CAPÍTULO 38: ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA APLICAÇÃO EM ALIMENTOS: UMA REVISÃO

CHAPTER 38: ENCAPSULATION OF ESSENTIAL OILS FOR FOOD APPLICATION: A REVIEW

Amanda Schuencker da Silva Moreira¹, Eliana da Silva Gulão²

Resumo

A interação entre proteínas e polissacarídeos pode resultar em novos produtos com propriedades superiores aos polímeros originais com grande potencial tecnológico, e neste sentido, uma importante técnica é encapsulação, especialmente de ingredientes lipídicos, como óleos essenciais. As cápsulas ou esferas formadas possuem potencial para facilitar o emprego de óleos essenciais em alimentos e na indústria farmacêutica, preservando sua atividade biológica, agregando valor nutricional e propriedades tecnológicas. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre óleos essenciais e diferentes técnicas de encapsulação para preservação destes compostos. Para realizar a pesquisa foram utilizadas as seguintes palavras-chave: óleo essencial; óleos vegetais; encapsulação; microencapsulação nas bases de dados: *Science direct*, *Scielo* e *PubMed*. Como resultado foi constatada a importância dos óleos essenciais como antimicrobianos naturais para aplicação em alimentos devido aos terpenos presentes em sua composição e, uma vez que são compostos instáveis, pesquisas científicas demonstram a eficiência na encapsulação e preservação da atividade biológica através de diferentes técnicas, com ênfase na importância dos fatores envolvidos no processo, como a escolha dos polímeros para o revestimento do núcleo e a temperatura envolvida na encapsulação para maior preservação dos óleos essenciais.

Palavras-chave: óleo essencial; encapsulação; polímeros

Abstract

The interaction between proteins and polysaccharides can result in new products with properties superior to the original polymers with great technological potential, and in this sense, an important technique is encapsulation, especially of lipid ingredients, such as essential oils. The capsules or spheres formed have the potential to facilitate the use of essential oils in food and in the pharmaceutical industry, preserving their biological activity, adding nutritional value and technological properties. The objective of this work was to perform a literature review on essential oils and different encapsulation techniques for the preservation of these compounds. To carry out the research, the following keywords were used: essential oil; vegetable oils; encapsulation; microencapsulation in the databases: *Science direct*, *Scielo* and *PubMed*. As a result, it was verified the importance of essential oils as natural antimicrobials for application in foods due to the terpenes present in their composition and, since they are unstable compounds, scientific research demonstrates the efficiency in encapsulation and preservation of biological activity through different techniques, with emphasis on the importance of the factors involved in the process, such as the choice of polymers for the core coating and the temperature involved in the encapsulation for greater preservation of essential oils.

Key-words: essential oil; encapsulation; polymers

¹Estudante de Nutrição. Universidade Estácio de Sá, amanda.schuencker@gmail.com

²Docente. Departamento de Nutrição. Universidade Estácio de Sá, eliana.gulao@estacio.br

Introdução

Os óleos essenciais (OEs) despertam grande interesse em diversos setores. Como produtos naturais possuem características físico-químicas interessantes, com alto valor agregado por possuírem propriedades biológicas diversas e relevantes, como por exemplo, atividade antimicrobiana, repelente, propriedades terapêuticas e nutricionais (ASBAHANI et al., 2015; DEANS; RITCHIE, 1987; MARTINS et al., 2014).

A indústria de alimentos também apresenta uma demanda crescente de OEs devido a suas importantes aplicações como conservantes de alimentos, adição em embalagens de alimentos e combate a patógenos que podem gerar intoxicação ou infecção alimentar (ASBAHANI et al., 2015).

Numerosos estudos demonstraram a eficiência de OEs em baixas doses contra alguns patógenos bacterianos encontrados na indústria de alimentos e produtos cárneos (BAKKALI et al., 2008; BELLIK, 2014; NOSHIRVANI et al., 2017; SINGH et al., 2008). Pesquisas revelaram que, a partir dessas classes, uma série de compostos possui atividade antioxidante e antibacteriana (BALCÃO et al., 2013; DEANS; RITCHIE, 1987; OUEDRHIRI et al., 2016). Por esta razão, os óleos essenciais são uma alternativa aos conservantes químicos e, portanto, são usados na preparação de alimentos seguros com impacto positivo na saúde dos consumidores (BURT, 2004; GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2008).

Nos últimos anos, a demanda por produtos contendo óleos essenciais vem crescendo e ainda espera-se expandir e aumentar sua diversidade. Óleos essenciais podem ser responsáveis por diferentes fragrâncias e sabores, sendo componentes importantes em produtos domésticos, como por exemplo, produtos de lavanderia, em cosméticos ou como aditivos em alimentos devido às propriedades funcionais dos diversos óleos essenciais existentes. Publicações e patentes publicadas recentemente na área de microencapsulação sugerem que os setores industrial e acadêmico estão empenhados em explorar essa área, especialmente nas indústrias de cosméticos e alimentos (MARTINS et al., 2014).

Pesquisas revelaram que a partir de óleos essenciais uma série de compostos possui atividade antioxidante e antibacteriana (BALCÃO et al., 2013; DEANS; RITCHIE, 1987; OUEDRHIRI et al., 2016), no entanto, são compostos voláteis de difícil aplicação na indústria de alimentos, por isso, a microencapsulação torna-se uma técnica atraente na preservação de compostos instáveis, facilitando sua aplicação nos mais variados setores alimentares. Desta forma, o objetivo deste trabalho é apresentar

uma revisão de literatura sobre óleos essenciais e seu potencial para aplicação em alimentos através das técnicas de microencapsulação.

