



Universidade Federal
de São João del-Rei

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS**

IANA CLEONICE SOARES DE SOUZA

**ANÁLISE SOBRE O USO DE BIOCONSERVANTES COMO
ALTERNATIVA NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS**

**Ouro Branco
2021**

IANA CLEONICE SOARES DE SOUZA

**ANÁLISE SOBRE O USO DE BIOCONSERVANTES COMO
ALTERNATIVA NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Engenharia de Bioprocessos da
Universidade Federal de São João del-Rei, Campus
Alto Paraopeba, como parte das exigências para a
obtenção do título de Bacharel em Engenharia de
Bioprocessos

Orientador: Prof. Dr. Edson Romano Nucci

**Ouro Branco
2021**

RESUMO

A deterioração e as Doenças Transmitidas por Alimentos representam um grave problema de saúde pública e grandes perdas econômicas para a indústria e o consumidor. Apesar de ser um processo simples e de baixo custo, a utilização imprópria ou por um longo período dos conservantes químicos provocam doenças e alergias. Assim, novas abordagens de métodos biológicos naturais estão sendo estudadas para tentar solucionar esses problemas. O presente trabalho teve como objetivo realizar uma pesquisa bibliográfica sobre os bioconservantes de diferentes origens e analisar se estes são uma boa alternativa para a conservação de alimentos. As pesquisas foram realizadas utilizando bases de dados online, obtendo trabalhos e livros nas línguas portuguesa, inglesa e espanhola, no período entre 1990 e 2021. Portanto, o desenvolvimento desse trabalho abordou os tipos, os mecanismos de ação e as aplicações dos bioconservantes, os quais proporcionam o aumento da vida útil dos alimentos e da segurança alimentar, além de apresentar um mercado promissor que possibilita ganhos socioeconômicos e ambientais. Pode-se observar que, embora os desafios existentes, o uso de bioconservantes é uma alternativa promissora para a segurança alimentar e ambiental, pois os resíduos gerados são considerados atóxicos ao ambiente. Além disso, por possuírem um espectro de ação conhecido e específico, não destroem substâncias e microrganismos desejáveis no alimento.

Palavras-chave: bioconservante; conservação de alimentos; atividade antimicrobiana; antioxidante; bioprocessos.

ABSTRACT

Spoilage and Foodborne Diseases represent a serious public health problem and great economic losses for the industry and the consumer. Despite being a simple and low cost process, the improper or long term use of chemical preservatives causes diseases and allergies. Thus, new approaches of natural biological methods are being studied to try to solve these problems. The present work aimed to conduct a literature search on bioconservatives of different origins and analyze whether they are a good alternative for food preservation. The research was performed using online databases, obtaining works and books in Portuguese, English and Spanish languages, in the period between 1990 and 2021. Therefore, the development of this work addressed the types, mechanisms of action, and applications of bioconservatives, which provide an increase in food shelf life and food safety, besides presenting a promising market that enables socioeconomic and environmental gains. It can be observed that, despite the existing challenges, the use of bioconservatives is a promising alternative for food and environmental safety, because the residues generated are considered non-toxic to the environment. In addition, because they have a known and specific spectrum of action, they do not destroy desirable substances and microorganisms in the food.

Keywords: biopreservative; food preservation; antimicrobial activity; antioxidant; bioprocesses.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Propostas de classificação das bacteriocinas em ordem cronológica	24
Figura 2 - As aplicações da engenharia de bioprocessos centradas nas necessidades da humanidade.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sintomas, aparecimento de sintomas e microrganismos responsáveis ou toxina para as principais doenças transmitidas por alimentos.....	12
Tabela 2 - Lista de patógenos de origem alimentar envolvidos em surtos de água e alimentos contaminados.....	13
Tabela 3 - Leveduras de deterioração.....	15
Tabela 4 - Aplicação de óleos vegetais como bioconservante alimentar	21
Tabela 5 - Classificação das bacteriocinas proposta por Alvarez-Sieiro <i>et al.</i> , 2016.....	25
Tabela 6 - Aplicação da bacteriocina do BAL na preservação de alimentos	27
Tabela 7 - Produtos fagos aprovados para aplicações de segurança alimentar	30
Tabela 8 - Bioconservantes de origem animal.....	32
Tabela 9 - Embalagens ativas e aplicações como agentes antioxidantes na indústria alimentar	35
Tabela 10 - Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas e óleos essenciais adicionados a queijos.....	49
Tabela 11 - Incorporação de bactérias vivas em filmes e revestimentos comestíveis, mostrando microrganismos, matriz polimérica, aditivos, aplicação em alimentos e patógenos inibidos por esses filmes ou revestimentos comestíveis.....	50
Tabela 12 - incorporação de leveduras vivas em filmes e revestimentos comestíveis, mostrando microrganismo antagônico, matriz polimérica, aditivos, aplicação em alimentos e patógenos inibidos por esses filmes ou revestimentos comestíveis.....	52
Tabela 13 - Exemplos de produtos de bioprocessamento.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BAL - Bactérias do ácido láctico

DTA - Doenças transmitidas por alimentos

FDA - *Food and Drug Administration*

GRAS - *Generally Recognized As Safe*

MPT - Modificações Pós-Tradução

OE's - Óleos essenciais

OMS - Organização Mundial da Saúde

PMNs - Grânulos secundários dos neutrófilos

QPS - *Qualified Presumption of Safety*

RiPPs - Peptídeos sintetizados ribossomicamente e modificados pós-tradução

RSL - Revisão Sistemática de Literatura

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	9
2.1	Objetivo Geral	9
2.2	Objetivos Específicos	9
3	METODOLOGIA	10
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
4.1	Microrganismos preocupantes na indústria de alimentos.....	11
4.1.1	Principais patógenos transmissores de doenças através de alimentos	11
4.1.2	Microrganismos deteriorantes de alimentos.....	14
4.2	O problema dos conservantes químicos	16
4.3	Bioconservantes	17
4.4	Tipos de bioconservantes e suas aplicações	18
4.4.1	Bioconservantes de origem vegetal	18
4.4.2	Bioconservante de origem microbiana	21
4.4.2.1	Bacteriocinas	22
4.4.2.2	Bacteriófagos.....	28
4.4.3	Bioconservantes de origem animal	31
4.5	Embalagens e filmes bioconservantes	33
5	ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E O MERCADO DOS BIOCONSERVANTES	36
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38
	REFERÊNCIAS	39
	ANEXO.....	49

1 INTRODUÇÃO

O século XX foi marcado pela implantação da área de tecnologia de alimentos, a qual a adesão de métodos de preservação e conservação proporcionou a industrialização em massa. Assim, a urbanização e o ritmo acelerado da sociedade moderna, ocasionaram mudanças no hábito alimentar da população, a qual procurou mais praticidade no preparo dos alimentos, causando preferência pelos produtos que são prontos ou semiprontos para o consumo, o que promoveu o esquecimento dos alimentos naturais e *in natura* no momento da compra (ROMAN *et al.*, 2008; LEONARDI e AZEVEDO, 2018). Logo, essa globalização do mercado de alimentos e a distribuição e processamento em grande escala de matérias-primas e produtos alimentícios, criaram nichos ecológicos para os quais os microrganismos de diferentes regiões do mundo podem se adaptar, levantando novos problemas que a indústria de alimentos deve resolver (GÁLVEZ *et al.*, 2014).

Desse modo, a contaminação na linha de produção de alimentos exhibe um sério problema para a saúde pública. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 23 milhões de pessoas adquirem Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) sendo que em torno de 4.700 perdem a vida por ano só na Europa. As DTAs são causadas por bactérias e suas toxinas, vírus e outros parasitas ou substâncias químicas. Segundo dados de 2016 fornecidos pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), no Brasil houve mais de 700 surtos de DTA, os quais deixaram 13 mil doentes e 10 óbitos.

