



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

TANIA REGINA KAISER

**APLICAÇÃO DO SOFOROLIPÍDIO DE *Starmerella bombicola*
COMO ADITIVO NATURAL EM PRODUTOS CÁRNEOS
EMBUTIDOS**

Londrina
2024

TANIA REGINA KAISER

**APLICAÇÃO DO SOFOROLIPÍDIO DE *Starmerella bombicola*
COMO ADITIVO NATURAL EM PRODUTOS CÁRNEOS
EMBUTIDOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Dra. Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi

Co-orientadora: Dra. Mayka Reghiany Pedrão

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

T164a Kaiser, Tania Regina.
Aplicação do soforolipídio de *Starmerella bombicola* como aditivo natural em produtos cárneos embutidos / Tania Regina Kaiser. - Londrina, 2024.
102 f. : il.

Orientador: Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi.
Coorientador: Mayka Reghiany Pedrão.
Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Compostos bioativos - Tese. 2. Soforolipídios - Tese. 3. Emulsão cárnea - Tese. 4. Conservante natural - Tese. I. Pedrine Colabone Celligoi, Maria Antonia . II. Pedrão, Mayka Reghiany. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV. Título.

CDU 66

TANIA REGINA KAISER

**APLICAÇÃO DO SOFOROLIPÍDIO DE *Starmerella bombicola*
COMO ADITIVO NATURAL EM PRODUTOS CÁRNEOS
EMBUTIDOS**

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a. Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof.^a Dr.^a. Suzana Mali de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof.^a Dr.^a. Marianne Ayumi Shirai
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Prof.^a Dr.^a. Cristiani Baldo da Rocha
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Fábio Augusto Garcia Coró
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Londrina, 04 de Março de 2024

Este trabalho é dedicado a você, familiar ou amigo que contribui muito na minha caminhada. Minha gratidão por sua compreensão, apoio e paciência ao longo deste período. Sem vocês, eu não teria chegado até aqui!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a professora **Dra. Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi**, pela orientação, confiança, ensinamentos e conhecimentos científicos repassados a mim durante todo este trabalho. E a professora **Dra. Mayka Reghiany Pedrão** minha co-orientadora, por sempre acreditar em mim, pelos ensinamentos, dedicação e contribuições.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UEL, por todos os ensinamentos.

Ao **LMEM (Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise)** da UEL, pela realização das análises de microscopia eletrônica de varredura.

A **UTFPR**, campus Londrina, pela oportunidade de utilização do **Laboratório de Carnes**. Também ao **LabMulti-LD (Laboratório Multiusuários)** pelo uso dos equipamentos de spray dryer, microscopia eletrônica de varredura e DLS.

Aos bolsistas Danilo Borba Agonilha, Renata de Araujo Rocha, Mariana Hergesel, Aline Ayumi da Silveira e Bianca de Souza que auxiliaram durante os experimentos.

Em especial, **aos meus pais, Afonso e Helena**, que nunca mediram esforços para que eu pudesse ir em busca dos meus sonhos. Agradeço por todo amor que vocês têm por mim. Aos meus irmãos, cunhadas e sobrinhos, que mesmo longe não deixam de me incentivar e acreditar em mim.

Ao meu marido Thiago pelo amor, companheirismo, por toda paciência nos momentos de estresse e por me lembrar todos os dias que eu sou capaz!

A todos os colegas da turma de 2020 e 2021 do programa de pós-graduação em Biotecnologia que de alguma forma contribuíram para a concretização deste sonho.

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, eles são a abertura para achar as que estão certas”.

Carl Sagan

RESUMO

Kaiser, Tania Regina. **Aplicação do soforolipídio de *Starmerella bombicola* como aditivo natural em produtos cárneos embutidos**. 2024. 102 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, 2024.

Os soforolipídios são moléculas anfífilas naturais e sustentáveis, produzidos pela levedura *Starmerella bombicola* apresentando várias vantagens sobre os surfactantes químicos como alta biodegradabilidade, diversidade de propriedades biológicas e características renováveis. Além disso, apresentam atividades antimicrobiana, antioxidante e emulsificante. Desta forma, o objetivo deste estudo foi aplicar pela primeira vez o soforolipídio em salsicha de frango em sua forma natural e também desenvolver microcápsulas com soforolipídios, utilizando a maltodextrina e goma arábica como material de parede, para aplicação de um novo ingrediente para a indústria alimentícia. Neste estudo foram desenvolvidas formulações de salsichas de frango com suplementação de 0,008%, 0,024%, 0,040% e 0,060% de soforolipídios, avaliando sua influência nos produtos através do perfil de textura (TPA), microscopia eletrônica de varredura (MEV), estabilidade oxidativa (TBARS) e qualidade microbiológica sobre os microrganismos *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *E. coli* e Estafilococos coagulase positiva. Para obtenção das microcápsulas foi utilizado o método de *spray drying* em duas formulações contendo 6 e 9g de soforolipídios. As formulações foram caracterizadas quanto a eficiência e rendimento de encapsulamento, tamanho de partícula, potencial zeta, índice de polidispersidade e morfologia. As análises microbiológicas mostraram que os soforolipídios induziram uma redução significativa na contaminação por *Clostridium perfringens* e diminuíram as taxas de oxidação lipídica quando comparados ao controle (salsichas com sais de cura). A formulação com 0,060% de soforolipídios apresentou diferença significativa em resistência, dureza, adesividade, gomosidade e mastigabilidade em comparação com a formulação controle. As salsichas com adição de soforolipídios apresentaram massa menos porosa e com menos fissuras, melhorando a estrutura das salsichas. Posteriormente, microcápsulas de soforolipídios foram produzidas e os resultados mostraram que a formulação contendo 9g de soforolipídio apresentou maior resultado de rendimento (59,33%) e melhor resultado de eficiência de encapsulamento (38,1%) com tamanho das partículas de $1,432 \pm 89 \mu\text{m}$, entretanto, o seu valor de potencial zeta foi considerado minimamente estável (-7,75 mV). A formulação com 6g de soforolipídio apresentou 36,70% e 18,1% para rendimento e eficiência de encapsulamento respectivamente. Os resultados encontrados demonstraram que a utilização dos soforolipídios melhorou as propriedades microbiológicas, antioxidantes e físico-químicas das salsichas de frango. Também foi demonstrada a viabilidade para microencapsulação do soforolipídio, sendo uma alternativa inovadora para substituir os conservantes usuais na indústria alimentícia, uma vez que o soforolipídio apresenta propriedades biológicas eficientes como antimicrobiano, antioxidante e emulsificante natural.

Palavras-chave: Compostos bioativos, biossurfactante, soforolipídios, *clean label*, emulsão cárnea, produtos alimentícios, conservante natural.

ABSTRACT

Kaiser, Tania Regina. **Application of sophorolipid from *Starmerella bombicola* as a natural additive in sausage meat products**. 2024. 102 f. Thesis (PhD in Biotechnology) - State University of Londrina, 2024.

Sophorolipids are natural and sustainable amphiphilic molecules produced by the yeast *Starmerella bombicola*. They have several advantages over chemical surfactants, such as high biodegradability, diversity of biological properties and renewable characteristics. They also have antimicrobial, antioxidant and emulsifying activities. Therefore, the aim of this study was to apply the sophorolipid to chicken sausage in its natural form for the first time and also to develop microcapsules with sophorolipids, using maltodextrin and gum arabic as a wall material, for the application of a new ingredient for the food industry. In this study, chicken sausage formulations were developed with 0.008%, 0.024%, 0.040% and 0.060% sophorolipid supplementation, and their influence on the products was evaluated using the texture profile (TPA), scanning electron microscopy (SEM), oxidative stability (TBARS) and microbiological quality on the microorganisms *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *E. coli* and coagulase positive staphylococci. To obtain the microcapsules, the *spray drying* method was used in two formulations containing 6 and 9g of sophorolipids. The formulations were characterized in terms of encapsulation efficiency and yield, particle size, zeta potential, polydispersity index and morphology. The microbiological analyses showed that the sophorolipids induced a significant reduction in *Clostridium perfringens* contamination and reduced lipid oxidation rates when compared to the control (sausages with curing salts). The formulation with 0.060% sophorolipids showed a significant difference in resistance, hardness, adhesiveness, gumminess and chewiness compared to the control formulation. The sausages with added sophorolipids had a less porous mass and fewer cracks, improving the structure of the sausages. Subsequently, sophorolipid microcapsules were produced and the results showed that the formulation containing 9g of sophorolipid had the highest yield (59.33%) and best encapsulation efficiency (38.1%) with a particle size of $1.432 \pm 89 \mu\text{m}$, however, its zeta point value was considered minimally stable (-7.75 mV). The formulation with 6g of sophorolipid showed 36.70% and 18.1% for yield and encapsulation efficiency respectively. The results showed that the use of sophorolipids improved the microbiological, antioxidant and physicochemical properties of chicken sausages. The feasibility of microencapsulating the sophorolipid was also demonstrated, as it is an innovative alternative to replace the usual preservatives in the food industry, since the sophorolipid has efficient biological properties such as antimicrobial, antioxidant and natural emulsifier.

Keywords: Bioactive compounds, biosurfactant, sophorolipids, *clean label*, meat emulsion, food products, natural preservative.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fluxograma das etapas para elaboração da salsicha

Figura 2. Formas estruturais do soforolipídio: A – lactônica B – acídica

Figura 3. Via metabólica de produção da molécula de soforolipídio

Figura 4. Representação esquemática da secagem por *spray drying*

Figura 5. Fluxograma das etapas para elaboração da salsicha de frango

Figura 6. Equipamentos para produção de salsichas (A: mini *cutter*, B: embutideira e C: estufa de cozimento)

Figura 7. Amostra de salsicha para análise de TPA no equipamento *Texture Analyser TA.XT plus*

Figura 8. Amostras de salsicha montadas em *stubs* e revestidas em ouro para análise com MEV

Figura 9. Etapas de obtenção das microcápsulas de soforolipídio (A: separação da fração lipídica, B: secagem por *spray drying*, C: coleta das microcápsulas, D: microcápsulas de soforolipídios)

Artigo 1

Figure 1. SEM micrographs of sausage samples: A, B and C: Formulation F1 (control with chemical preservatives). D, E and F: formulation F5 (with 0.060% of sophorolipids and no addition of chemical preservative).

Artigo 2

Figure 1. Scanning Electron Microscopy of Microcapsules. 500x Magnification (A), 2000x Magnification (B), 10000x Magnification (C).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Aditivos e coadjuvantes de tecnologia e suas funções no âmbito industrial

Tabela 2. Produtos cárneos embutidos com aditivos naturais

Tabela 3. Parâmetros microbiológicos para salsicha e mortadela especificados pela legislação brasileira

Tabela 4. Microrganismos produtores de soforolipídios

Tabela 5. Produção de soforolipídios de acordo com o tipo de substrato e fermentação utilizados

Tabela 6. Formulação para salsicha de frango: controle, 0,008%, 0,024%, 0,040% e 0,060% de adição de soforolipídio, respectivamente

Artigo 1

Table 1. Microbiological analysis for chicken sausages formulations stored by 15 days at 4 °C

Table 2. Effect of sophorolipids on the TBARS value of chicken sausages formulations stored by 15 days at 4 °C

Table 3. Texture profile analysis of the sausages enriched with sophorolipids

Table S1. Chicken sausage formulation prepared with different concentrations of sophorolipids.

Table S2. Technological properties of sausages enriched with sophorolipids.

Table S3. Colour measurements for sausages of sausages enriched with sophorolipids.

Artigo 2

Table 1. Particle size, zeta potential and polydispersity index of sophorolipids microcapsules

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo Geral.....	11
2.2 Objetivos Específicos	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 Mercado de Frango	12
3.2 Industrialização de Produtos Cárneos.....	13
3.3 Salsicha de Frango	14
3.4 Ingredientes Não Cárneos e Aditivos em Produtos Cárneos Embutidos.....	16
3.4.1 Ingredientes Não Cárneos	16
3.4.2 Aditivos	17
3.5 Estabilidade das Emulsões Cárneas	20
3.6 Qualidade Microbiológica	21
3.7 Oxidação Lipídica em Produtos Cárneos Embutidos	23
3.8 Surfactantes e Biossurfactantes	24
3.9 Soforolipídio: Estrutura, Biossíntese e Aplicação	26
3.10 Encapsulamento de Aditivos Alimentares	33
3.10.1 Microencapsulação por <i>Spray Drying</i>	34
3.10.2 Materiais Encapsulantes	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1 Material.....	37
4.1.1 Microrganismo e Manutenção.....	37
4.1.2 Ingredientes Para Microencapsulação Por <i>Spray Dryer</i>	37
4.1.3 Matérias-primas e Ingredientes Para Produção dos Embutidos	37
4.2 Métodos	38
4.2.1 Produção de Soforolipídio.....	38
4.2.2 Separação e Concentração do Soforolipídio Para Aplicação nos Produtos Cárneos.....	39
4.2.3 Desenvolvimento da Salsicha de Frango	39
4.2.4 Caracterização Tecnológica da Salsicha de Frango	41
4.2.5 Perfil de Textura Instrumental.....	43
4.2.6 Estabilidade Oxidativa	44
4.2.7 Análises Microbiológicas da Salsicha de Frango.....	44
4.2.8 Análise Morfológica das Salsichas	46

4.2.9 Obtenção das Microcápsulas de Soforolipídio Por <i>Spray Drying</i>	46
4.2.10 Caracterização das Microcápsulas Obtidas Por <i>Spray Drying</i>	48
4.2.11 Análise Morfológica das Microcápsulas	49
4.2.12 Tratamento dos Dados.....	49
5 RESULTADOS	50
5.1 Patente 1: Soforolipídio de <i>Starmerella bombicola</i> Como um Conservante Natural Para Embutidos Emulsionados de Carne de Frango.	50
5.2 Patente 2: Emulsificante Natural e Sustentável Para Salsicha de Frango.....	51
5.3 Patente 3: Microcápsulas de Soforolipídios de <i>Starmerella bombicola</i> Para Embutidos Cárneos Emulsionados.....	52
5.4 Capítulo de Livro 1: Potencial Uso do Soforolipídio de <i>Starmerella bombicola</i> Como Ingrediente Coadjuvante em Produtos Cárneos Embutidos.....	52
5.5 Capítulo de Livro 2: Propriedades Antibacterianas de Soforolipídios Contra os Patógenos da Indústria Avícola.....	53
5.6 Livro: Microbial Sophorolipids: Production, Properties e Industrial Applications. ...	54
5.7 Artigo: Effects of Incorporation of Sophorolipids on the Texture Profile, Microbiological Quality and Oxidative Stability of Chicken Sausages.....	55
5.8 Artigo: Characterization of <i>Starmerella bombicola</i> Sophorolipid Microcapsules Obtained via <i>Spray Drying</i>	57
6 CONCLUSÃO.....	81
REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de carne frango, sendo que em 2022, a produção foi de 14,524 milhões de toneladas, e deste percentual, 67% foi consumido no mercado interno. O consumo *per capita* de carne de frango no Brasil foi de 45,2 quilos, sendo este, superior ao das carnes bovina e suína (ABPA, 2023).

Os produtos de carne à base de frango tornaram-se cada vez mais populares devido à sua alta qualidade nutricional e baixo custo e estão disponíveis como produtos de frango frescos ou industrializados como: *nuggets*, almôndegas, hambúrgueres, salsichas entre outros. Os embutidos cárneos emulsionados, também chamados de produtos de massa fina se destacam como produtos cárneos de maior industrialização e elevado consumo no país, considerados parte integrante da dieta dos brasileiros. Exemplos desta categoria de produtos incluem as salsichas, mortadelas e salsichões.

As emulsões cárneas, consideradas em óleo e água, são misturas heterogêneas compostas por glóbulos de gordura revestidos com proteínas dispersos na matriz de gel de proteínas miofibrilares. A estabilidade da massa e a textura do produto em embutidos à base de emulsão dependem de vários fatores, como a natureza e a quantidade de massa magra, gorduras/óleos, água adicionada, aditivos, outros ingredientes não cárneos e métodos de processamento.

Além da estabilidade da emulsão, outra questão que preocupara a indústria destes produtos cárneos é a contaminação microbiológica, pois os produtos cárneos são ricos em nutrientes que fornecem condições ideais para o crescimento de microrganismos, definindo uma natureza perecível. Alguns organismos simplesmente o deterioram, enquanto outros são uma ameaça à saúde e mais de 20% da carne produzida é perdida ou desperdiçada.

Para melhorar a qualidade dos produtos à base de carne, são introduzidos diversos aditivos alimentares (emulsificantes, estabilizadores, reforçadores e outros), que possuem propriedades tecnológicas funcionais influenciando significativamente a cor, o sabor e aroma dos produtos. Esses também são utilizados como conservantes inibindo o crescimento de microrganismos e a oxidação lipídica, como exemplo, o nitrito e nitrato de sódio e os antioxidantes sintéticos como hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), terc-butilhidroquinona (TBHQ) e propilgalato (PG), no entanto, o uso de altos níveis destes aditivos pode levar à produção de substâncias com potenciais cancerígenos, o que levou a indústria da carne à uma demanda crescente por aditivos ou conservantes naturais.

A crescente conscientização do consumidor sobre produtos sintéticos combinada com a demanda por alimentos naturais, orgânicos e sustentáveis que estão no mercado, tem despertando a atenção para novas moléculas de base biológica. Assim, os biossurfactantes são alternativas para atender às novas tendências do mercado, pois demonstram propriedades úteis a serem exploradas no processamento de alimentos.

Dentre os biossurfactantes, os soforolipídios apresentam uma ampla diversidade estrutural e funcional para aplicação em várias áreas, entre elas produtos de higiene e cuidados pessoais, de limpeza, agrícolas, entre outros. Pertencentes à classe dos glicolipídios extracelulares, compostos por um dissacarídeo (O β -D-glicopiranosil-2 \rightarrow 1- β -D-glicopiranoose) unidos por ligação β -glicosídica entre o carbono 1' e o carbono terminal (ω) ou sub-terminal (ω -1) de uma cadeia de ácido graxo de 16 ou 18 carbonos. São produzidos pela levedura *Starmerella bombicola* nas formas lactônicas e acídicas podendo ter diferentes graus de acetilação.

Os soforolipídios formam gotículas finas em várias concentrações através de métodos de emulsificação. São estáveis em uma ampla faixa de pH (2–12), de temperaturas (40–100°C) e em altas forças iônicas (13–15% de salinidade). Este biossurfactante apresenta características eficazes como agente emulsificante e estabilizante em formulações tipo óleo/água.

Além disso, os soforolipídios são agentes antibacterianos contra diversas bactérias patogênicas destacando *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, sugerindo seu possível uso em emulsões alimentares e como agente antibacteriano. A atividade antimicrobiana é dada principalmente pela forma lactônica do soforolipídio, que causa ruptura da membrana plasmática, por lise celular, causando vazamento do conteúdo do citoplasma de patógenos quando o soforolipídio é aplicado.

No entanto, a estabilidade dos compostos naturais deve ser assegurada para sua aplicação em alimentos para evitar a fatores que podem afetar sua eficácia. Como alternativa, o encapsulamento de conservantes pode ajudar a proteger sua atividade e mantê-los estáveis quando adicionados aos sistemas alimentares. A utilização de ingredientes microencapsulados na indústria alimentícia é empregada para oferecer proteção, facilitar o manuseio, controle da liberação, solubilização e potencializar o efeito de um composto bioativo.

Considerando as propriedades emulsificante e antimicrobiana do soforolipídio de *S. bombicola*, este trabalho tem como objetivo avaliar a aplicação uso desse glicolipídio como um novo aditivo em produtos cárneos embutidos, bem como avaliar as características físico-químicas, tecnológicas, microbiológicas e microscópicas dos produtos cárneos embutidos e visando aumentar a qualidade e vida útil dos produtos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a aplicação do soforolipídio produzido por *Starmerella bombicola* como aditivo natural em produtos cárneos embutidos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir o soforolipídio de *Starmerella bombicola*;
- Aplicar o soforolipídio produzido em salsicha de frango nas concentrações de 0,008%, 0,024%, 0,040 e 0,060%;
- Avaliar as características tecnológicas, perfil de textura instrumental, estabilidade oxidativa e características microbiológicas da salsicha de frango com a adição do soforolipídio;
- Caracterizar por microscopia eletrônica de varredura a incorporação do soforolipídio na estrutura das massas de salsichas de frango;
- Microencapsular o soforolipídio de *Starmerella bombicola* utilizando o processo de secagem por *spray drying* e avaliar o rendimento e eficiência de encapsulamento;
- Caracterizar das microcápsulas obtidas, avaliando o seu tamanho, potencial zeta, índice de polidispersidade e a sua morfologia externa.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MERCADO DE FRANGO

A demanda por carne tem aumentado nas últimas décadas devido ao crescimento populacional, aumento da renda e urbanização e a carne de aves tem apresentado o crescimento mais rápido nos últimos anos (Balestra; Bianchi; Petracci, 2019). O mercado global de frango deverá movimentar US\$ 429,11 bilhões até 2028, sendo que este expandiu-se rapidamente, nomeadamente nos últimos 30 anos. Essa expansão tem sido acompanhada por significativa modernização e automação, bem como pela criação genética de espécies animais que permitem maior produtividade (Research and Markets, 2023).

Por ser uma proteína animal mais acessível em comparação com as carnes vermelhas, a carne de frango tem baixos custos de produção e os preços mais baixos de seus produtos contribuíram para tornar a carne de frango a escolha de produtores e consumidores em países em desenvolvimento (Windhorst, 2017).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de carne frango, sendo que em 2022, a produção foi 14,524 milhões de toneladas, e desde percentual, 67,00% foi consumido no mercado interno. O consumo *per capita* de carne de frango no Brasil foi de 45,2 quilos, sendo este, consideravelmente superior ao das carnes bovina e suína (ABPA, 2023).

Nas últimas décadas, as indústrias avícolas têm sido muito ativas na introdução de novos produtos cárneos. Inicialmente muitos produtos eram feitos de carne vermelha, contudo, nos últimos 30 anos, a indústria de carne de aves desenvolveu produtos frescos, marinados, bem como, produtos cozidos (Barbut, 2015), sendo que na produção avícola moderna, mais de 80% das aves são vendidas como cortes ou produtos processados (Barbut; Leishman, 2022). Um dos motivos da grande mudança na forma como as carnes de frango são comercializadas é a demanda dos consumidores por produtos alimentícios convenientes semi ou totalmente preparados para o consumo (Barbut; Leishman, 2022).

Os produtos de carne à base de frango tornaram-se cada vez mais populares devido à sua alta qualidade nutricional e baixo custo e estão disponíveis como produtos de frango frescos ou pré-cozidos, que após embalagem subsequente são geralmente armazenados sob refrigeração. Além disso, os produtos derivados de carne de frango congelados também disponíveis no mercado incluem especialidades como: *nuggets*, almôndegas, hambúrgueres, salsichas, etc. (Ukrainets *et al.*, 2016).

3.2 INDUSTRIALIZAÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS

O processamento de carnes na atualidade caracteriza-se como um período de melhoria na qualidade, segurança do alimento e nutrição/saúde (Kurcubić *et al.*, 2022). Além disso, nos últimos anos, a indústria de carnes em geral está se movendo em direção à introdução de formulações de produtos mais atraentes e convenientes, especialmente para consumidores com tempo limitado para o preparo das refeições, modificando drasticamente a forma como a carne é comercializada. Atualmente a maior parte da produção de carne é comercializada na forma de produtos prontos para o cozimento (*ready-to-cook*) ou pronto para o consumo (*ready-to-eat*) (Balestra; Bianchi; Petracchi, 2019).

Os embutidos cárneos emulsionados, também chamados de produtos de massa fina (devido ao alto grau de moagem ou cominuição) se destacam como produtos cárneos de maior industrialização e elevado consumo no país, considerados parte integrante da dieta dos brasileiros (Câmara, 2020). Feitos a partir de carnes trituradas e bem homogeneizadas, gordura, água e temperos, são cozidos e prontos para o consumo (Gbaguidi *et al.*, 2020).

A legislação brasileira define os embutidos como os produtos cárneos elaborados com carne ou com órgãos comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório a tripa, a bexiga ou outra membrana animal (Brasil, 2017). Dentre estes produtos emulsionados, as salsichas são consideradas um dos principais produtos cárneos, na qual a gordura animal é emulsionada com água e a proteína da carne (Fu *et al.*, 2023; Shin *et al.*, 2022).

Variedades de salsichas são produzidas em todo o mundo com grande relevância social e econômica e refletem a disponibilidade de matérias-primas, os condicionamentos culturais e religiosos e os saberes ancestrais de fabricação transmitidos por gerações (Carballo, 2021).

Em relação a demanda deste tipo de produtos no Brasil, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o consumo domiciliar *per capita* anual para salsicha foi de 1,1 g/dia, sendo deste montante, 12,5% consumido fora de domicílio e a maior demanda na região nordeste, seguido da região sul. O consumo deste produto é relatado em maior porcentagem para adolescentes em relação aos adultos e idosos (IBGE, 2020). No tocante as exportações dos embutidos, o país teve um crescimento de 16,85% em 2022 em relação ao ano de 2021, subindo de 138.852 para 162.252 toneladas (ABPA, 2023).

3.3 SALSICHA DE FRANGO

As salsichas são um dos produtos processados de carnes mais populares (Kang; Lee; Kim, 2021), estando presente na alimentação de diversas culturas devido à praticidade, variedade e economia (Salehi, 2021). São produtos nos quais carnes frescas picadas são modificadas por vários métodos de processamento para produzir propriedades sensoriais e de conservação desejáveis e são uma das formas mais antigas de processamento de carne (Noor; Radhakrishnan; Hussain, 2016).

As salsichas de frango são apontadas como segmento de maior crescimento neste mercado, devido à crescente popularidade entre os consumidores como uma alternativa mais saudável às salsichas de carne suína e bovina (Dataintel, 2023). Além disso, o frango é comparativamente mais barato e existem insignificantes barreiras religiosas ou tabus associados ao seu consumo (Market Analysis Report, 2016).

Segundo o Decreto nº 9013 de 29 de março de 2017, por definição, salsicha é o produto cárneo obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais, com adição ou não de gordura, de pele, de miúdos e de partes animais comestíveis, com adição de ingredientes e de condimentos específicos, embutido em envoltório natural ou artificial de calibre próprio, e submetido a processo térmico característico (Brasil, 2017). Segundo o RTIQ (Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade), o produto comumente é composto de 55% de carnes e 45% de outros ingredientes como miúdos, amido de milho, sal, nitratos e nitritos. De acordo com a composição da matéria-prima e das técnicas de fabricação, a salsicha pode ser classificada em: salsicha, salsicha tipo Viena, salsicha tipo Frankfurt, salsicha Frankfurt, salsicha Viena e salsicha de carne de ave (Brasil, 2000).

A seleção da carne para a produção de embutidos é importante para a obtenção de produtos de boa qualidade. Inicialmente, os ingredientes principais da salsicha eram as partes das carcaças dos animais que não podiam ser utilizadas de outra forma, mas hoje, muitas partes primárias são usadas na produção de salsichas; no entanto, os cortes menos tenros, e subprodutos como carnes de órgãos e até mesmo sangue podem ser utilizados, sendo condimentados e revestidos (Noor; Radhakrishnan; Hussain, 2016).

A carne de frango mecanicamente separada (CMS) é um ingrediente comumente utilizado na formulação de produtos de carne cozida (Barreto; Barreto; Andrade, 2019) e tem sido usada em produtos derivados cárneos como salsichas desde o final dos anos 1960 (Chauhan *et al.*, 2017). Entende-se por CMS a carne obtida por processo mecânico de moagem e separação de ossos de animais de açougue, destinada a elaboração de produtos cárneos

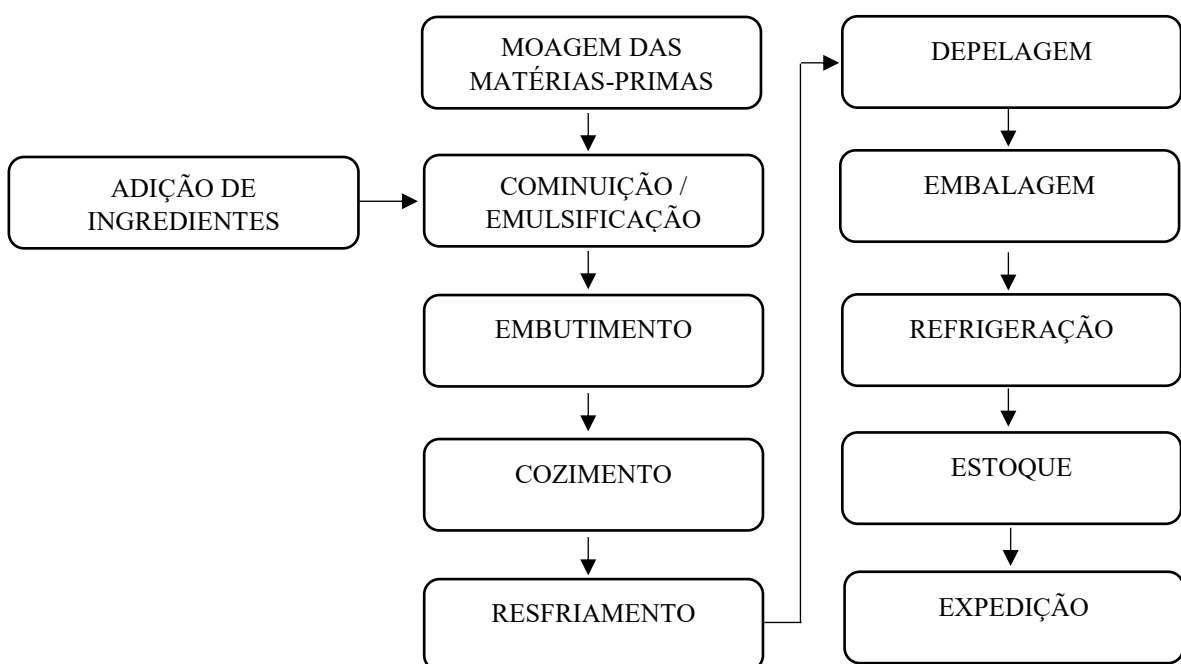
específicos (Brasil, 2000). Por ser uma matéria-prima de baixo custo, a CMS é amplamente utilizada como fonte proteica na indústria de processamento de carne de aves (Abdelrahman; El-Ghayati, Shaheen, 2020).

Outra matéria-prima utilizada nas formulações é a gordura, considerada um componente essencial de produtos cárneos processados, devido às suas funções na estabilização de emulsões, melhoria da textura, aumento do sabor e rendimento de cozimento e aumento da suculência (Kim *et al.*, 2020). Segundo Lima *et al.* (2020), o uso de subprodutos de frango como gordura e pele, reflete positivamente nas características sensoriais de salsichas de frango, bem como, minimiza os efeitos oxidativos durante o seu armazenamento.

Quanto ao processo produtivo, segundo Aquino (2017) e Barreto, Barreto e Andrade (2019), a industrialização da salsicha compreende as etapas conforme Figura 1, sendo elas:

- Moagem e cominuição da carne e adição de ingredientes em equipamento chamado *cutter*, seguido de emulsificação.
- Logo após, massa de carne é embutida em um invólucro impermeável de celulose, de colágeno comestível, não comestível e plástico ou envoltórios naturais e segue para o cozimento.
- A seguir, o produto é resfriado, segue para a depelagem (retirada do invólucro), embalagem e refrigeração/estoque/expedição.