Revisão de Literatura

Óleos essenciais e seus compostos bioativos

Mesmo sem registros científicos que comprovem a eficiência medicinal das plantas, o ser humano sempre fez o uso desse recurso para se aliviar queixas e tratar dores (SANTIN, 2014). O conhecimento de potencial curativo das ervas vai além da sabedoria popular, a ciência constantemente vem buscando validar tais informações através da pesquisa. Segundo Bizzo (2020) as indústrias alimentícias, o setor de cosméticos, perfumaria e governos vêm demonstrando grande interesse em explorar e reconhecer cientificamente tratamentos com compostos biologicamente ativos encontrados nas plantas, devido a resultados positivos de pesquisas científicas e baixo custo-benefício (FERREIRA 2017; SOUZA 2017). Seu uso se aplica amplamente em conservação de produtos alimentares, herbicidas, antissépticos, antifúngicos, inseticidas, anti-helmínticos, anticonvulsivantes e antimicrobianos (MARQUES 2020; VALVERDE 2020; VERBER 2015).

As plantas conhecidas como medicinais e aromáticas têm em comum aleloquímicos, chamados terpenos, monoterpenos, sesquiterpenos e de fenilpropanoides (BIZZO, 2020), voláteis e aromáticos identificados a partir de um metabolismo secundário das plantas. Estas substâncias são muito utilizadas em larga escala na produção de fragrâncias em perfumarias. Seus odores característicos e específicos funcionam como um mecanismo de autoproteção ou atração, sendo os terpenos responsáveis pelas propriedades organolépticas de cada planta e suas propriedades olfativas podem ser percebidas por humanos, animais, microrganismos e outras plantas (CRUZ-SILVA, 2016; NETTO; BARRETO, 2011).

Os terpenos exercem várias funções e em uma mesma planta podem ser extraídos e encontrados diversos tipos de terpenos. Em um estudo feito com o orégano (*Oreganum Vulgare*) foram identificados 12 terpenóides com funções antifúngicas (SANTIN, 2014). Os terpenos protegem as plantas de fatores relacionados ao ambiente físico, níveis de iluminação, exposição a raios ultravioleta (UV), conteúdos de água e nutrientes do solo. Os monoterpenos são quem têm o poder de repelir ou atrair insetos polinizadores e seus compostos biologicamente ativos são capazes de mudar o ambiente

onde são plantados, interferindo diretamente na produção e colheita de outras espécies de plantas e no crescimento de pragas. Em seu estudo realizado por Cruz-Silva (2016) foi observado que esses compostos são responsáveis por inibir o crescimento de ervas daninhas, fungos, tendo a função de proteger o solo dos estresses causados por baixa reposição hídrica, inibindo assim o crescimento de microrganismos. Cada terpeno tem suas propriedades medicinais específicas e suas quantidades podem variar de acordo com o período de colheita e maturação da planta. Os terpenos são a origem dos óleos essenciais aromáticos e são eles que definem o comportamento dessas plantas (CRUZ-SILVA, 2016).

Óleos essenciais são produtos ricos em compostos biologicamente ativos, insolúveis em água, obtidos através da destilação por arraste com vapor d'água ou por meio de prensagem mecânica a frio ou por extração de solventes orgânicos, sendo o éter um dos principais (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2020). Esses processos podem ser combinados para potencializar a extração e seus compostos biologicamente ativos podem ser encontrados em partes específicas das plantas, por isso estudos sugerem a investigação de todos os componentes das plantas como raízes, caules, folhas, flores, frutos, cascas e sementes, onde geralmente se concentram as maiores parte dos lipídeos (CRUZ-SILVA, 2016; FERREIRA, 2017; VERBER, 2015).

Os óleos essenciais são misturas químicas complexas de substâncias voláteis que se diferenciam de óleos fixos e fatores como o período de colheita, tipo de solo, contato com luz, metodologia de extração do óleo influenciam diretamente na quantidade de terpenos e qualidade do produto final (FERREIRA, 2017).

Na natureza, os óleos essenciais desempenham um papel importante na proteção das plantas como antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também contra herbívoros, reduzindo seu apetite por tais plantas. Eles também podem atrair alguns insetos para favorecer a dispersão de pólenes e sementes, ou repelir outros indesejáveis. Eles são caracterizados por dois ou três componentes principais em concentrações razoavelmente altas (20% a 70%) em comparação com outros componentes presentes em quantidades vestigiais, como por exemplo: carvacrol (30%) e timol (27%) são os principais componentes do óleo essencial de *Origanum compactum*, linalol (68%) do óleo essencial de *Coriandrum sativum*, 1,8-cineol (50%) do óleo essencial de *Cinnaumum camphora*, α -felendreno (36%) e limoneno (31%) do óleo essencial de

sementes de *Anethum graveolens*, mentol (59%) e mentona (19%) de óleo essencial de *Mentha piperita* (BAKKALI et al., 2008).

