobre a qualidade da carne moída. Nesse trabalho, os autores observaram valores de *aw* variando entre 0,982 e 0,998.

**Figura 19 - Atividade de água (*aw*) de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento**



Fonte: Autoria própria (2025)

### 5.5.2 Análise de cor

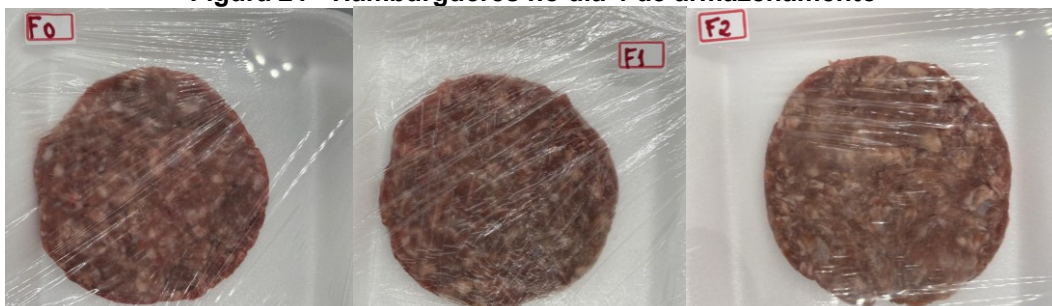
Os consumidores avaliam a análise visual da cor da carne como um dos principais atributos de qualidade. É um indicador de frescor, qualidade nutricional e sabor. A variação da cor dos hambúrgueres ao longo do armazenamento pode ser observada nas Figuras 20, 21, 22 e 23.

**Figura 20 - Hambúrgueres no dia 0 de armazenamento**



Fonte: Autoria Própria (2025)

**Figura 21 - Hambúrgueres no dia 4 de armazenamento**



Fonte: Autoria Própria (2025)

**Figura 22 - Hambúrgueres no dia 8 de armazenamento**



Fonte: Autoria Própria (2025)

**Figura 23 - Hambúrgueres no dia 16 de armazenamento**



Fonte: Autoria Própria (2025)

Os parâmetros de cor obtidos no presente estudo estão apresentados na Tabela 11. O valor de  $L^*$  indica a luminosidade da carne, sendo que valores mais elevados correspondem a maior brilho. O parâmetro  $a^*$  representa a intensidade da cor vermelha, enquanto  $b^*$  indica a tendência cromática: valores positivos correspondem ao amarelo e negativos ao azul. Já o índice  $\Delta E$  expressa a diferença total de cor percebida.

**Tabela 11 – Parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e  $\Delta E$  de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento**

Formulações	Tempo em dias			
	0	4	8	16
	$L^*$			
F0	69,65 <sup>aA</sup> ± 4,87	52,52 <sup>ba</sup> ± 2,27	52,03 <sup>ba</sup> ± 3,03	53,17 <sup>bb</sup> ± 1,96
F1	67,40 <sup>aA</sup> ± 6,10	56,66 <sup>bb</sup> ± 5,05	52,61 <sup>ba</sup> ± 2,15	49,82 <sup>ba</sup> ± 1,25
F2	68,53 <sup>aA</sup> ± 4,90	54,02 <sup>baB</sup> ± 2,68	55,25 <sup>bb</sup> ± 1,47	49,49 <sup>ba</sup> ± 0,93
	$a^*$			
F0	28,79 <sup>aA</sup> ± 3,68	17,21 <sup>ba</sup> ± 3,80	9,81 <sup>ca</sup> ± 1,35	18,57 <sup>bb</sup> ± 1,46
F1	25,75 <sup>ab</sup> ± 2,71	15,32 <sup>ba</sup> ± 1,59	9,51 <sup>ca</sup> ± 2,16	16,81 <sup>ba</sup> ± 3,41
F2	26,92 <sup>ab</sup> ± 2,07	14,26 <sup>bc</sup> ± 1,32	9,69 <sup>ca</sup> ± 0,53	17,45 <sup>baB</sup> ± 1,21
	$b^*$			
F0	10,97 <sup>abA</sup> ± 0,81	8,39 <sup>abA</sup> ± 1,48	7,86 <sup>abA</sup> ± 2,34	7,08 <sup>ba</sup> ± 1,19
F1	10,82 <sup>abA</sup> ± 1,09	8,33 <sup>abA</sup> ± 2,26	8,38 <sup>abA</sup> ± 1,28	11,76 <sup>ab</sup> ± 2,63
F2	8,11 <sup>abB</sup> ± 3,61	8,85 <sup>abA</sup> ± 0,59	8,91 <sup>abB</sup> ± 1,41	8,14 <sup>abAB</sup> ± 1,78
	$\Delta E$			
F0	44,50 <sup>aA</sup> ± 2,57	22,72 <sup>bcA</sup> ± 2,40	19,62 <sup>ca</sup> ± 1,81	24,94 <sup>bcB</sup> ± 0,91
F1	40,89 <sup>ab</sup> ± 3,55	26,12 <sup>bb</sup> ± 3,75	20,04 <sup>ca</sup> ± 2,23	23,76 <sup>bcAB</sup> ± 2,83
F2	41,83 <sup>ab</sup> ± 3,49	23,55 <sup>bcA</sup> ± 1,29	22,39 <sup>bcB</sup> ± 1,86	22,16 <sup>bcA</sup> ± 1,59

**Legenda: Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo dia de armazenamento ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas no mesmo tratamento ao longo do armazenamento ( $p < 0,05$ ).**

Fonte: Autoria Própria (2025)

Os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $\Delta E$  apresentaram variação significativa ao longo do armazenamento ( $p < 0,05$ ), enquanto  $b^*$  não apresentou diferenças estatísticas ( $p >$

0,05). Nenhuma das formulações avaliadas exerceu efeito significativo sobre os parâmetros de cor ( $p > 0,05$ ).

Os valores médios de  $L^*$  diminuíram progressivamente entre os dias 0 e 16, indicando escurecimento da superfície dos hambúrgueres. Esse fenômeno está associado à oxidação de pigmentos e à degradação de componentes sensíveis à luz, como mioglobina e lipídios.