Figura 1 – Fluxograma das etapas para elaboração da salsicha



Neste processo produtivo, quatro etapas podem ser enumeradas como críticas: o cozimento, o resfriamento, a depelagem e o estoque. Durante o cozimento é necessário que a temperatura de 74°C seja atingida nos pontos mais centrais da massa (para evitar o risco de desenvolvimento de microrganismos); no resfriamento é preciso que a temperatura atinja os 40°C em todos os pontos da massa; na depelagem o cuidado deve ser para evitar a veiculação manual de microrganismos e na estocagem a temperatura de refrigeração (cerca de 2°C) deve ser mantida uniforme para a garantia da segurança sanitária do produto (Aquino, 2017).

3.4 INGREDIENTES NÃO CÁRNEOS E ADITIVOS EM PRODUTOS CÁRNEOS EMBUTIDOS

3.4.1 Ingredientes Não Cárneos

Ingredientes não cárneos são usados para conferir sabor, aumentar o rendimento dos embutidos, reduzir os custos das formulações, melhorar propriedades físicas e contribuir para o valor nutritivo (Balestra; Petracci, 2019; Noor; Radhakrishnan; Hussain, 2016).

O sal é um ingrediente sempre utilizado em embutidos cárneos. O sal tem três funções na carne: ele reduz a quantidade de água disponível (o que permite a preservação ou extensão do prazo de validade), extrai as proteínas miofibrilares da carne necessárias para fazer o produto se ligar e emulsificar a gordura e para realçar o sabor (Noor; Radhakrishnan; Hussain, 2016).

Outro ingrediente utilizado nas formulações é o amido, principal reserva de carboidratos presentes nos tecidos vegetais, além de sua contribuição de valor nutritivo, pode ser usado para modificar as propriedades físicas de muitos alimentos. São geralmente adicionados às formulações de produtos de carne como aglutinantes de água para reduzir os custos da formulação, aumentar os rendimentos, reduzir as perdas no cozimento, melhorar a textura, a capacidade de fatiar, suculência e estender a durabilidade (Balestra; Petracci, 2019).

Na indústria brasileira de processamento de carnes, o amido mais empregado é o extraído da mandioca (Garcia-Santos *et al.*, 2019), devido ao sabor neutro, disponibilidade, custo relativamente baixo e baixa temperatura de gelatinização compatível com as temperaturas de cozimento da maioria dos produtos cárneos, como salsichas, mortadela e fiambre (Prestes *et al.*, 2015).

Proteínas vegetais também são frequentemente adicionadas na formulação de produtos cárneos, podendo ser incluídas entre os ligantes que são ingredientes usados para ajudar a agregar as partículas, aumentar a capacidade de retenção de água e formar um sistema de gel ou participar da geleificação de proteínas da carne. As proteínas da soja são as proteínas

vegetais mais utilizadas na indústria da carne devido às suas propriedades nutricionais e funcionais. É comumente usada devido ao seu valor biológico, absorção de gordura e capacidade de emulsificação; capacidades de geleificação / textura e retenção de água; capacidade de controlar a cor e melhorar as propriedades texturais do produto final (Balestra; Petracci, 2019).

A água também é utilizada como ingrediente, comumente adicionada para compensar as perdas por evaporação durante o cozimento, aumentar a suculência e reduzir o conteúdo de gordura nos produtos, porém, a quantidade de sua adição é regulada por legislação em muitos países (Barbut, 2017). Ela pode ser adicionada em forma de gelo (Aquino, 2017), promovendo o resfriamento da massa em processo, que se aquece pelo atrito com os componentes da máquina (Barreto *et al.*, 2016).

Condimentos e especiarias são adicionados para dar sabor e aroma, podendo ser adicionados como sementes inteiras, moídas grosseiramente, em pó, na forma de oleoresina, na forma de folhas, raízes, flores, casca e como extratos isolados e/ou óleo essencial. Podem ser citados ingredientes como pimentas, cebola, alho, mostarda, páprica, sálvia, gengibre, cravo, canela e alecrim (Barbut, 2017; Noor; Radhakrishnan; Hussain, 2016; Owusu-Ansah *et al.*, 2022). Além de sabores distintos, estes ingredientes podem apresentar também ação antioxidante e prevenir sabores rançosos, sendo este efeito atribuídos à presença de flavonoides, terpenóides, lignanas e polifenóis (Owusu-Ansah *et al.*, 2022).

3.4.2 Aditivos

Devido à variedade da carne utilizada, temperos e outros componentes, efeitos de altas temperaturas no tratamento térmico e diferentes condições de armazenamento, as salsichas cozidas estão expostas à degradação microbiológica, química e sensorial (Novaković *et al.*, 2020). Essa natureza altamente complexa e perecível requer que as salsichas passem por técnicas especiais de conservação, sendo utilizados diversos aditivos alimentares para melhorar suas propriedades tecnológicas e funcionais (Ren *et al.*, 2022).

Desta forma, aditivos químicos são comumente usados em produtos alimentícios para inibir o processo de oxidação lipídica e crescimento microbiano e para prolongar sua vida útil (Aziz; Karboune, 2018). Além disso, na industrialização dos produtos à base de carne, aditivos para melhorar as propriedades funcionais, como emulsificantes, estabilizadores e reforçadores, possuem importância especial, pois influenciam significativamente a cor, o sabor, aroma dos produtos (Strashynskiy *et al.*, 2016).

No Brasil, a legislação permite o uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação. Os aditivos são ingredientes adicionados aos alimentos, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais sem objetivo nutricional. Os coadjuvantes de tecnologia de fabricação são substâncias que não são consumidas por si só e que se empregam intencionalmente na elaboração de matérias-primas, alimentos ou seus ingredientes, para obter uma finalidade tecnológica durante o tratamento ou fabricação (Brasil, 1997).

Na tabela 1, são destacados alguns aditivos e coadjuvantes de tecnologia, bem como suas funções no âmbito industrial de acordo com a Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997.

Tabela 1 – Aditivos e coadjuvantes de tecnologia e suas funções no âmbito industrial

Tipo	Classificação	Função da substância
Aditivo	Antioxidante	Retarda o aparecimento de alteração oxidativa no alimento.
	Corante	Confere, intensifica ou restaura a cor de um alimento.
	Conservador	Impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microrganismos ou enzimas.
	Edulcorante	Substância diferente dos açúcares que confere sabor doce ao alimento.
	Espessantes	Aumenta a viscosidade de um alimento.
	Geleificante	Confere textura através da formação de um gel.
	Estabilizante	Torna possível a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis em um alimento.
	Aromatizante	Substância ou mistura de substâncias com propriedades aromáticas e/ou sápidas, capazes de conferir ou reforçar o aroma e/ou sabor dos alimentos.
	Regulador de acidez	Altera ou controla a acidez ou alcalinidade dos alimentos.
	Acidulante	Aumenta a acidez ou confere um sabor ácido aos alimentos.
Coadjuvante de tecnologia	Emulsionante/ Emulsificante	Torna possível a formação ou manutenção de uma mistura uniforme de duas ou mais fases imiscíveis no alimento.
	Realçador de sabor	Ressalta ou realça o sabor/aroma de um alimento.
	Agente de controle de microrganismos	Tem a propriedade de controlar e/ou inibir o desenvolvimento de microrganismos em determinada fase do processo de fabricação do alimento.
	Detergente	Modifica a tensão superficial em alimentos.

Fonte: Brasil (1997)

A utilização de nitratos, nitritos, associados ao sal são os principais ingredientes utilizados para curar e conservar produtos cárneos (Teixeira; Rodrigues, 2021), oferecendo estabilização oxidativa e microbiológica durante o armazenamento e melhoria das propriedades sensoriais (Karwowska *et al.*, 2021). Antioxidantes sintéticos, como hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), terc-butilhidroquinona (TBHQ) e propilgalato (PG), também são usados para reduzir a oxidação lipídica na indústria alimentícia (Mika; Antończyk; Wikier, 2023). Porém, estas substâncias se utilizados em altos níveis, podem levar à produção de substâncias com potenciais cancerígenos (Jin *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2021). Na última década, autoridades de saúde pública, instituições de pesquisa e indústria da carne têm trabalhado para reduzir ou mesmo substituir os conservantes sintéticos em produtos cárneos em todo o mundo (Teixeira; Rodrigues, 2021; Manassis *et al.*, 2020). Além disso, cada vez mais os consumidores pedem produtos alimentícios minimamente processados, sem conservantes e com maior prazo de validade. A fim de satisfazer as exigências dos consumidores e restabelecer a sua confiança na segurança dos alimentos, a indústria alimentar foi motivada a procurar alternativas naturais de preservação (Aziz; Karboune, 2018).

Estudos tem se concentrado em encontrar alternativas para aditivos a partir de recursos naturais para embutidos cárneos, utilizando produtos como demonstrado na tabela 2.

Tabela 2 – Produtos cárneos embutidos com aditivos naturais

Produto	Aditivo natural	Objetivo	Referência
Salsichas	Óleo essencial de folhas de <i>Elaeagnus angustifolia</i> L e nanopartículas de nisina e ϵ -polilisina	Antimicrobiano e antioxidante natural, substituto de conservantes químicos	Yaghoubi <i>et al.</i> (2023)
Salsichas	Extrato fresco de gengibre	Ingrediente natural com ação antioxidante	Hossain <i>et al.</i> (2021)
Embutido fermentado	Óleo essencial de <i>Juniperus communis</i> L.	Redução de nitrito de sódio	Tomovic <i>et al.</i> (2020)
Mortadela	Betalaina	Corante e antioxidante natural	Meireles <i>et al.</i> (2020)
Linguiça curada	Vinho tinto e alho	Redução de nitrito e nitrato de sódio	Patarata <i>et al.</i> (2020)
Salsicha	Óleo essencial de coentro	Redução de nitrito de sódio	Šojić <i>et al.</i> (2019)

Salsicha	Fruto de <i>Opuntia humifusa</i> f. <i>jeollaensis</i> em pó	Estabilizador de emulsão	Jeong; Han (2019)
Salsicha	Carotenoides extraídos da casca do caranguejo azul	Redução de nitrito de sódio	Hamdi <i>et al.</i> (2018)
Salsicha	Celulose nanofibrilada	Substituição parcial de polifosfatos e amidos	Parés <i>et al.</i> (2018)
Salsicha fresca	Óleo essencial de alho, isotiocianato de alila e nisina Z	Bioconservante	Araújo <i>et al.</i> (2018)
Linguiça fresca e mortadela	Extrato de jabuticaba microencapsulado	Corante natural com atividade antioxidante e antimicrobiana	Baldin <i>et al.</i> (2016); Baldin <i>et al.</i> (2018)
Salsicha	Lisina e Arginina	Estabilizador de emulsão	Zhu <i>et al.</i> (2017)
Mortadela	Extrato de salsa em pó	Redução de nitrito de sódio	Riel <i>et al.</i> (2017)
Salsicha	Extrato de bagaço de uva	Antimicrobiano	Mattos <i>et al.</i> (2016)

3.5 ESTABILIDADE DAS EMULSÕES CÁRNEAS

Emulsões são dispersões compostas de duas fases líquidas imiscíveis que são misturadas usando cisalhamento mecânico e surfactantes (Kale; Deore, 2017). As emulsões cárneas, consideradas como emulsão óleo em água, são misturas heterogêneas compostas por glóbulos de gordura revestidos com proteínas (gotículas de óleo) dispersos na matriz de gel de proteínas miofibrilares (Santhi; Kalaikannan; Sureshkumar, 2017).

A estabilidade da emulsão cárnea em reter água e lipídios em sua matriz é um dos parâmetros de qualidade mais importantes para embutidos emulsionados (Shin *et al.*, 2022). A estabilidade da massa e a textura do produto em embutidos à base de emulsão dependem de vários fatores, como a natureza e a quantidade de massa magra, gorduras/óleos, água adicionada, aditivos, outros ingredientes não cárneos e métodos de processamento. Diversas pesquisas foram e ainda são realizadas sobre a estrutura e a estabilidade da emulsão de carne em diferentes tipos de produtos (Santhi; Kalaikannan; Sureshkumar, 2017).

No método de preparo convencional, as salsichas contêm entre 20% e 30% de gorduras animais, importantes tecnologicamente para a obtenção de uma emulsão estável e para a

formação das propriedades reológicas, estruturais e sensoriais dos produtos. Contudo, a gordura animal é rica em ácidos graxos saturados e colesterol, considerados não saudáveis pelos consumidores (Momchilova *et al.*, 2023). O uso de óleo vegetal rico em ácidos graxos insaturados para substituir a gordura animal está atraindo atenção significativa em pesquisas (Ren *et al.*, 2022), onde alternativas como o uso de óleos de semente de chia e/ou uva (Momchilova *et al.*, 2022), azeite de oliva e óleo de chia (Pintado; Confrades, 2020), óleo de semente de girassol (Silva *et al.*, 2019), entre outros, tem sido estudadas, no entanto, o simples uso de óleos vegetais em substituição às gorduras animais causa um declínio na qualidade do produto, uma vez que as gorduras animais apresentam uma estrutura sólida e elástica à temperatura ambiente, ausente nos óleos líquidos (Ren *et al.*, 2022).

A estabilidade das emulsões pode ser aprimorada, utilizando aditivos como os fosfatos que em combinação com o cloreto de sódio, melhora a solubilidade das proteínas, levando assim, a maior capacidade de imobilizar altos níveis de água adicionada e emulsificar uma grande quantidade de gordura. No entanto, o uso de fosfatos é geralmente em dosagens restritas e em alguns países é proibido em produtos cárneos (Balestra; Petracci, 2019).

Biossurfactantes também têm sido estudados para aumentar a estabilidade da emulsão de produtos alimentícios. Estudo de Campos, Stamford e Sarubbo (2019) demonstrou que o biossurfactante produzido por *Candida utilis* associado a outros ingredientes estabilizantes (gomar guar e carboximetilcelulose), pode ser aplicado em molhos para saladas com contribuição positiva na estabilidade da emulsão durante o seu armazenamento. Lira *et al.* (2021) estudou o biossurfactante produzido por *Candida guilliermondii* em formulações de maionese e de acordo com os resultados obtidos, todas as formulações com o biossurfactante permaneceram estáveis e sem microrganismos patogênicos durante o armazenamento, concluindo que o mesmo tem potencial para aplicação na indústria alimentícia.

Já o soforolipídio apresenta características eficazes como agente emulsificante e estabilizante em formulações tipo óleo/água (Gaur *et al.*, 2019; Koh; Gross, 2016; Xue *et al.*, 2013), sugerindo seu possível uso em emulsões alimentares, porém ainda não aplicado em produtos cárneos.

3.6 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA

A contaminação microbiológica é uma questão que preocupava a indústria de produtos cárneos, pois estes produtos são ricos em nutrientes que fornecem condições ideais para o crescimento de microrganismos, definindo uma natureza perecível. Alguns organismos

simplesmente o deterioram, enquanto outros são uma ameaça à saúde. Em ambos os casos, a carne deve ser descartada. Em todo o mundo, mais de 20% da carne produzida é perdida ou desperdiçada (Saucier, 2016). Patógenos, especialmente bactérias, são responsáveis por causar uma grande variedade de infecções e intoxicações por meio de alimentos contaminados que resultam em doenças moderadas a graves e mortes (Fu *et al.*, 2016).

Avaliando produtos de carne de frango (incluindo mortadela, hambúrgueres e *nuggets*), estudo de Khalafalla, Fatma e El-Fouley (2019), demonstrou que a maioria dos produtos examinados em seu trabalho estavam contaminados com patógenos de origem alimentar, como o *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A taxa de contaminação de produtos de frango no mercado varejista foi maior do que os produtos correspondentes obtidos na planta de processamento, o que é atribuído à contaminação de produtos de frango por mau manuseio durante o transporte, armazenamento e comercialização, bem como, crescimento de contaminantes como resultado de condições inadequadas de armazenamento, incluindo temperatura e umidade.

Especificamente em salsichas, estudo de Azad e Shakerian (2023) mostrou que 28% das amostras adquiridas comercialmente estavam contaminadas pelos microrganismos patogênicos *E. coli*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*. Já Fouad *et al.* (2022) detectaram microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella* Typhimurium e *Yersinia enterocolitica* em 40, 20, 20 e 30% de amostras de salsichas examinadas, respectivamente.

Estudo de Abd-El-Malek (2017), mostrou que existe uma prevalência de *Listeria monocytogenes* em salsichas de frango prontas para o consumo de 6%, enquanto que para *Staphylococcus aureus*, a incidência é 24%. Como este tipo de produto pronto para consumo é de grande demanda devido ao seu uso fácil e economia de tempo, mas não sujeita a aquecimento adicional antes do consumo, esses resultados demonstram a importância da vigilância de patógenos de origem alimentar.

A tabela 3 traz os parâmetros para garantir a qualidade microbiológica exigida pela legislação brasileira vigente para salsicha.

Tabela 3 – Parâmetros microbiológicos para salsicha especificados pela legislação brasileira

Categoria	Microrganismos	n	c	m	M
Produtos cárneos cozidos inteiros ou em cortes, defumados ou não,	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Clostridium perfringens</i> /g	5	1	10 ²	10 ³

embutidos ou não (mortadela, salsicha, presunto, fiambre, patês, galantines)	Estafilococos coagulase positiva/g	5	1	10 ²	10 ³
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	<10	10 ²

m: é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável.

M: é o limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável. Em um plano de três classes, M separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável. Valores acima de M são inaceitáveis

n: é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente.

c: é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (plano de três classes).

Aus: Ausência

Fonte: Brasil (2022)

O controle da deterioração dos alimentos e das bactérias patogênicas tem sido alcançado principalmente por tratamento térmico e adição de produtos químicos, como antimicrobianos e antioxidantes sintéticos (Bolívar-Monsalve *et al.*, 2019; Villalobos-Delgado *et al.*, 2019), no entanto, devido a tendência de produtos “*clean label*” ou “rótulo limpo”, um importante objetivo das pesquisas científicas é a redução ou eliminação de aditivos sintéticos, frequentemente associados ao risco de câncer (Karwowska *et al.*, 2021).

Assim, esforços consideráveis têm sido feitos para encontrar antimicrobianos naturais que possam inibir o crescimento de bactérias e fungos em alimentos, a fim de melhorar a qualidade e o prazo de validade (Villalobos-Delgado *et al.*, 2019). Os conservantes naturais de fontes como bactérias, fungos, plantas, animais, tem a capacidade de garantir a segurança do alimento devido à sua atividade antimicrobiana exercida contra um amplo espectro de patógenos de origem alimentar. Além disso, metabólitos secundários com atividade antimicrobiana são produzidos plantas (frutas, vegetais, sementes, ervas e especiarias), animais (ovos, leite e tecidos) e microrganismos (fungos e bactérias) podem ser usados para extraí-los (Teshome *et al.*, 2022).

Parece, portanto, provável que o emprego de antimicrobianos naturais está se tornando uma alternativa viável para diminuir os riscos à saúde no caso de alimentos contaminados por microrganismos. É esperado que a demanda por alternativas antimicrobianas naturais, substituindo os compostos sintéticos, aumente de forma constante, conforme a influência negativa exercida por alguns conservantes sintéticos na saúde dos consumidores tem sido demonstrada (Pisoschi *et al.*, 2018).

3.7 OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM PRODUTOS CÁRNEOS EMBUTIDOS

Devido à sua complexa matriz composta principalmente por água, proteínas e lipídios, as salsichas são passíveis de deterioração em termos de qualidade sensorial e nutricional durante

o processamento e armazenamentos (Bolívar-Monsalve *et al.*, 2019) e a oxidação em produtos cárneos é a segunda causa mais importante de deterioração da carne (depois da deterioração microbiana) (Manassis *et al.*, 2020).

A oxidação lipídica é um processo onde os ácidos graxos insaturados reagem com o oxigênio molecular através de um mecanismo de radicais livres. Derivado desta reação, são produzidos hidroperóxidos que são considerados os primeiros produtos de oxidação. Os hidroperóxidos são inodoros e não contribuem com nenhum aroma, no entanto, estes compostos são altamente instáveis e se decompõem rapidamente, resultando num grande número de compostos secundários que incluem hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres e ácidos, que provocam o aparecimento de sabores e odores estranhos na carne (Domínguez *et al.*, 2019).

As reações causadas pela oxidação lipídica levam a uma redução no valor nutricional e na qualidade sensorial dos produtos cárneos e podem alterar a aceitação do consumidor pelas modificações de cor, odor, textura e sabor, podendo afetar a segurança do produto (Pateiro *et al.* 2021).

Para controle deste mecanismo, antioxidantes sintéticos, como BHT, BHA, TBHQ e PG, são usados na indústria alimentícia (Mika; Antończyk; Wikier, 2023) e apesar de sua eficácia, o uso excessivo ou inapropriado pode causar efeitos adversos na saúde humana (Xu *et al.* 2021). Neste contexto, uma nova tendência de substituição parcial e total desses antioxidantes sintéticos por antioxidantes de fontes naturais tem recebido maior atenção entre consumidores e processadores de carne (Novaković *et al.*, 2020).

3.8 SURFACTANTES E BIOSSURFACTANTES

Os surfactantes são compostos químicos compostos por moléculas anfipáticas contendo porções hidrofílicas e hidrofóbicas, sendo que essa estrutura anfipática permite que estas moléculas desempenhem um papel importante na emulsificação, formação de espuma, detergência e atividades de dispersão de óleo, que são características desejáveis em diferentes indústrias. Porém, em sua maioria, são derivados da indústria petroquímica, sendo uma forma de produção amplamente vista como insustentável (Sarubbo *et al.*, 2022). Já os biosurfactantes são compostos biológicos de origem microbiana, que possuem propriedades tensoativas e podem ser usados de forma eficaz em substituição aos surfactantes químicos (Abbot *et al.*, 2022).

O tamanho do mercado de biossurfactantes foi avaliado em mais de 8 bilhões de dólares em 2022 e deve representar cerca de 5% de taxa de crescimento entre 2023 e 2032, sendo que a crescente conscientização dos consumidores sobre alternativas ecológicas impulsionará a demanda da indústria ao longo do prazo previsto. As principais empresas que operam no mercado de biossurfactantes incluem BASF SE, Merck KGaA, Evonik Industries AG, Givaudan AS, Kao Corporation e Boruta Zchem SA. Estes participantes no mercado competitivo, tem expandido suas capacidades de produção para obter acesso a uma base de clientes mais ampla e aproveitar ao máximo as oportunidades de crescimento disponíveis (Global Market Insights, 2023).

Os biossurfactantes são uma alternativa sustentável para surfactantes sintetizados quimicamente devido à sua funcionalidade variada (formação e estabilização de emulsão, formação de espuma, redução da tensão superficial e / ou interfacial), bem como, em alguns casos, apresentam atividades antivirais, antifúngicas e antibacterianas (Salek; Eusto, 2019). Além disso, possuem propriedades como baixa toxicidade, biodegradabilidade, produção sustentável (Gaur *et al.*, 2022) e podem ser facilmente produzidos a partir de fontes de energia renováveis e não esgotáveis (Abbot *et al.*, 2022).

De acordo com a massa molecular média de um biossurfactante, que varia de 500 Da a 1500 Da, podem ser agrupados em biossurfactantes de baixo peso molecular e alto peso molecular. Lipoproteínas e lipopolissacarídeos são biossurfactantes de alto peso molecular, muitas vezes referidos como bioemulsificantes. Glicolipídios, lipopeptídeos e fosfolipídios são compostos de baixo peso molecular e são classicamente referidos como biossurfactantes (Sarubbo *et al.*, 2022). Dentre estes, os glicolipídios são os surfactantes microbianos amplamente relatados, incluindo ramnolipídios, soforolipídios, trehalolipídios e lipídios manosileritritol (Kashif *et al.*, 2022). A classe dos glicolipídios apresenta propriedades emulsificantes e antibacterianas, sendo candidatos potenciais para serem usados como aditivos alimentares (Gaur *et al.*, 2022).

Dentre os glicolipídios, os soforolipídios apresentam uma ampla diversidade estrutural e funcional para aplicação em várias áreas (Hipólito *et al.*, 2020; Silveira *et al.*, 2019 e 2020). Na agricultura, demonstra potenciais uso como biopesticidas no controle de microrganismos fitopatogênicos (Caretta *et al.*, 2021). Em cosméticos pode ser aplicado como uma alternativa biodegradável, pois mostram boa compatibilidade com a pele, alta permeabilidade, hidratação e atividade antioxidante (Filipe *et al.*, 2022). Soforolipídios também podem ser aplicados em processos de biorremediação, onde a sua ação é resultado de sua capacidade de aumentar a área de superfície, solubilidade e biodisponibilidade de compostos insolúveis em água. Eles podem

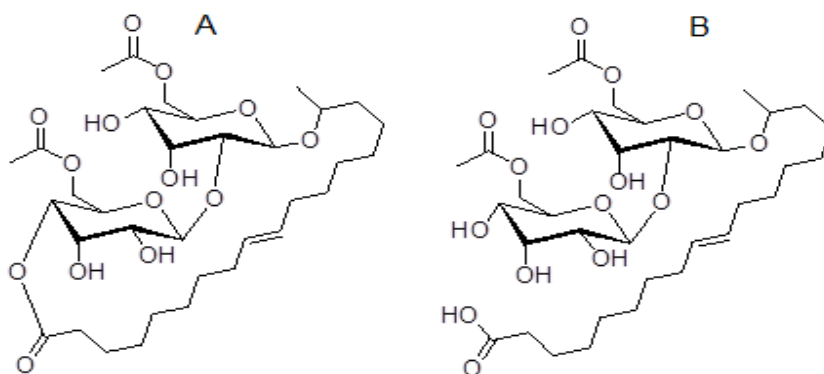
estimular o crescimento de microrganismos responsáveis pela degradação de hidrocarbonetos e melhorar sua capacidade de usar esses hidrocarbonetos (Minucelli *et al.*, 2016).

Além disso, possui atividades antimicrobianas e emulsificantes para aplicação na indústria de alimentos, podendo ser usado para aumentar a vida de prateleira e modificar as propriedades de consistência e textura (Hipólito *et al.*, 2022).

3.9 SOFOROLIPÍDIO: ESTRUTURA, BIOSÍNTESE E APLICAÇÃO

Os soforolipídios são moléculas anfifílicas naturais e sustentáveis (Cho *et al.*, 2022), pertencentes à classe dos glicolipídios extracelulares, compostos por um dissacarídeo soforose (O β -D-glicopiranosil-2 \rightarrow 1- β -D-glicopiranosose) unidos por ligação β -glicosídica entre o carbono 1' e o carbono terminal (ω) ou sub-terminal (ω -1) de uma cadeia de ácido graxo de 16 ou 18 carbonos (Pal *et al.*, 2023). São produzidos pela levedura *Starmerella bombicola* nas formas lactônicas e ácidas (Figura 2) (Cho *et al.*, 2022), podendo ter diferentes graus de acetilação (Li *et al.*, 2020). A forma ácida têm forte capacidade de formação de espuma e solubilidade em água, enquanto a lactônica têm a capacidade de reduzir a tensão superficial da água (Li *et al.*, 2020).

Figura 2 - Formas estruturais do soforolipídio: A – lactônica B – ácida



Fonte: Queiroz *et al.* (2019)

Os soforolipídios formam gotículas finas em várias concentrações através de métodos de emulsificação. São estáveis em uma ampla faixa de pH (2–12), de temperaturas (40–100°C) e em altas forças iônicas (13–15% de salinidade) (McClements; Bai; Chung, 2017).

Claus e Van Bogaert (2017) descrevem que a biossíntese clássica de soforolipídios era atribuída exclusivamente a *Candida apícola* e *Starmerella bombicola*, descobertas em 1961 e 1970, respectivamente. Foi apenas cerca de uma década atrás que novas espécies produtoras de soforolipídios foram descritas, principalmente graças à análise dedicada de espécies taxonomicamente relacionadas com *S. bombicola*. Diferentes microrganismos produtores de soforolipídios e suas referências podem ser observados na tabela 4.

Tabela 4 – Microrganismos produtores de soforolipídios

Microrganismo	Referência
<i>Starmerella bombicola</i>	Caretta <i>et al.</i> (2021); Filipe <i>et al.</i> (2022); Konishi, Yoshida e Horiuchi (2015); Qi <i>et al.</i> (2018); Qin <i>et al.</i> (2023); Silveira <i>et al.</i> (2019)
<i>Starmerella riodocensis</i>	Alfian <i>et al.</i> (2022)
<i>Candida glabrata</i>	Gaur <i>et al.</i> (2019)
<i>Candida albicans</i>	Gaur <i>et al.</i> (2019); Zhang <i>et al.</i> (2018)
<i>Candida parapsilosis</i>	Garg, Priyaka e Chatterjee (2018)
<i>Wickerhamiella anomalus</i>	Souza <i>et al.</i> (2018)
<i>Rhodotorula babjevae</i>	Sem <i>et al.</i> (2017)
<i>Candida bombicola</i>	Minucelli <i>et al.</i> (2016)
<i>Lachancea thermotolerans</i>	Mousavi, Beheshti-Maal e Massah (2015)
<i>Cryptococcus</i> sp.	Basak e Das (2014)
<i>Cyberlindnera samutprakarnensis</i>	Poomtien <i>et al.</i> (2013)
<i>Candida tropicalis</i>	Chandran e Das (2012)
<i>Candida apicola</i>	Kurtzman <i>et al.</i> (2010)
<i>Candida riodocensis</i>	Kurtzman <i>et al.</i> (2010)
<i>Candida stellata</i>	Kurtzman <i>et al.</i> (2010)
<i>Candida floricola</i>	Imura <i>et al.</i> (2010)
<i>Candida batistae</i>	Konishi <i>et al.</i> (2008)
<i>Wickerhamiella domericqiae</i>	Chen <i>et al.</i> (2006); Ma <i>et al.</i> (2011)
<i>Rhodotorula bogoriensis</i>	Nuñez <i>et al.</i> (2004)
<i>Rhodotorula bogoriensis</i>	Tulloch <i>et al.</i> (1968)

S. bombicola é uma levedura ascomiceta que produz com grande eficiência os biossurfactantes glicolipídios como os sofrorolipídios. É a levedura mais utilizada para produção devido aos seus rendimentos bastante expressivos (Paulino *et al.*, 2016), podendo sintetizar grandes concentrações de produto (600 g/L) (Dolman *et al.*, 2017).

Os sofrorolipídios são metabólitos secundários secretados na fase estacionária, sob condições limitantes de nitrogênio e a sua produção pode ser fortemente estimulada quando fontes de carbono lipofílicas e hidrofílicas, como glicose e ácido graxo, estão presentes no meio (Ma *et al.*, 2019).

As vias de obtenção do sofrorolipídio podem ocorrer por síntese de novo ou incorporação direta. Na síntese de novo, substratos lipofílicos (alcanos, álcoois, aldeídos) são quebrados em moléculas menores pela via de β -oxidação, para serem incorporados ao sofrorolipídio. Na via conhecida como incorporação indireta, o substrato oxidado não é decomposto, mas é imediatamente hidroxilado e incorporado ao sofrorolipídio (Hipólito *et al.*, 2022).