Em geral, os óleos essenciais representam uma pequena fração da composição vegetal (menos de 5% da matéria seca vegetal) e compreendem principalmente terpenos (isoprenos) e terpenóides. Os primeiros compostos são monoterpenos (têm 10 átomos de carbono e representam mais de 80% da composição dos OEs) e sesquiterpenos (têm 15 átomos de carbono). Estes podem apresentar estruturas acíclicas de hidrocarbonetos, assim como estruturas mono, di ou tricíclicas. Os segundos, também chamados isoprenoides, são derivados oxigenados de terpenos de hidrocarbonetos, tais como álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, fenóis, éteres e ésteres. Os terpenos representam uma grande classe dos hidrocarbonetos naturais mais abundantes. Estes têm vários potenciais já estudados, como por exemplo, contra doenças como o câncer (EBADA; LIN; PROKSCH, 2010), malária (PARSHIKOV; NETRUSOV; SUTHERLAND, 2012) e doenças cardíacas (LIEBGOTT et al., 2000), outros mostram propriedades inseticidas (ROSSI; CANAVOSO; PALACIOS, 2012). O bloco de construção fundamental dos terpenos é a unidade de isopreno (2-metil-1,3-butadieno). É representado pela fórmula estrutural geral $(C_5H_8)_n$ onde n é o número de unidades de isopreno ligadas (ASBAHANI et al., 2015; BAKKALI et al., 2008; OMONIJO et al., 2017).

Em estudo conduzido por Valverde (2020), sobre a *Solidagum Chilensis* chamada popularmente de “arnica” no Brasil, planta originária do Chile, tendo suas propriedades medicinais conhecidas desde o século 13, foi possível identificar a volatilidade na presença de diferentes tipos de terpenos que se alteraram de acordo com as partes da planta, tipos de extração, período de colheita e secagem, como pode ser observado na Tabela 1. Observaram também maior perda de terpenos nas partes de inflorescência que passaram por secagem do que na extração de inflorescências frescas, devido à alta volatilidade desses compostos químicos. Todas as amostras indicaram respostas significativamente positivas para as atividades antinoceptivas, que é a capacidade de percepção da dor observada em humanos, porém seus resultados indicam a viabilidade de utilização dos extratos compostos do *Solidago Chilensis* na criação de novos fármacos.

Estudos de óleos essenciais têm-se ampliado com o intuito de aumentar ou estimular a imunidade, reduzir do uso prolongado de antibióticos e amenizar resistências infecciosas (MARQUES, 2020; OLIVEIRA, 2016; SANTIN, 2014). Sua

aplicação é de vasta amplitude, sendo possível sua aplicação em embalagens de alimentos, como conservantes naturais atuando na preservação do prazo de validade de produtos alimentícios e evitando ou inibindo a proliferação de microrganismos patogênicos (FERREIRA, 2017).

Tabela 1. Comparação dos principais compostos voláteis nas amostras analisadas das partes aéreas de *S. chilensis* detectadas / extraídas por SPME e hidrodestilação.

Parte aérea	Compostos principais	Método de detecção / extração
Hastes centrais	Germacreno D, acetato de bornila, γ -elemeno, β -cariofileno, limoneno	SPME
	Germacreno D, γ -elemeno, acetato de bornila, espatulenol, β -cariofileno	Hidrodestilação
Inflorescências secas	Germacreno D, (Z) - β -farneseno, β -cariofileno, acetato de bornila	SPME
	Germacreno D, β -cariofileno, γ -elemeno, acetato de bornila	hidrodestilação
Inflorescências frescas	Limoneno, germacreno D, acetato de bornila	SPME
	Germacreno D, limoneno, γ -elemeno, β -cariofileno	Hidrodestilação

Fonte: Valverde, 2020

A evolução científica vem permitindo perceber que as maiores riquezas estão em nos recursos naturais, sendo o Brasil responsável pela importação de 5% de óleos essenciais cítricos produzidos mundialmente, chegando a ser o maior produtor do óleo de laranja (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2020). Pesquisas envolvendo as propriedades de óleos essenciais também são realizadas em casos clínicos. No estudo de Santin (2014) pode-se observar a eficácia do óleo essencial de *Oreganum Vulgare* para o tratamento de otite em cães que estavam alocados na “micoteca do Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária da UFPel”, causadas pelo fungo *Malassia Pachydermatis*. O óleo de orégano utilizado nessa pesquisa foi extraído

através do arraste por vapor seguindo todas as normas da farmacopéia brasileira IV, embora o método de extração tenha sido citado ele foi efetuado por uma empresa que de distribuição do ativo. Após o óleo passar por cromatografia realizou-se a preparação de uma solução de 5g, contendo em sua composição 0,04g de “L-1 (α -pineno, canfeno, β -pineno, mirceno, α -terpineno, p-cimeno, limoneno,” 0,0018g “-cineol, terpinoleno, linalol, 4-terpineol, α -terpineol, timol e carvacrol)”. Cada ativo encontrado foi comparado a especificidade de tempo das amostras.

Após a incubação dos fungos em placas de Petri a 35 °C por 72 horas foram realizadas as leituras de CIM e CFM. Os dados revelaram que o CIM 50 e 90% demonstraram inibição fúngica, sendo eles mais sensíveis as amostras de CIM 90%. Com o objetivo de identificar a ação antifúngica do óleo essencial foi realizada análise de cromatografia identificando como componentes majoritários: timol, terpineno, 4-terpineol e carvacrol. Destes componentes ao que mais se destacam e dão as características expressadas pelo *Oreanum Vulgare* são o timol e o carvacrol. Mas os grandes responsáveis pela ação antifúngica deste óleo são o α -terpineno e o 4-terpineol. Nesse estudo concluíram que o óleo essencial de orégano é capaz de sensibilizar e descontinuar a ação fungicida do *M. pachydermatis*, logo, seu uso comprovou-se eficaz e muito promissor no tratamento de otites e dermatites em cães (SANTIN, 2014).