A indústria de alimentos tem obrigação de assegurar a segurança das mercadorias que produzem, abrangendo a execução de sistemas de controle que certifiquem a ausência de microrganismos patogênicos nos alimentos, fazendo com que o setor invista mais de 5 bilhões de euros nessas operações. Todavia, diversos microrganismos patogênicos contaminantes, como *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *E. coli* enteropatogênica, *Salmonella*, *S. aureus*, *Cryptosporidium parvum*, entre outros, continuam a aparecer eventualmente em alimentos diversos (GARCÍA *et al.*, 2010).

Além dos microrganismos patogênicos, outra preocupação é a deterioração dos alimentos, a qual gera não somente prejuízo econômico, como também perda de alimentos consumíveis. Portanto, em muitos países onde a produção de alimentos não é eficaz, a deterioração dos alimentos é desfavorável a disponibilidade dos mesmos, que, para certos produtos em alguns países, a perda pode chegar a 25% ou mais (RAY e BHUNIA, 2013).

Assim, os métodos de conservação de alimentos têm como objetivo aumentar a segurança e a vida útil dos alimentos, inibindo ou retardando o crescimento de microrganismos

patogênicos e deteriorantes. Os conservantes químicos geram um efeito antimicrobiano que interfere nos componentes estruturais e funcionais dos microrganismos e sua eficácia depende do tipo e concentração do produto químico, a composição, temperatura e o pH do alimento, o tipo de microrganismos e seu estado fisiológico e a duração de armazenagem (RAY, 2018).

Entretanto, alguns conservantes químicos podem ser mal utilizados, os quais são adicionados aos alimentos visando disfarçar ou camuflar produtos mal processados e até mesmo deteriorados o que pode afetar a saúde humana quando consumidos nessas condições (ABRANTES *et al.*, 2007). Desse modo, é notório a necessidade de elaborar alternativas de conservação para que, associadas às tecnologias existentes, viabilize a oferta de alimentos de qualidade microbiológica e toxicológica seguras à população (SCHULZ *et al.*, 2005).

Nesse contexto, a preservação de alimentos por métodos biológicos naturais pode ser uma abordagem para resolver muitos dos problemas atuais relacionados à alimentação. Então, a bioconservação ou biocontrole refere-se ao uso de microbiota natural ou controlada, ou seus produtos antimicrobianos utilizando-se de suas propriedades antibacterianas e antioxidantes, atribuídas aos produtos finais do seu metabolismo como ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, diacetaldeídos, reuterina e seus peptídeos antimicrobianos, as bacteriocinas, para estender a vida útil e aumentar a segurança dos alimentos (STILES, 1996; VÁSQUEZ *et al.*, 2009, GÁLVEZ *et al.*, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar uma pesquisa bibliográfica acerca da utilização de bioconservantes como alternativa na preservação de alimentos.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar levantamento sobre os tipos de bioconservantes e suas aplicações;
- Identificar os benefícios da aplicação dos bioconservantes nos alimentos;
- Analisar o mercado dos bioconservantes.

3 METODOLOGIA

A metodologia para realizar este trabalho baseou-se na pesquisa de literatura, a qual representa um passo inicial para qualquer pesquisa científica e se desenvolve com fundamento em materiais já existentes como livros, artigos e teses. Assim, a pesquisa bibliográfica possui caráter exploratório, pois permite maior familiaridade com o problema, aprimoramento de ideias ou descoberta de intuições (GIL, 2007). Desse modo, entre os vários métodos de revisão, destaca-se a revisão sistemática da literatura (RSL), a qual é definida como um método sistemático, explícito e reproduzível que permite identificar, avaliar e sintetizar os estudos realizados por investigadores, acadêmicos e profissionais da área (FINK, 2014).

Para a realização deste trabalho, foram utilizadas bases de dados online como o Google Acadêmico, SCOPUS, SciELO, Periódicos Capes e bibliotecas virtuais de universidades para buscar artigos, teses e livros com delimitação de ano de publicação entre 1990 e 2021 e nos idiomas português, inglês e espanhol, usando as palavras-chave e combinações de termos como: ‘bioconservantes’, ‘biopreservação’, ‘bacteriocinas’, ‘aditivos alimentares’, ‘embalagens bioativas’ e ‘mercado de bioconservantes’. Os fatores excludentes, foram os materiais que necessitavam de permissão para seu acesso ou que se encontravam indisponíveis no momento.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Microrganismos preocupantes na indústria de alimentos

4.1.1 Principais patógenos transmissores de doenças através de alimentos

A segurança alimentar é um tema complexo que implica em todos os segmentos da sociedade, desde o público em geral ao governo, indústria e economia (FDA, 2012). As doenças transmitidas por alimentos são provenientes da ingestão de alimentos contendo agentes biológicos ou patógenos, como bactérias, vírus, parasitas ou alimentos contaminados por produtos químicos tóxicos ou biotoxinas (OMS, 2018).

As DTAs causadas por agentes biológicos decorrem do consumo de alimentos que contém biotoxinas produzidas por um patógeno ou o próprio organismo patogênico, o qual se estabelece e multiplica-se no hospedeiro humano. Dessa forma, as enfermidades de origem alimentar são usualmente classificadas em: (a) infecção de origem alimentar e (b) intoxicação de origem alimentar.

Nas infecções de origem alimentar, considerando o tempo preciso para o desenvolvimento de uma infecção, o tempo desde a ingestão até a manifestação dos sintomas é muito mais longo do que o das intoxicações de origem alimentar, a qual não há necessidade da presença de organismos vivos, sendo provocada pela ingestão de toxinas que foram pré-formadas nos alimentos (BARI e UKUKU, 2015; BINTSIS, 2017).

As infecções de origem alimentar são divididas em dois tipos: (a) infecções invasivas, as quais são provocadas por patógenos que ocupam tecidos e órgãos do corpo e (b) infecções tóxicas, que são causadas por bactérias infecciosas que não são consideradas invasivas por natureza, mas são capazes de se multiplicarem ou colonizarem no trato intestinal humano e produzem toxinas (BARI e UKUKU, 2015).

Um dos desafios da indústria é que os microrganismos patogênicos de origem alimentar são difíceis de serem controlados, pois quando presente ou cultivado em um alimento pode não alterar o visual estético ou qualidade sensorial dos produtos. Então, torna-se necessário a realização de testes microbiológicos ou analíticos para avaliar a contaminação do patógeno (BHUNIA, 2018).

Os sintomas, o início dos sintomas e os microrganismos mais comuns causadores das principais doenças de origem alimentar, além dos principais patógenos de origem alimentar envolvidos em surtos de água e alimentos contaminados estão descritos na Tabela 1 e Tabela 2, respectivamente.