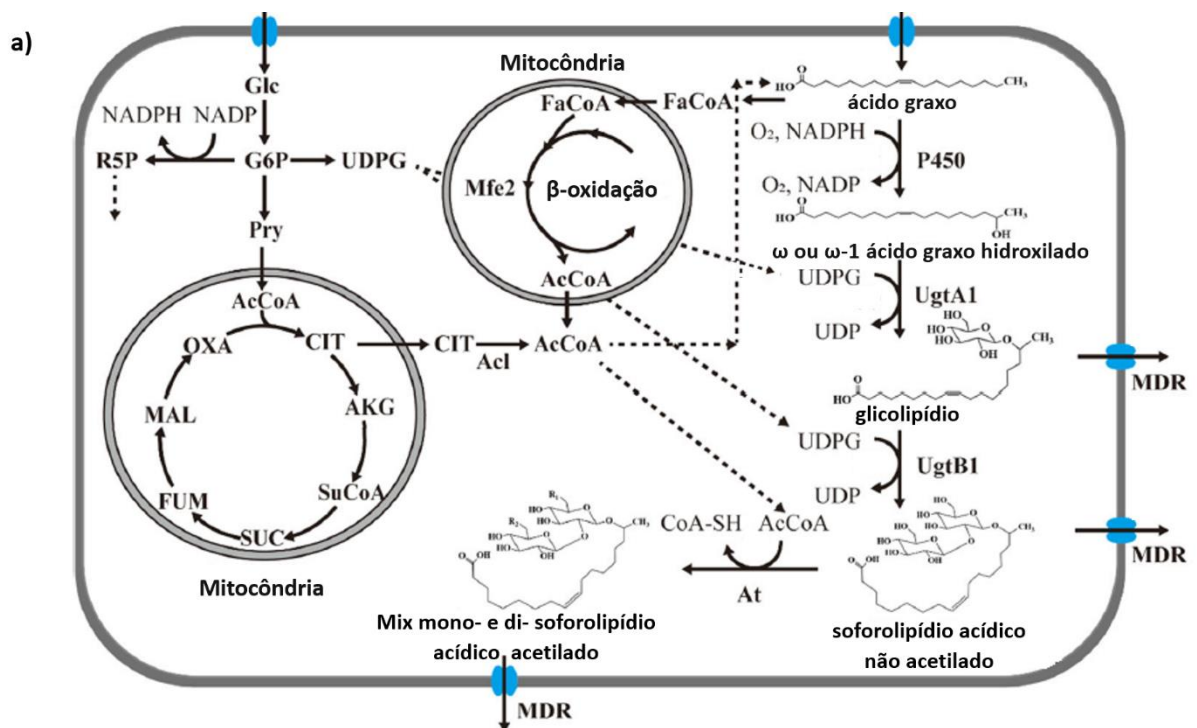
A Figura 3a apresenta a via metabólica de produção da molécula de sofrorolipídio. A hidroxilação de ácido graxo é geralmente considerada como a primeira reação na síntese de sofrorolipídio. O substrato hidrofóbico é hidrolisado em ácidos graxos pela enzima esterase. No entanto, na ausência de fonte de carbono hidrofóbico exógeno, as células também podem sintetizar ácidos graxos pela síntese de novo usando AcetilCoA (AcCoA) derivado da glicólise. Uma proporção de ácido graxo é diretamente adotada como precursor para a produção de sofrorolipídios, enquanto a outra proporção participa da via de β -oxidação para gerar AcetilCoA, que é utilizado no metabolismo central do carbono (Ma *et al.*, 2019).

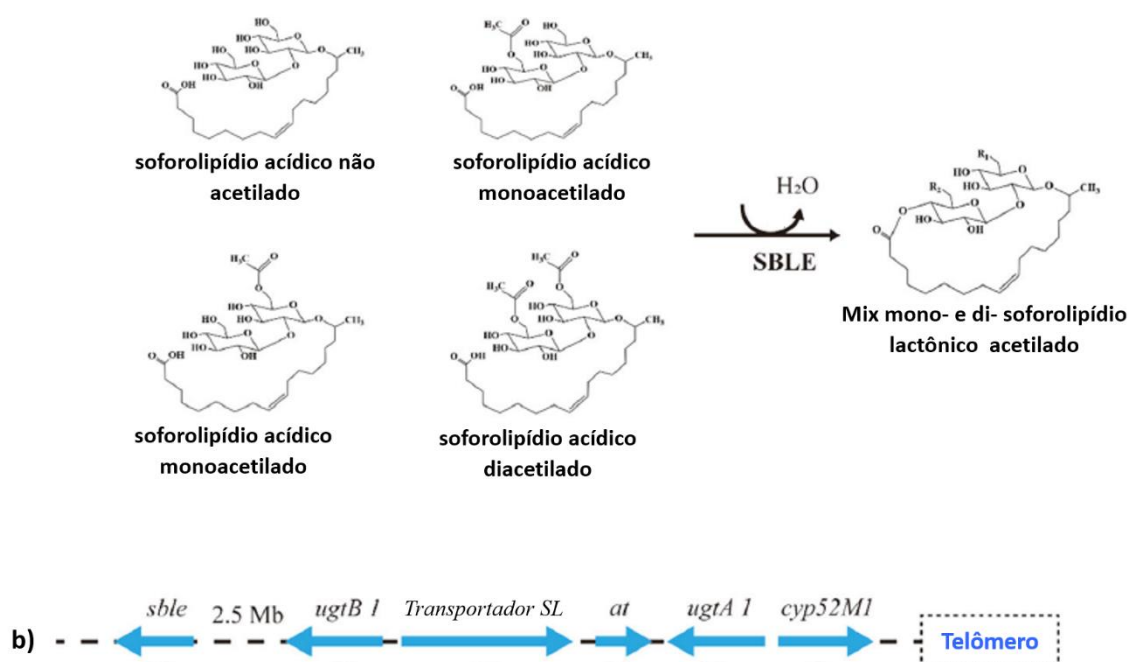
Na incorporação direta, os ácidos graxos são hidroxilados na posição $\omega / \omega-1$ pela enzima citocromo monooxigenase P450, que apresenta preferência específica para cadeias de ácidos graxos C16-C18. Assim, ácidos graxos mais longos ou ácidos graxos ramificados precisam ser metabolizados em ácidos graxos C16-C18 por meio de β -oxidação. Posteriormente, duas moléculas de UDP-glicose são ligadas aos ácidos graxos hidroxilados através da glicosiltransferase I (*ugtA1*) e da glicosiltransferase II (*ugtB1*) para sintetizar a forma não acetilada de sofrorolipídio. Sob a catálise da acetiltransferase (*at*), as moléculas de sofrorolipídio de forma acídica não acetilada podem ser acetiladas na posição C6' ou C6'' para formar sofrorolipídio de forma acídica monoacetilada ou de forma acídica diacetilada, que são então secretados no ambiente extracelular pelo transportador MDR (Ma *et al.*, 2019).

Finalmente, o grupo carboxila do ácido graxo e a extremidade C4'' dos soforolipídio são conectados sob a ação da esterase (lactonase) extracelular (*sble*) para sintetizar soforolipídio na forma lactônica.

A Figura 3b mostra os genes envolvidos na síntese de soforolipídio que incluem citocromo monooxigenase (*CYP52M1*), glicosiltransferase I e II (*ugtA1* e *ugtB1*) acetiltransferase (*at*) e lactonase (*sble*). Todos os genes são responsáveis pela síntese de soforolipídio em um agrupamento de genes, exceto a lactonase (Li *et al.*, 2020).

Figura 3 - Via metabólica de produção da molécula de soforolipídio





Fonte: Li *et al.* (2020) modificado

O modo de fermentação é um aspecto importante para melhorar o rendimento e a produtividade na produção de sofrolipídio, sendo que ambos desempenham um papel importante, especialmente na fermentação em grande escala. O modo de fermentação comumente realizado por *S. bombicola* é a fermentação submersa, incluindo estratégias de batelada e batelada alimentada (Wang *et al.*, 2019). A tabela 5 mostra alguns modos de fermentação aplicados, incluindo os dados de produção obtidos.

Tabela 5 – Produção de sofrolipídios de acordo com o tipo de substrato e fermentação utilizados

Tipo de Fermentação	Tipo de Substrato	Tempo (dias)	pH	T* (°C)	Produção de SLP (g/L)	Referência
Batelada	Melaço de algodão e óleo de algodão	7	-	25	68,9	Qin <i>et al.</i> (2023)
Batelada	Glicose e óleo residual de padaria	6	3,5	-	96,4	To <i>et al.</i> (2022)
Batelada	Glicose e gordura de frango	5	-	30	27,86	Fontoura <i>et al.</i> (2020)

Batelada	Glicose e ácido oleico	5	3,5	30	67	Hipólito <i>et al.</i> (2020)
Batelada alimentada	Glicose e ácido oleico	12	3,5	30	69,83	Silveira <i>et al.</i> (2019)
Batelada	Resíduos de alimentos e têxteis*	3	3,5	30	28,15	Kaur <i>et al.</i> (2019)
Batelada alimentada		3,8			92,8	
Semicontínuo	Glicose e ácido oleico	12,5	**	30	477	Zhang <i>et al.</i> (2018)
Batelada alimentada	Glicose e óleo de canola	13	3,5	25	325	Dolman <i>et al.</i> (2017)
Batelada	Glicose e gordura de frango	5	-	30	41,63	Minucelli <i>et al.</i> (2016)
Batelada alimentada	Glicerol e ácido oleico	8	-	25	62,58	Bajaj e Annapure (2015)
Batelada alimentada	Glicerol e óleo de mamona	8	-	25	40,23	
Batelada	Glicerol e ácido oleico	8	-	25	52,34	
Batelada	Glicerol e óleo de mamona	8	-	25	24,42	
Batelada	Sabugo de milho hidrolisado	5	-	28	49,29	Konishi, Yoshida e Horiuchi (2015)
Batelada alimentada	Glicose e óleo de coco	8	3,5	30	54	Morya <i>et al.</i> (2013)
Batelada alimentada	Glicose e óleo de milho		3,5	25	>400	Pekin, Vardar-Sukan e Kosaric (2005)

*Resíduos de restaurantes contendo: arroz e macarrão junto com pequenas quantidades de carne, frango, gordura, ossos e vegetais e resíduos de padarias contendo: sobras de pão, pastelaria e bolo. Os resíduos têxteis consistiam em têxteis de algodão 100% puro contendo corantes reativos.

**pH mantido de 5,8 a 6,2 nas primeiras 20h e 3,5 a 4 até o final do processo fermentativo.

Após a fermentação, são necessárias as etapas de separação, purificação e caracterização. A obtenção dessa biomolécula do caldo fermentado é normalmente realizada por extração com solventes como acetato de etila, hexano e metanol, combinada ou não com técnicas de filtração. Já a identificação e quantificação pode ser realizada por gravimetria e pelo método colorimétrico de antrona. Para purificação e caracterização são utilizadas técnicas envolvem cromatografia de camada fina, cromatografia líquida com espectrômetro de massa,

espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e ressonância magnética nuclear (Queiroz *et al.*, 2019).

Esta molécula tem mostrado grande importância devido à sua atividade antimicrobiana além da propriedade de surfactante (Pontes *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2017). A atividade antimicrobiana é dada principalmente pela forma lactônica do soforolípido, que causa ruptura da membrana plasmática, por lise celular, causando vazamento do conteúdo do citoplasma de patógenos quando o soforolípido é aplicado (Kulakovskaya *et al.*, 2014; Silveira *et al.*, 2018, 2019).

Estudos relatam a atividade antimicrobiana de soforolípido contra patógenos humanos como *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* (Fontoura *et al.*, 2020). Também foi relatada seu potencial como agente antimicrobiano de diversos microrganismos patogênicos de origem alimentar, como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* (Zhang *et al.*, 2016a, 2016b). Além de apresentar atividade antifúngica contra *Aspergillus flavus*, *Aspergillus melleus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Rhizopus* spp. (Hipólito *et al.*, 2020).

Trabalhos desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa demonstraram a atividade antimicrobiana dos soforolípídios em diferentes aplicações, conforme relatado a seguir:

- O soforolípido associado a um frutooligossacarídeo quando incorporado em filmes para revestimentos de morangos, promoveu um atraso no amadurecimento dos frutos e resultam na inibição imediata do crescimento de fungos e leveduras nos mesmos (Caretta *et al.*, 2023).
- Filmes bioativos para controle de patógenos cutâneos com soforolípídios de *Stammerella bombicola* foram capazes de inibir 100% do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, possibilitando o desenvolvimento antimicrobianos sustentáveis e naturais para tratar infecções bacterianas da pele (Filipe *et al.*, 2022).
- O soforolípido demonstrou eficácia no controle de fungos fitopatogênicos do tomate como *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* e *Pythium ultimum*, sendo o tratamento preventivo o mais eficaz, demonstrando a possível utilização como substituinte de pesticidas químicos (Caretta *et al.*, 2021).
- A incorporação de soforolípido como sanitizante na água de lavagem de carcaças de frango mostrou eficácia no controle de microrganismos contaminantes da indústria avícola como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, coliformes termotolerantes e

aeróbios mesófilos, podendo ser um novo agente sanitizante trazendo maior segurança do alimento aos produtos da indústria avícola (Freitas *et al.*, 2021).

- Quando aplicado em embalagem destinadas para alimentos, o soforolipídio atribuiu aos filmes atividade antimicrobiana contra os patógenos de origem aviária como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp., e ainda melhorou as propriedades termomecânicas, mostrando que pode ser incorporado como um agente multifuncional em embalagens (Silveira *et al.*, 2020).

Quanto a sua aplicação especificamente em alimentos, Gaur *et al.* (2019) realizaram estudo aplicando o soforolipídio de *Candida* spp. como emulsificante alimentar e agente antibacteriano e os resultados demonstraram boas propriedades contra bactérias patogênicas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*), sugerindo seu possível uso em emulsões alimentares e como agente antibacteriano.

Estudo conduzido por Silva *et al.* (2020) utilizando o biossurfactante microbiano produzido por *Candida bombicola* como um aditivo emulsificante para *cupcake*, revelou que a substituição parcial ou total da gordura vegetal pelo biossurfactante não afeta drasticamente as características físico-químicas do produto final, indicando a viabilidade da aplicação dessa biomolécula na formulação de do produto alimentício.

3.10 ENCAPSULAÇÃO DE ADITIVOS ALIMENTARES

Segundo Sonawane *et al.* (2020), cada vez mais, os consumidores suspeitam que os conservantes sintéticos e os agentes aromatizantes dos alimentos são prejudiciais ao seu organismo, por isso preferem os conservantes naturais, o que atraiu pesquisadores e indústrias para trabalhar na área de encapsulamento de moléculas naturais.

Os compostos naturais adicionados aos produtos devem ter a estabilidade assegurada para sua aplicação em alimentos (Veiga *et al.*, 2019) para evitar fatores que podem afetar sua eficácia (Castro-Rosas *et al.*, 2017). Como alternativa, o encapsulamento de conservantes pode ajudar a proteger sua atividade e mantê-los estáveis quando adicionados aos sistemas alimentares (Castro-Rosas *et al.*, 2017).

O encapsulamento foi desenvolvido pela primeira vez há cerca de 60 anos como uma tecnologia para revestimento de sólidos, líquidos e compostos gasosos (Saifullah *et al.*, 2019) e pode ser definido como um processo de aprisionamento de uma substância dentro de outra substância, produzindo assim partículas com diâmetros de alguns nanômetros a alguns milímetros. Neste processo, a substância encapsulada é o material do núcleo, o agente ativo, os

preenchimentos, a fase interna ou a fase de carga útil e a substância que está encapsulando é o revestimento, membrana, invólucro, material de suporte, material de parede, fase externa ou matriz (Bratovcic; Suljagic, 2019).

Quanto à microestrutura, esta é influenciada pelo método de encapsulamento, as propriedades dos materiais do núcleo e do encapsulante e a quantidade de carga. A microestrutura das cápsulas tem impacto na eficiência e retenção do material do núcleo e na eficiência do encapsulamento e regula a liberação de ingredientes ativos. A microestrutura dos encapsulados varia na estrutura externa, como áspera, porosa, oca, rachada, encolhida, etc., ou nas estruturas internas, como o arranjo e configuração do material do núcleo (Mehta *et al.*, 2022).

Em relação aos tamanhos, as nanocápsulas e microcápsulas são os tamanhos mais funcionais e desejáveis no processamento de encapsulamento, onde a nanoescala e a microescala variam entre 10 a 900 nm e 1 a 1000 µm, respectivamente e a microencapsulação é a mais comum e amplamente utilizada nas indústrias alimentícia e farmacêutica (Saifullah *et al.*, 2019; Meng *et al.*, 2022).

Na indústria alimentícia, os ingredientes microencapsulados são empregados para oferecer proteção, facilitar o manuseio, controle da liberação, solubilização e potencializar o efeito de um composto bioativo (Calderón-Oliver; Ponce-Alquicira, 2022).

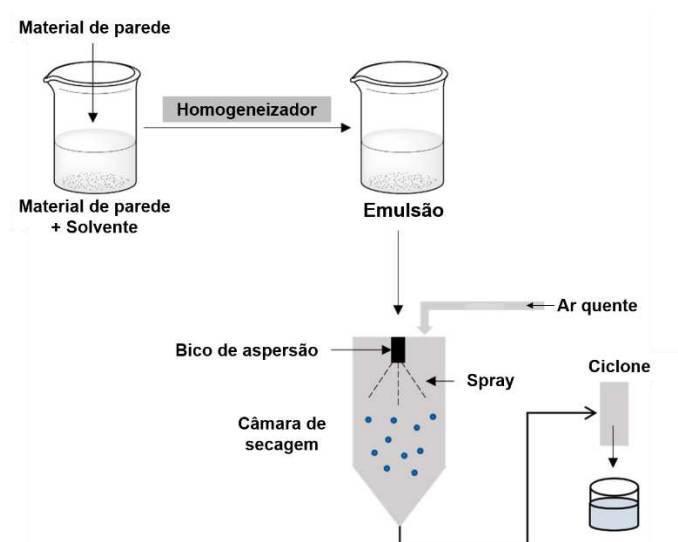
3.10.1 Microencapsulação por *Spray Drying*

Dentre as técnicas de obtenção, a secagem por pulverização (*spray drying*) é a técnica de encapsulamento mais comumente aplicada (Montoya-Yepes *et al.*, 2023), ocorrendo em um processo de secagem com temperaturas relativamente elevadas, onde acontece a evaporação do solvente e, conseqüentemente, são formadas as microcápsulas. É utilizado principalmente em escala industrial, pois permite uma produção simples, reprodutível, contínua e de baixo custo (Souza *et al.*, 2022).

A técnica de *spray drying* envolve quatro etapas (Figura 4), onde primeiro ocorre o preparo de uma emulsão misturando os materiais do núcleo e parede, seguida de uma etapa de homogeneização. Na terceira etapa a emulsão é atomizada em uma câmara de secagem em uma taxa de fluxo pré-definida. A seguir, quando a água da emulsão é removida pela aplicação de energia térmica, ela produz um ingrediente ativo seco revestido, mais estável à umidade, oxigênio, luz e outros estressores ambientais, ocorrendo a formação de microcápsulas

(Timilsena; Haque; Adhikari, 2020). O produto acabado de secagem por *spray drying* pode conter de 2% a 50% da substância ativa (Klosowska; Wawrzyńczak; Feliczak-Guzik, 2022).

Figura 4 - Representação esquemática da secagem por *spray drying*



Fonte: Souza *et al.* (2022) modificado

3.10.2 Materiais Encapsulantes

Para obtenção das microcápsulas, é importante considerar o tipo de material de parede que será usado em combinação com um processo de encapsulamento específico de acordo com a função ou destino da microcápsula e o tamanho de partícula desejado; o material da parede também leva a variações na eficiência e estabilidade do encapsulamento (Gul, 2017). Os materiais de parede para encapsulamento devem ter alta solubilidade, propriedades de secagem, baixa permeabilidade ao oxigênio, não toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa viscosidade em emulsão (Montoya-Yepes *et al.*, 2023). Além disso, para aplicação na indústria de alimentícia, os materiais de parede não devem afetar o sabor dos alimentos (Petkova; Mihaylova; Desseva, 2022).

Uma grande variedade de materiais de parede pode ser utilizada para a microencapsulação como os carboidratos, celulose modificada, proteínas, gomas e lipídios (Labuschagne, 2018). A maltodextrina é o material natural mais popular e amplamente utilizado para microencapsulação. É um polissacarídeo, muito conveniente para uso no processo de microencapsulação por *spray drying* devido à sua boa solubilidade em água (Tomsone *et al.*,

2020), além de fornecer uma forte barreira contra a oxidação dos materiais do núcleo e proteger contra fatores externos (Mohammed *et al.*, 2020).

Outros materiais de parede muito utilizados são a goma arábica e a goma guar, que possuem excelentes propriedades emulsionantes e espessantes, tornando-as adequadas para aplicações de encapsulamento (Lin *et al.*, 2023). Dentre as duas, a goma arábica é considerada um polímero de revestimento ideal que consiste em D-galactose, ácido D-glucurônico, L-arabinose, L-ramnose e um componente proteico menor (2%) que confere a goma arábica suas excelentes características emulsificantes (Burhan *et al.*, 2019).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Microrganismo e Manutenção

O microrganismo utilizado na produção de soforolipídios foi a *Starmerella bombicola* ATCC 22214. A levedura foi mantida criopreservada em 25% glicerol à -80°C (Gao *et al.*, 2013). O meio de preservação, ativação e pré-inóculo em g/L foi composto por: glicose 10, extrato de levedura 3, peptona 5, extrato de malte 3 e ágar 20; glicose 100, extrato de levedura 10 e ureia 1; glicose 77,5, extrato de levedura 2,5 e ácido oleico 75, respectivamente (Minucelli *et al.*, 2017).

4.1.2 Ingredientes Para Microencapsulação Por *Spray Dryer*

Maltodextrina DE20 (MD) adquirida da empresa Cargill (Paraná, Brasil) e goma arábica (GA) adquirida da empresa Nexira (São Paulo, Brasil), disponíveis no Laboratório de Carnes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Londrina.

4.1.3 Matérias-primas e Ingredientes Para Produção dos Embutidos

As matérias-primas para elaboração de salsicha de frango foram fornecidas pelo abatedouro frigorífico situado em Rolândia (PR), sendo elas: CMS (carne mecanicamente separada de frango, obtida por processo mecânico de moagem e separação de ossos das aves, destinada a elaboração de produtos cárneos), carne de frango e fígado de frango.

Os ingredientes não cárneos (amido, sal, condimentos e proteína de soja) e aditivos (antioxidante, aromatizante, conservante, corante, estabilizante e regulador de acidez), foram fornecidos pelas empresas Duas Rodas Industrial, Ibrac, New Max e Doremus. O soforolipídio foi produzido no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

As matérias-primas, ingredientes não cárneos e aditivos estão listados na tabela 6.

Tabela 6 - Formulação para salsicha de frango: controle, 0,008%, 0,024%, 0,040% e 0,060% de adição de soforolipídio, respectivamente

Ingredientes	% de uso na formulação				
	F1	F2	F3	F4	F5
Carne mecanicamente separada de frango	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000
Carne de frango	34,410	36,467	36,451	36,435	36,415
Fígado de frango	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000
Água (gelo)	12,822	12,822	12,822	12,822	12,822
Amido (fécula de mandioca)	1,641	-	-	-	-
Proteína de soja	1,990	-	-	-	-
Sal (cloreto de sódio)	1,243	1,243	1,243	1,243	1,243
Condimento pronto para salsicha	1,492	1,492	1,492	1,492	1,492
Aditivo conservante: sal de cura (nitrito de sódio)	0,249	-	-	-	-
Aditivo regulador de acidez: lactato de sódio	0,493	0,493	0,493	0,493	0,493
Aditivo aromatizante: fumaça líquida	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Aditivo corante: corante carmim de cochonilha	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060
Aditivo estabilizante: tripolifosfato de sódio	0,300	-	-	-	-
Aditivo antioxidante: eritorbato de sódio	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250
Soforolipídio	-	0,008	0,024	0,040	0,060

Fonte: Leão (2014) modificado

Visando investigar as propriedades de emulsificação do soforolipídio, as formulações F2, F3, F4 e F5 foram preparadas sem adição de amido (fécula de mandioca), proteína de soja e tripolifosfato de sódio. Além disso, para as avaliar as propriedades antimicrobianas do soforolipídio nas salsichas de frango, estas formulações também foram preparadas sem adição de sais de cura (nitrito de sódio).

Para embutimento dos produtos, foram utilizados envoltórios de celulose para salsichas disponíveis no Laboratório de Carnes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Londrina.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Produção de Soforolipídio

A produção dos soforolipídio foi realizada por fermentação em biorreator de bancada (Bio-tec Tecnal) com capacidade para 4,5 L e volume operacional de 3 L. O meio foi utilizado

de acordo Minucelli *et al.* (2017), modificado quanto a fonte de lipídio, substituindo a gordura de frango por ácido oleico. As concentrações em (g/L): glicose (77,5), extrato de levedura (2,5) e ácido oleico (75), em 30°C e 150 rpm, com de 120 horas de fermentação (Minucelli *et al.*, 2017).

4.2.2 Separação e Concentração do Soforolipídio Para Aplicação nos Produtos Cárneos

4.2.2.1 Separação do soforolipídio

A fermentação foi interrompida por centrifugação à 9956 x g por 15 minutos, separando a biomassa do caldo fermentado. O caldo fermentado foi mantido congelado em freezer (-18°C) até o momento da utilização.

Para obtenção do soforolipídio a ser aplicado nas salsichas, após o descongelamento, o caldo fermentado foi colocado em funil de decantação, onde permaneceu por 24 horas, a temperatura ambiente, até a separação da fração lipídica (contendo óleo e soforolipídio) do restante do caldo. A fração lipídica foi a utilizada no experimento.

4.2.3 Desenvolvimento da Salsicha de Frango

As salsichas de frango foram elaboradas conforme etapas do fluxograma da Figura 5. Foi elaborada uma fórmula controle para cada produto (sem adição do soforolipídio) e as demais fórmulas serão feitas em triplicata com variações de soforolipídio em 0,008%, 0,024%, 0,040% e 0,060%. Na produção da salsicha de frango, o soforolipídio foi acrescentado no mini *cutter* (Figura 6A), sendo essa etapa caracterizadas pela adição dos ingredientes misturados para formar a massa cárnea. Logos após a massa foi embutida (equipamento da Figura 6B) e cozida (equipamento da Figura 6C).

Figura 5 – Fluxograma das etapas para elaboração da salsicha de frango

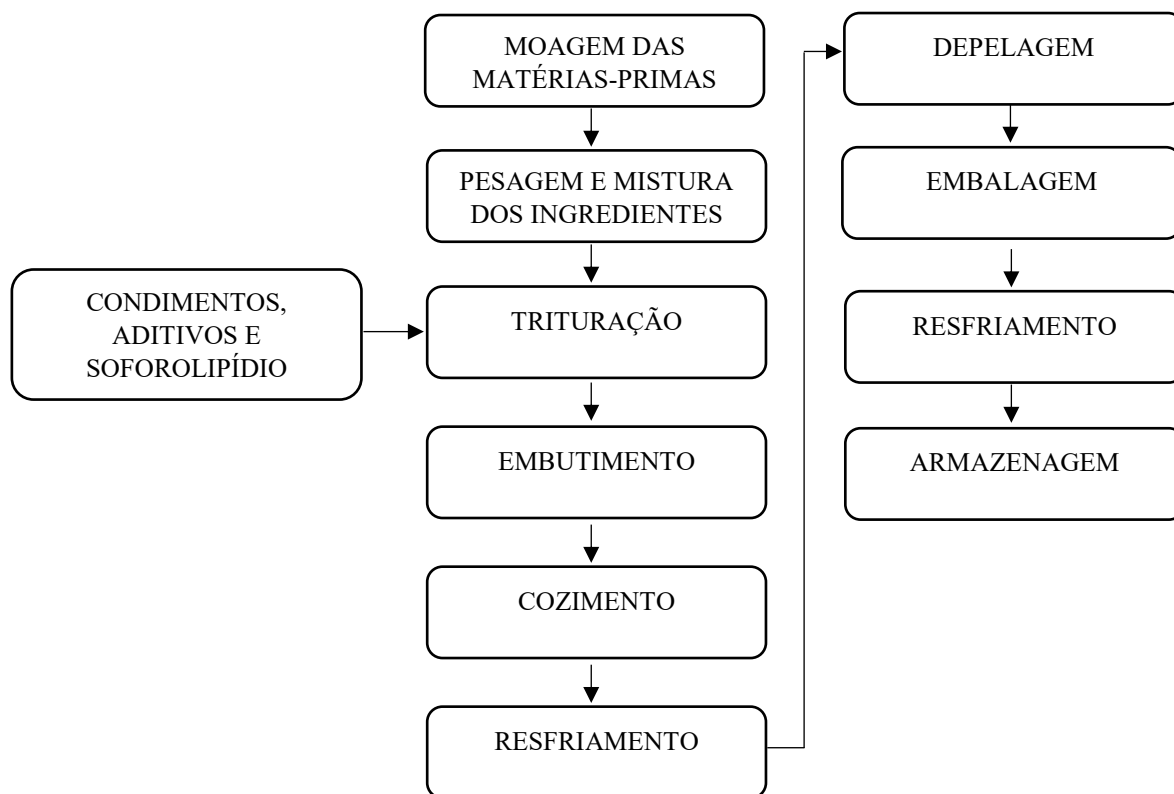
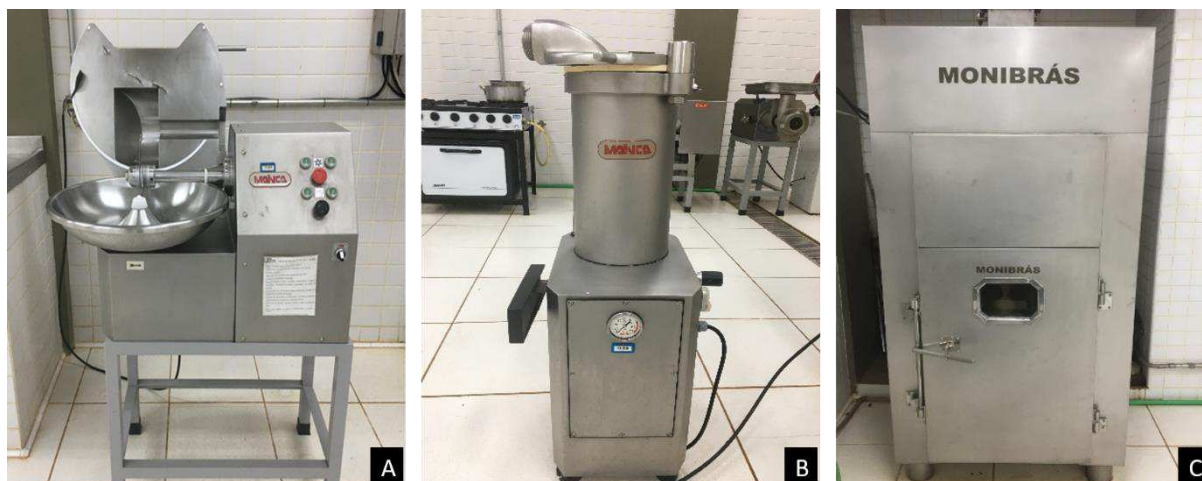


Figura 6 – Equipamentos para produção de salsichas (A: mini *cutter*, B: embutideira e C: estufa de cozimento)



Para produção da salsicha de frango, foi utilizado o Laboratório de Carnes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Londrina.