No parâmetro  $a^*$ , os hambúrgueres frescos apresentaram maior intensidade de vermelho, enquanto os armazenados por 8 dias exibiram os menores valores. A cor vermelha está diretamente relacionada à oxigenação da mioglobina, com valores elevados de  $a^*$  associados à presença de oximioglobina, pigmento responsável pela coloração viva da carne. A redução de  $a$  reflete a formação de metmioglobina, pigmento oxidado que confere tonalidade acastanhada e é percebido como sinal de deterioração (Yu *et al.*, 2020; Shan *et al.*, 2009).

A descoloração observada durante o armazenamento refrigerado pode ser atribuída à menor capacidade de regeneração da metmioglobina em oximioglobina, além de reações não enzimáticas envolvendo produtos da oxidação lipídica e grupos amina presentes na matriz cárnea (Sadeghinejad *et al.*, 2019).

Quanto ao índice  $\Delta E$ , os maiores valores foram registrados nos hambúrgueres frescos, especialmente na formulação F0, enquanto os armazenados por 8 dias apresentaram as menores variações. Esse comportamento sugere uma estabilização da cor ao longo do tempo, possivelmente relacionada à homogeneização dos pigmentos oxidativos e à redução da atividade enzimática. Embora tal estabilização possa indicar menor variação visual, também reflete a perda de atributos desejáveis, como a vivacidade da cor vermelha.

Os resultados obtidos corroboram os achados de Olivas-Méndez *et al.* (2022), que investigaram a atividade antioxidante e antimicrobiana de óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), alho (*Allium sativum*) e da oleorresina de pimenta chipotle (*Capsicum annum*) em hambúrgueres de carne bovina, observando efeitos semelhantes sobre a estabilidade da cor durante o armazenamento.

### 5.5.3 Oxidação lipídica

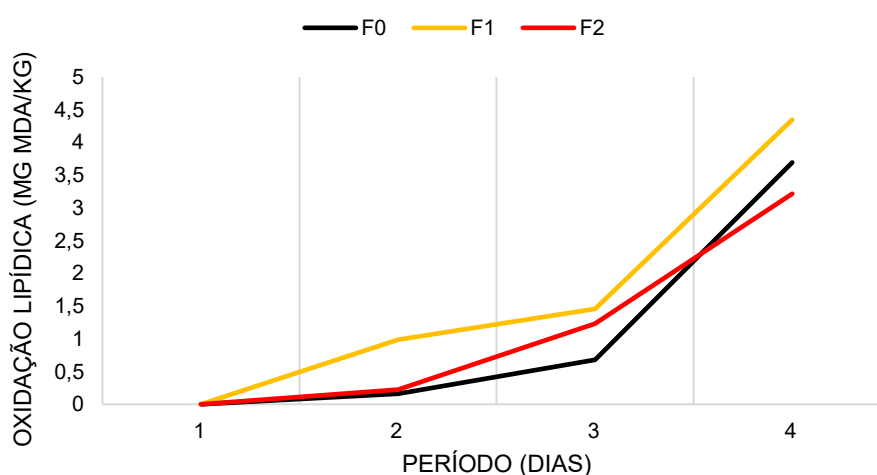
O monitoramento da oxidação lipídica por meio da análise de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) constitui um indicador direto da

qualidade da carne. O ácido tiobarbitúrico (TBA) é amplamente utilizado para detectar a oxidação secundária de lipídios, processo desencadeado por compostos reativos formados na segunda etapa da auto-oxidação. Nessa fase, os peróxidos são degradados em diversas substâncias, como aldeídos e cetonas (Hosseinalhashem *et al.*, 2021). A peroxidação lipídica também gera radicais livres, que podem ser produzidos por diversos fatores, como luz, oxigênio, outros radicais livres e íons metálicos (Jia, Wu e Kang *et al.*, 2023).

Segundo Sheard *et al.* (2000), concentrações de TBA em torno de 0,5 mg de MDA (malondialdeído)/kg já são suficientes para que os consumidores identifiquem odores desagradáveis na carne. Contudo, outros estudos sugerem que valores entre 2,0 e 2,5 mg de MDA/kg representam o limite máximo aceitável para evitar a percepção de ranço em carnes e produtos cárneos (Campo *et al.*, 2006).

De acordo com as análises estatísticas, o tempo e formulação afetaram significativamente os níveis de TBA ( $p < 0,05$ ). A oxidação lipídica aumenta progressivamente com o tempo (Figura 24) e algumas formulações oxidam mais rápido que outras. A interação entre tempo e formulação também é significativa, indicando que o efeito do tempo sobre os valores de TBA depende da formulação utilizada. A F1 apresentou-se como a formulação menos estável ao longo do tempo, enquanto a F0 apresentou a menor oxidação. A formulação com adição dos compostos bioativos (F2) apresentou os menores valores de oxidação no 16º dia, que pode indicar uma liberação mais tardia dos compostos e consequentemente uma ação antioxidante a médio e longo prazo.

**Figura 24 - Evolução da oxidação lipídica de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento**



Fonte: Autoria Própria (2025)

Considerando o limite de aceitação de 2,0 e 2,5 mg de MDA/kg, todas as formulações encontram-se dentro até o 8º dia de experimento, excedendo os limites no 16º dia. O aumento progressivo nos valores de TBA durante o armazenamento de produtos cárneos é esperado, visto que a oxidação lipídica é uma reação autocatalítica e, portanto, a taxa de oxidação aumenta à medida que a reação progride (Smaoui *et al.*, 2016).

Os resultados obtidos estão em concordância com os relatados por Mehaya *et al.* (2024), que avaliaram o uso de óleo essencial de orégano microencapsulado como conservante natural em hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento refrigerado, nos dias 0, 4, 8, 12 e 16. Nesse estudo, os valores de TBA variaram entre 0,09 e 5,91 mg MDA/kg, refletindo a progressão da oxidação lipídica ao longo do período de estocagem.