Tabela 1 - Sintomas, aparecimento de sintomas e microrganismos responsáveis ou toxina para as principais doenças transmitidas por alimentos

Tempo aproximado de início dos sintomas	Sintomas predominantes	Organismo ou toxina associada
1-7h, média 2-4h	Náuseas, ânsia de vômito, vômitos, diarreia, dor abdominal, desânimo	<i>S. aureus</i> e suas enterotoxinas
0,5-6h	Vômitos ou diarreia, dependendo se a toxina diarreica ou emética está presente; cólicas abdominais; náusea	<i>Bacillus cereus</i> (toxina emética)
2-36h, média 6-12h	Cólicas abdominais, diarreia, enterocolite associada a <i>Clostridium perfringens</i> ; as vezes náusea e vômito	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Bacillus cereus</i> (diarrheic form), <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>S. faecium</i>
12-48h	Náuseas, vômitos, desidratação, diarreia não sangrenta aguda	Norovírus
6-96h, média 1-3 dias	Febre, cólicas abdominais, diarreia, vômitos, dor de cabeça	<i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp., <i>E. coli</i>
6h a 5 dias	Cólicas abdominais, diarreia, vômitos, febre, mal-estar, náusea, dor de cabeça, desidratação	<i>Vibrio cholerae</i> (O1 e não-O1), <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
1-10 dias, média 3-4 dias	Diarreia (muitas vezes sangrenta), dor abdominal, náusea, vômito, mal-estar, febre (incomum com <i>E. coli</i> O157:H7)	<i>Enterohaemorrhagic E. coli</i> , <i>Campylobacter</i> spp.
3-5 dias	Febre, vômito, diarreia não inflamatória a aguada	Rotavírus, Astrovírus, Adenovírus Enteric
3-7 dias	Febre, diarreia, dor abdominal	<i>Yersinia enterocolitica</i>
1 a várias semanas	Dor abdominal, diarreia, prisão de ventre, dor de cabeça, sonolência, úlceras, muitas vezes assintomáticas	<i>Entamoeda histolytica</i>
3-6 meses	Nervosismo, insônia, dores de fome, anorexia, perda de peso, dor abdominal, às vezes gastroenterite	<i>Taenia saginata</i> , <i>T. solium</i>
4-28 dias	Gastroenterite, febre, edema ao redor dos olhos, transpiração, dor muscular, calafrios, prostração, respiração trabalhada	<i>Trichinella spiralis</i>
2h a 6 dias, geralmente 12-36h	Vertigem, visão dupla ou turva, perda ou reflexo de luz, dificuldade em engolir, boca seca, fraqueza, paralisia respiratória	<i>Clostridium botulinum</i> e suas neurotoxinas

Tabela 1 - Continuação

Tempo aproximado de início dos sintomas	Sintomas predominantes	Organismo ou toxina associada
7-28 dias	Mal-estar, dor de cabeça, febre, tosse, náusea, vômito, prisão de ventre, dor abdominal, calafrios, fezes ensanguentadas	<i>Salmonella typhi</i>
10-13 dias	Febre, dor de cabeça, mialgia, erupção cutânea	<i>Toxoplasma gondii</i>
1 a várias semanas	Dor abdominal, diarreia, prisão de ventre, dor de cabeça, sonolência, úlceras variáveis; frequentemente assintomático	<i>Entamoeba histolytica</i>
1-6 semanas	Diarréia, muitas vezes excepcionalmente fétida; fezes gordurosas; dor abdominal; perda de peso	<i>Giardia lamblia</i>
Períodos variados	Febre, calafrios, dor de cabeça, artralgia, prostração, mal-estar, linfonodos inchados e outros sintomas específicos da doença em questão	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Campylobacter jejuni</i>

Fonte: FDA, 2012 adaptado por BINTSIS, 2017.

Tabela 2 - Lista de patógenos de origem alimentar envolvidos em surtos de água e alimentos contaminados

Bactéria	Vírus	Parasitas	Fungos/ micotoxinas
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Astrovirus	<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> /Aflatoxin
<i>Bacillus anthracis</i>	Hepatitis A vírus	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus carbonarius</i> /ochratoxin
<i>Bacillus cereus/subtilis/licheniformis</i>	Hepatitis E vírus	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Fusarium verticillioides</i> /fumonisin
<i>Brucella abortus/melitensis/suis</i>	Norovirus	<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Penicillium expansum</i> /patulin
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	Rotavirus	<i>Cystoisospora belli</i>	trichothecenes
<i>Clostridium botulinum</i>		<i>Taenia solium/saginata</i>	<i>Fusarium verticillioides</i> /DON (desoxinivalenol)
<i>Clostridium perfringens</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>	
<i>Cronobacter sakazakii</i>		<i>Trichinella spiralis</i>	
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva/enterotoxigênica			
<i>Listeria monocytogenes</i>			
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>			
<i>Salmonella</i> entérica			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Shigella</i> spp.			
<i>Vibrio</i> spp.			

<i>V.cholerae non-01</i>	
<i>V. parahaemolyticus</i>	
<i>V. vulnificus</i>	
<i>V. fluvialis</i>	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	

Fonte: BHUNIA, 2018.

4.1.2 Microrganismos deteriorantes de alimentos

A vida útil de alimentos é reduzida e até finalizada pela presença de microrganismos deteriorantes de alimentos, proporcionando uma grande perda para a indústria e o consumidor (MARTINS, 2015). Assim, é imprescindível a identificação do principal microrganismo deteriorante (fungos ou bactérias) do alimento, em adição a adesão de processos ou substâncias que propiciem a diminuição ou ausência de crescimento microbiano para reduzir esses prejuízos causados pela deterioração (PITT e HOCKING, 2009).

A contaminação por leveduras pode ser encontrada em vários estágios no processo alimentar, durante a pós-colheita, no processamento ou armazenamento desses alimentos. Os fungos costumam colonizar alimentos com alto teor de açúcar ou sal e contribuem para a deterioração do xarope de bordo, pickles e Chucrute. Ademais, frutas e sucos com pH baixo são outro alvo, e existem algumas leveduras que crescem nas superfícies de carnes e queijos (DE ALCÂNTARA *et al.*, 2020; RAWAT, 2015).

Segundo PITT e HOCKING (2009), a deterioração, por leveduras, de alimentos que foram processados e embalados conforme os padrões normais de boas práticas de fabricação são ocasionadas principalmente por dez espécies de leveduras, as quais estão citadas na Tabela 3. Essas espécies podem provocar no alimento mudança na textura, descoloração, formação de biofilme, sabores estranhos, produção de gás, entre outros, sendo responsáveis por grandes perdas de alimentos processados em todo o mundo todo ano.

Os fungos filamentosos, conhecidos popularmente como bolores, são muito importantes para reciclar restos mortais de plantas e animais na natureza, mas também atacam uma grande variedade de alimentos consumidos por humanos. Eles são bem adaptados para crescimento em e por meio de substratos sólidos, geralmente produzem esporos transportados pelo ar e requerem oxigênio para seus processos metabólicos (RAWAT, 2015). Além disso, a maioria dos bolores requer menos umidade disponível do que o necessário para a maioria das leveduras e bactérias, possuindo a temperatura ideal para o crescimento em temperatura ambiente, variando entre 25°C e 30°C (BARBA *et al.*, 2017). Alguns dos gêneros de bolores que são

deteriorantes de alimentos são: *Mucor spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.*, *Alternaria spp.*, *Bothrytis spp.*, *Eurotium spp.*, *Cladosporium spp.*, entre outros.

Tabela 3 - Leveduras de deterioração

Levedura	Propriedades Importantes
<i>Brettanomyces bruxellensis</i>	Produção de odores estranhos em cerveja, sidra e refrigerantes
<i>Candida krusei</i>	Resistente a conservantes; formação de filme em azeitonas, picles e molhos
<i>C. parapsilosis</i>	Lipólise fermentativa; causa deterioração em uma ampla variedade de alimentos, incluindo queijo, margarinas, laticínios e produtos de frutas
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Crescimento em baixa presença de água em alimentos preservados com NaCl, especialmente carne salgada
<i>Kazachstania exígua</i>	Resistente moderadamente a conservantes; de ocorrência comum em salmouras de oliva, raramente é a causa de deterioração de chucrute ou de sucos, laticínios ou refrigerantes
<i>Kloeckera apiculata</i>	Deterioração de frutas frescas e processadas
<i>Pichia anômala</i>	Deterioração de frutas processadas e iogurtes contendo frutas
<i>P. membranaefaciens</i>	Resistente a conservantes; formação de filme em azeitonas, picles e molhos
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> <i>R. glutinis</i>	Comum contaminante alimentar; deterioração de produtos lácteos; deterioração ocasional de frutas frescas
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Contaminante alimentar comum; às vezes causa deterioração fermentativa em refrigerantes; algumas cepas resistentes a conservantes
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Resistente a conservantes; levedura de deterioração relativamente rara
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Resistente a conservantes; deterioração fermentativa de ácido, produtos líquidos em conserva, como sucos, molhos, cidras e vinhos
<i>Z. bisporus</i>	Resistente a conservantes; propriedades intermediárias entre <i>Z. bailii</i> e <i>Z. rouxii</i>
<i>Z. rouxii</i>	Crescimento em presença de água extremamente baixa; deterioração fermentativa de concentrados de suco, mel, compotas, confeitaria, frutas secas embaladas, etc.