Após a elaboração, as amostras foram acondicionadas em embalagens seladas à vácuo e em porções individuais de 50 g para facilitar a retirada de amostras durante a realização das

análises. Cada porção de 50 g já embalada, foi colocada em sacos plásticos e armazenadas sob refrigeração.

4.2.4 Caracterização Tecnológica da Salsicha de Frango

4.2.4.1 Estabilidade da emulsão

Para análise da estabilidade da emulsão (EE), 50 g de massa recém processada foi acondicionada em embalagem de polietileno, selada sem vácuo e submetida a tratamento térmico sob imersão por 1 hora a 70°C, resfriada e retirado o volume de líquidos exsudados e calculada a porcentagem de perda de peso comparado ao peso inicial (Parks; Carpenter, 1987). Os resultados foram expressos pela equação 1.

$$\%EE = (\text{Peso final} / \text{Peso inicial}) \times 100. \quad \text{Eq1}$$

4.2.4.2 Índice de absorção de água

Um grama de massa crua foi suspenso em 30 mL de água destilada a 30°C em tubos de centrífuga, previamente tarados, centrifugados por 30 minutos em agitador horizontal, velocidade de 150 rpm e 10 minutos a 3.000 rpm. O sobrenadante de cada tubo foi separado e o sedimento úmido foi quantificado (Seibel; Beléia, 2009). O índice de absorção de água (IAA) foi definido pela equação 2.

$$IAA = \text{Peso da amostra úmida} / \text{Peso da matéria seca}. \quad \text{Eq2}$$

4.2.4.3 Índice de solubilidade

O sobrenadante obtido na análise de IAA foi mantido a 105°C até secagem completa (Anderson *et al.*, 1969). Os resultados foram expressos pela equação 3.

$$ISA = \text{Peso de resíduo sólido} / \text{Peso da amostra}. \quad \text{Eq3}$$

4.2.4.4 Índice de absorção em óleo

Um grama de amostra de massa crua foi suspenso em 30 mL de óleo de soja comercial a 30°C em tubos de centrífuga, previamente tarados e foram submetidos durante 30 minutos em agitador horizontal com 150 rpm, seguido de centrifugação por 10 minutos a 3.000 rpm. O sobrenadante de cada tubo foi separado e o sedimento úmido foi pesado (Seibel; Beléia, 2009). O Índice de absorção em óleo (IAO) foi expresso pela equação 4.

$$\text{IAO} = \text{Peso da amostra úmida} / \text{Peso da matéria seca.} \quad \text{Eq4}$$

4.2.4.5 Perda de peso por cozimento

Para a análise de perda de peso por cozimento (PPC) os produtos foram pesados íntegros antes (P) e após a cocção (Pcoz), com a finalidade de se conhecer a perda de peso durante o cozimento (Honikel, 1998). Os resultados foram expressos pela equação 5.

$$\% \text{PPC} = [(P - P_{\text{coz}}) / P] \times 100. \quad \text{Eq5}$$

4.2.4.6 Capacidade de retenção de água

As medidas de capacidade de retenção de água (CRA), foram realizadas utilizando a metodologia descrita por Jia *et al.* (2019). Aliquotas de 0,5 g de cada amostra foram prensadas sobre dois papéis de filtro (*Whatman* n°1) entre placas de *plexiglass* até uma pressão de 500lb pol^{-2} durante dois minutos. A capacidade foi calculada através da equação 6.

$$\% \text{CRA} = 100\% - [(\text{peso inicial} - \text{peso final}) / \text{peso inicial}] \times 100. \quad \text{Eq6}$$

4.2.4.7 Determinação de pH

O pH foi determinado diretamente nas amostras, realizada com auxílio do potenciômetro da marca Testo, de acordo com a metodologia sugerida por Fernandez-Lopez *et al.* (2020). As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.4.8 Determinação de cor

Foi realizada utilizando um colorímetro Minolta calibrado previamente. Os valores de luminosidade L^* , a^* (componente vermelho-verde) b^* (componente amarelo-azul) foram expressos no sistema de cor CIELAB (Fernandez-Lopez *et al.*, 2020). As amostras foram submetidas a um corte transversal, e as leituras foram efetuadas em triplicada para cada formulação em temperatura ambiente.

4.2.5 Perfil de Textura Instrumental

Para a análise de perfil de textura instrumental (TPA) foi utilizada a metodologia de Souto *et al.* (2017) utilizando o equipamento *Texture Analyser TA.XT plus* da *Stable Micro System* com o probe (P035), foram analisadas as propriedades de dureza (força necessária para uma pré-deformação), adesividade (trabalho necessário para superar o atração entre a amostra e a sonda), elasticidade (taxa em que uma amostra deformada retorna ao seu tamanho e forma originais), coesividade (razão da área de força positiva durante a segunda compactação em relação à primeira), gomosidade (relacionada à força necessária para desintegrar o produto ao ponto ideal de deglutição) e mastigabilidade (energia necessária para mastigar um alimento sólido até está pronto para engolir). O texturômetro foi calibrado sendo utilizado o cilindro de 6 mm; velocidade de teste de 1,0 mm/s; distância de penetração de 7 mm, força de contato de 5,0 g; e tempo entre os ciclos de 5 segundos. As amostras foram cortadas com 10 mm de espessura e para cada amostra foi realizado sete repetições de TPA.

Figura 7 – Amostra de salsicha para análise de TPA no equipamento *Texture Analyser TA.XT plus*



4.2.6 Estabilidade Oxidativa

Para este teste foi utilizada a metodologia de TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico segundo Raharjo, Sofos e Schmidt (1992). 10 g de amostra foram homogeneizadas com 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% e 1 mL do antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT) 0,15% com o auxílio de um mixer (Britânia 200W de potência). Em seguida as amostras foram filtradas com papel filtro em balão volumétrico de 50 mL, completando o volume deste com solução de ácido tricloroacético 5%. Deste balão, foi retirada uma alíquota de 5 mL e transferida para tubo de ensaio com tampa, onde foram adicionados 5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,02 M em ácido acético 50%. Os tubos foram aquecidos em banho-maria fervente por 40 minutos, resfriados e as leituras serão a $\lambda=530\text{nm}$ (espectrofotômetro Femto 800 XI). O branco foi a mistura de todos os reagentes descritos anteriormente, exceto a amostra. Para realizar a equivalência das leituras do espectrofotômetro, foi construída uma curva padrão com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) e os resultados foram expressos em mg de malonaldeído/kg ($\text{MAD}/\text{kg}^{-1}$) de produtos cárneos.

4.2.7 Análises Microbiológicas da Salsicha de Frango

As análises foram realizadas com base na instrução normativa nº 161 de 01 de julho de 2022, descrito no anexo I item d) (produtos cárneos cozidos inteiros ou em cortes, defumados ou não, embutidos ou não (mortadela, salsicha, presunto, fiambre, patês, *galantines*) do grupo 5 – carne de aves, que prevê as determinações de contagem de *Escherichia coli*/g, Estafilococos coagulase positiva/g e de *Clostridium perfringens*/g e pesquisa de *Salmonella* spp./25g (Brasil, 2022).

4.2.7.1 Contagem de *Escherichia coli*/g

Para a análise de contagem de *E. coli*, em um frasco Erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada 0,1% foram diluídas 25 g de amostra, seguido de diluições decimais seriadas. A partir das diluições iniciais, foram semeadas alíquotas de 1 mL em placas de petrifilm de 20cm^2 . Posteriormente, as placas foram incubadas $24\pm 1\text{h}$ a 35°C . Após o período de incubação, foi feita a leitura das colônias das placas e contadas as colônias típicas azuis associadas a bolhas de gás (AOAC 991.14:1994; 998.08: 2002).

4.2.7.2 Contagem de estafilococos coagulase positiva/g

Para a análise de Estafilococos coagulase positiva, em um frasco Erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada 0,1% foram diluídas 25 g de amostra, seguido de diluições decimais seriadas. Depois foram feitos plaqueamentos dessas diluições por superfícies com 0,1 mL das diluições em placas contendo Ágar Baird Parker com solução de gema de ovo com telurito de potássio 1%. Posteriormente, as placas foram incubadas entre 35 e 37°C por 48 horas. Após o período de incubação, foi realizada a leitura das colônias das placas e colônias típicas presentes (negras) foram submetidas aos testes bioquímicos de coagulase e catalase (ISO 6888-1: 2003).

4.2.7.3 Contagem de *Clostridium perfringens*/g

A partir das diluições iniciais, foram semeadas alíquotas de 1 mL em placas estéreis e adicionados cerca de 15 mL de ágar TSC. Após a solidificação, uma segunda camada de cerca de 10 mL do mesmo meio foi acrescentada. Imediatamente após a solidificação do ágar, as placas foram incubadas em jarra de anaerobiose a $36\pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. Colônias típicas pretas foram submetidas a testes de confirmação. Para confirmação, as colônias de *Clostridium perfringens*, foram transferidas para tubos de ensaio com o meio de Tioglicolato (TGM) previamente desaerado e em seguida, os tubos foram incubados a 37°C por 18 a 24 horas (em anaerobiose). Após a incubação, 5 gotas do meio TGM foram adicionadas em Caldo Lactose Sulfito (LS) e os tubos foram incubados a $46\pm 0,5^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. Tubos com escurecimento e produção de gás confirmaram as colônias de *Clostridium perfringens* (ISO 7937, 2004).

4.2.7.4 Pesquisa de *Salmonella* spp./25g

As amostras foram diluídas em água salina peptonada e incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente estas amostras foram transferidas para dois diferentes caldos de enriquecimento seletivo, Rappaport-Vassiliadis e Tetracionato-Novobiocina e incubadas a 37 e 42°C por 24 horas. Cada amostra foi semeada em placas com Ágar BPLS e em Ágar XLD e incubadas por 24 horas a 37°C . As colônias típicas obtidas foram submetidas aos testes de ágar ureia, reações em ágar TSI, meio L-lysina descarboxilase, detecção de β -galactosidase, fermentadores de lactose, reação de Voges-Proskauer (VP) e reação de indol. Culturas características do gênero

Salmonella nesses meios foram submetidas ao teste de aglutinação com soros antissômático poli "O" e antiflagelar poli "H" (ISO 6579-1:2017).

4.2.8 Análise Morfológica das Salsichas

As formulações da salsicha F1 (padrão) e F5, que obteve o melhor resultado para análises de perfil tecnológico, foram preparadas e submetidas à microscopia eletrônica de varredura para avaliar as diferenças qualitativas na microestrutura das emulsões formadas. Alíquotas de cada amostra foram coletadas e fixadas por 20 horas em solução fixadora (Glutaraldeído 2,5% + Tampão Cacodilato de sódio 0,1m - pH 7,2), seguido de dois banhos de tampão Cacodilato 0,1m por 10 minutos cada, pós fixação por 2 horas em Tetróxido de Ósmio e mais dois banhos de tampão Cacodilato 0,1m por 10 minutos cada. As amostras fixas foram desidratadas em gradiente de etanol (70, 80, 90 e 100%) e em seguida secas pelo método do ponto crítico usando CO₂ (BALTEC, modelo CPD 030). Após a secagem ao ponto crítico, as amostras foram montadas sobre *stubs* contendo fita de carbono dupla face (Figura 8). Finalmente, os *stubs* foram revestidos com ouro (BALTEC modelo SDC 050 Sputter Coater) e observados com MEV (Philips-FEI Quanta 200) (Oliveira; Reis Filho; Grötzner, 2011).

Figura 8 – Amostras de salsicha montadas em *stubs* e revestidas em ouro para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)



4.2.9 Obtenção das Microcápsulas de Soforolipídio Por *Spray Drying*

A fração lipídica (com o sofrólipídios) foi concentrada por atomização (*spray dryer*).

Para preparação da emulsão, os polímeros de revestimento goma arábica (GA) e maltodextrina DE20 (MD) foram dissolvidos em 100mL de água deionizada, sob agitação magnética até completa dissolução e as quantidades de polímeros utilizadas foram: 13,5g de

Goma Arábica e 13,5g de Maltodextrina. As emulsões foram preparadas para dois testes, para o primeiro, foram adicionados 6g de sofrorolipídios à emulsão (S1) e para o segundo, foram adicionados 9g de sofrorolipídios à emulsão (S2). As duas formulações foram homogeneizadas em Ultra-turrax (Ika, modelo T18, EUA) a 12.000 rpm durante 3 minutos para garantir homogeneidade e não separação de fases.

Esta solução foi mantida sob agitação contínua durante toda a secagem, a qual foi feita em um secador modelo MSD 1.0 Brasil da marca Labmaq (Figura 9), do Laboratório de Carnes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Londrina. As condições de processo foram: diâmetro do bico duplo fluido de 1,0 mm, o secador operou à temperatura de 130°C, para o ar de secagem de entrada, e à 89°C para ar de saída, através de um sistema de alimentação de 0,60 L.h⁻¹, um fluxo de ar comprimido de 1,65 m³/min e pressão de ar comprimido de 6 bar.

Figura 9 – Etapas de obtenção das microcápsulas de sofrorolipídio (A: separação da fração lipídica, B: secagem por *spray drying*, C: coleta das microcápsulas, D: microcápsulas de sofrorolipídios)



4.2.10 Caracterização das Microcápsulas Obtidas Por *Spray Drying*

4.2.10.1 Determinação do rendimento (%)

O rendimento foi determinado pela massa da microcápsula produzida após secagem por *spray drying* e pela massa dos materiais iniciais do núcleo e da parede (Akram *et al.*, 2021) e o dado o resultado pela seguinte fórmula:

$$\text{Rendimento\%} = (\text{Massa de microcápsula coletada} / \text{Massa do núcleo e parede}) \times 100. \quad \text{Eq7}$$

4.2.10.2 Eficiência do encapsulamento (%)

A quantificação dos sofrorolipídios microencapsulados foi realizada em triplicata usando método adaptado de Minucelli *et al.* (2017), onde 1 g de amostra foi diluído em solução metanol:água na proporção 4:1 (v/v). Em seguida, as amostras foram agitadas em vórtex por 2 minutos, sonificados por 15 minutos para facilitar a extração do sofrorolipídio das microcápsulas, então a mistura foi centrifugada a 9.956xg durante 15 min. Após a centrifugação, foi adicionado hexano (v/v) na proporção de 1:1 à fração sobrenadante e a solução foi submetida a uma extração em funil de separação, para a obtenção do sofrorolipídio retido na fração metanólica e remover as impurezas lipídicas presentes na fase hexânica. Os sofrorolipídios foram secos em estufa até eliminação completa do solvente. As quantificações dos sofrorolipídios foram realizadas por gravimetria.

4.2.10.3 Tamanho das microcápsulas, potencial zeta e índice de polidispersidade

A determinação do tamanho dos microencapsulados, o potencial zeta médio e o índice de polidispersidade (PDI) foi realizada por meio de medidas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) utilizando o equipamento Zetasizer Nano (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK). Para realizar as medições, uma amostra do pó foi suspensa em solvente álcool etílico (P.A) usando agitação magnética. O instrumento operou com laser em $\lambda = 658 \text{ nm}$ e a detecção realizada em um único ângulo de 173° a 25°C .

4.2.11 Análise Morfológica das Microcápsulas

A análise da morfologia (microestrutura) das microcápsulas foi realizada de acordo com a metodologia adaptada de Pudziuvelyte *et al.* (2019). A amostra foi montada sobre suporte de amostras, fixada em fita de carbono e revestida com ouro no sistema Quorum® Q150T ES. As imagens foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Tescan Veja, Czech Republic) e observadas sob uma ampliação de 500, 2000 e 10000 vezes.

4.2.12 Tratamento dos Dados

Para avaliar os resultados, foi utilizada análise estatística descritiva com o software R Studio.

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta tese estão apresentados na forma de patentes (3), capítulo de livro (2), livro (1) e artigo científico (2).

5.1 Patente 1: Soforolipídio de *Starmerella bombicola* Como um Conservante Natural Para Embutidos Emulsionados de Carne de Frango.

Autores: Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi, **Tania Regina Kaiser**, Mayka Reghiany Pedrão, Alexandre Rodrigo Coelho, Renata De Araújo Rocha Oliveira, Mariana Medeiros Hergesel, Danilo Borba Agonilha.

Protocolada em: 10/11/2022 (processo BR 10 2022 022976 7)

Resumo: A presente invenção tem como objetivo desenvolver um embutido emulsificado de carne de frango (salsicha) contendo sofrorolipídios de *S. bombicola* e testar sua atividade antimicrobiana e antioxidante neste produto. Os sofrorolipídios foram produzidos por fermentação submersa utilizando a levedura *S. bombicola* em meio contendo ácido oleico, glicose e extrato de levedura. Para obtenção do sofrorolipídio a ser aplicado nas salsichas, o caldo fermentado foi colocado em funil de decantação, onde permaneceu por 24 horas, a temperatura ambiente, até a separação da fração lipídica (contendo óleo e sofrorolipídio) do restante do caldo. A fração lipídica foi a utilizada no experimento. A salsicha foi elaborada com carne mecanicamente separada de frango, carne de frango, fígado de frango, água, sal, condimentos e aditivos: regulador de acidez, corante e aromatizante. Foi preparada uma fórmula controle (que continha nitrito de sódio) e as quatro formulações (sem adição de nitrito de sódio), com variações da fração contendo sofrorolipídio em 0,008% - 0,008g/100g, 0,024% - 0,024g/100g, 0,040% - 0,040g/100g e 0,060% - 0,060g/100g. O sofrorolipídio foi acrescentado na etapa de trituração das matérias-primas, sendo essa etapa caracterizada pela adição dos ingredientes misturados para formar a massa cárnea. Os resultados demonstraram que os sofrorolipídios diminuíram as contagens de *C. perfringens* e a formulação contendo 0,060% de sofrorolipídio obteve o melhor resultado. Em relação a oxidação lipídica, a adição de sofrorolipídio apresentou tendência para ser um antioxidante para uso cárneo, onde com 15 dias de armazenamento o resultado de TBARS (análise das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) foi de 0,268 mg malonaldeído/kg salsicha, não havendo diferença estatística

entre a formulação com 0,060% de soforolipídio em relação a formulação padrão que havia a adição de sais de cura (nitrito e nitrato de sódio). Os resultados sugerem que o soforolipídio têm potencial para ser um novo aditivo conservante natural para aplicações em produtos cárneos emulsionados como a salsicha impactando positivamente nas propriedades microbiológicas e físico-químicas.

5.2 Patente 2: Emulsificante Natural e Sustentável Para Salsicha de Frango.

Autores: Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi, **Tania Regina Kaiser**, Mayka Reghiany Pedrão, Renata De Araújo Rocha Oliveira, Mariana Medeiros Hergesel, Danilo Borba Agonilha, Aline Ayumi da Silveira.

Protocolada em: 22/06/2023 (processo BR 10 2023 012530 1)

Resumo: A presente invenção desenvolve um emulsificante natural e sustentável de carne de frango contendo soforolipídios de *Starmarella bombicola*. Os soforolipídios foram produzidos por fermentação submersa utilizando a levedura *S. bombicola* em meio contendo ácido oleico, glicose e extrato de levedura, separados e aplicados na preparação das salsichas. Os soforolipídios foram separados por decantação sem utilização de solvente e utilizados no desenvolvimento da salsicha que foi elaborada com carne mecanicamente separada de frango, carne de frango, fígado de frango, água, sal, condimentos e aditivos: regulador de acidez, corante e aromatizante. Foram preparadas a formulação controle (F1) e quatro formulações com soforolipídios a 0,008g/% (F2); 0,024g/% (F3); 0,040g/% (F4) e 0,060g/% (F5), os soforolipídios foram acrescentados na etapa de trituração das matérias-primas, quando os ingredientes são misturados para formar a massa cárnea. As salsichas com 0,040 e 0,060% de soforolipídios tiveram maior estabilidade de emulsão e com 0,060% melhorou a capacidade de retenção de água e ocorreu menores perdas de água por cozimento. Todas as formulações contendo soforolipídios tiveram melhor índice de absorção em óleo e em água e as formulações diferiram significativamente do controle (exceção a F3). Nas amostras de salsichas com soforolipídio, a cor ficou mais clara quando comparada ao controle, sendo um ponto positivo. A adição de soforolipídio indicou que este biossurfactante têm atributos para ser um novo emulsificante e estabilizante natural para aplicações em produtos cárneos como a salsicha de frango.

5.3 Patente 3: Microcápsulas de Soforolipídios de *Starmerella bombicola* Para Embutidos Cárneos Emulsionados.

Autores: Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi, **Tania Regina Kaiser**, Mayka Reghiany Pedrão, Renata De Araújo Rocha Oliveira, Mariana Medeiros Hergesel, Danilo Borba Agonilha, Marianne Ayumi Shirai, Cristiani Baldo da Rocha.

Protocolada em: 29/06/2023 (processo BR 10 2023 013069 0)

Resumo: A presente invenção apresenta o desenvolvimento de microcápsulas de soforolipídios produzidos por *S. bombicola* para a preparação de um novo conservante natural para produtos cárneos emulsionados. Os soforolipídios foram produzidos por fermentação submersa utilizando a levedura *S. bombicola* em meio contendo ácido oleico, glicose e extrato de levedura. A obtenção das microcápsulas foi com 13,5g de maltodextrina e 13,5g de goma arábica dissolvidas em 100 mL de água deionizada, seguida da adição de 9 g de soforolipídios. Os resultados demonstraram que os soforolipídios representaram 5,34 g nas microcápsulas, correspondendo a 59,33% de eficiência no processo de microencapsulação. As microcápsulas apresentaram-se na forma de um pó estável, que poderão ser dissolvidas em alimentos, como os embutidos cárneos emulsionados e assim a adição dos soforolipídios se torna um aditivo antimicrobiano e antioxidante para aplicação industrial.

5.4 Capítulo de Livro 1: Potencial Uso do Soforolipídio de *Starmerella bombicola* Como Ingrediente Coadjuvante em Produtos Cárneos Embutidos.

Título do Livro: Segurança Alimentar e Assistência Alimentar: Teoria, Prática e Pesquisa.

Autores: **Tania Regina Kaiser**, Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi, Mayka Reghiany Pedrão.

Publicado em: Atena Editora, 2021.

DOI: 10.22533/at.ed.83621141013

Resumo: A natureza perecível dos produtos cárneos requer técnicas de preservação / processamento adequadas dentro de períodos mínimos de tempo, a fim de impedi-la dos mecanismos microbianos e de outros possíveis mecanismos de deterioração. Para isto, a indústria dos produtos à base de carne introduz diversos aditivos alimentares para melhorar suas propriedades tecnológicas funcionais e como conservantes para inibir o crescimento de microrganismos. Alguns aditivos de origem sintética podem levar à produção de substâncias com potenciais cancerígenos, o que levou a indústria da carne há uma demanda crescente por aditivos ou conservantes naturais. Assim, os biossurfactantes são alternativas para atender às novas tendências do mercado, pois demonstram propriedades úteis a serem exploradas no processamento de alimentos. Dentre os biossurfactantes, os soforolipídios tem mostrado grande importância devido à sua atividade antimicrobiana além da propriedade de surfactante. Quanto a sua aplicação na indústria de alimentos, o soforolipídio apresenta características eficazes como agente emulsificante e estabilizante em formulações tipo óleo/água, bem como, tem sido explorado sua aplicação antimicrobiana. Considerando as propriedades emulsificante e antimicrobiana do soforolipídio de *S. bombicola*, este capítulo tem como objetivo descrever o potencial uso desse glicolipídio como um ingrediente em produtos cárneos embutidos.

5.5 Capítulo de Livro 2: Propriedades Antibacterianas de Soforolipídios Contra os Patógenos da Indústria Avícola.

Título do Livro: Produção Científica em Ciências Biológicas 2.

Autores: Victória Akemi Itakura Silveira, Christiane Aparecida Urzedo Queiroz Freitas, **Tania Regina Kaiser**, Briane Gisele Bigotto, Cristiane Baldo, Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi.

Publicado em: Atena Editora, 2022.

DOI: 10.22533/at.ed.72222220611

Resumo: O Brasil ocupa o primeiro lugar no ranking mundial de exportações de carne de frango, porém perdas significativas na produção ocorrem devido a elevada contaminação microbiana. Soforolipídios são biossurfactantes pertencentes à classe de glicolipídios e são compostos por uma molécula de soforose unida a uma cadeia de ácido graxo. São produzidos

por diversos microrganismos, com destaque para a levedura *Starmerella bombicola*. Dentre as diversas aplicações, os sofrorolipídios têm chamado atenção devido sua ação antimicrobiana contra uma ampla gama de patógenos. Considerando esses aspectos, este capítulo tem o objetivo de apresentar as propriedades antibacterianas dos sofrorolipídios contra bactérias contaminantes da indústria avícola. De acordo com os estudos, os sofrorolipídios demonstrou ser uma molécula inovadora com Perspectiva de aplicação na indústria avícola, para a redução da contaminação e aumento da produtividade industrial.

5.6 Livro: Microbial Sophorolipids: Production, Properties e Industrial Applications.

Autores: Amanda Hipólito, Victória Akemi Itakura Silveira, Talita de Oliveira Caretta, Briane Gisele Bigotto, Eduarda Mendes, Costa, Giovanna Amaral Filipi, **Tania Regina Kaiser**, Christiane Aparecida Urzedo Queiroz Freitas, Cristiane Baldo, Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi.

Publicado em: Eliva Press, 2022.

ISBN: 978-9994981441

Resumo: Sophorolipids are biosurfactants produced mainly by non-pathogenic yeast *Starmerella bombicola*. They are composed of a sugar moiety linked to a fatty acid chain and their structure depends on the producer microorganism and the fermentations condition. Sophorolipids present several advantages over chemical surfactants as high biodegradability, diversity of biological properties and renewable characteristics being synthesized as a mixture of different molecules. In general, they can be divided into two main forms: acidic and lactonic and may have acetyl groups in the sophorose with variation in physicochemical and biological properties. They have numerous properties including the antimicrobial and antioxidant activity that allow their application in several sector of industry. Besides, sophorolipids present good stability in the wide range of pHs, temperatures, and salinity, low-foaming and excellent detergent properties. Consequently, these compounds hold a wide range of applications in food, agriculture, cosmetics and medical industrial sectors. This book covers the current knowledge of microbial sophorolipids providing information on their structure, synthesis, production and the industrial application.


5.7 Artigo: Effects of Incorporation of Sophorolipids on the Texture Profile, Microbiological Quality and Oxidative Stability of Chicken Sausages

Publicado em: International Journal of Food Science & Technology

DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.16545>

Original article

Effects of incorporation of sophorolipids on the texture profile, microbiological quality and oxidative stability of chicken sausages

Tania Regina Kaiser,¹ Danilo Borba Aguilha,² Renata de Araújo Rocha,² Mariana Hergesel,² Cristiani Baldo,¹ Alexandre Rodrigo Codho,² Mayka Reghiany Pedraza² & Maria Antonia P. Colabone Celligol^{1*} 

¹ Department of Biochemistry and Biotechnology, Londrina State University, Londrina, Brazil

² Department of Food Technology, Federal Technological University of Paraná, Londrina, Brazil

(Received 24 February 2023; Accepted in revised form 6 June 2023)

Summary Sophorolipids present antimicrobial and antioxidant activities allowing their application in meat products such as sausages. In this study, formulations of chicken sausages were developed with 0.008%–0.06% sophorolipid supplementation. Microbiological analyses showed that sophorolipids induced a significant reduction in *Clostridium perfringens* contamination and decreased lipid oxidation rates compared with control samples (sausages with curing salts). The formulation with 0.06% sophorolipids showed a significant difference in strength, hardness, adhesiveness, gumminess and chewiness compared with the control formulation. The sausages with sophorolipids presented a less porous mass with fewer cracks, improving the structure of the sausages. Thus, the use of sophorolipids improved the microbiological, antioxidant and physicochemical properties of chicken sausages, being an innovative alternative to replace usual preservatives.

Keywords Bio-surfactant, clean label, meat analysis, microbiological control.

Introduction

Emulsion-based meat products, such as sausages, play an important role in the modern meat industry (Santhi *et al.*, 2017; Shin & Choi, 2021). Because they are highly complex and perishable, sausages must undergo special preservation techniques, and several food additives are used to improve their technological and functional properties (Ren *et al.*, 2022). Sodium nitrite and nitrate (chemical antioxidants) are commonly used to inhibit and reduce the microbial contamination and oxidative stress of foods, increasing their shelf life (Karwowska & Kononik, 2020).

However, the consumer demand for healthy food has greatly increased due to awareness of the diet-health relationship, and the food industry is constantly placing restrictions on the use of chemical compounds (Karwowska *et al.*, 2021). Therefore, natural products in the food processing industry have attracted the attention of researchers as new multifunctional molecules (Villalobos-Delgado *et al.*, 2019). Due to their antimicrobial activity, biomolecules from bacteria,

fungi and plants can ensure food safety against a broad spectrum of foodborne pathogens (Duda-Chodak *et al.*, 2023).

Sophorolipids are natural and eco-friendly microbial amphiphilic molecules that have several biological activities and many applications in the food industry. They are biosurfactants produced mainly by the non-pathogenic yeast *Saurozella bombicola* and are composed of sugar linked to a fatty acid chain (Cho *et al.*, 2022). Sophorolipids present several advantages over chemical surfactants, such as high biodegradability, diverse biological properties and renewable characteristics (Pal *et al.*, 2023), and exhibit robust antimicrobial activity, as described in several reports (Zhang *et al.*, 2016a, 2016b; Gaur *et al.*, 2019; Silveira *et al.*, 2019; Hipólito *et al.*, 2020; Filipe *et al.*, 2022). In previous studies, our group showed the antimicrobial activity of sophorolipids against the foodborne pathogens *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. (Silveira *et al.*, 2019, 2021). In addition, sophorolipids were able to scavenge free radical molecules in a dose-dependent manner (Filipe *et al.*, 2022).

*Correspondence. Email: marcella@uel.br

Effects of incorporation of sophorolipids on the texture profile, microbiological quality and oxidative stability of chicken sausages

Tania Regina Kaiser¹, Danilo Borba Agonilha², Renata de Araújo Rocha², Mariana Hergesel², Cristiani Baldo¹, Alexandre Rodrigo Coelho², Mayka Reghiany Pedrão², Maria Antonia P. Colabone Celligoi^{1*}

¹Department of Biochemistry and Biotechnology, Londrina State University, Londrina, Brazil

²Department of Food Technology, Federal Technological University of Paraná, Londrina, Brazil

*Corresponding author: Department of Biochemistry and Biotechnology, Centre of Exact Science, Londrina State University, Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380, CEP 86057-970, Londrina, Brazil.