#### 5.5.4 Contagem total de bactérias

Os resultados da análise microbiológica (Tabela 12) demonstram que o tempo de armazenamento exerceu efeito significativo sobre a carga bacteriana ( $p < 0,05$ ), confirmando o aumento esperado em produtos cárneos perecíveis, mesmo sob refrigeração. Embora tenham sido observadas variações entre as formulações F0, F1 e F2 em determinados períodos, o fator formulação não apresentou efeito estatisticamente significativo ( $p > 0,05$ ). Isso indica que os aditivos ou materiais encapsulantes utilizados não influenciaram de forma relevante o crescimento microbiano durante o período de armazenamento.

**Tabela 12 - Valores da contagem total de bactérias de hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento**

Formulações	Tempo em dias			
	0	4	8	16
	Contagem total de bactérias (log UFC/g)			
F0	6,26 <sup>aA</sup>	6,79 <sup>abA</sup>	7,18 <sup>aAB</sup>	6,83 <sup>abB</sup>
F1	6,32 <sup>bA</sup>	7,32 <sup>abB</sup>	7,08 <sup>aA</sup>	6,58 <sup>abA</sup>
F2	6,30 <sup>bA</sup>	7,20 <sup>abB</sup>	7,38 <sup>aB</sup>	7,67 <sup>abC</sup>

**Legenda: Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo dia de armazenamento ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas no mesmo tratamento ao longo do armazenamento ( $p < 0,05$ ). Valores com letras compartilhadas não diferem significativamente dos grupos.**

**Fonte: Autoria Própria (2025)**

A elevada carga inicial, já evidente no dia 0, possivelmente decorre da qualidade da matéria-prima, da manipulação e moagem, além de condições

inadequadas de transporte e armazenamento. Esses fatores comprometem a vida útil do produto e reduzem a eficácia dos compostos bioativos testados, uma vez que a alta densidade microbiana dificulta a ação inibitória desses agentes.

Entre as formulações, F2 apresentou tendência de maior crescimento bacteriano, atingindo 7,67 log UFC/g aos 16 dias, enquanto F0 e F1 registraram valores inferiores (6,83 e 6,58 log UFC/g, respectivamente). No entanto, essas diferenças não foram suficientes para estabelecer significância estatística entre os grupos.

Os valores de contagem total de bactérias observados neste estudo estão em consonância com os relatados por Vergara, Cózar e Rubio (2020), que investigaram o efeito da adição de diferentes formas de orégano (*Origanum vulgare*) na qualidade de hambúrgueres de carne de cordeiro durante o armazenamento, obtendo resultados entre 4,76 e 7,76 log UFC/g. De forma semelhante, Mehaya *et al.* (2024) avaliaram o uso de óleo essencial de orégano microencapsulado como conservante natural em hambúrgueres de carne bovina e encontraram valores variando de 5,53 a 5,79 log UFC/g.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O carvacrol apresentou forte atividade antimicrobiana *in vitro* frente às cepas testadas, enquanto a capsaicina se destacou pela elevada capacidade antioxidante, confirmando o potencial dos compostos para atuar como agentes conservantes naturais. A microencapsulação foi eficiente, produzindo partículas em escala micrométrica e morfologia uniforme. Ainda, foi possível observar a presença dos compostos ativos.

Na aplicação em hambúrgueres bovinos, a adição das microcápsulas contendo carvacrol e capsaicina não provocou alterações significativas nos parâmetros físico-químicos, como pH, atividade de água e cor. Por outro lado, não foi observada diferença na contagem microbiana entre os tratamentos ao longo do armazenamento. Este fato pode ter relação com a alta carga microbiana inicial da matéria-prima, e a concentração baixa dos compostos ativos nas microcápsulas. De fato, esta baixa concentração de ativo que foi insuficiente para controlar o crescimento microbiano, também não promoveu o controle da oxidação lipídica.

Pesquisas futuras devem concentrar-se na produção de microcápsulas com concentrações maiores de compostos ativos, sua estabilidade térmica e a taxa de liberação dos compostos ativos. Estas informações poderão auxiliar na escolha da matriz cárnea mais adequada de aplicação. Em definido o produto cárneo, análises sensoriais devem ser conduzidas para avaliar a viabilidade técnica de uso e comercialização. Assim, este trabalho contribui para o avanço do uso de compostos bioativos naturais na conservação de alimentos, fortalecendo alternativas mais seguras e sustentáveis para a indústria de produtos cárneos.

Apesar do crescente interesse por alternativas naturais aos conservantes sintéticos, ainda há escassez de estudos que investiguem a aplicação conjunta de compostos bioativos, como o carvacrol e a capsaicina. Neste contexto, este trabalho contribui com esta lacuna do conhecimento e reforça a importância das pesquisas aplicadas que exploram a aplicabilidade dos compostos naturais em conservar os alimentos.

## REFERÊNCIAS

- AKYUZ, L. *et al.* Supplementing capsaicin with chitosan-based films enhanced the anti-quorum sensing, antimicrobial, antioxidant, transparency, elasticity and hydrophobicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 438–446, 2018.
- ALIREZALU, K. *et al.* Phytochemical constituents, advanced extraction technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. A comprehensive review. **Trends in food science & technology**, v. 100, p. 292–306, 2020.
- ALONSO-VILLEGAS, R. *et al.* The genus *Capsicum*: A review of bioactive properties of its polyphenolic and capsaicinoid composition. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 28, n. 10, p. 4239, 2023.
- AL-SAMYDAI, A. *et al.* An updated review on anticancer activity of capsaicin. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 8, p. 2625–2631, 2019.
- ARAUJO, M. M. *et al.* Teste da ação antibacteriana *in vitro* de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 83, abr. 2016.
- ARSHAD, S *et al.* Compatibility analysis of bergapten with different pharmaceutical excipients used in nanostructured lipid carriers. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 32, n. 6(Supplementary), p. 2879–2885, 2019.
- ASADI, Sepideh *et al.* Antibacterial and anti-biofilm properties of carvacrol alone and in combination with cefixime against *Escherichia coli*. **BMC microbiology**, v. 23, n. 1, p. 55, 2023.
- ASGHARI-VARZANEH, E. *et al.* Enhancing hamburger shelf life and quality using gallic acid encapsulated in gelatin/tragacanth gum complex coacervate. **Heliyon**, v. 10, n. 2, p. e24917, 2024.
- BASAVEGOWDA, Nagaraj; BAEK, Kwang-Hyun. Combination strategies of different antimicrobials: An efficient and alternative tool for pathogen inactivation. **Biomedicines**, v. 10, n. 9, p. 2219, 2022.
- BATIHA, G. E. S. *et al.* Biological properties, bioactive constituents, and pharmacokinetics of some *Capsicum* spp. and capsaicinoids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, p. 5179, 22 jul. 2020.
- BENINCÁ, T. *et al.* Carvacrol as a food additive: toxicological aspects and the role of nanotechnology in enhancing its antimicrobial and antioxidant properties. **Food Research International**, v. 197, p. 115256, 2024.