Pesquisas envolvendo OEs também são realizadas na intenção de promover uma alimentação com um melhor controle microbiológico evitando o surgimento de doenças transmitidas por alimentos, também conhecidas como DTAs. Por não existir um padrão de análise internacional ou nacional, facilmente estudos com os mesmos componentes e tipos de OEs e microrganismos podem apresentar resultados diferentes. O ambiente no qual essas plantas estão inseridas também alteram significativamente a quantidade de terpenos presentes nos OEs. Estudos também destacam a maior sensibilidade de bactérias Gram-positivas ao uso de OEs, uma vez que as espécies Gram-negativas vêm demonstrando maior resistência, aumentando a necessidade de promover estudos mais focados no mecanismo de ação dos OEs em suas estruturas físico-químicas. A alta quantidade de metodologias de análises e a falta de padrões nos ensaios podem dificultar a identificação correta dos resultados (BERALDO, 2013; MILEZZI, 2012; MAJOLO, 2014; SANTURIO, 2011).

As ervas aromáticas ou temperos são usados constantemente nas cozinhas para potencializar o sabor dos alimentos pois se destacam por seus sabores característicos e

capacidade antimicrobiana. No estudo realizado por Tofino-Rivera (2017), na Colômbia, objetivou-se substituir o uso de conservadores químicos na produção de linguiças artesanais por OEs de tomilho e cravo-da-india. Os autores constataram primeiramente que a espécies de *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foram os microrganismos mais comumente encontrados na contaminação desses embutidos cárneos específicos.

A extração de ambos os óleos foi através da técnica de “hidrodestilação a vapor” e sua composição química determinada através da cromatografia gasosa, sendo observado no óleo essencial de tomilho 46% de timol e 26% de para-cimeno, enquanto no óleo de cravo houve maior prevalência de eugenol (84%). Os preparos das linguiças artesanais foram divididos em três grupos: um grupo contendo o OE de cravo (0,5 mL/kg), outro com OE de tomilho (0,5 mL/kg) e outro grupo contendo adição de uma mistura de conservadores químicos, contendo nitrato (0,03%), fosfato de potássio (0,3%) e benzoato (0,05%). Após, as linguiças artesanais e cruas foram embaladas a vácuo observando a preservação de cada produto em relação ao crescimento microbiológico e as características sensoriais das mesmas durante o armazenamento por 24 dias. Como principais resultados os autores observaram que as amostras contendo OEs apresentaram inibição in vitro de 28,3mm e 27,3mm respectivamente contra a *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Apesar de os conservantes químicos serem responsáveis por menor desenvolvimento microbiano nos produtos finais, os embutidos produzidos com os OEs se destacaram nos atributos cor e sabor nas análises sensoriais conduzidas, além de também demonstrarem satisfatória conservação (TOFINO-RIVEIRA, 2017).

Microencapsulação de óleos essenciais

Encapsulação é o processo pelo qual vários ingredientes alimentícios podem ser armazenados dentro de um invólucro ou revestimento microscópico para proteção e/ou posterior liberação. Mais especificamente a encapsulação é o processo de envolver pequenas partículas, um líquido ou um gás dentro de uma camada de revestimento ou dentro de uma matriz. Tradicionalmente a encapsulação não utiliza cápsulas maiores que 3mm de comprimento. De uma forma geral, cápsulas que possuam tamanho em um intervalo de 100nm a 1000nm são classificadas como microcápsulas e as que possuem

tamanho entre 1nm e 100nm são classificados como nanocápsulas (SOBEL; VERSIC; GAONKAR, 2014).

A escolha do material adequado para encapsulação do ingrediente alimentício depende do desempenho físico e propriedades químicas do agente ativo. No entanto, na maioria das circunstâncias, é essencial que a seleção dos materiais deva mostrar ao menos duas características importantes: excelentes propriedades de barreira e excelente propriedade de formação de filme. Para encapsulação de compostos lipofílicos é importante que também possua propriedade surfactante (VASISHT, 2014).

Vários fatores devem ser considerados para ajudar na escolha dos polímeros da matriz, incluindo material de núcleo, morfologia, distribuição do tamanho de partícula, quantidade da produção, orçamento e disponibilidade de processo. Em muitos casos, os objetivos e expectativas originais de desenvolvimento da cápsula ou esfera podem precisar ser ajustados para acomodar uma limitação de material no sentido de estabilidade ou processamento da microencapsulação. Por exemplo, as microesferas com uma grande quantidade de amido modificado podem ser apropriadas para utilização através do processo de secagem por atomização ou *spray dryer*, e, isto pode ser comercialmente justificável quando o óleo essencial encapsulado ou outro composto é armazenado num saco selado a vácuo. Nesse caso, o amido modificado serve simplesmente como um componente de matriz de mascaramento de sabor em uma forma encapsulada. Por outro lado, as microcápsulas baseadas em gelatina oferecem uma alta capacidade de armazenamento do núcleo quando produzidas pelo processo de coacervação complexa (COMUNIAN et al., 2017; VASISHT, 2014).

Tecnologias sofisticadas e diferentes materiais foram desenvolvidos ao longo dos anos (BEIRÃO-DA-COSTA et al., 2013; GARCÍA-SALDAÑA et al., 2016; NAWONG et al., 2016; YANG et al., 2016) e uma variedade extremamente ampla de funcionalidades pode agora ser alcançada através da microencapsulação. Algumas tecnologias de encapsulação, embora cientificamente impressionantes, podem não ser apropriadas para todas as aplicações. Quando a encapsulação é usada para evitar a degradação excessiva de um ingrediente sensível, para reduzir o aparecimento de sabores voláteis durante o cozimento ou para economizar em um ingrediente caro, o custo em uso deve, na verdade, ser menor do que o ingrediente não encapsulado. No entanto, se a encapsulação fornecer ao ingrediente uma propriedade única que não é alcançável sem encapsulação, o custo em uso pode ser considerado superior. Todavia, o

custo do processo deve ser considerado e especialmente a indústria de alimentos também visa tecnologias limpas e econômicas, por isso, também se faz necessária pesquisa por técnicas simples e também eficientes (GOUIN, 2004; LIDERT, 2005).