E-mail address: macelligoi@uel.br

Summary: Sophorolipids present antimicrobial and antioxidant activities allowing their application in meat products such as sausages. In this study, formulations of chicken sausages were developed with 0.008%–0.06% sophorolipid supplementation. Microbiological analyses showed that sophorolipids induced a significant reduction in *Clostridium perfringens* contamination and decreased lipid oxidation rates compared with control samples (sausages with curing salts). The formulation with 0.06% sophorolipids showed a significant difference in strength, hardness, adhesiveness, gumminess and chewiness compared with the control formulation. The sausages with sophorolipids presented a less porous mass with fewer cracks, improving the structure of the sausages. Thus, the use of sophorolipids improved the microbiological, antioxidant and physicochemical properties of chicken sausages, being an innovative alternative to replace usual preservatives.

Key words: Meat emulsion; Biosurfactant; Clean label; Microbiological control.

Introduction

Emulsion-based meat products, such as sausages, play an important role in the modern meat industry (Santhi *et al.*, 2017; Shin & Choi, 2021). Because they are highly complex and perishable, sausages must undergo special preservation techniques, and several food additives are used to improve their technological and functional properties (Ren *et al.*, 2022). Sodium nitrite and nitrate (chemical antioxidants) are commonly used to inhibit and reduce the microbial contamination and oxidative stress of foods, increasing their shelf life (Karwowska & Kononiuk, 2020).

However, the consumer demand for healthy food has greatly increased due to awareness of the diet–health relationship, and the food industry is constantly placing restrictions on the use of chemical compounds (Karwowska *et al.*, 2021). Therefore, natural products in the food processing industry have attracted the attention of researchers as new multifunctional molecules (Villalobos-Delgado *et al.*, 2019). Due to their antimicrobial activity, biomolecules from bacteria, fungi and plants can ensure food safety against a broad spectrum of foodborne pathogens (Duda-Chodak *et al.*, 2023).

Sophorolipids are natural and eco-friendly microbial amphiphilic molecules that have several biological activities and many applications in the food industry. They are biosurfactants

produced mainly by the nonpathogenic yeast *Starmerella bombicola* and are composed of sugar linked to a fatty acid chain (Cho *et al.*, 2022). Sophorolipids present several advantages over chemical surfactants, such as high biodegradability, diverse biological properties and renewable characteristics (Pal *et al.*, 2023), and exhibit robust antimicrobial activity, as described in several reports (Zhang *et al.*, 2016a, 2016b; Gaur *et al.*, 2019; Silveira *et al.*, 2019; Hipólito *et al.*, 2020; Filipe *et al.*, 2022). In previous studies, our group showed the antimicrobial activity of sophorolipids against the foodborne pathogens *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. (Silveira *et al.*, 2019, 2021). In addition, sophorolipids were able to scavenge free radical molecules in a dose-dependent manner (Filipe *et al.*, 2022).

Sophorolipids also exhibit effective characteristics as emulsifying agents in food formulations (Silva *et al.*, 2020) and are equally effective as polysorbate 20, a food emulsifier commonly used in foods (Xue *et al.*, 2013). Therefore, this study aimed to develop chicken sausage formulations enriched with sophorolipids as a new ingredient in meat products by exploring their antimicrobial, antioxidant and emulsifying properties. Our results demonstrated that sophorolipids were equally efficient as chemical preservatives in reducing the microbiological contamination and lipid oxidation of chicken sausages, presenting even better results for *C. perfringens* contamination. Moreover, a positive impact on technological properties and texture profile was observed when sophorolipids were added to the sausage formulations. To our knowledge, this is the first study reporting the addition of sophorolipids to chicken sausages.

Materials and methods

Materials

The raw materials for the chicken sausage were supplied by the slaughterhouse located in Rolândia City (Paraná, Brazil) and included CMS (mechanically separated chicken meat), chicken ground meat and chicken liver. Nonmeat ingredients (starch, salt, condiments and soy protein) and additives (antioxidant, flavouring, preservative, stabiliser and acidity regulator) were supplied by Duas Rodas Industrial (Santa Catarina, Brazil) and prepared in the Meat Laboratory of the Federal Technological University of Paraná (UTFPR). Sophorolipids were produced from *Starmerella bombicola* (ATCC[®] 22214[™]) in the Department of Biochemistry and Biotechnology, State University of Londrina, UEL (Paraná, Brazil).

Methods

Sophorolipids production

The production of sophorolipid was carried out by *S. bombicola* in a bioreactor (Bio-tec Tecnal) with a capacity of 4.5 L and an operating volume of 3 L. The medium in (g L⁻¹) was glucose (77.5), yeast extract (2.5) and oleic acid (75), at 30 °C, 150 rpm and 120 h of fermentation (Minucelli *et al.*, 2017). Sophorolipid of the fermented broth was placed in a decanting funnel, where it remained for 24 h at room temperature until the lipid fraction was separated from the rest of the broth. The lipid fraction was used in the experiment to be applied to the sausages. Analysis by HPLC showed that the sophorolipids produced were mainly lactone C18:1 diacetylated in comparison with the standard 1',4''-Sophorolactone 6',6''-diacetate (Sigma Aldrich, USA).

Preparation of chicken sausage

Meat ingredients were mixed in a microcutter (CM-24, Mainca, Barcelona, Spain), and different concentrations of sophorolipids were added according to Table S1. The mixture was emulsified on ice, and nonmeat ingredients (sodium chloride, sausage ready seasoning, sodium lactate, liquid smoke, cochineal carmine colouring and sodium erythorbate) were added to the formulation. After emulsification, each formulation was packed in a collagen casing, followed by cooking until the central temperature reached 74 °C. After emulsification, each formulation was packed in a collagen casing and then cooked until the central temperature reached 74 °C. After being cooked, the sausages were cooled to 4 °C for storage. All preparations were performed in triplicate.

Characterisation of chicken sausages

Technological profile

Samples of all formulations were submitted to technological profile tests of emulsion stability, oil absorption index, water absorption index, solubility index, cooking losses, pH, water retention capacity and colour determination according to the previous methodology by Seibel & Beléia (2009), Jia *et al.* (2019) and Fernández-López *et al.* (2020).

Microbiological analysis

Samples of chicken sausage formulations were collected after 15 days of storage, and the microbiological parameters were determined by containing *E. coli*/g (AOAC 991.14, 1994 and 998.08, 2002), Coagulase-positive *Staphylococci*/g (ISO 6888-1, 2003), *C. perfringens*/g (ISO 7937, 2004) and *Salmonella* spp./25 g (ISO 6579-1: 2017). The average number of colonies was multiplied according to the respective dilutions, and all results were expressed in log₁₀ CFU g⁻¹.

Lipid oxidation

Samples of chicken sausage were collected after 15 days of storage, and the lipid oxidation of the samples was measured by analysis of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) according to the methodology described by Raharjo *et al.* (1992). TBARS values were calculated from a standard curve of malonaldehyde (MA) and expressed as mg MAD kg⁻¹ sample.

Texture profile analysis (TPA)

The hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, gumminess, resilience and chewiness were analysed according to Souto *et al.* (2017). Samples 10 mm thick were analysed using a texture analyser (TAXT Stable Micro System and probe (P035)), with five replicates of each sample. The texturometer was calibrated and adjusted with a 6 mm cylinder; test speed of 1,0 mm s⁻¹; penetration distance of 7 mm, contact force of 5.0 g and time between cycles of 5 s.

Scanning electron microscopy (SEM)

Scanning electron microscopy was performed according to the method described by Oliveira *et al.* (2011). Aliquots of sausage samples were fixed, dehydrated and mounted on

stubs containing carbon tape and coated with gold (BALTEC model SDC 050 Sputter Coater). Micrographs were obtained with a scanning electron microscope (Philips-FEI Quanta 200) at an accelerating voltage of 20 kV. Analyses were performed in triplicate.

Statistical analysis

The results are reported as the average \pm standard deviation. The results were analysed by using one-way analyses of variance (ANOVA). Tukey's *post hoc* test was used to determine differences between the mean values for the different treatments ($P < 0.05$). All analyses were performed using R Studio software (R CORE TEAM, 2021).

Results and discussion

Several studies have reported the emulsifying properties (Silva *et al.*, 2020) and antimicrobial activity of sophorolipids against a wide range of foodborne pathogens (Silveira *et al.*, 2019, 2021). However, the use of sophorolipids as an ingredient in emulsified chicken sausages has never been described. In this study, formulations containing chemical antioxidants (control) and different concentrations of sophorolipids (without chemical preservatives) were prepared. Our results showed that sophorolipids have the potential to be a new natural additive for applications in emulsified meat products. Formulations with sophorolipids were prepared with no addition of cassava starch, soy protein and sodium tripolyphosphate, which facilitated emulsification of the product and resulted in a homogeneous and consistent mass, evidencing the emulsifying effect of the sophorolipids (Table S1).

The technological properties of sausages enriched with sophorolipids are shown in Tables S2 and S3. The results indicated that the addition of sophorolipids into formulations results in an increase in emulsion stability compared to that of the control. Formulations containing sophorolipids at concentrations of 0.040% (F4) and 0.060% (F5) showed better results and achieved 96.34% and 95.35% emulsion stability values, respectively (Table S2). For the oil absorption and water absorption index, all sausage formulations containing sophorolipids differed statistically from the control, showing that the sausage masses were improved and became more stable. The higher water retention capacity and lower cooking loss results observed for the formulation with 0.060% sophorolipid (F5) indicated that the low water loss may be related to the high retention of liquid by the matrix (Marchetti *et al.*, 2017), suggesting that sophorolipid interfered positively with these parameters. The solubility index of formulations containing sophorolipids was smaller than that of the control. However, this can be explained by the absence of starch in the formulations. Despite differences from the control, the pH values remained at approximately 6.3 for all formulations of sausages studied.

Meat product colour is among the important parameters that consumers use to predict quality during purchase (Kavuşan *et al.*, 2020). The results showed that parameters L* (brightness), a* (red/green coordinate) and b* (yellow/blue coordinate) were significantly affected ($P < 0.05$) in samples with sausages enriched with sophorolipids (Table S3). Indeed, sophorolipids ensure a more stable mass with better homogeneity, colour and luminosity and are more attractive to the consumer.

Deterioration by microorganisms and lipid oxidation are important causes of food loss (Teshome *et al.*, 2022). Sausages containing different concentrations of sophorolipids (0.008–0.06%/100 g) present cell counts for *Salmonella* spp., coagulase-positive Staphylococci and *E. coli* similar to the control formulation that contains chemical preservatives (Table 1).

Table 1. Microbiological analysis for chicken sausages formulations stored by 15 days at 4 °C

Samples	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Clostridium perfringens</i> (CFU g ⁻¹)	Coagulase-positive Staphylococci (CFU g ⁻¹)	<i>Escherichia coli</i> (CFU g ⁻¹)
F1	absence	9,5 x 10 ²	<10	<10
F2	absence	5,8 x 10 ³	<10	<10
F3	absence	6,6 x 10 ³	<10	<10
F4	absence	6,2 x 10 ³	<10	<10
F5	absence	5,0 x 10 ²	<10	<10
Standard	absence /25g	10 ³ CFU g ⁻¹	10 ³ CFU g ⁻¹	10 ² CFU g ⁻¹

F1 (control), F2 (0.008% of sophorolipids), F3 (0.024% of sophorolipids), F4 (0.040% of sophorolipids) and F5 (0.060% of sophorolipids).

Interestingly, the formulation with the highest concentration of sophorolipids (F5) showed greater antimicrobial activity against *C. perfringens* than the control sample. The bactericidal effect of sophorolipids against *C. perfringens* was already demonstrated by our group (Silveira *et al.*, 2019). *C. perfringens* is an anaerobic endospore-forming pathogenic bacterium responsible for several enterotoxigenic diseases in humans and animals (Yadav *et al.*, 2022). According to previous studies, the antimicrobial effect of sophorolipid is related to its amphiphilic nature and involves the synergistic impact of sophorose moieties and fatty acids on the cell wall or membrane structure (Valotteau *et al.*, 2017). These data indicate the potential of sophorolipids as antimicrobial ingredients in chicken sausages, even without the addition of curing salts.

Lipid oxidation increases food deterioration, resulting in odours, colour alterations, texture defects and safety concerns (Wu *et al.*, 2022), with a consequent gradual loss of quality during storage (Sharma *et al.*, 2020). The lipid oxidation of the sausages was measured by TBARS values (Table 2). The TBARS values of the control samples (chemical preservative) were 0.237 mg malonaldehyde kg⁻¹ of sausage. Remarkably, similar results were observed for the F4 (0.348 mg malonaldehyde kg⁻¹ of sausage) and F5 (0.268 mg malonaldehyde kg⁻¹ of sausage) formulations. These samples present TBARS values with no significant difference when compared to the control (F1). Notably, F1 had curing salts, which are a classic meat antioxidant. In contrast, the F4 and F5 samples did not present the addition of chemical preservatives, as they were enriched only with sophorolipids. Our results strongly suggest that sophorolipid has the potential to be used as a natural antioxidant rather than a synthetic preservative.

Table 2. Effect of sophorolipids on the TBARS value of chicken sausages formulations stored by 15 days at 4 °C

	F1	F2	F3	F4	F5
TBARS	0,237 ^b (±0,008)	0,413 ^a (±0,015)	0,488 ^a (±0,021)	0,348 ^b (±0,036)	0,268 ^b (±0,088)

F1 (control), F2 (0.008% of sophorolipids), F3 (0.024% sophorolipids), F4 (0.040% sophorolipids) and F5 (0.060% sophorolipids). Different letters indicate significant differences by Tukey's test ($P \leq 0.05$).

Considering the results obtained from microbiology and antioxidant analyses, formulation F5 (0.06 g sophorolipids g⁻¹ of sausages) was used in the next experiments. Texture is considered among the essential attributes for determining the physicochemical changes in meat products

(Rosmawati Tawali *et al.*, 2023). The TPA results are shown in Table 3. According to Shin & Choi (2021), the texture measurements performed by TPA are different under different measurement conditions. However, it is common to refer to significant differences between the values of textural parameters of samples measured by TPA under a specific measurement condition. Here, the results demonstrated a significant difference in strength, hardness, adhesiveness, gumminess and chewiness when the F5 formulation was compared with the control. In contrast, no difference was observed for resilience, cohesiveness and springiness at 5% of significance. The TPA indicated that the formulation containing sophorolipids needs less force to reach the swallowing point, consequently presenting lower perceptible hardness in the compression between the teeth (Civille & Szczesniak, 1973). Similar results were found in sausages enriched with chia seeds (Hanifah *et al.*, 2021). The results demonstrate that samples with sophorolipids are softer and more easily chewed and swallowed when compared to the control. Szczesniak (2002) defines cohesiveness as the degree to which a substance is compressed between the teeth before it breaks, that is, the point at which a material can be deformed before it ruptures. This parameter also depends on the strength of the cross-links of proteins in meats, especially collagen-related proteins (Warner *et al.*, 2021). No significant difference was observed between samples for the cohesiveness parameter, indicating that the extent to which the material can be deformed before breaking between the teeth is the same, with or without the addition of sophorolipids.

Table 3. Texture profile analysis of the sausages enriched with sophorolipids

Samples	Analysis			
	Force (g)	Hardness (g)	Adhesiveness (g.seg)	Resilience %
F1	1473,08 ^a (±158,22)	1473,08 ^a (±158,22)	2424,59 ^a (±362,73)	7,77 ^a (±0,57)
F5	840,48 ^b (±221,19)	840,48 ^b (±221,19)	1242,56 ^b (±101,17)	7,85 ^a (±0,97)
Samples	Cohesion	Springiness %	Gumminess	Chewiness
F1	0,999 ^a (±0,0005)	54,15 ^a (±5,53)	1472,40 ^a (±158,10)	799,42 ^a (±134,92)
F5	0,998 ^a (±0,0009)	57,73 ^a (±14,53)	1029,98 ^b (±43,49)	405,42 ^b (±130,89)

F1 (control); F5 (0.060% of sophorolipids). Different letters in the column indicate statistically significant differences by Tukey's test ($P \leq 0.05$).

Regarding the adhesiveness parameter, which is the force needed to remove material that adheres to the mouth (generally the palate) during the normal eating process (Szczesniak, 2002), it was observed that the formulation containing sophorolipid (F5) presented lower values compared with the control (F1). During the preparation of sausages, the liquid may contain proteins, such as elastin or fibronectin, which have structural and adhesive functions. Collagen interacts with the myofibrillar structure binding to water and significantly reduces moisture, increasing food safety, which may explain why collagen exhibits a high capacity for swelling and water retention (Koczoń *et al.*, 2022). The hydrogels are formed because covalent crosslinking prevents water loss by cooking. Matrix swelling can block the exit of moisture and fat, which was not observed in the formulations with sophorolipids that may act as a potential agent to stabilise the reaction.

Micrographs of sausage samples analysed by SEM are shown in Fig. 1. The results showed a more uniform matrix in sausage samples with the addition of sophorolipids (Fig. 1d–f) compared with the control (Fig. 1a–c). It is possible to observe that fat globules are smaller and the cauliflower characteristic is more prominent in control samples, as the globules are smoothed in samples with sophorolipids. In addition, samples enriched with sophorolipids presented less porosity and fewer observable cracks (Fig. 1f). It is well known that the presence of cracks and pores in the emulsion can compromise the structural integrity of the sausages and cause changes in the functional properties of the emulsions (Choi & Chin, 2020). In samples of sausages enriched with sophorolipids, the fat globules are smaller and more distributed, and it is possible to observe the interactions of proteins with these elements, trapping them in their framework (Fig. 1f). According

to Zhu *et al.* (2022), the degree of meat grinding influences the amounts of myofibrillar proteins extracted from the muscle and can create a dense protein network that retains more water, helping the water retention in the matrix. The mass enriched with sophorolipids became more homogeneous and less porous and had fewer visible cracks, which could generate a gel and better technological quality.

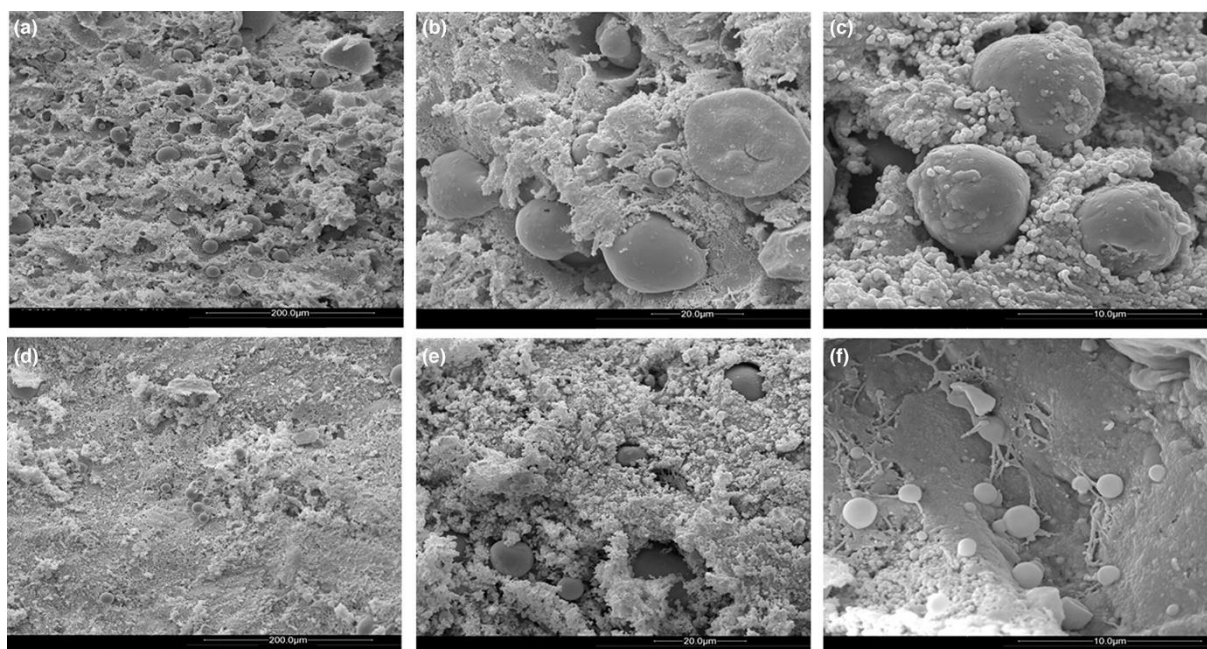


Figure 1 SEM micrographs of sausage samples: A, B and C: Formulation F1 (control with chemical preservatives). D, E and F: formulation F5 (with 0.060% of sophorolipids and no addition of chemical preservative).

Conclusion

The results showed that sophorolipids present antimicrobial and antioxidant activity and positively impact the physicochemical properties of chicken sausages. Therefore, these molecules could provide an alternative to chemical preservatives in the development of new emulsified sausage products and meet the demand for natural or clean label foods. In this context, the use of sophorolipids presents an innovation in the food area, as a nontoxic and multifunctional molecule is added to a meat product.

Acknowledgments

The authors thank the Multiuser Laboratory (Federal Technological University of Paraná) and Laboratory of Electronic Microscopy and Microanalysis (State University of Londrina), CNPq for granting a Productivity Scholarship in Technological Extension Level II to Dr MRP and Dr MAPCC, and CAPES.

Author contributions

Tânia Regina Kaiser: Data curation (equal); formal analysis (equal); investigation (equal); methodology (equal); validation (equal); visualization (equal); writing – original draft (equal). **Danilo Borba Agonilha:** Investigation (equal); methodology (equal). **Renata Araújo Rocha:** Investigation (equal); methodology (equal). **Mariana Hergesel:** Investigation (equal); methodology (equal). **Cristiani Baldo:** Data curation (equal); formal analysis (equal); visualization (equal); writing – original draft (equal); writing – review and editing (equal). **Alexandre**

Coelho: Conceptualization (equal); data curation (equal); formal analysis (equal); investigation (equal); methodology (equal); supervision (equal); validation (equal). **Mayka Pedrão:** Conceptualization (equal); data curation (equal); formal analysis (equal); funding acquisition (equal); investigation (equal); methodology (equal); supervision (equal); validation (equal); writing – original draft (equal); writing – review and editing (equal). **Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi:** Conceptualization (equal); funding acquisition (equal); methodology (equal); supervision (equal); validation (equal); visualization (equal); writing – original draft (equal); writing – review and editing (equal).

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Funding

CAPES and CNPq.

Peer review

The peer review history for this article is available at <https://www.webofscience.com/api/gateway/wos/peerreview/10.1111/ijfs.16545>.

Data availability statement

All data can be shared if required.

References

- AOAC. (1994). Coliform and *Escherichia coli* counts in foods. AOAC Official Methods 991.14. Rockville, MD: AOAC International.
- AOAC. (2002). Confirmed *Escherichia coli* counts in poultry, meats, and sea food. AOAC Official Methods 998.08. Rockville, MD: AOAC International.
- Cho, W.Y., Ng, J.F., Yap, W.H. & Goh, B.H. (2022). Sophorolipids-bio-based antimicrobial formulating agents for applications in food and health. *Molecules*, 27, 5556.
- Choi, J.S. & Chin, K.B. (2020). Evaluation of physicochemical and textural properties of chicken breast sausages containing various combinations of salt and sodium tripolyphosphate. *Journal of Animal Science and Technology*, 62, 577–586.
- Civille, G.V. & Szczesniak, A.S. (1973). Guidelines to training a texture profile panel. *Journal of Texture Studies*, 4, 204–223.
- Duda-Chodak, A., Tarko, T. & Petka-Poniatowska, K. (2023). Antimicrobial compounds in food packaging. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 2457.
- Fernández-López, J., Lucas-González, R., Viuda-Martos, M. *et al.* (2020). Chemical and technological properties of bologna-type sausages with added black quinoa wet-milling coproducts as binder replacer. *Food Chemistry*, 310, 125936.
- Filipe, G.A., Silveira, V.A.I., Goncalves, M.C. *et al.* (2022). Bioactive films for the control of skin pathogens with sophorolipids from *Starmarella bombicola*. *Polymer Bulletin*, 79, 1–15.

- Gaur, V.K., Regar, R.K., Dhiman, N. *et al.* (2019). Biosynthesis and characterization of sophorolipid biosurfactant by *Candida* spp.: application as food emulsifier and antibacterial agent. *Bioresource Technology*, 285, 1–4.
- Hanifah, N.F.M., Yahya, H.N. & Arifin, N. (2021). Physicochemical properties, nutritional composition, and sensory acceptance of chicken meat sausages with chia seed powder substitution. *Malaysian Journal of Science, Health & Technology*, 7, 34–42.
- Hipólito, A., Silva, R.A.A., Caretta, T.O. *et al.* (2020). Evaluation of the antifungal activity of sophorolipids from *Starmerella bombicola* against food spoilage fungi. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 1–7.
- ISO (2003). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff — Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-Positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and Other Species) — Part 1: Technique Using Baird-Parker Agar Medium – Amendment 1: Inclusion of Precision Data., ISO 6888-1:2003, 1st edn. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (2004). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff — Horizontal Method for the Enumeration of *Clostridium perfringens* — Colony-Count Technique, ISO 7937:2004, 3rd edn. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (2017). Microbiology of the Food Chain — Horizontal Method for the Detection, Enumeration and Serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp., ISO 6579-1:2017, 1st edn. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Jia, R., Jiang, Q., Kanda, M. *et al.* (2019). Effects of heating processes on changes in ice crystal formation, water holding capacity, and physical properties of surimi gels during frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 90, 254–265.
- Karwowska, M. & Kononiuk, A. (2020). Nitrates/nitrites in food— risk for nitrosative stress and benefits. *Antioxidants*, 9, 241.
- Karwowska, M., Stadnik, J., Stasiak, D.M., Wójciak, K. & Lorenzo, J.M. (2021). Strategies to improve the nutritional value of meat products: incorporation of bioactive compounds, reduction or elimination of harmful components and alternative technologies. *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 6142– 6156.
- Kavuşan, H.S., Serdaroğlu, M., Nacak, B. *et al.* (2020). An approach to manufacture of fresh chicken sausages incorporated with black cumin and flaxseed oil in water gelled emulsion. *Food science of animal resources*, 40, 426–443.
- Koczoń, P., Josefsson, H., Michorowska, S. *et al.* (2022). The influence of the structure of selected polymers on their properties and food-related applications. *Polymers*, 14, 1962.
- Marchetti, L., Andrés, S.C. & Califano, A.N. (2017). Physicochemical, microbiological and oxidative changes during refrigerated storage of n-3 PUFA enriched cooked meat sausages with partial NaCl substitution. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, e12920.
- Minucelli, T., Ribeiro-Viana, R.M., Borsato, D. *et al.* (2017). Sophorolipids production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and its potential application in soil bioremediation. *Waste and Biomass Valorization*, 8, 743–753.
- Oliveira, C.A.R., Filho, H.R. & Grötzner, S.R. (2011). *Técnicas e Métodos Para Utilização Prática de Microscopia*. São Paulo, SP: Editora Santos.

- Pal, S., Chatterjee, N., Das, A.K., McClements, D.J. & Dhar, P. (2023). Sophorolipids: a comprehensive review on properties and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 313, 102856.
- Raharjo, S., Sofos, J.N. & Schmidt, G.R. (1992). 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*, 40, 2182–2185.
- Ren, Y., Huang, L., Zhang, Y. *et al.* (2022). Application of emulsion gels as fat substitutes in meat products. *Food*, 11, 1950.
- R CORE TEAM. (2021). R: A language and environment for statistical computing. <https://www.R-project.org>
- Rosmawati Tawali, A.B., Said, M.I. *et al.* (2023). Characteristics of the beef cheek meat-based sausage added with snakehead (*Channa striata*) gelatin. *International Journal of Food Science*, 2023, 1–13.
- Santhi, D., Kalaikannan, A. & Sureshkumar, S. (2017). Factors influencing meat emulsion properties and product texture: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 2021–2027.
- Seibel, N.F. & Beléia, A.D. (2009). The chemical characteristics and technological functionality of soybean based ingredients [*Glycine max* (L.) Merrill]: carbohydrates and proteins. *Brazilian Journal of Food Technology*, 12, 113–122.
- Sharma, H., Mendiratta, S.K., Agrawal, R.K. & Gurunathan, K. (2020). Bio-preservative effect of blends of essential oils: natural anti-oxidant and anti-microbial agents for the shelf-life enhancement of emulsion based chicken sausages. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 3040–3050.
- Shin, S.H. & Choi, W.S. (2021). Variation in significant difference of sausage textural parameters measured by texture profile analysis (TPA) under changing measurement conditions. *Food Science of Animal Resources*, 41, 739–747.
- Silva, I.A., Veras, B.O., Ribeiro, B.G. *et al.* (2020). Production of cupcake-like dessert containing microbial biosurfactant as an emulsifier. *PeerJ*, 8, e9064.
- Silveira, V.A.I., Nishio, E.K., Freitas, C.A.U.Q. *et al.* (2019). Production and antimicrobial activity of sophorolipid against *Clostridium perfringens* and *Campylobacter jejuni* and their additive interaction with lactic acid. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 1–7.
- Silveira, V.A.I., Kobayashi, R.K.T., De Oliveira Junior, A.G., Mantovani, M.S., Nakazato, G. & Celligoi, M.A.P.C. (2021). Antimicrobial effects of sophorolipid in combination with lactic acid against poultry-relevant isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52, 1769–1778.
- Souto, V.O., Santos, E.B.S., Alves, N.S., Nascimento, V.F. & Silva, A.R. (2017). Analise instrumental em salsicha: cor e textura. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, 7, 280–283.
- Szczesniak, A.S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13, 215–225.
- Teshome, E., Forsido, S.F., Rupasinghe, H.P. & Olika Keyata, E. (2022). Potentials of natural preservatives to enhance food safety and shelf life: a review. *The Scientific World Journal*, 2022, 1–11.
- Valotteau, C., Banat, I.M., Mitchell, C.A. *et al.* (2017). Antibacterial properties of sophorolipid-modified gold surfaces against gram positive and gram-negative pathogens. *Colloids and Surfaces B*:

Biointerfaces, 157, 325–334.

Villalobos-Delgado, L.H., Nevárez-Moorillon, G.V., Caro, I., Quinto, E.J. & Mat, J. (2019). Natural antimicrobial agents to improve foods shelf life. In: Food Quality and Shelf Life (edited by C.M. Galanakis). Pp. 125–157. San Diego, USA: Academic Press.

Warner, R., Miller, R., Ha, M. et al. (2021). Meat tenderness: underlying mechanisms, instrumental measurement, and sensory assessment. *Meat and Muscle Biology*, 4, 1–25.

Wu, H., Richards, M.P. & Undeland, I. (2022). Lipid oxidation and antioxidant delivery systems in muscle food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food*, 21, 1275–1299.

Xue, C.L., Solaiman, D.K.Y., Ashby, R.D. et al. (2013). Study of structured lipid-based oil-in-water emulsion prepared with sophorolipid and its oxidative stability. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90, 123–132.

Yadav, J.P., Kaur, S., Dhaka, P., Vijay, D. & Bedi, J.S. (2022). Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial resistance profile of *Clostridium perfringens* from India: a scoping review. *Anaerobe*, 77, 102639.

Zhang, X., Ashby, R., Solaiman, D.K.Y., Uknalis, J. & Fan, X. (2016a). Inactivation of *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. by palmitic, stearic, and oleic acid sophorolipids and thiamine dilauryl sulfate. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–11.

Zhang, X., Fan, X., Solaiman, D.K.Y. et al. (2016b). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 *in vitro* and on the surface of spinach leaves by biobased antimicrobial surfactants. *Food Control*, 60, 158–165.