Fonte: PITT e HOCKING, 2009.

Além dos fungos, há espécies bacterianas de vários gêneros que causam deterioração na maioria dos alimentos. A deterioração depende das características bacterianas, características dos alimentos e condições de armazenamento (RAY e BHUNIA, 2013). Pode-se classificar as bactérias em duas categorias:

(a) bactérias psicrótróficas: as quais constituem a espécie bacteriana capaz de crescer em temperaturas de 5°C e abaixo, mas se multiplicam rapidamente entre 10°C e 25°C e até mesmo em temperaturas mais altas;

(b) bactérias termofílicas: as quais crescem entre 40°C e 90°C, com crescimento ótimo entre 55°C e 65°C. Então, as principais bactérias relacionadas à deterioração são *Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Pediococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Kurthia zopfii* e *Weisella spp.*, algumas bactérias lácticas, como *Pediococcus acidilactici* e *Streptococcus thermophilus*, bem como alguns *Bacillus spp.* e *Clostridium spp.*

Os principais efeitos que essas bactérias causam nos alimentos são odores e sabores estranhos, descolorações, produção de gás, produção de limo e diminuição do pH (BARBA *et al.*, 2017; RAY e BHUNIA, 2013).

Vale ressaltar que, entre os microrganismos, alguns fungos, leveduras, bactérias e vírus desempenham papéis desejáveis e indesejáveis em nossa alimentação. Além disso, o uso de microrganismos é muito necessário para a obtenção de diversos alimentos, como cerveja, vinho, pão, queijos e leite fermentado (BARBA *et al.*, 2017). Portanto, alguns dos microrganismos citados nesse subtópico podem ser um problema para alguns alimentos e apresentar benefícios para outros, tornando-se necessário na indústria a presença de profissionais da área da biotecnologia que possam realizar a identificação e analisar se determinado microrganismo é prejudicial ou não para certo tipo de alimento.

4.2 O problema dos conservantes químicos

A conservação de alimentos é um fator essencial em todos os setores de alimentos e, principalmente, compreende a contenção do surgimento de microrganismos que aumentam os problemas relacionados à saúde nos consumidores e a deterioração dos produtos alimentícios (DANNENBERG *et al.*, 2016).

Os conservantes químicos são largamente usados na indústria de alimentos por conta do seu processo simples e de baixo custo. Todavia, desde a adoção desse tipo de conservante, surgiram muitos problemas de saúde causados pelo seu uso inadequado e excessivo a longo prazo, nacional e internacionalmente (SWEIS e CRESSEY, 2018; SKARIYACHAN e GOVINDARAJAN, 2019).

O nitrito de sódio (NaNO_2), por exemplo, é um conservante utilizado em carnes frias, presuntos, salsichas e bacon para controlar as bactérias que causam o botulismo, uma grave doença neurológica, entretanto, o nitrito de sódio pode reagir com proteínas, ou durante o cozimento em altas temperaturas, formando N-nitrosaminas, substâncias cancerígenas (MARTINS e MIDIO, 2000). Ademais, o benzoato de sódio ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$) e o ácido benzóico

(C₇H₆O₂), pode causar hiperatividade e formar o carcinogênico benzeno quando combinado com a vitamina C, causando sérios danos à tireóide, coração, baço, fígado, rim, cérebro e glândula adrenal (KUMAR *et al.*, 2013; AL-MAMUN *et al.*, 2018). Portanto, esses conservantes químicos, quando ingeridos inadequadamente, afetam o metabolismo de alguns nutrientes, prejudicando a funcionalidade de enzimas que realizam sua hidrólise e absorção (LEE *et al.*, 2011).

Em razão da segurança alimentar e ambiental, houve um desinteresse no uso desses compostos, visto que estes podem ser associados a problemas teratogênicos, carcinogênicos e toxicológicos, e por estarem também relacionados a resistência de microrganismos patogênicos devido ao seu uso indiscriminado (OOTANI, 2013; ABBASZADEH *et al.*, 2014).

4.3 Bioconservantes

A expressão bioconservante é utilizada para incluir os compostos antimicrobianos e antioxidantes que são de origem vegetal, animal e microbiana. A tecnologia da bioconservação consiste na inoculação de alimentos com uma substância antimicrobiana de uma das origens citadas anteriormente, selecionada para prevenir o desenvolvimento de outros micróbios indesejáveis, de modo a estender o tempo de vida útil e aumentar a segurança do alimento (RAY, 2018; PILET e LEROI, 2011).

Assim, as antigas civilizações perceberam que os alimentos fermentados além de possuírem sabores delicados e refrescantes, também dispõem de uma vida útil mais longa e chances reduzidas de causar doenças de origem alimentar, pois as culturas iniciais do microrganismo podem crescer para que possam produzir metabólitos antimicrobianos. Esses compostos possuem a capacidade de interagirem com moléculas-alvo e interferirem nas funções das células de microrganismos por meio de mecanismos que geram modificações nas propriedades da membrana citoplasmática e no metabolismo energético além de inibirem a síntese de ácido nucleico (BARBOSA *et al.*, 2015). Portanto, os bioconservantes são usados na ou como alimentação humana há muito tempo, sem qualquer efeito adverso na saúde, e a noção da segurança e a estabilidade dos alimentos fermentados foram transferidas ao longo dos séculos ajudando a compreender sua base científica (RAY e BHUNIA, 2013; RAY, 2018).

Além disso, segundo PADILLA (2017), os bioconservantes apresentam como vantagens o fato de serem seguros para uso na cadeia alimentar humana e com menos limitações do que os conservantes sintéticos, não demonstra resistência conhecida ou impacto ambiental, por serem degradáveis, também possuem espectro de ação bem definido, dispõem de baixo ou nulo

impacto sensorial no produto e têm um efeito complementar ao de outros agentes antimicrobianos e/ou técnicas de conservação, como o processamento em alta pressão, campo elétrico pulsado, aquecimento, entre outros.

De forma geral, os bioconservantes antimicrobianos atuam na lise da membrana ou parede celular; bloqueio da síntese de DNA, RNA e proteína; liberação de compostos celulares; alteração do potencial da membrana; e intervenção no metabolismo intermediário ou na produção de energia (REN *et al.*, 2021).

4.4 Tipos de bioconservantes e suas aplicações

4.4.1 Bioconservantes de origem vegetal

Foi reconhecido que ervas e especiarias possuem um amplo espectro de constituintes ativos que exibem atividades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitárias e/ou antivirais (GÁLVEZ *et al.*, 2014). Essas atividades dos extratos vegetais ocorrem por conta das propriedades associadas a mecanismos naturais de defesa em oposição a infecções, herbivoria e variações climáticas (BURT, 2004; COSTA *et al.*, 2015). Ademais, esses compostos são metabólitos secundários, moléculas biologicamente ativas como terpenos, compostos fenólicos como timol, eugenol, carvacrol, e também constituintes como linalol, sabineno, mentol, mirceno e canfeno, entre outros (BURT, 2004; MORO *et al.*, 2013; ASENSIO *et al.*, 2015). As plantas também produzem uma variedade de peptídeos antimicrobianos, muitos dos quais podem ser agrupados em diferentes classes: tioninas, defensinas, proteínas de transferência de lipídios, ciclotídeos e snakins (PADOVAN *et al.* 2010).