A liberação controlada de ingredientes alimentícios é uma funcionalidade chave que pode ser fornecida pela encapsulação. Uma liberação oportuna e direcionada melhora a eficácia dos aditivos alimentares e amplia a gama de aplicação de ingredientes alimentícios, melhorando assim a relação custo-benefício para o fabricante de alimentos. Aditivos reativos, sensíveis ou voláteis (vitaminas, culturas, compostos voláteis) podem ser transformados em ingredientes estáveis através da microencapsulação. Com propriedades de liberação controlada cuidadosamente ajustadas, a encapsulação não é mais apenas uma técnica de valor agregado, mas uma fonte de ingredientes novos com propriedades atrativas e que anteriormente eram de difícil aplicação (GOUIN, 2004; MARTÍN et al., 2015).

Diferentes métodos foram propostos para a produção de micro ou nanocápsulas (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2016; CHEW; NYAM, 2016; ERATTE et al., [s.d.]), 2016). Geralmente, essas técnicas podem ser divididas em duas categorias principais: métodos químicos e físicos; este último pode ser subdividido em técnicas físico-químicas e físico-mecânicas.

A técnica de microencapsulação por *spray drying* é um processo comercial de relativo baixo custo que é usado principalmente para o encapsulamento de fragrâncias, óleos e aromas. Tem sido amplamente utilizada na secagem de alimentos sensíveis ao calor, produtos farmacêuticos e outras substâncias devido à rápida evaporação do solvente das gotículas. Embora na maioria das vezes seja considerado um processo de desidratação, a secagem por atomização também pode ser usada como um método de encapsulação quando retém materiais "ativos" dentro de uma matriz protetora, que é essencialmente inerte ao material que está sendo encapsulado (MAHDAVI et al., 2014).

Uma pesquisa onde foi realizada a encapsulação do óleo essencial de tomilho foi avaliado o potencial antimicrobiano *in vitro* e *in situ* do OE em produtos cárneos do tipo hambúrguer. Microcápsulas de caseína-maltodextrina foram produzidas por secagem por pulverização (*spray dryer*) e avaliadas quanto à eficiência de encapsulação, estabilidade térmica, compostos químicos e morfologia, além da atividade antimicrobiana nos hamburguers após cocção. Como resultado, os autores observaram que as cápsulas contendo o óleo essencial foram responsáveis pela inibição *in vitro* e *in situ* nas amostras de

hambúrguer de quatro diferentes espécies de microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Typhimurium*. Além disto, as cápsulas apresentaram alta eficiência de encapsulação e estabilidade térmica o que permitiu maior proteção e estabilidade dos óleos essenciais. A morfologia porosa das cápsulas possivelmente permitiu a liberação do óleo essencial no produto permitindo a ação antimicrobiana.

Embora a técnica de *spray dryer* seja bem difundida na indústria de alimentos, existem algumas desvantagens dessa técnica, como: a produção de micropartículas não uniformes; limitação na escolha de materiais de parede (deve possuir baixa viscosidade em concentrações relativamente altas); produção de pós muito finos que podem necessitar de processamento adicional; pode causar alterações em materiais sensíveis ao calor; e principalmente, pode haver perdas na fase final de recuperação do produto (MAHDAVI et al., 2014).

A liofilização é uma técnica de desidratação por congelamento, na qual a exclusão da água dos alimentos é feita por sublimação, à baixa pressão, a partir dos produtos previamente congelados. De uma forma geral, os liofilizadores mantêm os alimentos congelados a uma temperatura entre -40 e -90°C e, em seguida, com o aumento gradativo da temperatura, a água congelada é retirada sob a forma de vapor. A liofilização ocorre em três estágios: congelamento do alimento em um ultrafreezer ou nitrogênio líquido, remoção da água por sublimação e secagem dos alimentos (FELLOWS et al., 2006). A vantagem de utilizar a liofilização está no fato de ser utilizada baixa temperatura, o que contribui por manter as propriedades nutricionais e sensoriais do produto final, ou ainda manter suas características funcionais, especialmente em compostos instáveis como os pigmentos, sendo possível manter sua cor e seu sabor natural (ORDÓÑEZ PEREDA; MURAD, 2005). No entanto, trata-se de uma operação lenta com custo muito elevado, o que pode acarretar custos adicionais da produção. Em alguns casos, como na aplicação de óleos, ingredientes voláteis ou sujeitos a oxidação, o uso de baixas temperaturas durante o processo de encapsulação é recomendado para evitar a ocorrência de reações indesejáveis e volatilização do produto.

Um estudo pesquisou o efeito da temperatura na secagem do óleo essencial de coentro (*Coriandrum sativum* L.) através da secagem natural (ao sol), sombra, fornos mecânicos (40 e 60 °C), forno microondas (500 e 700W) e por liofilização. Os óleos

essenciais foram analisados por cromatografia gasosa contendo detector de chamas (GC-FID) e cromatografia de massas (GC / MS). O maior rendimento de óleo essencial foi obtido nas amostras liofilizadas seguido pela amostra seca à sombra. No total, 39 componentes foram determinados nos óleos essenciais de coentro fresco e seco. Os componentes principais foram decanal (0-37,5%), cis-fitol (1,0-34,1%), 1-tetradecanol (0-31,7%). As porcentagens de decanal e n-decanol no óleo diminuíram significativamente quando o material vegetal foi seco em estufa a 60 °C ou micro-ondas. Desta forma, os autores concluíram que a secagem utilizando baixas temperaturas, como a liofilização, são mais adequadas a substâncias instáveis como os óleos essenciais (GHASEMI PIRBALOUTI; SALEHI; CRAKER, 2017).