Zhu, X., Zhang, J., Liu, S. et al. (2022). Relationship between molecular structure and heat-induced gel properties of duck Myofibrillar proteins affected by the addition of pea protein isolate. *Food*, 11, 1040.

Supporting Information

Table S1 Chicken sausage formulation prepared with different concentration of sophorolipids

Ingredients	%				
	F1	F2	F3	F4	F5
Mechanically deboned meat (MDM)	40.000	40.000	40.000	40.000	40.000
Chicken meat	34.410	36.467	36.451	36.435	36.415
Chicken liver	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000
Water (ice)	12.822	12.822	12.822	12.822	12.822
Cassava starch	1.641	-	-	-	-
Soy protein	1.990	-	-	-	-
Salt (sodium chloride)	1.243	1.243	1.243	1.243	1.243
Sausage ready seasoning	1.492	1.492	1.492	1.492	1.492
Sodium nitrite	0.249	-	-	-	-
Sodium Lactate	0.493	0.493	0.493	0.493	0.493
Liquid smoke	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Cochineal carmine coloring	0.060	0.060	0.060	0.060	0.060
Sodium tripolyphosphate	0.300	-	-	-	-
Sodium erythorbate	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250
Sophorolipid	-	0.008	0.024	0.040	0.060

Table S2 Technological properties of sausages enriched with sophorolipids

	EE	IAO	IAA	CRA	pH	PAC	ISA
F1	90.19 (± 0.37) ^a	0.96 (± 0.15) ^c	1.00 (± 0.05) ^c	14.73 (± 3.06) ^b	6.22 (± 0.01) ^d	2.56 (± 0.04) ^a	0.12 (± 0.01) ^a
F2	94.19 (± 0.10) ^b	1.18 (± 0.02) ^{ab}	1.11 (± 0.02) ^{ab}	16.17 (± 3.34) ^b	6.29 (± 0.00) ^{bc}	2.50 (± 0.08) ^a	0.04 (± 0.01) ^b
F3	93.44 (± 0.55) ^b	1.18 (± 0.03) ^{ab}	1.08 (± 0.01) ^{bc}	13.97 (± 1.42) ^b	6.31 (± 0.00) ^b	2.51 (± 0.06) ^b	0.03 (± 0.006) ^b
F4	96.34 (± 0.42) ^c	1.23 (± 0.07) ^a	1.10 (± 0.04) ^b	15.26 (± 1.33) ^b	6.34 (± 0.01) ^a	2.30 (± 0.08) ^a	0.03 (± 0.01) ^b
F5	95.35 (± 0.42) ^c	1.27 (± 0.03) ^a	1.12 (± 0.04) ^a	19.92 (± 1.86) ^a	6.31 (± 0.00) ^b	2.26 (± 0.07) ^b	0.04 (± 0.008) ^b

F1 (control), F2 (0.008% of sophorolipids), F3 (0.024% sophorolipids), F4 (0.040% sophorolipids) and F5 (0.060% sophorolipids). EE - Emulsion stability; IAO - Oil absorption index; IAA - Water absorption index, CRA - Water retention capacity; pH - hydrogen potential; PAC - cooking losses and ISA - solubility index. Different letters in the column indicate statistically significant differences by Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Table S3 Colour measurements for sausages of sausages enriched with sophorolipids

Sample	Colour		
	<i>L</i>*	<i>a</i>*	<i>b</i>*
F1	53.80 ($\pm 2,04$) ^c	24.68 ($\pm 1,38$) ^a	18.40 ($\pm 1,20$) ^a
F2	62.58 ($\pm 0,58$) ^{ab}	15.57 ($\pm 0,45$) ^b	15.42 ($\pm 0,41$) ^b
F3	62.01 ($\pm 0,43$) ^b	16.37 ($\pm 0,33$) ^b	15.76 ($\pm 0,32$) ^b
F4	63.85 ($\pm 1,16$) ^a	13.77 ($\pm 1,07$) ^c	15.86 ($\pm 0,99$) ^b
F5	62.08 ($\pm 1,11$) ^b	14.59 ($\pm 0,83$) ^{bc}	15.69 ($\pm 0,54$) ^b

F1 (control), F2 (0.008% of sophorolipids), F3 (0.024% sophorolipids), F4 (0.040% sophorolipids) and F5 (0.060% sophorolipids). Different letters indicate significant differences by Tukey's test ($p \leq 0.05$). *L** - Luminosity; *a** - green \Rightarrow red; *b** - blue \Rightarrow yellow.

5.8 Artigo: Characterization of *Starmerella bombicola* Sophorolipid Microcapsules Obtained via Spray Drying.

Enviado para a revista *Polymer Bulletin*

Characterization of *Starmerella bombicola* Sophorolipid Microcapsules Obtained via Spray Drying

Tania Regina Kaiser^a, Bianca de Souza^b, Mariana Medeiros Hergesel^b,
Cristiani Baldo^a, Mariane Ayumi Shirai^b, Mayka Reghiany Pedrão^b, Maria
Antonia P. Colabone Celligoi^{a*}

^a*Department of Biochemistry and Biotechnology, Londrina State University, Londrina, Brazil*

^b*Department of Food Technology, Federal Technological University of Paraná, Londrina, Brazil*

*Corresponding author: Department of Biochemistry and Biotechnology, Centre of Exact Science, Londrina State University, Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380, CEP 86057-970, Londrina, Brazil.

E-mail address: macelligoi@uel.br

Abstract: This study evaluated the microencapsulation of sophorolipids, which are antimicrobial and antioxidant biosurfactant produced by *Starmerella bombicola*, aiming to expand their potential applications within the food industry. The microcapsules of sophorolipids were developed using maltodextrin and Arabic gum as wall materials through spray drying. Parameters such as encapsulation efficiency, yield, particle size, zeta potential, polydispersity index, and microcapsules morphology were assessed. The results showed that the formulation containing 9g of sophorolipid had the highest yield (59.33%) and best encapsulation efficiency (38.1%) with a particle size of $1.432 \pm 89 \mu\text{m}$, however, its zeta point value was considered minimally stable (-7.75 mV). The formulation with 6g of sophorolipid showed 36.70% and 18.1% for yield and encapsulation efficiency respectively. Sophorolipids encapsulation presents potential as alternatives to chemical preservatives, especially for use in meat products, marking a novel and previously unexplored initiative.

Key words: Bioactive compounds; clean label; biosurfactant; sophorolipids; food products

1. Introduction

The deterioration of food results in significant economic losses worldwide. In meats, deterioration can be caused by various mechanisms, such as microbial growth and lipid oxidation. Microbial contamination refers to the growth and proliferation of naturally occurring or introduced microorganisms within food (Leyva-Porras *et al.* 2021). Lipid oxidation leads to a reduction in nutritional value, alterations in sensory quality in meat products, and may influence consumer acceptance or even product safety (Pateiro *et al.* 2021).

The control of deterioration and contamination in meat products is commonly achieved through heat treatment and the addition of synthetic preservatives (Villalobos-Delgado *et al.* 2019). Antimicrobials such as sodium nitrite and sodium nitrate are frequently used in meat products as preservative additives (Choi *et al.* 2017). Nitrite has traditionally been used to preserve meat products owing to its potent antimicrobial properties against *Clostridium botulinum*, and other bacteria (Flores and Toldrá 2021). However, nitrite can react with secondary amines to form harmful substances like as N-nitrosamines, which are potentially carcinogenic (Zhou *et al.* 20 20).

Synthetic antioxidants such as butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA) and tert-butylhydroquinone (TBHQ) are also used to reduce lipid oxidation in the food industry (Mika *et al.* 2023). Despite their effectiveness, excessive or improper use of these antioxidants can lead to adverse effects on human health (Xu *et al.*, 2021).

The increased consumer demand for healthier foods in recent years has prompted the food industry to consistently impose restrictions on the use of chemical compounds that have adverse effects on human health and the environment (Karwowska *et al.*, 2021). Consequently, significant efforts have been made to find natural antimicrobials and antioxidants to enhance meat product safety and extend shelf life (Villalobos-Delgado *et al.*, 2019). Biomolecules of microbial origin can ensure food safety due to their antimicrobial activity against a broad spectrum of foodborne pathogens (Duda-Chodak *et al.*, 2023).

Sophorolipids are natural and sustainable amphiphilic molecules that exhibit diverse biological activities, holding potential applications within the food industry. They are biosurfactants primarily produced by the non-pathogenic yeast *S. bombicola*, composed of a

sugar linked to a fatty acid chain (Cho *et al.* 2022). Sophorolipids present numerous advantages over chemical surfactants, including high biodegradability, biological properties, and renewable characteristics (Pal *et al.* 2023), showing robust antimicrobial activity (Zhang *et al.* 2016 a,b, Silveira *et al.* 2019, Gaur *et al.* 2019, Hipólito *et al.* 2020, Filipe *et al.* 2022).

In previous studies, our group demonstrated the antimicrobial activity of sophorolipids against foodborne pathogens including *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. (Silveira *et al.* 2019, Silveira *et al.* 2021). Furthermore, sophorolipids have shown antioxidant activity (Filipe *et al.* 2022) and exhibit effective characteristics as emulsifying agents in food formulations (Silva *et al.* 2020). Recently, our group revealed that sophorolipids exhibit antimicrobial and antioxidant activity and positively impact the physicochemical properties of chicken sausages (Kaiser *et al.* 2023).

However, the stability of natural compounds such as sophorolipids must be ensured for their application in food to avoid aspects that can affect their effectiveness (Castro-Rosas *et al.* 2017; Veiga *et al.* 2019). In this scenario, the use of microencapsulated ingredients in the food industry is employed to provide protection, facilitate handling, control release, solubilization, and enhance the effect of a bioactive compound (Castro-Rosas *et al.* 2017; Calderón-Oliver and Ponce-Alquicira 2022).

Encapsulation was initially developed approximately 60 years ago as a technology for coating solids, liquids, and gaseous compounds (Saifullah *et al.*, 2019). It can be defined as a process of trapping one substance inside another, thereby producing particles ranging in diameter from a few nanometers to a few millimeters. In this process, the encapsulated substance serves as the core material, active agent, fillers, internal phase, or payload phase, while the encapsulating substance acts as the coating, membrane, shell, support material, wall material, external phase, or matrix (Bratovcic and Suljagic, 2019).

A wide variety of wall materials can be used for microencapsulation, such as carbohydrates, modified cellulose, proteins, gums and lipids (Labuschagne 2018). Maltodextrin is the most popular and widely used natural material for microencapsulation, being highly convenient for use in the spray drying microencapsulation process due to its good solubility in water (Tomson *et al.* 2020). Additionally, it offers a robust barrier against oxidation of core materials and protection against external factors (Mohammed *et al.* 2020). Other frequently employed wall materials are gum arabic and guar gum, both renowned for their excellent emulsifying and thickening properties, rendering them well-suited for encapsulation applications (Lin *et al.* 2023). Therefore, this study aimed to develop sophorolipids microcapsules using maltodextrin and gum arabic as wall materials, with the perspective of their use as a new ingredient in the food industry. The results demonstrated the effectiveness of encapsulating sophorolipids through spray drying, using maltodextrin and gum arabic as coating materials. This combination notably enhanced powder recovery, meeting the required minimum reference standards.

2. Materials and methods

2.1. Microorganisms and materials

Maltodextrin DE20 purchased from Cargill (Paraná, Brazil) and gum arabic purchased from Nexira (São Paulo, Brazil).

2.2. Methods

2.2.1. Sophorolipids production

Sophorolipids production from *S. bombicola* was conducted in a 4.5 L bioreactor (Biotec Tecnal) with an operating volume of 3 L. The medium consisted of the following components (g/L): glucose (77.5), yeast extract (2.5), and oleic acid (75). Fermentation occurred at 30°C for 120 hours at 150 rpm (Minucelli *et al.* 2017). Sophorolipids from the fermented broth was placed in a decanting funnel, and left at room temperature for 24 hours until the lipid fraction separated from the remaining broth. High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis revealed that the produced sophorolipids were predominantly lactone C18:1 diacetylated, in contrast to the standard 1',4"-Sophorolactone 6',6"-diacetate (Sigma Aldrich, USA).

2.2.2. Preparation of sophorolipid emulsions

The emulsion was prepared by adding 13.5g of coating polymers (maltodextrin DE20 and gum Arabic) to 100mL of deionized water under magnetic stirring until completely dissolved. Emulsions were then prepared using two different concentrations of sophorolipids (6g (formulation 1) or 9g (formulation 2)). The sophorolipids concentration was chosen according to previous experiments. Both formulations were homogenized using an Ultra-turrax (Ika, model T18, USA) at 12,000 rpm for 3 minutes to ensure uniformity and prevent phase separation.

2.2.3. Obtaining microcapsules by spray drying

The emulsions obtained in the previous step were dried by spray drying using a laboratory-scale spray dryer (MSD 1.0, Labmaq, Brazil). The samples were atomized with a double fluid nozzle with a diameter of 1.0 mm, at a temperature of 130°C with inlet drying air and 89°C for outlet air, through a feed system of 0.60 L.h⁻¹, with a compressed air flow of 1.65 m³ /min and compressed air pressure of 6 bar. The resulting powder was packed in a hermetically sealed container and used for further analysis.

2.2.4. Characterization of Microcapsules

2.2.4.1 Yield determination (%): The yield was determined by the mass of the microcapsule produced after spray drying and the mass of the initial core and wall materials (Akram *et al.* 2021) and expressed by the following formula:

$$\text{Yield\%} = (\text{Mass of microcapsule collected} / \text{Mass of core and wall}) \times 100 \quad (1)$$

2.2.4.2. Encapsulation efficiency: Quantification of the microencapsulated sophorolipids was performed in triplicate using an adapted method from Minucelli *et al.* (2017). Samples of 1g were diluted in a methanol:water solution at a ratio of 4:1 (v/v). Subsequently, the samples were vortexed for 2 minutes, sonicated for 15 minutes to facilitate the extraction of sophorolipids from the microcapsules, and then the mixture was centrifuged at 9,956xg for 15 minutes. After centrifugation, an equal volume of hexane (v/v) was added to the supernatant fraction in a 1:1 ratio. The solution underwent extraction in a separation funnel to isolate the sophorolipids in the methanolic fraction and remove lipid impurities present in the hexane phase. The

sophorolipids were dried in an oven until the solvent was completely eliminated. Quantification of sophorolipids was performed using gravimetry.

2.2.4.3. Microcapsule size, zeta potential and polydispersity index (PDI): The microencapsulated size, average zeta potential, and PDI were determined through dynamic light scattering (DLS) measurements using the Zetasizer Nano equipment (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK). To conduct the measurements, a sample of the powder was suspended in ethyl alcohol (P.A.) solvent using magnetic stirring. The instrument operated with a laser at $\lambda = 658$ nm and detection was carried out at a single angle of 173° at 25°C .

2.2.5. Morphological analysis of microcapsules

The analysis of microcapsule morphology was conducted according to the method adapted by Pudziuvelyte *et al.* (2019). The sample was mounted on a sample holder, fixed on a carbon tape, and coated with gold (Quorum® Q150T ES; Quorum Technologies Ltd., Sussex, UK). Images were taken using a scanning electron microscope (SEM) (Tescan Veja, Czech Republic) and observed at magnifications of 500, 2000, and 10000 times.

2.2.6. Statistical analyses

The results are presented as the mean values accompanied by their respective standard deviations. Statistical analysis involved one-way analysis of variance (ANOVA). Tukey's post hoc test was applied to discern variations among the mean values corresponding to the distinct treatments ($p < 0.05$). All statistical analyses were conducted using R Studio software (R Core Team 2021).

3. Results and discussion

Spray drying is the most commonly applied encapsulation technique (Montoya-Yepes *et al.* 2023), involving the atomization of a liquid into droplets, followed by rapid solvent evaporation in hot air to obtain dry powder or particles (Lin *et al.* 2023). It is primarily employed on an industrial scale due to its ability to enable simple, reproducible, continuous, and cost-effective production (Souza *et al.* 2022). In this study, sophorolipids were microencapsulated using maltodextrin and arabic gum as wall materials, exploring their potential utilization as a novel ingredient in the food industry. Parameters including encapsulation efficiency, yield, particle size, zeta potential, polydispersity index, and formulation morphology were evaluated.

3.1. Yield determination (%)

The powder recovery percentage (p/p% yield) represents the quantity of powder collected in the spray dryer collector relative to the total amount of solid content dissolved in the feed emulsion (Burhan *et al.* 2019). In this study, the yield percentages were 36.70% and 59.33% for the formulation using 6g and 9g of microencapsulated sophorolipids, respectively. According to Muzaffar and Kumar (2017) a successful powder recovery in laboratory-scale spray dryers is typically set at 50%, a threshold surpassed by the formulation containing 9g of sophorolipids, indicating an effective recovery rate.

Microencapsulation of sophorolipids was not described elsewhere. However, studies involving the encapsulation of different molecules using the same materials have shown varying yield results: 44.80% for yerba mate extract, 82.75% for pepper seed oil, 83.40% for fish oil, 84.50% for flaxseed oil, 70.79% to 76.38% for *Hibiscus sabdariffa* extracts, and 42.10% to 63.50% for lavender oil (Akbarmehr *et al.* 2023; Karaaslan *et al.* 2021; Akram *et al.* 2021; Cid-Ortega and Guerrero-Beltrán, 2020; Burhan *et al.* 2019). Conversely, in these studies, the drying temperatures used were different from those in this study. Oliveira Alencar *et al.* (2022) suggest that when the temperatures used in the drying process are not sufficient to cause water evaporation before the material reaches the drying chamber walls, it allows some of the material to adhere to the chamber, resulting in lower yield performance.

3.2. Encapsulation efficiency

Encapsulation efficiency denotes the amount of material trapped within the microparticles (Sukumar *et al.* 2023) and these values give an indication of how successful the coating polymer matrix was in preventing the loss of the molecule during the microencapsulation process and during storage (Burhan *et al.* 2019). The encapsulation efficiencies for formulations 1 and 2 were found to be 18,1% and 38,1% respectively. According to Cruz-Bravo *et al.* (2023) factors such as sample feed rate, chamber drying temperature, inlet/outlet temperatures, and wall material concentration are among the key factors affecting the optimization of spray drying.

These efficiency values were obtained by correlating them with the gravimetric result and the percentage yield, corroborating the results predicted in 3.1.

However, during the course of the experiment it was observed that formulation 2 did not have the capacity to significantly absorb the lipid material, leaving material adhered to the cyclone. The same was not observed with formulation 1, so this subjective parameter indicates the need for further experimentation. To explore the potential for increasing sophorolipids in the process, it is advisable to test new wall materials.

3.3. Microcapsule size, zeta potential and polydispersity index (PDI)

The particle size of microcapsules significantly affects sensory properties (texture, taste, etc.) and physical properties (e.g., solubility and hygroscopicity) (Tomsone *et al.* 2020). In this experiment, the microcapsule sizes varied (Figure 1), with formulation 2 showing a larger average size compared to formulation 1 (Table 1). It is known that the particle size distribution changes depending on the type of coating material and drying conditions (Karaaslan *et al.* 2021). According to Mohammed *et al.* (2021) it is advisable to maintain the particle size of microencapsulated materials used in food applications below 100 μm to ensure an acceptable mouthfeel in the final food product. The microcapsules obtained in this study completely comply with this recommendation.

Zeta potential indicates the level of stability in a colloidal system (Molaahmadi *et al.* 2019) and is an important physicochemical parameter of microencapsulated products (Santos *et al.* 2020). According to Titus *et al.* (2019) zeta potentials in the range of 0 to ± 5 mV are unstable and tend to coagulate, while minimally stable particles are in the range of ± 5 to ± 20 mV, moderately stable between ± 20 to ± 40 mV and highly stable above ± 40 mV. The zeta point values found in our study fall into the minimally stable range (-7.75 mV) for formulation 2 and highly stable (51.77 mV) for formulation 1. However, as mentioned by Gumustas *et al.* (2017), the zeta potential value is affected not only by particle properties but also by solution nature, such as pH and ionic strength. Higher absolute zeta potential values indicate a greater electrical charge on the particles to keep them stable in the solution (Li *et al.* 2022), as the

charge on the surface of the nano/microparticles prevents aggregation due to the repulsion forces between the particles (Lestari *et al.* 2021).

Regarding PDI, it measures the heterogeneity of a sample based on size. Polydispersity can occur due to size distribution in a sample or sample agglomeration during isolation or analysis (Mudalige *et al.* 2019). As shown in Table 1, the PDI results differed between formulation 1 and 2 ($P < 0.05$), and these variations may be justified by the microcapsules being obtained via spray drying, leading to the formation of polydispersity particles with a variety of size distributions (Karas *et al.* 2023).

Table 1. Particle size, zeta potential and polydispersity index of sophorolipids microcapsules

Sample	Particle size (μm)	Zeta potential (mV)	Polydispersity index (%)
S1	1.036 (± 63) ^a	51.77 ($\pm 4,31$) ^a	88.0 ^a
S2	1.432 (± 89) ^b	- 7.75 ($\pm 0,35$) ^b	29.4 ^b

In the columns: equal letters indicate no significant difference at 5%, different letters indicate significant difference at 5%.

3.4. Morphological analyses of the microcapsules

The images of the microcapsules obtained by scanning electron microscopy displayed spherical shapes with varied sizes and diameters. Some surfaces appeared slightly rough while others were smoother, yet without apparent cracks. This is advantageous as it implies that the capsules have lower gas permeability, enhancing the protection and retention of the active material (Zhang *et al.* 2020, Di Battista *et al.* 2015, Carneiro *et al.* 2013). Moreover, size variations and creases could result from shrinkage during the drying and cooling processes, typical characteristics of spray drying processing (Guimarães *et al.* 2020). According to Akbarmehr *et al.* (2023), the type, concentration and viscosity of the encapsulating material also play an important role in the surface morphology and size of particles dried by spraying.

The effective protection provided by the polymer mixture for sophorolipid occurs because the use of a blend of both polymers combines the excellent emulsification capacity of arabic gum with the outstanding film-forming properties of maltodextrin (Burhan *et al.* 2019).

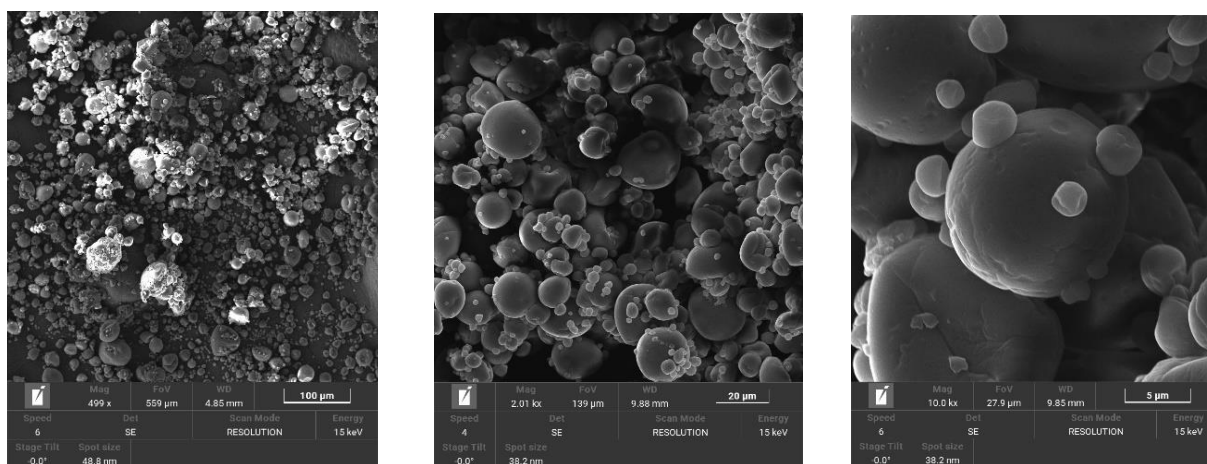


Figure 1. Scanning Electron Microscopy of Microcapsules. 500x Magnification (A), 2000x Magnification (B), 10000x Magnification (C).

4. Conclusion

The encapsulation of sophorolipids using spray drying techniques with maltodextrin and arabic gum as encapsulating agents was successfully achieved. The microcapsules exhibited good encapsulation efficiency values and a variety of sizes and diameters with no apparent cracks. The material was stable in powdered form, allowing dissolution in foods like emulsified meat products. Further research is necessary to confirm the biological activity of microencapsulated sophorolipids in specific applications, such as antioxidants and antimicrobial bioactive compounds in the food industry.

Author contributions

TRK laboratory data collection, data curation, writing-original draft preparation. BS laboratory data collection. MMH laboratory data collection. MAS data curation, writing-original draft preparation. CB data curation, writing-original draft preparation. MAPCC coordination of research activities, production of sophorolipids and data curation, writing original draft preparation. MRP coordination of research activities, definition of methodology, data curation, writing- original draft preparation. writing- reviewing and editing.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Multiuser Laboratory of the Londrina Campus (LabMult-LD) of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná. They also thank CNPq for granting a Productivity Scholarship in Technological Extension Level II to Dr MRP and Dr MAPCC, and CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) for supporting the development of this research.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding This work was supported by CNPq for granting a Productivity Scholarship in Technological Extension Level II to Dr MRP and Dr MAPCC.

Data availability All data generated or analysed during this study are included in this published article.

References

- Akbarmehr, A., et al., 2023. Microencapsulation of Yerba mate extract: The efficacy of polysaccharide/protein hydrocolloids on physical, microstructural, functional, and antioxidant properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 234, 123678.
- Akram, S., et al., 2021. Fabrication and characterization of gum arabic-and maltodextrin-based microcapsules containing polyunsaturated oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101 (15), 6384-6394.
- Bratovic, A., and Suljagic, J., 2019. Micro-and nano-encapsulation in food industry. *Croatian journal of food science and technology*, 11 (1), 113-121.
- Burhan, A.M, et al., 2019. Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 36 (3), 250-266.

- Calderón-Oliver, M., and Ponce-Alquicira, E., 2022. The role of microencapsulation in food application. *Molecules*, 27 (5), 1499.
- Carneiro, H.C., et al., 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of food engineering*, 115 (4), 443-451.
- Castro-Rosas, J., et al., 2017. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food-A review *Food research international*, 102, 575-587.
- Cho, W.Y., et al., 2022. Sophorolipids-bio-based antimicrobial formulating agents for applications in food and health. *Molecules*, 27, 5556.
- Choi, Y.S., et al., 2017. Effects of pre-converted nitrite from red beet and ascorbic acid on quality characteristics in meat emulsions. *Korean journal for food science of animal resources*, 37 (2), 288.
- Cid-Ortega, S., and Guerrero-Beltrán, J.Á., 2020. Microencapsulation of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) extracts by spray drying using maltodextrin and gum arabic as carriers. *Journal of Food Research*, 9 (5), 1-53.
- Cruz-Bravo, R.K., et al., 2023. Spray-dried microencapsulation of bean coat flour (*Phaseolus vulgaris*, L.) bioactive compounds: optimization, functional activity, and storage. *CyTA-Journal of Food*, 21 (1), 493-501.
- Di Battista, C.A., et al., 2015. The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. *Powder Technology*, 286, 193-201.
- Duda-Chodak, A., et al., 2023. Antimicrobial compounds in food packaging. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (3), 2457.
- Filipe, G.A., et al., 2022. Bioactive films for the control of skin pathogens with sophorolipids from *Starmerella bombicola*. *Polymer Bulletin*, 1-15.
- Flores, M., and Toldrá F., 2021. Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products-Invited review. *Meat Science*, 171, 108272.
- Gaur, V.K., et al., 2019. Biosynthesis and characterization of sophorolipid biosurfactant by *Candida* spp.: Application as food emulsifier and antibacterial agent. *Bioresource technology*, 285, 121314.
- Guimarães, T.L.F., et al., 2020. Antimicrobial activity of microcapsules with aqueous extract of chambá (*Justicia pectoralis* Jacq). *Revista Ciência Agronômica*, 51, e20186471.
- Gumustas, M., et al., 2017. Effect of polymer-based nanoparticles on the assay of antimicrobial drug delivery systems. In: **Grumezescu, A.M.** Ed. *Multifunctional systems for combined delivery, biosensing and diagnostics*. Bucharest, RO: Elsevier, 67-108.

- Hipolito, A., et al., 2020. Evaluation of antifungal activity of sophorolipids from *Starmerella bombicola* against food spoilage fungi. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101797.
- Kaiser, T.R., et al., 2023. Effects of incorporation of sophorolipids on the texture profile, microbiological quality and oxidative stability of chicken sausages. *International Journal of Food Science & Technology*, 58 (8), 4397-4403.
- Karas, J., et al., 2023. Optimization of spray drying process parameters for the preparation of inhalable mannitol-based microparticles using a box-behnken experimental design. *Pharmaceutics*, 15 (2), 496.
- Karaaslan, M., et al., 2021. Gum arabic/maltodextrin microencapsulation confers peroxidation stability and antimicrobial ability to pepper seed oil. *Food Chemistry*, 337, 127748.
- Karwowska, M., et al., 2021. Strategies to improve the nutritional value of meat products: Incorporation of bioactive compounds, reduction or elimination of harmful components and alternative technologies. *International Journal of Food Science & Technology*, 56 (12), 6142-6156.
- Labuschagne, P., 2018. Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. *Food Research International*, 107, 227-247.
- Lestari, A.D., et al., 2021. Zeta potential examination of β -carotene encapsulated in starch-chitosan/tripoly-phosphate microparticles. *AIP Conference Proceedings*, 2349 (1), 2-6.
- Leyva-Porras, C.; et al., 2021. Application of antioxidants as an alternative improving of shelf life in foods. *Polysaccharides*, 2 (3), 594-607.
- Li, X., et al., 2022. Improvement of betalains stability extracted from red dragon fruit peel by ultrasound-assisted microencapsulation with maltodextrin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 82, 105897.
- Lin, Q., et al., 2023. Advances in polysaccharides for probiotic delivery: Properties, methods, and applications. *Carbohydrate Polymers*, 323, 121414.
- Mika, M., et al., 2023. Influence of Synthetic Antioxidants Used in Food Technology on the Bioavailability and Metabolism of Lipids-In Vitro Studies. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 73(1), 95-107.
- Minucelli, T., et al., 2017. Sophorolipids production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and its potential application in soil bioremediation. *Waste Biomass Valorisation* 8, 743-753.
- Mohammed, N.K., et al., 2020. Spray drying for the encapsulation of oils—A review. *Molecules*, 25 (17), 3873.
- Mohammed, N.K., et al., 2021. Influence of different combinations of wall materials on encapsulation of *Nigella sativa* oil by spray dryer. *Journal of Food Process Engineering*, 44 (3), e13639.