Os óleos essenciais (OEs) se sobressaem em relação a outros extratos *in natura* como atividade antimicrobiana (EL ASBAHANI *et al.*, 2015). Os OEs contêm uma mistura complexa de compostos não voláteis e voláteis produzidos por plantas aromáticas, como metabólitos secundários que possuem antioxidantes, antirradicais e propriedades antimicrobianas, e são classificados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos como *Generally Recognized As Safe* (GRAS) e podem ser obtidos a partir de materiais vegetais, como flores, sementes, folhas, frutos ou casca (NIU *et al.*, 2016). Quimicamente são compostos de hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e compostos contendo enxofre. Esses compostos presentes em diferentes concentrações nos OEs, podem ser divididos em terpenos ou compostos de aroma (BAKKALI *et al.*, 2008).

No processo de extração dos OEs podem ser utilizados diversos métodos, entre eles, hidrodestilação, maceração, extração por solvente, enfleuragem, gases supercríticos e microondas (DIMA e DIMA, 2015; BAKKALI *et al.*, 2008).

As estruturas de muitos dos compostos fitoquímicos, contidos nos OEs, por exemplo, foram adaptadas para interagir com muitos alvos moleculares e celulares diferentes, incluindo enzimas, receptores de hormônios, receptores de neurotransmissores e transportadores transmembrana, sendo capazes de imitar uma resposta no alvo molecular correspondente, de modo que não há um alvo celular que algum fitoquímico não possa se adaptar (SVOBODA, 2005).

Apesar dos mecanismos de atuação dos fitoquímicos não serem bem estabelecidos, estudos mostram que sua atividade se deve a capacidade de substâncias fenólicas modificar a permeabilidade das células microbianas, o que possibilita a passagem de compostos inespecíficos, deteriorar as membranas citoplasmáticas, liberando seu conteúdo e inibir a enzima ATPase, responsável pela produção de energia celular (ATP), causando a morte celular (BURT, 2004; FRIEDLY *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2016). Além disso, os óleos essenciais terpenóides, por possuírem uma complexidade na sua composição (podendo ter mais de 100 compostos), interagem com diversos alvos moleculares distintos, de modo a dificultar o desenvolvimento de uma resposta adequada dos microrganismos em foco, por ser preciso a resistência em dois alvos diferentes. Assim, os OEs podem apresentar uma eficiência maior do que os compostos puros sintetizados quimicamente (SVOBODA, 2005).

A aplicação dos OEs geralmente é feita através da dispersão dos mesmos em um polímero transportador ou encapsulados em micro ou nanoestruturas (RAVICHANDRAN *et al.*, 2011), pelo fato de apresentarem adversidades que modificam as propriedades sensoriais como insolubilidade em água, instabilidade e presença de sabor ou odor particular, quando é utilizado de forma direta nos alimentos, interferindo na sua atividade bioconservante (DANNENBERG *et al.*, 2017).

Estudos realizado por REIS *et al.* (2015), demonstraram que OE de gengibre foi efetivo contra *L. monocytogenes* entre as concentrações de 3 a 4%. O OE de orégano inibiu o *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella typhimurium* nas concentrações a partir de 1%. O OE de tomilho foi ativo com *S. aureus* na concentração de 4%, com a *E. coli* em 1,5%, contra *L. monocytogenes* a partir da concentração de 2,5%. O óleo de manjeriço também foi ativo contra *E. coli*, *Salmonella* e *S. aureus* a partir da concentração de 1%, 2,5% e 3,5%, respectivamente. Por fim, o OE de manjerona atuou contra *L. monocytogenes*, *E. coli* e *Samonella* a partir de 0,5%, 1,5% e 2,5%, respectivamente. Além desse estudo, ABDOLLAHZADEH *et al.* (2014) e EL ABED *et al.*

(2014), verificaram a atividade do OE de tomilho (0,8 a 1,2%) contra a *L. monocytogenes* em carne de peixe e usando 1% em carne bovina armazenada por 10 dias a 7°C, respectivamente.

TAYEL *et al.* (2012) estudou o efeito de semente preta, canela, alho, capim-limão, alcaçuz e romã contra *Salmonella typhimurium*, onde a maioria dos extratos examinados exibiu notável atividade antibacteriana contra cepas de *S. typhimurium* usando ensaios qualitativos e quantitativos. Sendo o extrato de casca de romã o que apresentou a maior atividade antibacteriana e o extrato de semente preta foi o mais fraco agente antibacteriano.

O chá verde demonstrou propriedades inibidoras contra os principais patógenos de origem alimentar, incluindo *L. monocytogenes*, *E. coli* O157: H7, *S. typhimurium*, *C. jejuni* e outros incluindo *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae* e *Vibrio cholera*, apresentando atividade funcional mesmo em altas temperaturas (100°C / 60min) ou em temperaturas de pasteurização (121°C / 15min) (PENG *et al.*, 2013).

SILVA (2018), mostrou a boa efetividade do OE de gengibre encapsulado em fibras ultrafinas de proteína isolada de soja, poli (óxido de etileno) e zeína contra *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, e *Pseudomonas aeruginosa* em concentrações de 3, 6, 9 e 12% diminuindo o crescimento bacteriano, em 79,5, 75,5, 100 e 100%, respectivamente.

O OE de sálvia (*Salvia officinalis* L.) em concentração de 1,5% e aroeira-salsa (*Schinus molle* L.) em 2% em carne bovina armazenada a 4 - 7°C por 15 dias, diminuiu a presença de *Salmonella typhimurium* (HAYOUNI *et al.*, 2008). Ademais, ANTUNES *et al.* (2017), avaliaram o efeito óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) encapsulado em fibras de zeína usando um complexo de inclusão em β -ciclodextrina e notaram maior atividade contra bactérias de *S. aureus* e *L. monocytogenes* em comparação com não encapsuladas e DJENANE *et al.* (2011) usou OE de eucalipto na concentração de 0,18% e 0,40%, murta-comum (*Myrtus communis*) com 0,24% e 0,44% e segulhera (*Satureja hortensis*) com 0,10% e 0,20%, obtendo inibição de *E. coli* e *S. aureus*, em carne bovina armazenada a 5 °C por 7 dias.

Em suma, os OEs a partir de concentração de 0,05% já demonstram atividade contra patógenos, como *S. Typhimurium*, *E. coli* O157: H7, *L. monocytogenes*, *B. cereus* e *S. aureus*, em sistemas alimentares (BAGAMBOULA *et al.* 2004).

Algumas das aplicações dos OEs como bioconservante alimentar estão descritas na Tabela 4 e a atividade antimicrobiana de plantas aromáticas e óleos essenciais adicionados a queijos encontra-se no anexo A.