BERRAAOUAN, D. *et al.* Hybrid microcapsules for encapsulation and controlled release of rosemary essential oil. **Polymers**, v. 15, n. 4, p. 823, 7 fev. 2023.

BERTINI, L. M. *et al.* Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Revista Infarma**, v. 17, p. 80–83, 2005.

BHAT, Z. F. *et al.* Enhancing the lipid stability of foods of animal origin using edible packaging systems. **Food Chemistry: X**, v. 21, p. 101185, mar. 2024.

BORGES, L. L. *et al.* Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. RIISPOA – Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2017.

BUKVICKI, Danka *et al.* Óleos essenciais e sua combinação com bactérias do ácido láctico e bacteriocinas para melhorar a segurança e a vida útil dos alimentos: Uma revisão. **Foods (Basel, Suíça)**, v. 12, n. 17, p. 3288, 2023.

CALDERÓN-OLIVER, M.; ESCALONA-BUENDÍA, H. B.; PONCE-ALQUICIRA, E. Efeito da adição de microcápsulas com extrato de casca de abacate e nisina na qualidade da carne moída bovina. **Ciência e nutrição de alimentos**, v. 8, n. 3, p. 1325–1334, 2020.

CALO, J. R. *et al.* Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, v. 54, p. 111–119, 2015.

CAMPO, M. M. *et al.* Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 303–311, 2006.

CARDOSO, L. T. *et al.* Carvacrol-loaded nanoemulsions produced with a natural emulsifier for lettuce sanitization. **Food Research International**, v. 168, n. 112748, 2023.

CHAACHOUAY, N. Synergy, additive effects, and antagonism of drugs with plant bioactive compounds. **Drugs and drug candidates**, v. 4, n. 1, p. 4, 2025.

CHAPAVAL, L *et al.* Concentração inibitória mínima de solventes utilizados na diluição de extratos vegetais com potencial antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus*. São Carlos, SP: **Embrapa Pecuária Sudeste**, 2018. 16 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 42). ISSN 1981-2078

CUI, S. F. *et al.* Microencapsulation of capsaicin in chitosan microcapsules: characterization, release behavior, and pesticidal properties against *Tribolium castaneum* (Herbst). **Insects**, v. 14, n. 1, p. 27, 2022.

DAS, P. *et al.* Exploring capsaicin from *Capsicum chinense* as a potent antimicrobial and therapeutic agent: an integrative experimental and computational study. **In Silico Research In Biomedicine**, v. 1, p. 100063, 2025.

DE OLIVEIRA, A. S. *et al.* Antioxidant activity, molecular docking, quantum studies and *in vivo* antinociceptive activity of sulfonamides derived from carvacrol. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 2021.

DENG, W. *et al.* Stability of purple corn anthocyanin encapsulated by maltodextrin, and its combinations with gum Arabic and whey protein isolate. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 12, p. 2393, 2023.

DILEK, N. M. *et al.* Efeitos antioxidantes e conservantes do extrato de *Epilobium angustifolium* em hambúrgueres de carne bovina: propriedades físico-químicas, estabilidade da cor, oxidação lipídica e análises de acoplamento molecular. **Food science & nutrition**, v. 13, n. 4, p. e70125, 2025.

DINI, I. *et al.* Spices and herbs as therapeutic foods. In: **Food Quality: Balancing Health and Disease**, p. 433–469, 2018.

DONG, C. *et al.* Synthesis and characterization of monodisperse copper nanoparticles using gum acacia. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, v. 57, p. 12–20, 2014.

DU, E.; GAN, L.; LI, Z. *et al.* Atividade antibacteriana *in vitro* do timol e do carvacrol e seus efeitos em frangos de corte desafiados com *Clostridium perfringens*. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, p. 58, 2015. DOI: 10.1186/s40104-015-0055-7.

DUARTE, M. C. T. *et al.* Effects of essential oils from medicinal plants used in Brazil against EPEC and ETEC *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 139–143, 2006.

EBHOHIMEN, I. E. *et al.* Evaluation of the antioxidant properties of carvacrol as a prospective replacement for crude essential oils and synthetic antioxidants in food storage. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1315, 2023.

EGHBAL, N.; CHOUDHARY, R. Complex coacervation: encapsulation and controlled release of active agents in food systems. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food Science and Technology]**, v. 90, p. 254–264, 2018.

EL-HAWARY, S. F. *et al.* Tackling food spoilage bacteria: How pomegranate peel extract can improve beef safety. **Rivista italiana di scienza degli alimenti [Italian journal of food science]**, v. 37, n. 2, p. 228–240, 2025.

ESKANDER, M.; TAHER, A. S.; ZI, E. Extração de óleo e caracterização de ácidos graxos de sementes de pimentão doce *Capsicum annuum* (L.) por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS) e seu uso na preservação de hambúrgueres de carne bovina. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 12, p. 2–6, 2023.