Atualmente uma das técnicas físico-químicas mais empregadas na encapsulação de óleos essenciais é a coacervação complexa. A técnica pode ser usada para encapsulação, imobilização de enzimas, formação de filmes de embalagem e produção de emulsões ou géis alimentares. Os coacervados formados também são usados como encapsulantes, aditivos, emulsionantes e modificadores de viscosidade na indústria alimentícia (EGHBAL; CHOUDHARY, 2018) porém, para isso, faz-se necessário o entendimento dos parâmetros que influenciam na interação polimérica para obter as melhores condições de formação dos coacervados e consequente microencapsulação. A seguir, serão apresentados os principais tópicos envolvidos na formação dos complexos coacervados.

A coacervação refere-se ao fenômeno de separação de fases entre dois polieletrólitos opostamente carregados em duas fases líquidas: uma fase densa carregada de polieletrólitos e uma fase diluída, sendo a fase densa denominada fase de coacervado e a fase diluída conhecida como fase de equilíbrio (COMERT; DUBIN, 2017; LIU et al., 2017). A fase de coacervado inicia-se com o surgimento de partículas normalmente micrométricas, que sofrem coalescência, formando uma separação de fases macroscópica (JHO et al., 2017).

Diferentes óleos essenciais já foram encapsulados pela técnica da coacervação complexa devido a relativa facilidade da técnica, baixo custo e baixas temperaturas empregadas (CHANG et al., 2006; HERNÁNDEZ-NAVA et al., 2020; LV et al., 2014; PENG et al., 2014; YANG et al., 2016).

Em uma pesquisa conduzida por LV et al., (2014) foram formadas nanocápsulas de óleo essencial de jasmin resistentes a maiores temperaturas através da coacervação

complexa utilizando como material de parede gelatina e goma arábica e reticuladas pela enzima transglutaminase. Sua capacidade de resistência ao calor a 80 °C foi avaliada por características morfológicas (tamanho, índice de polidispersidade e potencial zeta) e os resultados mostraram que as nanocápsulas reticuladas em condições alcalinas podem suportar o banho-maria a temperatura de 80 °C por 7 h.

Emulsões estabilizadas por biopolímeros através da coacervação complexa representam uma importante técnica na encapsulação de óleos essenciais. O encapsulamento do OE de *Eucalyptus citriodora* através desta técnica aumentou a estabilidade de seus fitoesteróis durante a pasteurização (POUDEL et al., 2019), enquanto maior estabilidade contra a oxidação do óleo vegetal foi obtida por secagem por pulverização das emulsões (VÉLEZ-ERAZO; CONSOLI; HUBINGER, 2020). No entanto, foi constatada maior acessibilidade e estabilidade do licopeno encapsulado por emulsões estabilizadas pela coacervação complexa (ZHAO et al., 2020) desta forma, é importante destacar a importância em pesquisar os fatores envolvidos nas diferentes técnicas de encapsulação para garantir o objetivo de sua aplicação ao final do processo.

Considerações Finais

Este estudo demonstrou o potencial de óleos essenciais obtidos em diferentes vegetais para aplicação em alimentos devido a presença de compostos bioativos, especialmente os terpenos, que possuem atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e repelente, no entanto, devido à instabilidade destes compostos as técnicas de encapsulação são atraentes na preservação da atividade biológica dos mesmos. Dentre as diferentes técnicas existente, a coacervação complexa e técnicas físico-químicas como sistemas emulsionados são bem indicadas para encapsular óleos essenciais devido a sua facilidade no processo e baixas temperaturas utilizadas preservando compostos voláteis, além da possibilidade de utilizar diferentes polímeros como material de parede envolvendo o núcleo contendo o óleo essencial garantindo uma alta eficiência de rendimento e encapsulação. No entanto, a pulverização ou *spray dryer* é amplamente utilizada sendo também responsável pela preservação de óleos essenciais a partir da escolha correta dos polímeros encapsulantes. A encapsulação é uma tecnologia versátil capaz de garantir maior estabilidade térmica ao óleo essencial sendo possível assim sua aplicação no processamento de alimentos.

Referências:

- ASBAHANI, A. El et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1–2, p. 220–243, 2015. DOI: 10.1016/J.IJP.2014.12.069.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- BALCÃO, Victor M.; COSTA, C. I.; MATOS, C. M.; MOUTINHO, C. G.; AMORIM, M.; PINTADO, M. E.; GOMES, A. P.; VILA, Marta M.; TEIXEIRA, José A. Nanoencapsulation of bovine lactoferrin for food and biopharmaceutical applications. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 2, p. 425–431, 2013. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.02.004.
- BERALDO, C.; DANELUZZI, N. S.; SCANAVACCA, J.; DOYAMA, J. T.; FERNANDES, J. A.; MORITZ, C. M. F.; Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, p. 436–440, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1983-40632013000400006>.
- BEIRÃO-DA-COSTA, S.; DUARTE, C.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; JANUÁRIO, M. I. N.; VICENTE, A. A.; BEIRÃO-DA-COSTA, M. L.; DELGADILLO, I. Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 199–206, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.009>.
- BELLIK, Y.. Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. 40–44, 2014. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60311-X](http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60311-X).
- BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; BUŠIĆ, A.; BARIŠIĆ, L.; VRSALJKO, D.; KARLOVIĆ, S.; ŠPOLJARIĆ, I.; VOJVODIĆ, A.; MRŠIĆ, G.; KOMES, D.. Emulsion templated microencapsulation of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) polyphenols and β -carotene by ionotropic gelation of alginate and pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 139–152, 2016. DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2016.01.020.
- BURT, S.. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- CHANG, C. P.; LEUNG, T. K.; LIN, S. M.; HSU, C. C. Release properties on gelatin-gum arabic microcapsules containing camphor oil with added polystyrene. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 50, p. 136–140, 2006. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2006.04.008.