Tabela 4 - Aplicação de óleos essenciais como bioconservante alimentar

Alimento	Óleo essencial	Microrganismo alvo	Referência
Carne moída	Tomilho (0,6%)	<i>E. coli</i> O157:H7	SOLOMAKOS <i>et al.</i> , 2008
Carne moída de ovelha	Orégano	<i>Salmonella enteritidis</i>	GOVARIS <i>et al.</i> , 2010
Carne moída de porco	Tomilho ou Manjerona	<i>E. coli</i>	TSERENNADMID <i>et al.</i> , 2010
Queijo Feta	Tomilho	<i>Vancomycin Enterococci</i> e <i>E. coli</i> O157:H7	SELIM, 2011
Trigo e grão de bico	Sementes de cominho	Leveduras de deteioriação	KEDIA <i>et al.</i> , 2014
Peito de frango	Orégano e alho	Microflora nativa	FERNÁNDEZ-PAN, CARRIÓN-GRANDA, MATÉ, 2014
Calabresa	Folha de louro	Coliformes	DA SILVEIRA <i>et al.</i> , 2014
Carne	Cravo	Microflora nativa	HERNÁNDEZ-OCHOA <i>et al.</i> , 2014
Carne	Cominho	Microflora nativa	HERNÁNDEZ-OCHOA <i>et al.</i> , 2014
Suco de maçã e laranja	Eucalipto	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	KUMAR <i>et al.</i> , 2014
Sem informação	Guaraná	<i>S. aureus</i>	BONILLA e SOBRAL, 2017

Fonte: Adaptado de DHIMAN e AGGARWAL, 2019.

4.4.2 Bioconservante de origem microbiana

Os bioconservantes de origem microbiana são os derivados de bactérias, fungos/leveduras e vírus. Assim, algumas leveduras, como por exemplo a *Saccharomyces cerevisiae*, produzem metabólitos com atividade antimicrobiana, as quais são chamadas de zimocinas ou micocinas, e podem atuar por meio da modificação da permeabilidade de membrana, inibição da replicação de DNA e hidrólise β -1,3-glucano. Apesar de exibirem um espectro de ação limitado, podem facilmente sofrer manipulações genéticas para ampliar o espectro (BAKALINSKY, 1992; STEWART, 2017). Entretanto, esses metabólitos não são muito bem descritos na literatura, sendo necessário a realização de estudos mais específicos sobre o tema, e, portanto, não serão apresentados com mais detalhes nesse trabalho.

4.4.2.1 Bacteriocinas

As bacteriocinas são produzidas por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fazendo parte do seu mecanismo de defesa, e podem ser definidas como peptídeos ou proteínas antimicrobianas, estáveis ao calor, sintetizadas no ribossomo e liberadas no meio extracelular, as quais atuam principalmente contra outras bactérias, podendo inibir ou matar espécies semelhantes taxonomicamente (espectro estreito) ou gêneros distintos (amplo espectro), sendo o segundo caso mais raro, de forma que a bacteriocina produzida por um determinado organismo não age contra ele mesmo (COTTER; HILL e ROSS, 2005, CHIKINDAS *et al.*, 2018).

Existe uma notável variedade de bacteriocinas identificadas na maioria das espécies bacterianas, sendo que uma mesma espécie pode gerar diferentes tipos de bacteriocinas, as quais divergem no espectro de atividade, modo de ação, características bioquímicas, peso molecular e origem genética (CINTAS *et al.*, 2001; CHIKINDAS *et al.*, 2018), e estão descritas em bancos de dados como o BAGEL4 (<http://bagel4.molgenrug.nl>) e BACTBASE (<http://bactibase.hammamilab.org/main.php>). As bacteriocinas mais estudadas são as de cepas de *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.* e *E. coli* (YANG *et al.*, 2014), e principalmente as produzidas por Bactérias do Ácido Lático (BAL), por a maioria dos gêneros serem reconhecidos como GRAS e *Qualified Presumption of Safety* (QPS). As bacteriocinas de BAL, são sensíveis a proteases digestivas, ou seja, não induz um efeito negativo na microbiota intestinal, atuam contra diversas bactérias patogênicas e deteriorantes de alimentos, e os alimentos produzidos com seu auxílio apresentarem estabilidade de armazenamento e propriedades sensoriais atraentes (EGAN *et al.*, 2016; SAVADOGO *et al.*, 2006). Assim, os bioconservantes mais utilizados na indústria para precaver a deterioração de alimentos são bacteriocinas como nisina (produzida por *Lactococcus lactis*) e pediocina PA-1 (produzida por *Pediococcus acidilactici*) (IORDACHE *et al.*, 2017).

A nisina é um peptídeo antimicrobiano (34 resíduos de aminoácidos), a qual é aplicada em produtos como queijo, carne e alimentos enlatados, e é utilizada como conservante alimentício evitando o crescimento de várias bactérias, como *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, entre outros patógenos, desde 1983 na Europa, sendo que em 1988 conseguiu aprovação do FDA para a mesma aplicação, sendo hoje usada em mais de 80 países (BALCIUNAS *et al.*, 2013; SOLTANI *et al.*, 2020). Entretanto, fatores como alteração do pH, presença de proteases endógenas, cátions divalentes, gordura e glutatona na matriz alimentar pode afetar sua atividade (BALCIUNAS *et al.*, 2013).

A Pediocina PA-1 é um peptídeo de 44 aminoácidos sem modificações pós-traducionais, direcionada à membrana de bactérias lácticas, a qual possui atividade antimicrobiana contra um amplo espectro de patógenos Gram-positivos. Ela é utilizada como ingrediente alimentar comercial para prolongar a vida útil de uma variedade de alimentos e, principalmente, para inibir o crescimento de *Listeria monocytogenes* em produtos cárneos prontos para consumo. Todavia, a pediocina não consegue acessar seu alvo nas bactérias Gam-negativas, devido a membrana externa (RODRÍGUEZ, MARTÍNEZ e KOK, 2002; WANG *et al.*, 2020).

Ademais, diversas propostas de classificação de bacteriocinas foram relatadas ao longo do tempo com base na proposta por KLANHAMMER (1993), a qual usou como modelo as bacteriocinas produzidas pelas BAL. Entretanto, novos subgrupos de Peptídeos sintetizados ribossomicamente e modificados pós-tradução (RiPPs) foram identificados recentemente, de forma que apesar de se encaixarem na definição de bacteriocina, não se adequam as classificações propostas. Desse modo, ALVAREZ-SIEIRO *et al.* (2016) sugeriram uma nova classificação, baseada nas propostas de COTTER *et al.* (2013) e ARNISON (2013), que englobasse as novas bacteriocinas descobertas, produzidas por outros microrganismos além das BAL, conforme o mecanismo de biossíntese e atividade biológica.

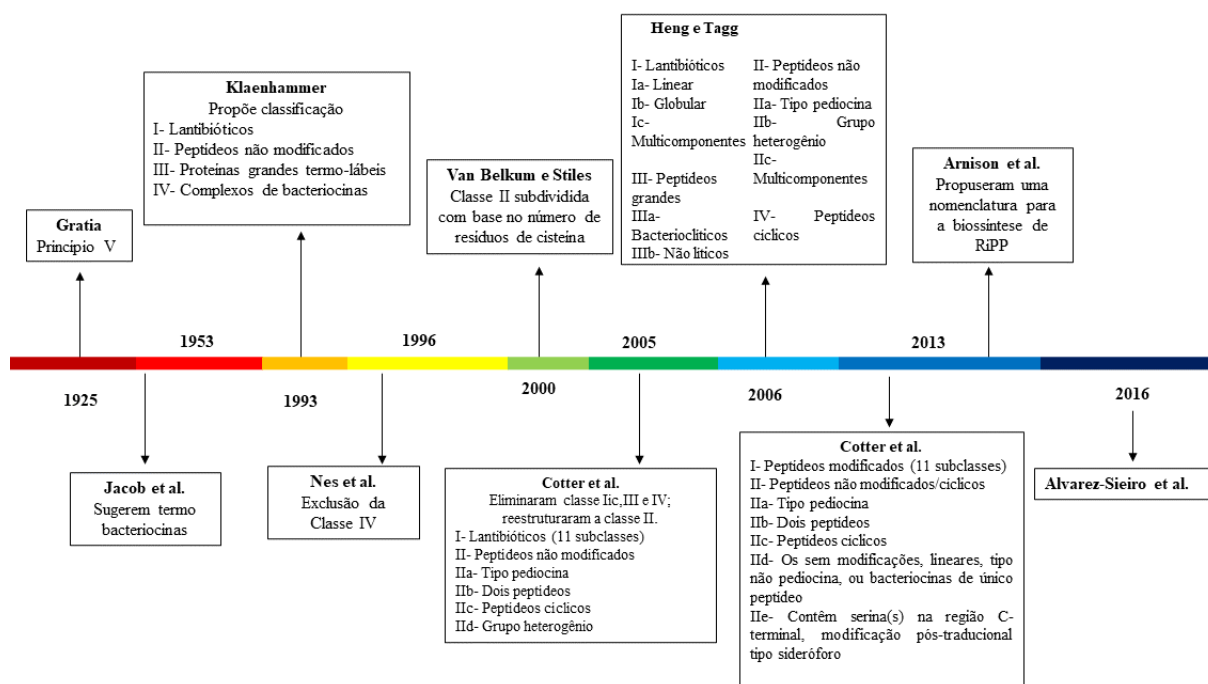
Na Figura 1 encontram-se as propostas de classificação das bacteriocinas em ordem cronológica.