- ESPINALES, C. *et al.* Strategies for healthier meat foods: an overview. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 29, n. 1, p. 18–30, 2024.
- FENG, Y. *et al.* Enhanced oral bioavailability, reduced irritation and increased hypolipidemic activity of self-assembled capsaicin prodrug nanoparticles. **Journal of Functional Foods**, v. 44, p. 137–145, 2018.
- FENNEMA, R. O.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 4. ed., 2010.
- FERNANDES, R. P. P. *et al.* Assessment of the stability of sheep sausages with the addition of different concentrations of *Origanum vulgare* extract during storage. **Meat Science**, v. 137, p. 244–257, 2018.
- FERNANDES, R. P. P. *et al.* Effects of oregano extract on oxidative, microbiological and sensory stability of sheep burgers packed in modified atmosphere. **Food Control**, v. 63, p. 65–75, 2018.
- FERNANDES, R. P. P. *et al.* Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. **Food Chemistry**, v. 233, p. 101–109, 2017.
- FERREIRA, MG; BESSA, M; MENEZES, R. Capsaicina como uma molécula bioativa promissora contra microorganismos de importância médica e agrícola: uma revisão de literatura. In: **Microbiologia: Clínica, ambiental e alimentos 2**. [S.l.]: Atena Editora, 2021. p. 55–68.
- FIEIRA, C. *et al.* In vitro and in vivo antifungal activity of natural inhibitors against *Penicillium expansum*. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 40–46, 2013.
- FRANCO, D. *et al.* The use of microencapsulation by spray-drying and its application in meat products: strategies for obtaining healthier foods. In: **Nova Science Publishers**, 2017.
- FU, L. *et al.* Recent advances in polysaccharide-protein complex coacervates for food applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 256, p. 115025, dez. 2025.
- FÜCHTBAUER, S. *et al.* Antibacterial properties of capsaicin and its derivatives and their potential to fight antibiotic resistance – a literature survey. **European Journal of Microbiology and Immunology**, v. 11, n. 1, p. 10–17, mar. 2021.
- GALLUCCI, M. N. *et al.* Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 24, n. 6, p. 348–354, 2009.
- GANDOVA, V. *et al.* Propriedades físico-químicas e biológicas do carvacrol. *Open chemistry*, v. 21, n. 1, 2023.

GANG, H.-M. *et al.* A study on the comparison of antioxidant effects between hot pepper extract and capsaicin. **Journal of Pharmacopuncture**, v. 11, n. 1, p. 109–118, 2008.

GHADERI-GHAHFAROKHI, M. *et al.* Nanoencapsulation approach to improve antimicrobial and antioxidant activity of thyme essential oil in beef burgers during refrigerated storage. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 7, p. 1187–1201, 2016.

GOCI, E. *et al.* Evaluation of *in vitro* capsaicin release and antimicrobial properties of topical pharmaceutical formulation. **Biomolecules**, v. 11, n. 3, p. 1–10, 2021.

GÓMEZ, B. *et al.* Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and its specific application in meat processing. **Trends in Food Science & Technology**, v. 82, p. 135–147, 2018.

GÓMEZ, I. *et al.* The effects of processing and preservation technologies on meat quality: sensory and nutritional aspects. **Foods**, v. 9, n. 10, p. 1416, 2020.

GUARDA, A. *et al.* The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. **International Journal of Food Microbiology**, v. 146, n. 2, p. 144–150, 2011.

GUO, Q. *et al.* Formulation and characterization of microcapsules encapsulating carvacrol using complex coacervation crosslinked with tannic acid. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food Science and Technology]**, v. 165, n. 113683, 2022.

HADIDI, M. *et al.* Plant by-product antioxidants: control of protein-lipid oxidation in meat and meat products. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food Science and Technology]**, v. 169, n. 114003, 2022.

HELANDER, I. M. *et al.* Permeability barrier of the Gram-negative bacterial outer membrane with special reference to nisin. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2–3, p. 153–161, set. 2000.

HEMMATKHAH, F.; ZEYNALI, F.; ALMASI, H. Encapsulated cumin seed essential oil-loaded active papers: characterization and evaluation of the effect on quality attributes of beef hamburger. **Food and Bioprocess Technology**, v. 13, n. 3, p. 533–547, 2020.

HORVATHOVA, E. *et al.* Assessment of antioxidative, chelating, and DNA-protective effects of selected essential oil components (eugenol, carvacrol, thymol, borneol, eucalyptol) of plants and intact *Rosmarinus officinalis* oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 28, p. 6632–6639, 2 jul. 2014.

HOSSEINIALHASHEMI, M. *et al.* The application of *Pistacia khinjuk* extract nanoemulsion in a biopolymeric coating to improve the shelf life extension of sunflower oil. **Food Science & Nutrition**, v. 9, n. 2, p. 920–928, 2021.

HUANG, K. *et al.* A critical review on the microencapsulation of bioactive compounds and their application. **Food Reviews International**, v. 39, n. 5, p. 2594–2634, 17 ago. 2021.

ILYAS, H. *et al.* Structural insights into the combinatorial effects of antimicrobial peptides reveal a role of aromatic–aromatic interactions in antibacterial synergism. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 40, p. 14615–14633, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Ministério da Saúde, 4. ed., 1. ed. digital, 2008. 1020 p.

JEON, N.-J. *et al.* Inhibitory effect of carvacrol on melanin synthesis via suppression of tyrosinase expression. **Journal of Functional Foods**, v. 45, p. 199–205, 2018.

JIA, W.; WU, X.; KANG, X. Integrated the embedding delivery system and targeted oxygen scavenger enhances free radical scavenging capacity. **Food Chemistry: X**, v. 17, n. 100558, 2023.

JILANI, S. *et al.* O efeito sinérgico do óleo essencial de *Thymus vulgaris* e do carvacrol com imipenem contra *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenêmicos: estudos in vitro, de acoplamento molecular e de dinâmica molecular. *Frontiers in pharmacology*, v. 16, p. 1582102, 2025.

JIN, Yudie *et al.* Adenosine Encapsulation and Characterization through Layer-by-Layer Assembly of Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin and Whey Protein Isolate as Wall Materials. **Molecules**, [S.L.], v. 29, n. 9, p. 2046, 29 abr. 2024.

JINCHENG, W.; XIAOYU, Z.; SIHAO, C. Preparation and properties of nanocapsulated capsaicin by complex coacervation method. **Chemical Engineering Communications**, v. 197, n. 7, p. 919–933, 2010.

JOHNSON, N. R.; WANG, Y. Coacervate delivery systems for proteins and small molecule drugs. **Expert opinion on drug delivery**, v. 11, n. 12, p. 1829–1832, 2014.