- Molaahmadi, M.R., et al., 2019. Lipid nanocapsules for imatinib delivery: Design, optimization and evaluation of anticancer activity against melanoma cell line. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 18 (4), 1676.
- Montoya-Yepes, D.F., et al., 2023. Starches in the encapsulation of plant active ingredients: state of the art and research trends. *Polymer Bulletin*, 1-29.
- Mudalige, T., et al., 2019. Characterization of nanomaterials: Tools and challenges. *Nanomaterials for food applications*, 313-353.
- Muzaffar, K., and Kumar, P., 201. Spray drying of tamarind pulp: effect of process parameters using protein as carrier agent. *Journal of food processing and preservation*, 41 (2), e12781.
- Oliveira Alencar, D.D., et al., 2022. Microencapsulation of *Cymbopogon citratus* DC Stapf essential oil with spray drying: Development, characterization, and antioxidant and antibacterial activities. *Foods*, 11 (8), 1111.
- Pal, S., et al., 2023. Sophorolipids: A comprehensive review on properties and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 102856.
- Pateiro, M., et al., 2021. Recent research advances in meat products. *Foods*, 10 (6), 1303.
- Pudziuvelyte, L., et al., 2019. Microencapsulation of *Elsholtzia ciliata* herb ethanolic extract by spray-drying: impact of resistant-maltodextrin complemented with sodium caseinate, skim milk, and beta-cyclodextrin on the quality of spray-dried powders. *Molecules*, 24 (8), 1461.
- R core team, 2021. Rstudio [software]. R: A language and environment for statistical computing. Available from: <https://www.R-project.org>. [Accessed 30 May 2023].
- Saifullah, M., et al., 2019. Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 230-251.
- Santos, F.H.D., et al., 2020. Influence of wall materials on the microencapsulation of pequi oil by spray drying. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, 1-12.
- Silva, I.A., et al., 2020. Production of cupcake-like dessert containing microbial biosurfactant as an emulsifier. *PeerJ* 8, e9064.
- Silveira, V.A.I., et al., 2021. Antimicrobial effects of sophorolipid in combination with lactic acid against poultry-relevant isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52 (4), 1769-1778.
- Silveira, V.A.I., et al., 2019. Production and antimicrobial activity of sophorolipid against *Clostridium perfringens* and *Campylobacter jejuni* and their additive interaction with lactic acid. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101287.
- Sousa, V.I., et al., 2022. Microencapsulation of essential oils: A review. *Polymers*, 14 (9), 1730.

- Sukumar, A., et al., 2023. Effect of ultrasonication on emulsion formulation, encapsulation efficiency, and oxidative stability of spray dried chia seed oil. *Journal of Food Science and Technology*, 60 (6), 1761-1771.
- Titus, D., et al., 2019. Nanoparticle characterization techniques. In: **Shukla, A.K., Irvani, S. eds.** *Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles*. Amsterdam, NE: Elsevier, 303-319.
- Tomsone, L., et al., 2020. Microencapsulation of horseradish (*Armoracia rusticana* L.) juice using spray-drying. *Foods*, 9 (9), 1332.
- Veiga, R.D.S.D., et al., 2019. Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review. *Journal of Essential Oil Research*, 31 (6), 457-473.
- Villalobos-Delgado, L.H., et al., 2019. Natural antimicrobial agents to improve foods shelf life. In: Galanakis, C.M. ed. *Food quality and shelf life*. London, UK: Academic Press, 125-157.
- Xu, X., et al., 2021. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. *Food Chemistry*, 353, 129488.
- Zhang, C., et al., 2020. Fabrication of spray-dried microcapsules containing noni juice using blends of maltodextrin and gum acacia: Physicochemical properties of powders and bioaccessibility of bioactives during in vitro digestion. *Foods*, 9 (9), 1316.
- Zhang, X., et al., 2016a. Inactivation of *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. by palmitic, stearic, and oleic acid sophorolipids and thiamine dilauryl sulfate. *Frontiers in microbiology*, 7, 2076.
- Zhang, X., et al., 2016b. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in vitro and on the surface of spinach leaves by biobased antimicrobial surfactants. *Food Control*, 60, 158-165.
- Zhou, Y., et al., 2020. Effects of rosemary extract, grape seed extract and green tea polyphenol on the formation of N-nitrosamines and quality of western-style smoked sausage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(6), e14459.

6 CONCLUSÃO

- O soforolipídio foi produzido e aplicado em formulações de salsichas onde a adição de 0,060% de soforolipídio aumentou a estabilidade da emulsão, apresentou maior CRA e menor PAC, com maior quantidade de líquido retido na matriz;
- Maiores resultados para IAO e IAA nas formulações contendo soforolipídio (0,008%, 0,024%, 0,040 e 0,060%) mostraram que as massas de salsicha se tornaram mais estáveis; bem como, afetou os parâmetros L^* , a^* e b^* , atuando no desenvolvimento e fixação da cor da emulsão cárnea;
- A análise de TPA das salsichas mostrou diferença significativa para os parâmetros força, dureza, adesividade, gomosidade e mastigabilidade entre a amostra controle e a formulação com 0,060% de soforolipídio, resultando em uma massa homogênea e consistente;
- O valor de TBARS da amostra controle (conservante químico) não teve diferença significativa para as formulações com 0,040% e 0,060% de soforolipídio, demonstrando que a sua adição apresentou tendência para ser um antioxidante para uso cárneo;
- A formulação de salsicha com 0,060% de soforolipídio obteve o melhor resultado. Para as contagens de *C. perfringens*. Para os demais microrganismos analisados, não houve diferença entre as formulações e seus resultados foram satisfatórios;
- As micrografias das amostras salsichas revelaram que a adição de soforolipídio tornou massa menos porosa e com menos fendas observáveis, sugerindo sua melhor integridade estrutural;
- A formulação das microcápsulas com adição de 9g de soforolipídio apresentou melhores resultados de eficiência da encapsulamento (38,1%) e com maior rendimento (59,33%);
- Os tamanhos das microcápsulas foram de 1,036 μ m e 1,432 μ m formulação com 9g e 6g de soforolipídio respectivamente, além disso, as micrografias mostraram formato esférico, superfícies ligeiramente rugosas, porém, sem rachaduras aparentes, indicando maior proteção e retenção do material ativo;
- Os valores de potencial zeta deste estudo se classificam como minimamente estáveis para amostra com 9g e altamente estáveis para amostra com 6g de soforolipídio. Os resultados de PDI apresentaram características de partículas polidispersas com uma variedade de distribuições em seus tamanhos;

Desta forma, foi demonstrada a viabilidade para microencapsulação do soforolípido, sendo uma alternativa inovadora para substituir os conservantes usuais na indústria alimentícia, uma vez que o soforolípido apresentou propriedades biológicas eficientes como antimicrobiano, antioxidante, estabilizante e emulsificante natural.

REFERÊNCIAS

- ABBOT, V.; PALIWAL, D.; SHARMA, A.; SHARMA, P. A review on the physicochemical and biological applications of biosurfactants in biotechnology and pharmaceuticals. **Heliyon**, 2022.
- ABD-EL-MALEK, A. M. Cooked poultry meat and products as a potential source of some food poisoning bacteria. **Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 11, n. 6 p. 23-29, 2017.
- AKBARMEMHR, A.; PEIGHAMBARDOST, S. H.; SOLTANZADEH, M.; JAFARI, S. M.; SARABANDI, K. Microencapsulation of Yerba mate extract: The efficacy of polysaccharide/protein hydrocolloids on physical, microstructural, functional, and antioxidant properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 234, p. 123678, 2023.
- AKRAM, S.; BAO, Y.; BUTT, M. S.; SHUKAT, R.; AFZAL, A.; HUANG, J. Y. Fabrication and characterization of gum arabic-and maltodextrin-based microcapsules containing polyunsaturated oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 15, p. 6384-6394, 2021.
- ALFIAN, A. R.; WATCHAPUTI, K.; SOOKLIM, C.; SOONTORNGUN, N. Production of new antimicrobial palm oil-derived sophorolipids by the yeast *Starmerella riodocensis* sp. nov. against *Candida albicans* hyphal and biofilm formation. **Microbial Cell Factories**, v. 21, n. 1, p. 1-18, 2022.
- AL-GHAYAT, S. M.; SHAHEEN, H. M. Quality assessment of emulsion type poultry meat products. **Suez Canal Veterinary Medical Journal. SCVMJ**, v. 25, n. 1, p. 129-141, 2020.
- ABPA: **Relatório anual 2023**. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/04/Relatorio-Anual-2023.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2023.
- ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PEPLINSKI, A. J. Gelation of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v. 14, n. 1, p. 4-7, 11-12, 1969.
- ANSARI, C. B. Bacteriological examination of ready-to-eat foods (RTE) products of Tehran province, Iran. **Advances in Food Science and Technology**, v. 3, n. 7, p. 328-331, 2015.
- AOAC Official Method 991.14. Coliform and *Escherichia coli* counts in foods. Rockville, MD, USA: AOAC International, 1994.
- AOAC Official Method 998.08. Confirmed *Escherichia coli* Counts in Poultry, Meats, and Sea food. Rockville, MD, USA: AOAC International, 2002.
- AQUINO, A. A. Processamento Tecnológico de Derivados Cárneos. *In*: AQUINO, A. A., **Tecnologia de Produtos de Origem Animal**. 1. ed. Londrina, PR: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2017. p. 93-117.

ARAÚJO, M. K.; GUMIELA, A. M.; BORDIN, K.; LUCIANO, F. B.; DE MACEDO, R. E. F. Combination of garlic essential oil, allyl isothiocyanate, and nisin Z as bio-preservatives in fresh sausage. **Meat Science**, v. 143, p. 177-183, 2018.

AZAD, A.; SHAKERIAN, A. Evaluation of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella* contamination in sausages and bologna sold in Tehran city, Iran. **Journal of Alternative Veterinary Medicine| Spring**, v. 6, n. 16, 2023.

AZIZ, M.; KARBOUNE, S. Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 58, n. 3, p. 486-511, 2018.

BAJAJ, V. K.; ANNAPURE, U. S. Castor oil as secondary carbon source for production of sophorolipids using *Starmerella bombicola* NRRL Y-17069. **Journal of Oleo Science**, v. 64, n. 3, p. 315- 323, 2015.

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

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

BALESTRA, F.; BIANCHI, M.; PETRACCI, M. Applications in meat products. *In: Dietary Fiber: Properties, Recovery, and Applications*. Academic Press, 2019. p. 313-344.

BALESTRA, F.; PETRACCI, M. Technofunctional ingredients for meat products: current challenges. *In: Sustainable Meat Production and Processing*. Academic Press, 2019. p. 45-68.

BARBUT, S. Principles of meat processing. *In: BARBUT, S. The Science of Poultry and Meat Processing*. Ontario, Canada: University of Guelph, Guelph, 2015. p. 1-89.

BARBUT, S. Ingredient addition and impacts on quality, health, and consumer acceptance. *In: PETRACCI, M.; BERRI, C. Poultry Quality Evaluation*. Woodhead publishing, 2017. p. 291-311.

BARBUT, S.; LEISHMAN, E. M. Quality and processability of modern poultry meat. **Animals**, v. 12, n. 20, p. 2766, 2022.

BARRETO, E. H.; STOCCO, C. W.; ALMEIDA, L.; NASCIMENTO, R. F.; BITTENCOURT, J. V. M. Parâmetros de qualidade no processamento de mortadelas. **Espacios**, v. 38, n. 24, p. 2-10, 2016.

BARRETO, M. E. Z.; BARRETO, M. Z.; ANDRADE, M. A. R. Gestão das inovações na formulação de produtos derivados da carne de aves. **REASU-Revista Eletrônica de Administração da Universidade Santa Úrsula**, v. 4, n. 1, 2019.

BASAK, G.; DAS, N. Characterization of sophorolipid biosurfactant produced by *Cryptococcus* sp. VITGBN2 and its application on Zn(II) removal from electroplating wastewater. **Journal of Environmental Biology**, v. 35, p. 1087-1094, 2014.

BOLÍVAR-MONSALVE, J.; RAMÍREZ-TORO, C.; BOLÍVAR, G.; CEBALLOS-GONZÁLEZ, C. Mechanisms of action of novel ingredients used in edible films to preserve microbial quality and oxidative stability in sausages-A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 89, p. 100-109, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. **Estabelece as Listas de Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Instrução Normativa nº 161, de 01 de julho de 2022. Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2. Acesso em: 30 jul. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego**. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/PORTARIA_540_1997.pdf/3c55fd22-d503-4570-a98b-30e63d85bdad. Acesso em: 30 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha**. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7778>. Acesso em: 30 out. 2020.

BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, D.F, 62. Ed., p. 3, 30 mar. 2017.

BRATOVCIC, A.; SULJAGIC, J. Micro-and nano-encapsulation in food industry. **Croatian Journal of Food Science and Technology**, v. 11, n. 1, p. 113-121, 2019.

BURHAN, A. M.; ABDEL-HAMID, S. M.; SOLIMAN, M. E.; SAMMOUR, O. A. Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. **Journal of Microencapsulation**, v. 36, n. 3, p. 250-266, 2019.

CALDERÓN-OLIVER, M.; PONCE-ALQUICIRA, E. The role of microencapsulation in food application. **Molecules**, v. 27, n. 5, p. 1499, 2022.

CÂMARA, A. K. F. I. Produtos cárneos emulsionados: quais os cuidados necessários no processamento? **Revista TecnoCarne Digital**, 2020. Disponível em: <https://digital.tecnocarne.com.br/processos/produtos-crneos-emulsionados-quais-os-cuidados-necessrios-no-processamento>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CAMPOS, J. M.; STAMFORD, T. L. M.; SARUBBO, L. A. Characterization and application of a biosurfactant isolated from *Candida utilis* in salad dressings. **Biodegradation**, v. 30, p. 313-324, 2019.

CARBALLO, J. Sausages: Nutrition, safety, processing and quality improvement. **Foods**, v. 10, n. 4, p. 890, 2021.

CARETTA, T. O.; SILVEIRA, V. A. I.; ANDRADE, G.; MACEDO, F.; CELLIGOI, M. A. P. C. Antimicrobial activity of sophorolipids produced by *Starmerella bombicola* against phytopathogens from cherry tomato. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 3, p. 1245-1254, 2022.

CARETTA, T. O.; BALDO, C.; SILVEIRA, V. A. I.; HIPÓLITO, A.; COSTA, N. J. A.; MALI, S.; CELLIGOI, M. A. P. C. Synthesis of novel antimicrobial bioactive films for strawberry coating based on sophorolipids and fructooligosaccharides-modified starch. **Polymer Bulletin**, p. 1-19, 2023.

CARNEIRO, H. C.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of food engineering**, v. 115, n. 4, p. 443-451, 2013.

CASTRO-ROSAS, J.; FERREIRA-GROSSO, C. R.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; RANGEL-VARGAS, E.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M. L.; GUZMÁN-ORTIZ, F. A.; FALFAN-CORTES, R. N. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food-A review. **Food research international**, v. 102, p. 575-587, 2017.

CHANDRAN, P.; DAS, N. Role of sophorolipid biosurfactant in degradation of diesel oil by *Candida tropicalis*. **Bioremediation Journal**, v. 16, n. 1, p. 19-30, 2012.

CHAUHAN, P.; VISHAL, K.; YADAV, J. P.; SINGH, R.; AMIT, S. K. S.; CHOUDHARY, S. S.; SINGH, S. V. Mechanically deboned poultry meat and its packaging. **Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences**, v. 4, n. 8, p. 324-326, 2017.

CHEN, J.; SONG, X.; ZHANG, H.; QU, Y. Production, structure elucidation and anticancer properties of sophorolipid from *Wickerhamiella domercqiae*. **Enzyme and microbial technology**, v. 39, n. 3, p. 501-506, 2006.

CHO, W. Y.; NG, J. F.; YAP, W. H.; GOH, B. H. Sophorolipids—bio-based antimicrobial formulating agents for applications in food and health. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5556, 2022.

CHOI, J. S.; CHIN, K. B. Evaluation of physicochemical and textural properties of chicken breast sausages containing various combinations of salt and sodium tripolyphosphate. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 62, n. 4, p. 577, 2020.

CID-ORTEGA, S.; GUERRERO-BELTRAN, J. A. Microencapsulation of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) extracts by spray drying using maltodextrin and gum arabic as carriers. **Journal of Food Research**, v. 9, n. 5, p. 1-53, 2021.

CIVILLE, G. V.; SZCZESNIAK, A. S. Guidelines to training a texture profile panel. **Journal of Texture Studies**, v. 4, n. 2, p. 204-223, 1973.

CLAUS, S.; VAN BOGAERT, I. N. A. Sophorolipid production by yeasts: a critical review of the literature and suggestions for future research. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 21, p. 7811-7821, 2017.

CRUZ-BRAVO, R. K.; GUAJARDO-FLORES, D.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; CASTRO-ROSAS, J.; NAVARRO-CORTEZ, R. O.; DÍAZ-BATALLA, L.; FALFÁN-CORTÉS, R. N. Spray-dried microencapsulation of bean coat flour (*Phaseolus vulgaris*, L.) bioactive compounds: optimization, functional activity, and storage. **CyTA-Journal of Food**, v. 21, n. 1, p. 493-501, 2023.

DATAINTELO, 2023. Chicken sausage market report, global forecast from 2023 to 2031. Disponível em: <https://dataintelo.com/report/chicken-sausage-industry/>. Acesso em: 04 set. 2023.

DI BATTISTA, C. A.; CONSTENLA, D.; RAMÍREZ-RIGO, M. V.; PIÑA, J. The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. **Powder Technology**, v. 286, p. 193-201, 2015.

DOLMAN, B. M.; KAISERMANN, C.; MARTIN, P. J.; WINTERBURN, J. B. Integrated sophorolipid production and gravity separation. **Process Biochemistry**, v. 54, p. 162-171, 2017.

DOMÍNGUEZ, R.; PATEIRO, M.; GAGAOUA, M.; BARBA, F. J.; ZHANG, W.; LORENZO, J. M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, p. 429, 2019.

DUDA-CHODAK, A.; TARKO, T.; PETKA-PONIATOWSKA, K. Antimicrobial compounds in food packaging. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2457, 2023.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; LUCAS-GONZÁLEZ, R.; VIUDA-MARTOS, M.; SAYAS-BARBERÁ, E.; BALLESTER-SÁNCHEZ, J.; HAROS, C. M.; MARTÍNEZ-MAYORAL, A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Chemical and technological properties of bologna-type sausages with added black quinoa wet-milling coproducts as binder replacer. **Food chemistry**, v. 310, p. 125936, 2020.

FILIPE, G. A.; SILVEIRA, V. A. I.; GONÇALVES, M. C.; BELTRAME MACHADO, R. R.; NAKAMURA, C. V.; BALDO, C.; MALI, S.; KOBAYASHI, R. K. T.; CELLIGOI, M. A. P. C. Bioactive films for the control of skin pathogens with sophorolipids from *Starmerella bombicola*. **Polymer Bulletin**, v.1 p.1-15, 2022.

FLORES, M.; TOLDRÁ, F. Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products-Invited review. **Meat Science**, v. 171, p. 108272, 2021.

FOUAD, M. T.; ABU-EL-KHAIR, A. G.; FAWZY, S. M.; EL-SHENAWY, M. A. Bacteriological quality of sausage sold in great Cairo area. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 65, n. 5, p. 307-312, 2022.

FONTOURA, I. C. C. D.; SAIKAWA, G. I. A.; SILVEIRA, V. A. I.; PAN, N. C.; AMADOR, I. R.; BALDO, C.; ROCHA, S. P. D.; CELLIGOI, M. A. P. C. Antibacterial activity of sophorolipids from *Candida bombicola* against human pathogens. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, p. 1-10, 2020.

FREITAS, C. A. U. Q.; SILVEIRA, V. A. I.; BORSATO, D.; BIZ, G.; PEDRÃO, M. R.; CELLIGOI, M. A. P. C. Soforolipídios de *Starmerella bombicola* como sanitizante na lavagem de carcaças por aspersão e imersão no abate e processamento de aves. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e13110815210-e13110815210, 2021.

FU, Y.; SARKAR, P.; BHUNIA, A. K.; YAO, Y. Delivery systems of antimicrobial compounds to food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p. 165-177, 2016.

FU, Q.; YANG, J.; LV, L.; SHEN, T.; PENG, Y.; ZHANG, W. Effects of replacing chicken breast meat with *Agaricus bisporus* mushrooms on the qualities of emulsion-type sausages. **LWT**, p. 114983, 2023.

GAO, R.; FALKEBORG, M.; XU, X.; GUO, Z. Production of sophorolipids with enhanced volumetric productivity by means of high cell density fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 3, p. 1103–1111, 2013.

GARCIA-SANTOS, M. D. S. L.; CONCEIÇÃO, F. S.; VILLAS BOAS, F.; SALOTTI DE SOUZA, B. M.; BARRETTO, A. C. D. S. Effect of the addition of resistant starch in sausage with fat reduction on the physicochemical and sensory properties. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 491-497, 2019.

GARG, M.; CHATTERJEE, M. Isolation, characterization and antibacterial effect of biosurfactant from *Candida parapsilosis*. **Biotechnology Reports**, v. 18, p. e00251, 2018.

GAUR, V. K.; REGAR, R. K.; DHIMAN, N.; GAUTAM, K.; SRIVASTAVA, J. K.; PATNAIK, S.; KAMTHAN, M.; MANICKAM, N. Biosynthesis and characterization of sophorolipid biosurfactant by *Candida* spp.: Application as food emulsifier and antibacterial agent. **Bioresource Technology**, v. 285, p. 1-4, 2019.

GAUR, V. K.; SHARMA, P.; SIROHI, R.; VARJANI, S.; TAHERZADEH, M. J.; CHANG, J. S.; HOW YONG NG, H. Y.; WONG, J. W.C.; KIM, S. H. Production of biosurfactants from agro-industrial waste and waste cooking oil in a circular bioeconomy: An overview. **Bioresource Technology**, v. 343, p. 126059, 2022.

GBAGUIDI, M. D. D.; DEGNON, R. G.; KONFO, T. R. C.; KPATINVOH, B.; BABA-MOUSSA, F. Improvement in sausage manufacturing process and potential use of selected aromatic plants as their bio preservatives in Benin. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 3, p. 166-176, 2020.

GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2023. Biosurfactants market - by product (sophorolipids, rhamnolipids, alkyl polyglucosides, sucrose esters, lipopeptides, phospholipids), by

application (personal care, industrial cleaners, food processing, textiles, pharma, bioremediation), & forecast, 2023 – 2032. Disponível em: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/biosurfactants-market-report>. Acesso em: 04 set. 2023.

GUIMARÃES, T. L. F.; SILVA, L. M. R. D.; LIMA, C. D. B.; MAGALHÃES, F. E. A. Antimicrobial activity of microcapsules with aqueous extract of chambá (*Justicia pectoralis* Jacq). **Revista Ciência Agronômica**, v. 51, 2020.

GUL, O. Microencapsulation of *Lactobacillus casei* Shirota by spray drying using different combinations of wall materials and application for probiotic dairy dessert. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 5, p. e13198, 2017.

GUMUSTAS, M.; SENDEL-TURK, C. T.; GUMUSTAS, A.; OZKAN, S. A.; USLU, B. Effect of polymer-based nanoparticles on the assay of antimicrobial drug delivery systems. In: GRUMEZESCU, A. M. **Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics**. Bucharest, RO: Elsevier, 2017, p. 67-108.

HAMDI, M.; NASRI, R.; DRIDI, N.; MOUSSA, H.; ASHOUR, L.; NASRI, M. Improvement of the quality and the shelf life of reduced-nitrites turkey meat sausages incorporated with carotenoproteins from blue crabs shells. **Food Control**, v. 91, p. 148-159, 2018.

HANIFAH, N. F. M.; YAHYA, H. N.; ARIFIN, N. Physicochemical properties, nutritional composition, and sensory acceptance of chicken meat sausages with chia seed powder substitution. **Malaysian Journal of Science, Health & Technology**, 2021.

HASHEMI, S. M. B.; KHANEGHAH, A. M.; KOUBAA, M.; BARBA, F. J.; ABEDI, E.; NIAKOUSARI, M.; TAVAKOLI, J. Extraction of essential oil from *Aloysia citriodora* Palau leaves using continuous and pulsed ultrasound: Kinetics, antioxidant activity and antimicrobial properties. **Process Biochemistry**, v. 65, p. 197-204, 2018.

HIPÓLITO, A.; SILVA, R. A. A.; CARETTA, T. O.; SILVEIRA, V. A. I.; AMADOR, I. R.; PANAGIO, L. A.; BORSATO, D.; M. A. P. C. CELLIGOI. Evaluation of the antifungal activity of sophorolipids from *Starmerella bombicola* against food spoilage fungi. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, p. 1-7, 2020.

HIPOLITO, A.; SILVEIRA, V. A. I.; CARETTA, T. O.; BIGOTTO, B. G.; COSTA, E. M.; FILIPE, G. A.; KAISER, T. R.; FREITAS, C. A. U. Q.; BALDO, C.; CELLIGOI, M. A. P. C. Industrial Applications. In: HIPOLITO, A. **Microbial Sophorolipids: Production, Properties and Industrial Applications**. República da Moldávia: Eliva Press, 2022. p. 33-41.

HONIKEL, K. O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, v. 49, n. 4, p. 447-457, 1998.

HOSSAIN, M. S.; ROKIB, M.; HABIB, M.; KABIR, M. H.; HASHEM, M. A.; AZAZ, M. A. K.; RAHMAN, M. M.; ALI, M. S. Quality of spent hen sausages incorporated with fresh ginger extract. **Meat Research**, v. 1, n. 1, 2021.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2017-2018: análise do consumo**

alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro, 2020.

IMURA, T.; MASUDA, Y.; MINAMIKAWA, H.; FUKUOKA, T.; KONISHI, M.; MORITA, T.; SAKAI, H.; ABE, M.; KITAMOTO, D. Enzymatic conversion of diacetylated sophoroselipid into acetylated glucoselipid: surface-active properties of novel bolaform biosurfactants. **Journal of oleo science**, v. 59, n. 9, p. 495-501, 2010.

International Organization for Standardization. ISO 6579-1:2017: Microbiology of the Food Chain — Horizontal Method for the Detection, Enumeration and Serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp. 1. ed. Geneva, 2017.

International Organization for Standardization. ISO 6888-1:2003: Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium - Amendment 1: Inclusion of precision data. 1. ed. Geneva, 2003.

International Organization for Standardization. ISO 7937:2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* — Colony-count technique. 3. ed. Geneva, 2004.

JEONG, Y.; HAN, Y. Effect on the emulsification stability and quality of emulsified sausages added with *Wanggasi-Chunyuncho* (*Opuntia humifusa* f. *jeollaensis*) fruit powders. **Food Science of Animal Resources**, v. 39, n. 6, p. 1-13, 2019.

JIA, R.; JIANG, Q.; KANDA, M.; TOKIWA, J.; NAKAZAWA, N.; OSAKO, K.; OKAZAKI, E. Effects of heating processes on changes in ice crystal formation, water holding capacity, and physical properties of surimi gels during frozen storage. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 254-265, 2019.

JIN, S. K.; CHOI, J. S.; YANG, H. S.; PARK, T. S.; YIM, D. G. Natural curing agents as nitrite alternatives and their effects on the physicochemical, microbiological properties and sensory evaluation of sausages during storage. **Meat Science**, v. 146, p. 34-40, 2018.

KAISER, T. R.; AGONILHA, D. B.; DE ARAÚJO ROCHA, R.; HERGESEL, M.; BALDO, C.; COELHO, A. R.; PEDRÃO, M. R.; COLABONE CELLIGOI, M. A. P. Effects of incorporation of sophorolipids on the texture profile, microbiological quality and oxidative stability of chicken sausages. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 58, n. 8, p. 4397-4403, 2023.

KALE, S. N.; DEORE, S. L. Emulsion micro emulsion and nano emulsion: A review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v.8, n. 1, p. 39-47, 2017.

KANG, K.; LEE, S.; KIM, H. Quality properties of whole milk powder on chicken breast emulsion-type sausage. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 405, 2021.

KARAS, J.; PAVLOKOVÁ, S.; HOŘAVOVÁ, H.; GAJDZIOK, J. Optimization of spray drying process parameters for the preparation of inhalable mannitol-based microparticles using a box-behnken experimental design. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 496, 2023.

KARAASLAN, M.; ŞENGÜN, F.; CANSU, Ü.; BAŞYIĞIT, B.; SAĞLAM, H.; KARAASLAN, A. Gum arabic/maltodextrin microencapsulation confers peroxidation stability and antimicrobial ability to pepper seed oil. **Food Chemistry**, v. 337, p. 127748, 2021.

KARWOWSKA, M.; STADNIK, J.; STASIAK, D. M.; WÓJCIAK, K.; LORENZO, J. M. Strategies to improve the nutritional value of meat products: Incorporation of bioactive compounds, reduction or elimination of harmful components and alternative technologies. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 56, n. 12, p. 6142-6156, 2021.

KARWOWSKA, M.; KONONIUK, A. Nitrates/nitrites in food—Risk for nitrosative stress and benefits. **Antioxidants**, v. 9, n. 3, p. 241, 2020.

KASHIF, A.; REHMAN, R.; FUWAD, A.; SHAHID, M. K.; DAYARATHNE, H. N. P.; JAMAL, A.; AFTAB, M. N.; MAINALI, B.; CHOI, Y. Current advances in the classification, production, properties and applications of microbial biosurfactants—A critical review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 306, p. 102718, 2022.

KAUR, G.; WANG, H.; TO, M. H.; ROELANTS, S. L.; SOETAERT, W.; LIN, C. S. K. Efficient sophorolipids production using food waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 232, p. 1-11, 2019.

KAVUŞAN, H. S.; SERDAROĞLU, M.; NACAĞ, B.; İPEK, G. An approach to manufacture of fresh chicken sausages incorporated with black cumin and flaxseed oil in water gelled emulsion. **Food science of animal resources**, v. 40, n. 3, p. 426, 2020.

KHALAFALLA, F. A.; ALI, H. M.; EL-FOULEY, A. Microbiological evaluation of chicken meat products. **Journal of Veterinary Medical Research**, v. 26, n. 2, p. 151-163, 2019.

KIM, T. K.; YONG, H. I.; JUNG, S.; KIM, Y. B.; CHOI, Y. S. Effects of replacing pork fat with grape seed oil and gelatine/alginat for meat emulsions. **Meat Science**, v. 163, p. 108079, 2020.

KŁOSOWSKA, A.; WAWRZYŃCZAK, A.; FELICZAK-GUZIŁ, A. Microencapsulação como via de obtenção de aromas e fragrâncias encapsuladas. **Cosméticos**, v. 10, n.1, pág. 26, 2023.

KOCZOŃ, P.; JOSEFSSON, H.; MICHOROWSKA, S.; TARNOWSKA, K.; KOWALSKA, D.; BARTYZEL, B. J.; NIEMIEC, T.; LIPINSKA, E.; GRUCZYŃSKA-SĘKOWSKA, E. The Influence of the structure of selected polymers on their properties and food-related applications. **Polymers**, v. 14, n. 10, p. 1962, 2022.

KOH, A; GROSS, R. A versatile family of sophorolipid esters: Engineering surfactant structure for stabilization of lemon oil-water interfaces. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 507, p. 152-163, 2016.

KONISHI, M.; FUKUOKA, T.; MORITA, T.; IMURA, T.; KITAMOTO, D. Production of new types of sophorolipids by *Candida batistae*. **Journal of Oleo Science**, v. 57, n. 6, p. 359-369, 2008.

KONISHI, M.; YOSHIDA, Y.; HORIUCHI, J. Efficient production of sophorolipids by *Starmerella bombicola* using a corncob hydrolysate medium. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 119, n. 3, p. 317-322, 2015.