Portanto, ALVAREZ-SIEIRO *et al.* (2016) sugeriu três classes de classificação das bacteriocinas, a Classe I (subdivida em Ia a If), Classe II (subdivida em IIa a IId) e Classe III:

Classe I - RiPPs (<10kDa): engloba totalmente os peptídeos que passam por modificação enzimática no decorrer da biossíntese, a qual proporciona moléculas com aminoácidos incomuns e estruturas que implicam em suas propriedades (por exemplo, lantionina, heterociclos, ciclização cabeça-a-cauda, glicosilação);

Classe II - bacteriocinas não modificadas (<10kDa): incorpora bacteriocinas que não possuem modificações incomuns, de forma que não necessitam de enzimas para sua maturação exceto uma peptidase líder e /ou um transportador.

Classe III - bacteriocinas não modificadas (>10kDa): reúne bacteriocinas com mecanismo de ação bacteriolítico ou não lítico.

Figura 1 - Propostas de classificação das bacteriocinas em ordem cronológica

Fonte: Adaptado OGAKI; FURLANETO e MAIA, 2015.

Na Tabela 5 encontra-se a classificação detalhada proposta por ALVAREZ-SIEIRO *et al.* (2016). O mecanismo de ação das bacteriocinas varia de acordo com a espécie, sendo que grande parte das bacteriocinas produzidas por BAL demonstram possuir um método de ação semelhante, atuando inicialmente na membrana ou parede celular do microrganismo alvo. De forma geral, os mecanismos podem ser divididos nos que atuam no envelope celular e nos que agem dentro da célula, impactando na expressão gênica e produção de proteínas, de modo que a bacteriocina pode utilizar só um ou os dois mecanismos, sendo que quando atuam com ambos pode impedir o desenvolvimento de resistência a mesma (COTTER; HILL e ROSS, 2013; EGAN *et al.*, 2016). Assim, as bacteriocinas que atuam no envelope celular são adsorvidas na superfície da membrana formando poros, causando perda da força próton-motriz e alterações no gradiente de concentração de H^+ , o que modifica a permeabilidade da membrana, acarretando a saída de pequenos composto de nutrientes e afetando o seu transporte, além de afetar a síntese de energia (ATP) e de proteínas, fazendo com que a célula-alvo perca a viabilidade. Além disso, as bacteriocinas podem matar seus alvos interferindo no DNA, RNA e no metabolismo das proteínas de muitas formas, um exemplo é a bacteriocina MccJ25, que após entrar na célula, inibe a transcrição, bloqueando o canal secundário da RNA polimerase (COTTER; HILL e ROSS, 2005, 2013).

Tabela 5 - Classificação das bacteriocinas proposta por ALVAREZ-SIEIRO *et al.*, 2016

Grupo	Definição	Exemplo	Referência
Classe Ia ou Lanthipeptídeos (Tipo I, II, III e IV)*	Apresentam aminoácidos incomuns, como lantionina e/ou (metil) lantionina, sofrem modificações pós-tradução (MPT) e os genes envolvidos na maturação estão situados no mesmo operon, normalmente	Tipo I- Nisina, Tipo II- bovicina HJ50	ARNISON <i>et al.</i> , 2013
Classe Ib ou peptídeos ciclizados cabeça-a-cauda	Possuem terminais N e C unidos por uma ligação peptídica, transformando-o em circular; apresentam apenas segmentos alfa-helicoidais (4 ou 5) e partilham uma estrutura semelhante com o dobramento saposina	Enterocina AS-48	MONTALBÁN-LÓPEZ <i>et al.</i> , 2012; LOHANS <i>et al.</i> , 2013; ACEDO <i>et al.</i> , 2015; HIMENO <i>et al.</i> , 2015
Classe Ic ou sactibióticos	Possuem enxofre para α -carbono	Subtilosina A	ARNISON <i>et al.</i> , 2013
Classe Id ou peptídeos contendo azol (in) e linear	Apresentam diversas associações de anéis heterocíclicos de tiazol e (metil) oxazol, oriundos de resíduos de cisteína, serina e treonina através de ciclodesidratação dependente de ATP e subsequente dependente de mononucleotídeo de flavina desidrogenação	Estreptolisina S	MELBY <i>et al.</i> , 2011
Classe Ie ou glicocinas	Possuem resíduo(s) glicosilado	Enterocina F4-9	ARNISON <i>et al.</i> , 2013
Classe If ou peptídeos de laço	Contêm uma ligação amida entre o primeiro aminoácido na cadeia do peptídeo central e um resíduo carregado negativamente nas posições +7 a +9, gerando um anel que envolve o terminal C parte linear do polipeptídeo	Microcina J25	ARNISON <i>et al.</i> , 2013; HEGEMANN <i>et al.</i> , 2015
Classe IIa ou bacteriocinas semelhantes à pediocina (subdivididas em 8 grupos)	São antimicrobianos de amplo espectro, especialmente ativos contra a <i>Listeria</i>	Pediocina PA-1	KJOS <i>et al.</i> , 2011
Classe IIb ou bacteriocinas de dois peptídeos	Compõem dois peptídeos distintos, sendo necessário a participação de ambos em quantidades semelhantes para que a atividade completa ocorra	Lactococcina G	NISSEN-MEYER <i>et al.</i> , 2010
Classe IIc ou bacteriocinas sem líder	São sintetizadas sem um peptídeo líder N-terminal, que atua normalmente como uma sequência de reconhecimento para secreção e modificação e mantém a bacteriocina inativa dentro da célula produtora	Enterocina L-50	LIU <i>et al.</i> , 2011; MASUDA <i>et al.</i> , 2012
Classe IId ou bacteriocinas de peptídeo único não semelhantes à pediocina	Grupo heterogêneo de bacteriocinas de peptídeo linear único não relacionado com diferentes estruturas, mecanismos de secreção e formas de ação	Lactococcina 972, Lactococcina A, Enterocina B	FRANZ <i>et al.</i> , 2007
Classe III	São proteínas antimicrobianas de grande peso molecular e termolábeis, normalmente constituída por domínios distintos	Enterolisina A, Zoocina A, Millericina B	ALVAREZ-SIEIRO <i>et al.</i> , 2016

Fonte: Elaborada pela autora com base em ALVAREZ-SIEIRO *et al.*, 2016.

* Os tipos III e IV não têm atividade antimicrobiana conhecida e podem ser desconsiderados.