JU, J. *et al.* Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 92, p. 22–32, 2019.

KAYE, K. S.; POGUE, J. M. Infections caused by resistant Gram-negative bacteria: epidemiology and management. **Pharmacotherapy**, v. 35, n. 10, p. 949–962, 2015.

KIM, J. *et al.* Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 11, p. 2839–2845, nov. 1995.

KIM, Y.-K.; NAM, M.; BAE, H. Characteristics of Gouda cheese supplemented with chili pepper extract microcapsules. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 37, n. 6, p. 833–839, 2017.

KRAUSE, S. T. *et al.* The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase.

**Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 118, n. 52, p. e2110092118, 2021.

LAM, P. L.; GAMBARI, R. Advanced progress of microencapsulation technologies: in vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. **Journal of Controlled Release**, v. 178, p. 25–45, 2014.

LIU, D. *et al.* Determination of degree of acetylation of chitosan by UV spectrophotometry using dual standards. **Carbohydrate Research**, v. 341, p. 782–785, 2006.

LIU, D. *et al.* The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and  $\beta$ -carotene mixtures on the DPPH free radical. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, n. 7, p. 1344–1349, 2008.

LIU, Z. *et al.* Cancer-promoting effect of capsaicin on DMBA/TPA-induced skin tumorigenesis by modulating inflammation, Erk and p38 in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 81, p. 1–8, 2015.

LORENZO, J. M. *et al.* Natural antioxidants to reduce the oxidation process of meat and meat products. **Food Research International**, v. 115, p. 377–378, 2019.

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

LU, M. *et al.* Capsaicin—the major bioactive ingredient of chili peppers: bio-efficacy and delivery systems. **Food & Function**, v. 11, n. 4, p. 2848–2860, 30 abr. 2020.

MACZKA, W. *et al.* Carvacrol—A natural phenolic compound with antimicrobial properties. **Antibiotics**, v. 12, n. 5, p. 824, 27 abr. 2023.

MADDALONI, L. *et al.* Natural compounds from food by-products in preservation processes: an overview. **Processes**, v. 13, n. 1, p. 93, 2 jan. 2025.

MAHARJAN, A.; VASAMSETTI, B. M. K.; PARK, J.-H. A comprehensive review of capsaicin: biosynthesis, industrial productions, processing to applications, and clinical uses. **Heliyon**, v. 10, n. 21, p. e39721, 24 out. 2024.

MAKSIMOVA, V. *et al.* Electrochemical evaluation of the synergistic effect of the antioxidant activity of capsaicin and other bioactive compounds in *Capsicum* sp. extracts. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 11, n. 8, p. 6673–6687, 2016.

MARINELLI, L.; DI STEFANO, A.; CACCIATORE, I. Carvacrol and its derivatives as antibacterial agents. **Phytochemistry Reviews**, v. 17, n. 4, p. 903–921, 2018.

MARINI, E. *et al.* Antimicrobial and anti-virulence activity of capsaicin against erythromycin-resistant, cell-invasive Group A streptococci. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1281, 2015.

MEHAYA, F. M.; ELSABAGH, R. Quality parameters and oxidative stability of functional beef burgers fortified with microencapsulated cod liver oil. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food Science and Technology]**, v. 142, n. 110959, p. 110959, 2021.

MEMAR, M. Y. *et al.* Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. **Reviews in Medical Microbiology**, v. 28, n. 2, p. 63–68, 2017.

MENDONCA, V. Modern food habits and its impact on human health. **International Journal of Innovative Research in Engineering & Management**, v. 10, n. 4, p. 182–185, 2023.

MILADI, H. *et al.* Antibiofilm formation and anti-adhesive property of three Mediterranean essential oils against a foodborne pathogen *Salmonella* strain. **Microbial Pathogenesis**, v. 93, p. 22–31, 2016. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.01.017.

MOKHTAR, M. *et al.* Antimicrobial activity of selected polyphenols and capsaicinoids identified in pepper (*Capsicum annuum* L.) and their possible mode of interaction. **Current Microbiology**, v. 74, n. 11, p. 1253–1260, 2017.

MOLINA-TORRES, J.; CHÁVEZ, G. A.; RAMÍREZ-CHÁVEZ, R. E. Antimicrobial properties of alkamides present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, n. 3, p. 241–248, 1999.

MORSY, M. K.; ELSABAGH, R. Quality parameters and oxidative stability of functional beef burgers fortified with microencapsulated cod liver oil. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food Science and Technology]**, v. 142, n. 110959, p. 110959, 2021.

MUHOZA, B. *et al.* Combined plant protein modification and complex coacervation as a sustainable strategy to produce coacervates encapsulating bioactives. **Food hydrocolloids**, v. 124, n. 107239, p. 107239, 2022.

MUHOZA, B. *et al.* Gelatin and pectin complex coacervates as carriers for cinnamaldehyde: Effect of pectin esterification degree on coacervate formation, and enhanced thermal stability. **Food hydrocolloids**, v. 87, p. 712–722, 2019.

NAPIÓRKOWSKA, A. *et al.* Microencapsulation of juniper and black pepper essential oil using the coacervation method and its properties after freeze-drying. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 23, p. 4345, 2023.

NAPIÓRKOWSKA, A.; KUREK, M. Coacervation as a novel method of microencapsulation of essential oils—A review. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 5142, 12 ago. 2022.

NASCIMENTO, L. S. *et al.* Effects of Sodium Chloride replacement by Potassium Chloride, addition of oregano and thymol essential oils, and display time on beef hamburgers physical-chemical composition. **Delos**, v. 18, n. 64, p. e3959, 2025.

NASCIMENTO, P. *et al.* Quantificação, atividade antioxidante e antimicrobiana de fenólicos isolados de diferentes extratos de moléculas de *Capsicum frutescens* (pimenta malagueta). **Molecules**, v. 19, p. 5434–5447, 2014.

NASCIMENTO, P. L. A. Atividade antioxidante e antimicrobiana da pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*). 2013. 126 f. Tese (Doutorado em Biociência Animal) – **Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife, 2013.