CHEW, S. C.; NYAM, K. L. Microencapsulation of kenaf seed oil by co-extrusion technology. **Journal of Food Engineering**, v. 175, p. 43–50, 2016. DOI: 10.1016/J.JFOODENG.2015.12.002.

COMERT, F.; DUBIN, P. L. Liquid-liquid and liquid-solid phase separation in protein-polyelectrolyte systems. **Advances Colloid Interface Science**, v. 239, p. 213–217, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.08.005>.

COMUNIAN, T. A.; CHAVES, I. E.; THOMAZINI, M.; MORAES, I. C. F.; FERRO-FURTADO, R.; DE CASTRO, I. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Development of functional yogurt containing free and encapsulated echium oil, phytosterol and sinapic acid. **Food Chemistry**, v. 237, p. 948–956, 2017. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2017.06.071.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 5, p. 165–180, 1987. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605\(87\)90034-1](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605(87)90034-1).

EBADA, S. S.; LIN, W.; PROKSCH, P.. Bioactive Sesterterpenes and Triterpenes from Marine Sponges: Occurrence and Pharmacological Significance. **Marine Drugs**, v. 8, p. 313–346, 2010. DOI: 10.3390/md8020313.

EGHBAL, N.; CHOUDHARY, R.. Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. **Lwt**, v. 90, p. 254–264, 2018. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.12.036.

ERATTE, D.; MCKNIGHT, S.; GENGENBACH, T. R.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. P. Co-encapsulation and characterisation of omega-3 fatty acids and probiotic bacteria in whey protein isolate–gum Arabic complex coacervates. **Journal of Functional Foods**, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.037>.

FELLOWS, Peter J.; OLIVEIRA, Florencia Cladera; RUBENSAN, Jane Maria; NITZKE, Julio Alberto; THYS, Roberta Cruz Silveira. **Tecnologia do processamento de alimentos : princípios e prática** : Artmed, 2006.

GARCÍA-SALDAÑA, J. S.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; CANTÚ-SOTO, E. U.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, R.. Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum arabic and gelatin/pectin complexes. **Food Chemistry**, v. 201, p. 94–100, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.087>.

GHASEMI PIRBALOUTI, A.; SALEHI, S.; CRAKER, L.. Effect of drying methods on qualitative and quantitative properties of essential oil from the aerial parts of coriander. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 4, p. 35–40, 2017. DOI: 10.1016/j.jarmap.2016.07.006.

GOUIN, S.. Microencapsulation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 7–8, p. 330–347, 2004. DOI: 10.1016/j.tifs.2003.10.005.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, n. 1, p. 91–97, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.02.028>.

HERNÁNDEZ-NAVA, R.; LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E.; RAMÍREZ-CORONA, Nelly; JIMÉNEZ-MUNGUÍA, María Teresa. Encapsulation of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 109, p. 106077, 2020. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106077.

JHO, Y.; YOO, H. Y.; LIN, Y.; HAN, S.; HWANG, D. S.. Molecular and structural basis of low interfacial energy of complex coacervates in water. **Advances Colloid Interface Science**, v. 239, p. 61–73, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2016.07.003>.

LIDERT, Z. Microencapsulation: An Overview of the Technology Landscape. In: ROSEN, M. R. **Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products**. Norwich, NY: William Andrew Publishing, 2005. p. 181–190. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-081551504-3.50013-4>.

LIEBGOTT, T.; MIOLLAN, M.; BERCHADSKY, Y.; DRIEU, K.; CULCASI, M.; PIETRI, S.. Complementary cardioprotective effects of flavonoid metabolites and terpenoid constituents of Ginkgo biloba extract (EGb 761) during ischemia and reperfusion. **Basic Research in Cardiology**, v. 95, n. 5, p. 368–377, 2000. DOI: 10.1007/s003950070035.

LIU, J.; SHIM, Y. Y.; SHEN, J.; WANG, Y.; REANEY, M. J. T. Whey protein isolate and flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) gum electrostatic coacervates: Turbidity and rheology. **Food Hydrocolloids**, v. 64, p. 18–27, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.006>.

LV, Y.; YANG, F.; LI, X.; ZHANG, X.; ABBAS, S.. Formation of heat-resistant nanocapsules of jasmine essential oil via gelatin/gum arabic based complex coacervation. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 305–314, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.003>.

MAHDAVI, S. A.; JAFARI, S. M.; GHORBANI, M.; ASSADPOOR, E.. Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers: A Review. **Drying Technology**, v. 32, n. 5, p. 509–518, 2014. DOI: 10.1080/07373937.2013.839562.

MAJOLO, C.; NASCIMENTO, V.P.; CHAGAS, E.C.. CHAVES, F.C.M. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (*Curcuma longa* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, p. 505–512, 2014. DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084X/13_109.