KULAKOVSKAYA, E.; BASKUNOV, B.; ZVONAREV, A. The antibiotic and membrane-damaging activities of cellobiose lipids and sophorose lipids. **Journal of Oleo Science**, v. 63, n. 7, p. 701-707, 2014.

KURĆUBIĆ, V.; STAJIĆ, S.; MILETIĆ, N.; STANIŠIĆ, N. Healthier meat products are fashionable—Consumers love fashion. **Applied Sciences**, v. 12, n. 19, p. 10129, 2022.

KURTZMAN, C. P.; PRICE, N. P.; RAY, K. J.; KUO, T. M. Production of sophorolipid biosurfactants by multiple species of the *Starmerella (Candida) bombicola* yeast clade. **FEMS microbiology letters**, v. 311, n. 2, p. 140-146, 2010.

LABUSCHAGNE, P. Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. **Food Research International**, v. 107, p. 227-247, 2018.

LEAO, R. F. C. **Formulação alternativa para elaboração de salsicha em uma indústria de processamento de carnes**. 2014. 23 f. Monografia (Especialização em Engenharia de Produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

LESTARI, A. D.; SISWANTA, D.; MARTIEN, R.; MUDASIR, M. Zeta potential examination of β -carotene encapsulated in starch-chitosan/tripoly-phosphate microparticles. *In: AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing, 2021.

LEYVA-PORRAS, C.; ROMÁN-AGUIRRE, M.; CRUZ-ALCANTAR, P.; PÉREZ-URIZAR, J. T.; SAAVEDRA-LEOS, M. Z. Application of antioxidants as an alternative improving of shelf life in foods. **Polysaccharides**, v. 2, n. 3, p. 594-607, 2021.

LI, X.; ZHANG, Z. H.; QIAO, J.; QU, W.; WANG, M. S.; GAO, X.; ZHANG, C.; BRENNAN, C. S.; QI, X. Improvement of betalains stability extracted from red dragon fruit peel by ultrasound-assisted microencapsulation with maltodextrin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 82, p. 105897, 2022.

LI, Y.; CHEN, Y.; TIAN, X.; CHU, J. Advances in sophorolipid-producing strain performance improvement and fermentation optimization technology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, p. 1-13, 2020.

LIMA, J. L.; ASSIS, B. B.; ARCANJO, N. M.; GALVÃO, M. D. S.; OLEGÁRIO, L. S.; BEZERRA, T. K.; MADRUGA, M. S. Impact of use of byproducts (chicken skin and abdominal fat) on the oxidation of chicken sausage stored under freezing. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 4, p. 1114-1124, 2020.

LIN, Q.; SI, Y.; ZHOU, F.; HAO, W.; ZHANG, P.; JIANG, P.; CHA, R. Advances in polysaccharides for probiotic delivery: Properties, methods, and applications. **Carbohydrate Polymers**, p. 121414, 2023.

LIRA, I. R. D. S.; SANTOS, E. M. D. S.; DOS SANTOS, J. C.; DA SILVA, R. R.; DA SILVA, Y. A.; DURVAL, I. J. B.; GUERRA, J. M. C.; SARUBBO, L. A.; DE LUNA, J. M. Production of biosurfactant by *Candida guillhermondii* and application in a mayonnaise emulsion. **Chemical Engineering Transactions**, v. 87, p. 259-264, 2021.

MA, X. J.; LI, H.; SHAO, L. J.; SHEN, J.; SONG, X. Effects of nitrogen sources on production and composition of sophorolipids by *Wickerhamiella domercqiae* var. *sophorolipid* CGMCC 1576. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 91, n. 6, p. 1623-1632, 2011.

MA, X.; MENG, L.; ZHANG, H.; ZHOU, L.; YUE, J.; ZHU, H.; YAO, R. Sophorolipid biosynthesis and production from diverse hydrophilic and hydrophobic carbon substrates. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 1, p. 77-100, 2020.

MANESSIS, G.; KALOGIANNI, A. I.; LAZOU, T.; MOSCHOVAS, M.; BOSSIS, I.; GELASAKIS, A. I. Plant-derived natural antioxidants in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 9, n. 12, p. 1215, 2020.

MARCHETTI, L.; ANDRÉS, S. C.; CALIFANO, A. N. Physicochemical, microbiological and oxidative changes during refrigerated storage of n-3 PUFA enriched cooked meat sausages with partial NaCl substitution. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, p. e12920, 2017.

MARKET ANALYSIS REPORT, 2016. Processed meat market size, share & trends analysis report by type, by distribution channel, by region, and segment forecasts, 2019 to 2025. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/processed-meat-market/methodology>. Acesso em: 13 out. 2020.

MATTOS, G. N.; SANTOS, D. A.; TORREZAN, R.; TONON, R. V.; FURTADO, A. A. L.; CABRAL, L. M. C. Efeito antimicrobiano do extrato de bagaço de uva microencapsulado em salsichas de pescado. *In: Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25.; CIGR SESSION 6 INTERNATIONAL TECHNICAL SYMPOSIUM, 10., 2016, Gramado. Alimentação: árvore que sustenta a vida. Anais... Gramado: SBCTA Regional, 2016.*

McCLEMENTS, D. J.; BAI, L.; CHUNG, C. Recent advances in the utilization of natural emulsifiers to form and stabilize emulsions. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 8, p. 205-236, 2017.

MEHTA, N.; KUMAR, P.; VERMA, A. K.; UMARAW, P.; KUMAR, Y.; MALAV, O. P.; SAZILI, A. Q.; DOMÍNGUEZ, R.; LORENZO, J. M. Microencapsulation as a noble technique for the application of bioactive compounds in the food industry: A comprehensive review. **Applied Sciences**, v. 12, n. 3, p. 1424, 2022.

MEIRELES, B. R. L. A.; VITOR, R. C. L.; MORAIS, S. K. Q.; BARBOSA, T. C. M.; COSTA, S. S.; FONSECA, S. B. Evaluation of the potential coloring and antioxidant of betalains (*Beta vulgaris*, L.) in chicken mortadella. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. 1-22, 2020.

MENG, Q.; ZHONG, S.; GAO, Y.; CUI, X. Advances in polysaccharide-based nano/microcapsules for biomedical applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2022.

MIKA, M.; ANTONCZYK, A.; WIKIERA, A. Influence of Synthetic Antioxidants Used in Food Technology on the Bioavailability and Metabolism of Lipids-In Vitro Studies. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 73, n. 1, p. 95-107, 2023.

MINUCELLI, T.; RIBEIRO-VIANA, R. M.; BORSATO, D.; ANDRADE, G.; CELY, M. V. T.; DE OLIVEIRA, M. R.; BALDO, C.; CELLIGOI, M. A. P. C. Sophorolipids production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and its potential application in soil bioremediation. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 3, p. 743-753, 2016.

MINUCELLI, T.; RIBEIRO-VIANA, R. M.; BORSATO, D.; ANDRADE, G.; CELY, M. V. T.; OLIVEIRA, M. R.; BALDO, C.; CELLIGOI, M. A. P. C. Sophorolipids production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and its potential application in soil bioremediation. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 3, p. 743-753, 2017.

MOHAMMED, N. K.; TAN, C. P.; MANAP, Y. A.; MUHIALDIN, B. J.; HUSSIN, A. S. M. Spray drying for the encapsulation of oils—A review. **Molecules**, v. 25, n. 17, p. 3873, 2020.

MOHAMMED, N. K.; ALHELLI, A. M.; MEOR HUSSIN, A. S. Influence of different combinations of wall materials on encapsulation of *Nigella sativa* oil by spray dryer. **Journal of Food Process Engineering**, v. 44, n. 3, p. e13639, 2021.

MOLAAHMADI, M. R.; VARSHOSAZ, J.; TAYMOURI, S.; AKBARI, V. Lipid nanocapsules for imatinib delivery: Design, optimization and evaluation of anticancer activity against melanoma cell line. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR**, v. 18, n. 4, p. 1676, 2019.

MOMCHILOVA, M. M.; GRADINARSKA-IVANOVA, D. N.; YORDANOV, D. G.; ZSIVANOVITS, G. I. Microstructure and technological properties of cooked meat sausages prepared with emulsions of vegetable oils as substitutes for animal fat. **Food Research**, v. 7, n. 4, p. 22-29, 2023.

MONTOYA-YEPES, D. F.; JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ, A. A.; ALDANA-PORRAS, A. E.; VELÁSQUEZ-HOLGUIN, L. F.; MÉNDEZ-ARTEAGA, J. J.; MURILLO-ARANGO, W. Starches in the encapsulation of plant active ingredients: state of the art and research trends. **Polymer Bulletin**, p. 1-29, 2023.

MORYA, V. K.; PARK, J. H.; KIM, T. J.; JEON, S.; KIM, E. K. Production and characterization of low molecular weight sophorolipid under fed-batch culture. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 282-288, 2013.

MOUSAVI, F.; BEHESHTI-MAAL, K.; MASSAH, A. Production of sophorolipid from an identified current yeast, *Lachancea thermotolerans* BBMCZ7FA20, isolated from honey bee. **Current microbiology**, v. 71, n. 2, p. 303-310, 2015.

MUDALIGE, T.; QU, H.; VAN HAUTE, D.; ANSAR, S. M.; PAREDES, A.; INGLE, T. Characterization of nanomaterials: Tools and challenges. **Nanomaterials for Food Applications**, p. 313-353, 2019.

MUZAFFAR, K.; KUMAR, P. Spray drying of tamarind pulp: effect of process parameters using protein as carrier agent. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 2, p. e12781, 2017.

NOOR, S.; RADHAKRISHNAN, N. S.; HUSSAIN, K. Sausage formulations and effects of addition of different non-meat ingredients on sausages-a review. **International Journal of Livestock Research**, v. 6, n. 12, p. 1-19, 2016.

NOVAKOVIĆ, S.; ĐEKIĆ, I.; KLAUS, A., VUNDUK, J.; ĐORĐEVIĆ, V.; TOMOVIĆ, V.; ŠOJIĆ, B.; KOCIĆ-TANACKOV, S.; TOMAŠEVIĆ, I. NOVAKOVIĆ, Saša et al. Antioxidant activity of mushrooms in vitro and in frankfurters. **Scientific journal" Meat Technology"**, v. 61, n. 1, p. 62-69, 2020.

NUÑEZ, A.; ASHBY, R.; FOGLIA, T. A.; SOLAIMAN, D. K. Y. LC/MS analysis and lipase modification of the sophorolipids produced by *Rhodotorula bogoriensis*. **Biotechnology Letters**, v. 26, p. 1087–1093, 2004.

OLIVEIRA, C. A. R.; FILHO, H. R.; GRÖTZNER, S. R. **Técnicas e métodos para utilização prática de microscopia**. 1a ed. São Paulo: GEN - Grupo Editorial Nacional, Editora Santos, 2011. v. 1, 440p.

OLIVEIRA ALENCAR, D. D.; DE SOUZA, E. L.; DA CRUZ ALMEIDA, E. T.; DA SILVA, A. L.; OLIVEIRA, H. M. L.; CAVALCANTI, M. T. Microencapsulation of *Cymbopogon citratus* DC stapf essential oil with spray drying: development, characterization, and antioxidant and antibacterial activities. **Foods**, v. 11, n. 8, p. 1111, 2022.

OWUSU-ANSAH, P.; BESIWAH, E. K.; BONAHA, E.; AMAGLOH, F. K. Non-meat ingredients in meat products: A scoping review. **Applied Food Research**, v. 2, n. 1, p. 100044, 2022.

PAL, S.; CHATTERJEE, N.; DAS, A. K.; MCCLEMENTS, D. J.; DHAR, P. Sophorolipids: A comprehensive review on properties and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, 102856, 2023.

PARÉS, D.; PÈLACH, M. À.; TOLDRÀ, M.; SAGUER, E.; TARRÉS, Q.; CARRETERO, C. Nanofibrillated cellulose as functional ingredient in emulsion-type meat products. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, p. 1393-1401, 2018.

PARKS, L. L.; CARPENTER, J. A. Functionality of six non meat proteins in meat emulsion systems. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 2, p. 271-278, 1987.

PATARATA, L.; MARTINS, S.; SILVA, J. A.; FRAQUEZA, M. J. Red wine and garlic as a possible alternative to minimize the use of nitrite for controlling *Clostridium sporogenes* and *Salmonella* in a cured sausage: safety and sensory implications. **Foods**, v. 9, n. 2, p. 1-18, 2020.

PATEIRO, M.; DOMÍNGUEZ, R.; LORENZO, J. M. Recent research advances in meat products. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1303, 2021.

PAULINO, B. N.; PESSÔA, M. G.; MANO, M. C. R.; MOLINA, G.; NERI-NUMA, I. A.; PASTORE, G. M. Current status in biotechnological production and applications of glycolipid biosurfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 24, p. 10265-10293, 2016.

PEKIN, G.; VARDAR-SUKAN, F.; KOSARIC, N. Production of sophorolipids from *Candida bombicola* ATCC 22214 using Turkish corn oil and honey. **Engineering in Life Sciences**, v. 5, n. 4, p. 357-362, 2005.

PETKOVA, D.; MIHAYLOVA, D.; DESSEVA, I. Microencapsulation in food industry—an overview. In: **BIO Web of Conferences**. EDP Sciences, 2022. p. 02005.

PINTADO, T.; COFRADES, S. Quality characteristics of healthy dry fermented sausages formulated with a mixture of olive and chia oil structured in oleogel or emulsion gel as animal fat replacer. **Foods**, v. 9, n. 6, p. 830, 2020.

PISOSCHI, A. M.; POP, A.; GEORGESCU, C.; TURCUŞ, V.; OLAH, N. K.; MATHE, E. An overview of natural antimicrobials role in food. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 922-935, 2018.

PONTES, C.; ALVES, M.; SANTOS, C.; RIBEIRO, M. H.; GONÇALVES, L.; BETTENCOURT, A. F.; RIBEIRO, I. A. C. Can sophorolipids prevent biofilm formation on silicone catheter tubes? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 513, n. 1–2, p. 697–708, 2016.

POOMTIEN, J.; THANİYAVARN, J.; PINPHANICHAKARN, P.; JINDAMORAKOT, S.; MORIKAWA, M. Production and characterization of a biosurfactant from *Cyberlindnera samutprakarnensis* JP52T. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 77, n. 12, p. 2362-2370, 2013.

PRESTES, R. C.; SILVA, L. B.; TORRI, A. M. P.; KUBOTA, E. H.; ROSA, C. S.; ROMAN, S. S.; KEMPKA, A. P.; DEMIATE, I. M. Sensory and physicochemical evaluation of low-fat chicken mortadella with added native and modified starches. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 7, p. 4360-4368, 2015.

PUDZIUVELYTE, L.; MARKSA, M.; JAKSTAS, V.; IVANAUSKAS, L.; KOPUSTINSKIENE, D.; BERNATONIENE, J. Microencapsulation of *Elsholtzia ciliata* herb ethanolic extract by spray-drying: impact of resistant-maltodextrin complemented with sodium caseinate, skim milk, and beta-cyclodextrin on the quality of spray-dried powders. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1461, 2019.

QI, X.; XU, X.; ZHONG, C.; JIANG, T.; WEI, W.; SONG, X. Removal of cadmium and lead from contaminated soils using sophorolipids from fermentation culture of *Starmerella bombicola* CGMCC 1576 fermentation. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 11, p. 2334, 2018.

QIN, Z.; GUO, W.; LIU, J.; ZHAO, G.; LIU, M.; SONG, X. Reduced-Cost Production of Sphorolipids by *Starmmerella bombicola* CGMCC1576 Grown on Cottonseed Molasses and Cottonseed Oil-Based Medium. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5759, 2023.

QUEIROZ, C. A. U.; SILVEIRA, V. A. I.; HIPÓLITO, A.; CELLIGOI, M. A. P. C. Perspectivas de aplicação de soforolipídio microbiano na indústria de alimentos
In: VIERA, V. B.; PIOVESAN, N. Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos 3. Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. p. 103-114.

R Studio R CORE TEAM. (2021). R: A language and environment for statistical computing. <https://www.R-project.org>

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. 12, p. 2182-2185, 1992.

REN, Y.; HUANG, L.; ZHANG, Y.; LI, H.; ZHAO, D.; CAO, J.; LIU, X. Application of emulsion gels as fat substitutes in meat products. **Foods**, v. 11, n. 13, p. 1950, 2022.

RESEARCH AND MARKETS, 2023. Global chicken market, size, forecast 2023-2028, industry trends, growth, share, outlook, impact of inflation, opportunity company analysis. Disponível em: <https://www.researchandmarkets.com/report/chicken>. Acesso em: 04 set. 2023.

RIEL, G.; BOULAABA, A.; POPP, J.; KLEIN, G. Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages—Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. **Meat Science**, v. 131, p. 166-175, 2017.

TAWALI, A. B. R.; SAID, M. I.; SARI, S. F.; ANWAR, L. O.; NURDIN, I. N.; SAID, A.; TAMTAMA, A.; AUZA, F. A.; ZZAMAN, W.; JEINIE, M. H.; RAHMAN, M. N. A.; HUDA, N. Characteristics of the beef cheek meat-based sausage added with snakehead (*Channa striata*) gGelatin. **International Journal of Food Science**, v. 2023, 2023.

SAIFULLAH, M.; SHISHIR, M. R. I.; FERDOWSI, R.; RAHMAN, M. R. T.; VAN VUONG, Q. Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 230-251, 2019.

SALEK, K.; EUSTON, S. R. Sustainable microbial biosurfactants and bioemulsifiers for commercial exploitation. **Process Biochemistry**, v. 85, p. 143-155, 2019.

SANTHI, D.; KALAIKANNAN, A.; SURESHKUMAR, S. Factors influencing meat emulsion properties and product texture: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 10, p. 2021-2027, 2017.

SANTOS, F. H. D.; SOUZA, L. L. D.; DUARTE, A. K. C.; RIBEIRO, M. C.; PEREIRA, K. C.; COSTA, J. M. G. D. Influence of wall materials on the microencapsulation of pequi oil by spray drying. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, 2020.

SARUBBO, L. A.; SILVA, M. C.; DURVAL, I. J. B.; BEZERRA, K. G. O.; RIBEIRO, B. G.; SILVA, I. A.; TWIGG, M. S.; BANAT, I. M. Biosurfactants: Production, properties, applications, trends, and general perspectives. **Biochemical Engineering Journal**, v. 181, p. 108377, 2022.

SAUCIER, L. Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. **Meat Science**, v. 120, p. 78-84, 2016.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas. **Braz. J. Food Technol.**, v. 12, n. 2, p. 113-122, 2009.

SEN, S.; BORAH, S. N.; BORA, A.; DEKA, S. Production, characterization, and antifungal activity of a biosurfactant produced by *Rhodotorula babjevae* YS3. **Microbial Cell Factories**, v. 16, n. 1, p. 1-14, 2017.

SHARMA, H.; MENDIRATTA, S. K.; AGARWAL, R. K.; GURUNATHAN, K. Bio-preservative effect of blends of essential oils: natural anti-oxidant and anti-microbial agents for the shelf life enhancement of emulsion based chicken sausages. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, p. 3040-3050, 2020.

SHIN, D. J.; YIM, D. G.; KWON, J. A.; KIM, S. S.; LEE, H. J.; JO, C. Effect of cutting time and cooking temperature on physicochemical properties of chicken breast meat emulsion sausage with olive oil. **Poultry Science**, v. 101, n. 1, p. 101554, 2022.

SHIN, S.; CHOI, W. Variation in significant difference of sausage textural parameters measured by texture profile analysis (TPA) under changing measurement conditions. **Food Science of Animal Resources**, v. 41, n. 4, p. 739, 2021.

SILVA, I. A.; VERAS, B. O.; RIBEIRO, B. G.; AGUIAR, J. S.; GUERRA, J. M. C.; LUNA, J. M.; SARUBBO, L. A. Production of cupcake-like dessert containing microbial biosurfactant as an emulsifier. **PeerJ**, n. 8, p. 1-23, 2020.

SILVA, S. L.; AMARAL, J. T.; RIBEIRO, M.; SEBASTIÃO, E. E.; VARGAS, C.; DE LIMA FRANZEN, F.; SCHNEIDER, G.; LORENZO, J. M.; FRIES, L. L. M.; CICHOSKI, A. J.; CAMPAGNOL, P. C. B. Fat replacement by oleogel rich in oleic acid and its impact on the technological, nutritional, oxidative, and sensory properties of Bologna-type sausages. **Meat Science**, v. 149, p. 141-148, 2019.

SILVEIRA, V. A. I.; FREITAS, C. A. U. Q.; CELLIGOI, M. A. P. C. Antimicrobial applications of sophorolipid from *Candida bombicola*: a promising alternative to conventional drugs. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 6, n. 6, p. 87-90, 2018.

SILVEIRA, V. A. I.; NISHIO, E. K.; FREITAS, C. A. U. Q.; AMADOR, I. R.; KOBAYASHI, R. K. T.; CARETTA, T.; MACEDO, F.; CELLIGOI, M. A. P. C. Production and antimicrobial activity of sophorolipid against *Clostridium perfringens* and *Campylobacter*

jejuni and their additive interaction with lactic acid. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, p. 1-7, 2019.

SILVEIRA, V. A. I.; MARIM, B. M.; HIPÓLITO, A.; GONÇALVES, M. C.; MALI, S.; KOBAYASHI, R. K. T.; CELLIGOI, M. A. P. C. Characterization and antimicrobial properties of bioactive packaging films based on polylactic acid-sophorolipid for the control of foodborne pathogens. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, p. 1-7, 2020.

SILVEIRA, V. A. I.; KOBAYASHI, R. K. T.; DE OLIVEIRA JUNIOR, A. G.; MANTOVANI, M. S.; NAKAZATO, G.; CELLIGOI, M. A. P. C. Antimicrobial effects of sophorolipid in combination with lactic acid against poultry-relevant isolates. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 1769-1778, 2021.

ŠOJÍČ, B.; PAVLIĆ, B.; IKONIĆ, P.; TOMOVIĆ, V.; IKONIĆ, B.; ZEKOVIĆ, Z.; KOCIĆ-TANACKOVA, S.; JOKANOVIĆA, M.; ŠKALJACA, S.; IVIĆ, M. Coriander essential oil as natural food additive improves quality and safety of cooked pork sausages with different nitrite levels. **Meat Science**, v. 157, p. 1-8, 2019.

SONAWANE, S. H.; BHANVASE, B. A.; SIVAKUMAR, M.; POTDAR, S. B. Current overview of encapsulation. **Encapsulation of Active Molecules and Their Delivery System**, p. 1-8, 2020.

SOUTO, V. O.; SANTOS, E. B. S.; ALVES, N. S.; NASCIMENTO, V. F.; SILVA, A. R. Análise instrumental em salsicha: cor e textura. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 7, n. 2, p. 280-283, 2017.

SOUZA, K. S. T.; GUDIÑA, E. J.; SCHWAN, R. F.; RODRIGUES, L. R.; DIAS, D. R.; TEIXEIRA, J. A. Improvement of biosurfactant production by *Wickerhamomyces anomalus* CCMA 0358 and its potential application in bioremediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 346, p. 152-158, 2018.

SOUSA, V. I.; PARENTE, J. F.; MARQUES, J. F.; FORTE, M. A.; TAVARES, C. J. Microencapsulation of essential oils: A review. **Polymers**, v. 14, n. 9, p. 1730, 2022.

STRASHYNSKIY, I.; FURSIK, O.; PASICHNIY, V.; MARYNIN, A.; GONCHAROV, G. The study of properties of minces in boiled sausages with functional food composition use. **Food Science and Technology**, n. 6, p. 31-36, 2016.

SUKUMAR, A.; GURUMOORTHY, P.; ATHMASELVI, K. A. Effect of ultrasonication on emulsion formulation, encapsulation efficiency, and oxidative stability of spray dried chia seed oil. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 6, p. 1761-1771, 2023.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food quality and preference**, v. 13, n. 4, p. 215-225, 2002.

TEIXEIRA, A.; RODRIGUES, S. Consumer perceptions towards healthier meat products. **Current Opinion in Food Science**, v. 38, p. 147-154, 2021.

TESHOME, E.; FORSIDO, S. F.; RUPASINGHE, H. P.; OLIKA KEYATA, E. Potentials of natural preservatives to enhance food safety and shelf life: A review. **The Scientific World Journal**, v. 2022, 2022.

TIMILSENA, Y. P.; HAQUE, M. A.; ADHIKARI, B. Encapsulation in the food industry: A brief historical overview to recent developments. **Food and Nutrition Sciences**, v. 11, n. 6, p. 481-508, 2020.

TITUS, D.; SAMUEL, E. J. J.; ROOPAN, S. M. Nanoparticle characterization techniques. *In*: SHUKLA, A. K.; IRAVANI, S. **Green synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles**. Amsterdam, NE: Elsevier, 2019, p. 303-319.

TO, M. H.; WANG, H.; LAM, T. N.; KAUR, G.; ROELANTS, S. L.; LIN, C. S. K. Influence of bioprocess parameters on sophorolipid production from bakery waste oil. **Chemical Engineering Journal**, v. 429, p. 132246, 2022.

TOMOVIĆ, V.; ŠOJIĆ, B.; SAVANOVIĆ, J.; KOCIĆ-TANACKOV, S.; PAVLIĆ, B.; JOKANOVIĆ, M.; ĐORDEVIC, V.; PARUNOVIC, N.; MARTINOVIC, A.; VUJADINOVIĆ, D. New Formulation towards healthier meat products: *Juniperus communis* L. essential oil as alternative for sodium nitrite in dry fermented sausages. **Foods**, v. 9, n. 8, p. 1-17, 2020.

TOMSONE, L.; GALOBURDA, R.; KRUMA, Z.; DURRIEU, V.; CINKMANIS, I. Microencapsulation of horseradish (*Armoracia rusticana* L.) juice using spray-drying. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1332, 2020.

TULLOCH, A. P.; SPENCER, J. F. T.; DEINEMA, M. H. A new hydroxy fatty acid sophoroside from *Candida bogoriensis*. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 345-348, 1968.

UKRAINETS, A.; PASICHNIY, V.; ZHELUDENKO, Y.; ZADKOVA, S. Oleoresins effect on cooked poultry sausages microbiological stability. **Ukrainian Food journal**, n. 5, Issue 1, p. 124-135, 2016.

VALOTTEAU, C.; BANAT, I. M.; MITCHELL, C. A.; LYDON, H.; MARCHANT, R.; BABONNEAU, F.; PRADIER, C.; BACCILE, C.; HUMBLLOT, V. Antibacterial properties of sophorolipid-modified gold surfaces against Gram positive and Gram negative pathogens. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 157, p. 325-334, 2017.

VEIGA, R. D. S. D.; APARECIDA DA SILVA-BUZANELLO, R.; CORSO, M. P.; CANAN, C. Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 31, n. 6, p. 457-473, 2019.

VILLALOBOS-DELGADO, L. H.; NEVÁREZ-MOORILLON, G.V.; CARO, I.; QUINTO, E. J.; MAT, J. Natural antimicrobial agents to improve foods shelf life. **Food Quality and Shelf Life**, p. 125-157, 2019.

WANG, H.; ROELANTS, S. L.; TO, M. H.; PATRIA, R. D.; KAUR, G.; LAU, N. S.; VAN BOGAERT, I. N. A.; SOETAERT, W.; LIN, C. S. *Starmarella bombicola*: recent advances

on sophorolipid production and prospects of waste stream utilization. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 94, n. 4, p. 999-1007, 2019.

WARNER, R.; MILLER, R.; HA, M.; WHEELER, T. L.; DUNSHEA, F.; LI, X.; VASKOSKA, R.; PURSLOW, P. Meat tenderness: Underlying mechanisms, instrumental measurement, and sensory assessment. **Meat and Muscle Biology**, v. 4, n. 2, 2021.

WINDHORST, H. Dynamics and patterns of global poultry-meat production. *In: Poultry quality evaluation*. Woodhead Publishing, 2017. p. 1-25.

WU, H.; RICHARDS, M. P.; UNDELAND, I. Lipid oxidation and antioxidant delivery systems in muscle food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 2, p. 1275-1299, 2022.

XU, X.; LIU, A.; HU, S.; ARES, I.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R.; WANG, X.; MARTÍNEZ, M.; ANADÓN, A.; MARTÍNEZ, M. A. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. **Food Chemistry**, v. 353, p. 129488, 2021.

XUE, C. L.; SOLAIMAN, D. K. Y.; ASHBY, R. D.; ZERKOWSKI, J.; LEE, J. H.; HONG, S.; YANG, D.; SHIN, J. CHEN-MING JI, C. M.; LEE, K. T. Study of structured lipid-based oil-in-water emulsion prepared with sophorolipid and its oxidative stability. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 90, p. 123–132, 2013.

YADAV, J. P.; KAUR, S.; DHAKA, P.; VIJAY, D.; BEDI, J. S. Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial resistance profile of *Clostridium perfringens* from India: A scoping review. **Anaerobe**, v. 77, p. 102639, 2022.

YAGHOUBI, M.; ALIREZALU, K.; HESARI, J.; PEIGHAMBARDoust, S. H.; MARCINKOWSKA-LESIAK, M.; BARZEGAR, Y.; HOSEINIAN-KHOSROSHAHI, S. R.; MARSZALEK, K.; KHANEGHAH, A. M. Application of oleaster leaves (*Elaeagnus angustifolia* L.) essential oil and natural nanoparticle preservatives in frankfurter-type sausages: An assessment of quality attributes and stability during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 198, p. 109097, 2023.

ZHANG, X.; ASHBY, R.; SOLAIMAN, D. K. Y.; UKNALIS, J.; FAN, X. Inactivation of *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. by palmitic, stearic, and oleic acid sophorolipids and thiamine dilauryl sulfate. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1–11, 2016a.

ZHANG, X.; FAN, X.; SOLAIMAN, D. K. Y.; ASHBY, R. D. LIU, Z.; MUKHOPADHYAY, S.; YAN, R. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 *in vitro* and on the surface of spinach leaves by biobased antimicrobial surfactants. **Food Control**, v. 60, p. 158–165, 2016b.

ZHANG, X.; ASHBY, R. D.; SOLAIMAN, D. K. Y.; LIUB, Y.; FAN, X. Antimicrobial activity and inactivation mechanism of lactic and free acid sophorolipids against *Escherichia coli* O157:H7. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 11, p. 176-182, 2017.

ZHANG, Y.; JIA, D.; SUN, W.; YANG, X.; ZHANG, C.; ZHAO, F.; LU, W. Semicontinuous sophorolipid fermentation using a novel bioreactor with dual ventilation

pipes and dual sieve-plates coupled with a novel separation system. **Microbial Biotechnology**, v. 11, n. 3, p. 455-464, 2018.

ZHANG, C.; KHOO, S. L. A.; SWEDLUND, P.; OGAWA, Y.; SHAN, Y.; QUEK, S. Y. Fabrication of spray-dried microcapsules containing noni juice using blends of maltodextrin and gum acacia: Physicochemical properties of powders and bioaccessibility of bioactives during in vitro digestion. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1316, 2020.

ZHU, X.; ZHANG, J.; LIU, S.; GU, Y.; YU, X.; GAO, F.; WANG, R. Relationship between molecular structure and heat-induced gel properties of duck myofibrillar proteins affected by the addition of pea protein isolate. **Foods**, v. 11, n. 7, p. 1040, 2022.