NEHME, R. *et al.* Antibacterial effect of free, nanoemulsified and protein-complexed carvacrol. **Food Chemistry Advances**, v. 6, n. 100881, p. 100881, 2025.

NGUYEN, T. T. *et al.* Impact of COVID-19 anxiety on functional foods consuming intention: role of electronic word of mouth. **Heliyon**, [S.L.], v. 8, n. 11, p. 11344, nov. 2022.

OLIVAS-MÉNDEZ, P. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and garlic (*Allium sativum*) essential oils and chipotle pepper oleoresin (*Capsicum annum*) on beef hamburgers. **Foods**, v. 11, n. 14, p. 2018, 2022.

OSWELL, N. J.; THIPPAREDDI, H.; PEGG, R. B. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: a review. **Meat Science**, v. 145, p. 469–479, nov. 2018.

OUEDRHIRI, W. *et al.* Synergistic antimicrobial activity of two binary combinations of marjoram, lavender, and wild thyme essential oils. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 12, p. 3149–3158, 2017.

PAGLARINI, C. S. *et al.* Functional emulsion gels with potential application in meat products. **Journal of Food Engineering**, v. 222, p. 29–37, 2018.

PATEIRO, M. *et al.* Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. **Food research international** (Ottawa, Ont.), v.113, p. 156–166, 2018.

PATEIRO, M. *et al.* Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: a review. **Food Research International**, v. 113, p. 156–166, 2018.

PEI, R.-S. *et al.* Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 7, 2009.

PEREIRA, D. *et al.* Rosemary as a natural antioxidant to prevent oxidation in chicken burgers. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 17–23, dez. 2017.

PÉREZ-GONZÁLEZ, A. *et al.* Capsaicin, a powerful •OH-inactivating ligand. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 12, p. 1247, 2020.

PRESSMAN, P. *et al.* Food additive safety: a review of toxicologic and regulatory issues. **Toxicology Research and Application**, v. 1, 2017.

QIU, X.; XIE, J.; MEI, J. Recent advances in the applications and studies of polysaccharide-, protein-, and lipid-based delivery systems in enhancing the bioavailability of capsaicin-A review. **Polymers**, v. 17, n. 9, p. 1196, 2025.

QUERO, P. M. G. *et al.* Oregano essential oil micro- and nanoencapsulation with bioactive properties for biotechnological and biomedical applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 22, 2021.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016.

RADÜNZ, M. *et al.* Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 330, n. 108696, p. 108696, 2020.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2182–2185, 1992.

RATHOD, N. B. *et al.* Biological activity of plant-based carvacrol and thymol and their impact on human health and food quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 733–748, 2021.

RIBEIRO, J. S. *et al.* Natural antioxidants used in meat products: a brief review. **Meat Science**, v. 148, p. 181–188, 2019.

RODRÍGUEZ-MELCÓN, C *et al.* Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) for twelve antimicrobials (biocides and antibiotics) in eight strains of *Listeria monocytogenes*. **Biology**, v. 11, n. 1, p. 46, 2021.

ROSA, A. *et al.* Antioxidant activity of capsinoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 25, p. 7396–7401, 2002.

RUFINO, A. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS<sup>•+</sup>. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2007. 4 p. (Comunicado Técnico).

SADEGHINEJAD, N. *et al.* Pistachio green hull extract as a natural antioxidant in beef patties: effect on lipid and protein oxidation, color deterioration, and microbial stability during chilled storage. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food Science and Technology]**, v. 102, p. 393–402, 2019.

SAINSBURY, J. *et al.* The effects of antioxidants and shelf life conditions on oxidation markers in a sunflower oil salad dressing emulsion (SOSDE). **Food Chemistry**, v. 213, p. 230–237, 2016.

SALTER, A. M. The effects of meat consumption on global health. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 37, n. 1, p. 47–55, 2018.

SÁNCHEZ, J. *et al.* Bacillus cereus: un patógeno importante en el control microbiológico de los alimentos. **Revista Facultad Nacional de Salud Pública**, v. 34, n. 2, 2016.

SANDU, R.; PANDY, V. Capsaicin: a review of its pharmacology in gastrointestinal health and disorders. **Pharmacological Research – Natural Products**, v. 5, p. 100103, 2024.

SANTOS, M. G. *et al.* Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 171, p. 32–39, 2015.

SANTOS-SILVA, M. E. Extração e microencapsulação de polifenóis do bagaço da uva (*Vitis labrusca* var. Isabel): ação das microcápsulas sobre a estabilidade oxidativa de hambúrguer bovino. Universidade Federal da Paraíba, 30 ago. 2022.

SHADDEL, R. *et al.* Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1800–1810, 2018.

SHAN, B. *et al.* Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 11, p. 1879–1885, 2009.

SHEARD, P. R. *et al.* Shelf life and quality of pork and pork products with raised n-3 PUFA. **Meat Science**, v. 55, n. 2, p. 213–221, 2000.

SHI, C. *et al.* Antimicrobial activity of punicalagin against *Staphylococcus aureus* and its effect on biofilm formation. **Foodborne pathogens and disease**, v. 14, n. 5, p. 282–287, 2017.

SI, W. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles loaded with capsaicin and their oxidation resistance in meat preservation. **Food Chemistry**, v. 344, n. 128737, p. 128737, 2021.

SILVA, A. C. *et al.* Resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isolados de carcaças de frangos: resistência a antibióticos e óleos essenciais. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 95–103, 2018.

SINGH, S. *et al.* Coacervation of elastin-like recombinamer microgels. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 37, n. 2, p. 181–186, 2016.

SMAOUI, S. *et al.* Bio-preservative effect of the essential oil of *Mentha piperita* used alone and in combination with BacTN635 in stored minced beef meat. **Meat Science**, v. 117, p. 196–204, 2016.

SOUSA, C. M. *et al.* Fenólicos totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

SOUSSI, E. *et al.* Encapsulation of capsaicin in oil-in-water nanoemulsion: Optimization by a mixture design and its application in Merguez sausage preservation. **Food science & nutrition**, v. 13, n. 2, p. e70042, 2025.