MARTÍN, M. J.; LARA-VILLOSLADA, F.; RUIZ, M. A.; MORALES, M. E.. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 27, p. 15–25, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.09.010>.

MARTINS, I. M.; BARREIRO, M. F.; COELHO, M.; RODRIGUES, A. E. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 245, p. 191–200, 2014. DOI: 10.1016/J.CEJ.2014.02.024.

MILLEZI, A. F.; CAIXETA, D. S.; ROSSONI, D. F.; CARDOSO, M. G.; PICCOLI, R. H.. Propriedades antimicrobianas in vitro dos óleos essenciais de plantas *thymus vulgaris*, *cymbopogon citratus* e *laurus nobilis* contra cinco importantes patógenos de origem alimentar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, pág. 167-172, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000021>.

NAWONG, S.; OONSIVILAI, R.; BOONKERD, N.; TRUELSTRUP-HANSEN, L.. Entrapment in food-grade transglutaminase cross-linked gelatin–maltodextrin microspheres protects *Lactobacillus* spp. during exposure to simulated gastro-intestinal juices. **Food Research International**, v. 85, p. 191–199, 2016. DOI: 10.1016/J.FOODRES.2016.04.041.

NOSHIRVANI, N.; GHANBARZADEH, B.; GARDRAT, C.; REZAEI, M. R.; HASHEMI, M.; LE COZ, C.; COMA, V.. Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 36–45, 2017. DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2017.03.015.

OMONIJO, F. A.; NI, L.; GONG, J.; WANG, Q.; LAHAYE, L.; YANG, C.. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, 2017. DOI: 10.1016/J.ANINU.2017.09.001.

ORDÓÑEZ PEREDA, J. A.; MURAD, F.. **Tecnologia de alimentos**: Artmed, p. 239-247, 2005.

OUEDRHIRI, W.; BALOUIRI, M.; BOUHDID, S.; MOJA, S.; CHAHDI, F. O.; TALEB, M.; GRECHE, H. Mixture design of *Origanum compactum*, *Origanum majorana* and *Thymus serpyllum* essential oils: Optimization of their antibacterial effect. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 1–9, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.049>.

PARSHIKOV, I. A.; NETRUSOV, A. I.; SUTHERLAND, J. B. Microbial transformation of antimalarial terpenoids. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 1516–1523, 2012. DOI: 10.1016/J.BIOTECHADV.2012.03.010.

PENG, C.; ZHAO, S. Q.; ZHANG, J.; HUANG, G. Y.; CHEN, L. Y.; ZHAO, F. Y.. Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 165, p.

560–568, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.126>.

POUDEL, A.; GACHUMI, G.; WASAN, K. M.; BASHI, Z. D.; EL ANEED, A.; BADEA, I.. Development and characterization of liposomal formulations containing phytosterols extracted from canola oil deodorizer distillate along with tocopherols as food additives. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 4, 2019. DOI: 10.3390/pharmaceutics11040185.

ROSSI, Y. E.; CANAVOSO, L.; PALACIOS, S. M.. Molecular response of *Musca domestica* L. to *Mintostachys verticillata* essential oil, (4R)(+)-pulegone and menthone. **Fitoterapia**, v. 83, p. 336–342, 2012. DOI: 10.1016/J.FITOTE.2011.11.019.

SANTURIO, D. F.; COSTA, M. M.; MABONI, G.; CAVALHEIRO, C. P.; SÁ, M. F.; DAL POZZO, M.; ALVES, S. H.; FRIES, L. L. M.. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, p. 1051-1056, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000067>.

SINGH, G.; KAPOOR, I. P.; SINGH, P.; DE HELUANI, C. S.; DE LAMPASONA, M. P.; CATALAN, C. A. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. **Food Chemistry Toxicology**, v. 46, n. 10, p. 3295–3302, 2008. DOI: 10.1016/j.fct.2008.07.017.

SOBEL, R.; VERSIC, R.; GAONKAR, A. G.. Introduction to Microencapsulation and Controlled Delivery in Foods. In: **Microencapsulation in the Food Industry** : Elsevier, 2014. p. 3–12. DOI: 10.1016/B978-0-12-404568-2.00001-7.

TOFIÑO-RIVERA, A.; ORTEGA-CUADROS, M.; HERRERA-HINOJOSA, B. K.; FRAGOSO-CASTILLA, P.; PEDRAZA-CLAROS, B. Conservación microbiológica de embutido carnico artesanal con aceites esenciales *Eugenia caryophyllata* Y *Thymus vulgaris*. **Revista BioAgro**, v. 15, p. 30-41, 2017. DOI: [https://dx.doi.org/10.18684/bsaa\(v15\)edicionespecial2.576](https://dx.doi.org/10.18684/bsaa(v15)edicionespecial2.576).

VASISHT, N.. Selection of Materials for Microencapsulation. In: **Microencapsulation in the Food Industry** : Elsevier, 2014. p. 173–180. DOI: 10.1016/B978-0-12-404568-2.00016-9.

VÉLEZ-ERAZO, E. M.; CONSOLI, L.; HUBINGER, M. Dupas. Spray drying of mono- and double-layer emulsions of PUFA-rich vegetable oil homogenized by ultrasound. **Drying Technology**, 2020. DOI: 10.1080/07373937.2020.1728305.

ZHAO, C.; WEI, L.; YIN, B.; LIU, F.; LIU J.; LIU, X.; WANG, J.; WANG, Y.. Encapsulation of lycopene within oil-in-water nanoemulsions using lactoferrin: Impact of carrier oils on physicochemical stability and bioaccessibility. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 153, p. 912–920, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.03.063.