SOUZA, A. L. R. *et al.* Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: characterization and stability. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food Science and Technology]**, v. 91, p. 286–292, 2018.

SOW, L. C. *et al.* Carvacrol nanoemulsion combined with acid electrolysed water to inactivate bacteria, yeast in vitro and native microflora on shredded cabbages. **Food Control**, v. 76, p. 88–95, 2017.

STEIN, C. *et al.* As combinações de daptomicina e rifampicina para isolados de MSSA/MRSA devem ser evitadas devido ao antagonismo? **Infection**, v. 44, p. 499–504, 2016.

SUN, J. *et al.* Microencapsulation of carvacrol by complex coacervation of walnut meal protein isolate and gum Arabic: preparation, characterization and bio-functional activity. **Foods**, v. 11, n. 21, p. 3382, 2022.

SUN, X.; CAMERON, R. G.; BAI, J. Microencapsulation and antimicrobial activity of carvacrol in a pectin-alginate matrix. *Food hydrocolloids*, v. 92, p. 69–73, 2019.

TAIBI, M. *et al.* Evaluation of the interaction between carvacrol and thymol, major compounds of *Ptychotis verticillata* essential oil: antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities against breast cancer lines. **Life**, v. 14, n. 8, p. 1037, 20 ago. 2024.

TIMILSENA, Y. P. *et al.* Complex coacervation: principles, mechanisms and applications in microencapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 1276–1286, 2019.

TÓPOR, A. *et al.* Carvacrol nanocapsules as a new antifungal strategy: characterization and evaluation against fungi important for grape quality and to control the synthesis of ochratoxins. **International Journal of Food Microbiology**, v. 416, n. 110659, p. 110659, 2024.

ULTEE, A.; BENNIK, M. H. J.; MOEZELAAR, R. O grupo hidroxila fenólica do carvacrol é essencial para a ação contra o patógeno transmitido por alimentos *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 1561–1568, 2002.

VAOU, N. et al. Interactions between medical plant-derived bioactive compounds: Focus on antimicrobial combination effects. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), v. 11, n. 8, p. 1014, 2022.

VERGARA, H.; CÓZAR, A.; RUBIO, N. Effect of adding different forms of oregano (*Origanum vulgare*) on lamb meat burgers quality during the storage time. **CyTA – Journal of Food**, v. 18, n. 1, p. 535–542, 2020.

VESSONI, N. G.; PIAIA, A. F.; BERNARDI, D. M. Pesquisa de consumo de carne bovina, produtos cárneos, hambúrguer e alimentos funcionais. **FAG Journal of Health (FJH)**, v. 4, p. 25–37, 2019.

VINCEKOVIĆ, M. et al. Innovative technologies for encapsulation of Mediterranean plants extracts. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 1–12, 2017.

VINCIGUERRA, V. et al. Chemical characterization and antifungal activity of *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* essential oils and carvacrol against *Malassezia furfur*. **Natural Product Research**, v. 33, n. 22, p. 3273–3277, 2019.

WANG, D. et al. As alterações que ocorrem nas proteínas durante o processamento e armazenamento de produtos cárneos fermentados e sua regulação por bactérias do ácido lático. *Foods* (Basel, Switzerland), v. 11, n. 16, p. 2427, 2022.

WANG, P.; WU, Y. A review on colloidal delivery vehicles using carvacrol as a model bioactive compound. *Food hydrocolloids*, v. 120, n. 106922, p. 106922, 2021.

XIE, M. et al. Synthesis and biological evaluation of capsaicin analogues as antioxidant and neuroprotective agents. **RSC Advances**, v. 13, n. 46, p. 32150–32159, 2023.

XING, F. et al. Microencapsulation of capsaicin by the complex coacervation of gelatin, acacia and tannins. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 91, n. 4, p. 2669–2675, 2004.

XING, F.; CHENG, G.; YI, K. Study on the antimicrobial activities of the capsaicin microcapsules. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 102, n. 2, p. 1318–1321, 2006.

XUE, J.; ZHONG, Q. Thyme oil nanoemulsions coemulsified by sodium caseinate and lecithin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 40, p. 9900–9907, 2014.

YANG, N. et al. Impact of capsaicin on aroma release: in vitro and in vivo analysis. **Food Research International**, v. 133, n. 109197, p. 109197, 2020.

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, set., 2015.

YE, Q.; GEORGES, N.; SELOMULYA, C. Microencapsulation of active ingredients in functional foods: from research stage to commercial food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 167–179, 2018.

YEN, G. C.; DUH, P. D. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 3, p. 629–632, 1994.

YOUNES, A. H. *et al.* Novel coumarins from green sweet bell pepper seeds: their isolation, characterization, oxidative stress-mitigating, anticancer, anti-inflammatory, and antidiabetic properties. **Journal of Molecular Structure**, v. 1312, p. 138629, set. 2024.

YU, H. H. *et al.* Application of mixed natural preservatives to improve the quality of vacuum skin packaged beef during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 169, n. 108219, p. 108219, 2020.

ZANOTTO, A. W. Emprego de compostos amídicos para o controle de *Penicillium expansum* em maçã. 2016. 72 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**, Francisco Beltrão, 2016.

ZHANG, B. *et al.* Encapsulation of capsaicin in whey protein and OSA-modified starch using spray-drying: physicochemical properties and its stability. **Foods**, v. 11, n. 4, p. 612, 21 fev. 2022.

ZHANG, W. *et al.* Pharmacological activity of capsaicin: mechanisms and controversies. **Molecular Medicine Reports**, v. 29, n. 3, 2024.

ZHAO, J. *et al.* Enhanced antibacterial performance of gelatin/chitosan film containing capsaicin loaded MOFs for food packaging. **Applied Surface Science**, v. 510, n. 145418, p. 145418, 2020.

ZHOU, M. *et al.* In vitro combination susceptibility testing for detecting clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* by five kinds of antibiotics with sulbactam. **Chinese Journal of Clinical Laboratory Science**, p. 22–24, 2018.

ZOUAOU, Z. *et al.* Phytochemical profile, antioxidant screening, and antidiabetic effect of pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves in diabetic mice. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 18, p. 101309, dez. 2024.