A utilização de bacteriocinas na bioconservação de alimentos pode ser realizada introduzindo o organismo produtor dela ou a inclusão direta da bacteriocina semi-purificada ou purificada. Entretanto, quando utilizada de forma direta, pode ocorrer degradação da mesma, por estar suscetível a adsorção pelas matrizes alimentares ou interação com componentes alimentares (SILVA, C., SILVA, S. e RIBEIRO, 2018), portanto, há a necessidade de aplicar tecnologias que proporcionem a eficácia e integridade da molécula.

Uma alternativa para essa barreira é a encapsulação da bacteriocina em macro ou nanoestruturas, como por exemplo, lipossomas, embalagens/filmes e nanofibras, visando manter o funcionamento e a liberação controlada durante um período. Essas técnicas apresentam como vantagens a difusão homogênea no produto, maior alcance e interação com microrganismos, além de possibilitar o transporte de grandes quantidades de antimicrobianos (RAY e BHUNIA, 2013).

O emprego das bacteriocinas como bioconservantes, além de aumentarem a vida útil dos alimentos, fornece benefícios como a inalteração das propriedades organolépticas do alimento, por serem inodoras, incolores e sem sabor e reduzir a necessidade da aplicação de métodos agressivos no decorrer do processamento do produto alimentício, além de evitar grandes perdas econômicas por causa da deterioração dos mesmos (PEREZ, ZENDO e SONOMOTO 2014; SALTANI *et al.*, 2021).

Ademais, novos estudos estão sendo realizados para aumentar o espectro de ação das bacteriocinas por meio de manipulações genéticas, as quais propiciam o desenvolvimento de bacteriocinas híbridas. Pesquisas realizadas por ACUÑA *et al.* (2012, 2015), demonstraram a eficácia da bacteriocina Ent35-MccV, uma molécula que associa a ação da enterocina CRL35 e da microcina V, a qual foi eficiente no controle de microrganismos patogênicos como a *L. monocytogenes* e *E. coli O157:H7* no leite desnatado.

Algumas bacteriocinas produzidas pelas BAL e suas aplicações na conservação de alimentos estão listadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Aplicação da bacteriocina do BAL na preservação de alimentos

Cepa produtora	Bacteriocina	Aplicação em alimentos	Alvo	Referência
<i>L. lactis spp</i>	Nisina	Queijo cheddar	<i>L. monocytogenes</i> e <i>S. aureus</i>	RO, B. <i>et al.</i> , 2003; SILVA, CCG. <i>et al.</i> , 2018
<i>L. lactis spp</i>	Nisina	Leite e produtos lácteos	<i>B. cereus</i> , <i>C. botulinum</i> e <i>C. perfringens</i>	GHARSAL LAOUI, A. <i>et al.</i> , 2016; IBARRA-SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2020
<i>L. lactis spp</i>	Nisina	Laticínios, culinária, produtos de panificação e bebidas	<i>L. monocytogenes</i> , <i>B. cereus</i> e <i>C. botulinum</i>	SMITH, JP. <i>et al.</i> , 2004; IBARRA-SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2020
<i>L. lactis spp</i>	Nisina	Carnes e salsichas	<i>C. botulinum</i> e <i>L. monocytogenes</i>	Da COSTA <i>et al.</i> , 2019; SCOTT, V e TAYLOR, S., 2006
<i>L. lactis MG1614</i>	Enterocina A	Queijo tipo cottage	<i>L. monocytogenes</i>	VIMONT, A. <i>et al.</i> , 2017; KHAN, H. <i>et al.</i> , 2010
<i>E. faecium</i> CTC492 e <i>L. sakei</i> CTC494	Enterocinas A e B e sakacina K	Carne de porco cozida	<i>L. sakei</i> CTC746	ALVAREZ, Y. <i>et al.</i> , 2011; AYMERIC H, MT. <i>et al.</i> , 2002
<i>E. faecium</i> WHE 81/ <i>E. faecium</i> CTC492	Enterocinas A e B	Queijo Munster/ Salsichas fermentadas a seco	<i>L. monocytogenes</i> / <i>L. innocua</i>	KHAN, H. <i>et al.</i> , 2010; CASTELLANO, P. <i>et al.</i> , 2017
<i>E. faecium</i> L50	Enterocinas L50A e B	Cerveja com e sem álcool	<i>L. brevis</i> e <i>P. damnosus</i>	HATA, T. <i>et al.</i> , 2015
<i>P. acidilactici</i> MCH14	Pediocina PA-1	Salame Hornad fermentado a seco/ Salsichas secas e produtos de carne fermentados/Molhos para salada/Carne fresca, carne embalada a vácuo, queijo cottage, mistura para sorvete	<i>L. monocytogenes</i> / <i>C. perfringens</i> / <i>Lactobacillus biofermentans</i> / <i>Ln. mesentero ides</i>	LAUKOVA, A. <i>et al.</i> , 2011; NIETO-LOZANO <i>et al.</i> , 2010; SOMKUTI <i>et al.</i> , 2003

Tabela 6 – Continuação

Cepa produtora	Bacteriocina	Aplicação em alimentos	Alvo	Referência
<i>L. plantarum</i> LPBM10	LPBM10	Leite fermentado	<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella sp.</i> , <i>Serratia Marcescens</i>	ZAPATA <i>et al.</i> , 2009
<i>S. natalensis</i> ou <i>S. gilvosporeus</i>	Natamicina	Queijos, laticínios frescos, carnes processadas e bebidas	<i>Leveduras e fungos</i>	OLLÉ RESA <i>et al.</i> , 2014
Sem informação	Bacteriocina HKT-9	Vegetais	<i>Aeromonashydrophilia</i> e <i>S. aureus</i>	KUMAR <i>et al.</i> , 2012
<i>B. amyloliquefaciens</i> ZJHD3-06	Bacteriocina CAMT2	Carne, laticínios e produtos à base de carne	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	WU <i>et al.</i> , 2019; AN,J <i>et al.</i> , 2015
<i>W. hellenica</i> BCC 7239	Bacteriocinas 7293A e 7293B	Carnes e produtos derivados	<i>P. aeruginosa</i> , <i>A. hydrophila</i> , <i>S. typhimurium</i> e <i>E. coli</i>	Da COSTA <i>et al.</i> , 2019

Fonte: Adaptado NG *et al.*, 2020.

4.4.2.2 Bacteriófagos

Os bacteriófagos ou fagos são vírus inofensivos as plantas, animais e humanos, pois infectam especificamente bactérias e necessitam dos seus recursos para se replicarem através de um ciclo lítico ou lisogênico, e podem ser encontrados naturalmente em diversos alimentos e inclusive no microbioma intestinal humano (GARCÍA *et al.*, 2010; MONK *et al.*, 2010; SHKOPOROV e HILL, 2019). A infecção por bacteriófago começa com a ligação da partícula de fago a superfície da célula hospedeira, a ligação, a qual é altamente específica, ocorre por meio de uma proteína de ligação ao receptor da célula hospedeira, promovendo a introdução do seu genoma na célula-alvo. Para os fagos virulentos (ou líticos), o início da replicação do material genético acontece de imediato, construindo genomas e proteínas estruturais recém-sintetizados em partículas de fagos descendentes. Após o final do processo, são produzidas duas enzimas líticas, uma denominada holin, cria poros na membrana citoplasmática permitindo que outra enzima, chamada endolisina, se aproxime e hidrolise o peptidoglicano, degradando, assim, a parede celular e causando lise do hospedeiro, o que resulta na liberação de novos vírions de fago no ambiente, os quais podem infectar hospedeiros próximos. Em contrapartida, a infecção por bacteriófagos temperados (lisogênicos) não promove a síntese imediata de partículas do fago, de forma que seu genoma pode se acoplar ao do hospedeiro onde existe como um profago, replicando-se junto com o genoma do hospedeiro e, assim, persistindo nas células-filhas descendentes (FIESELER *et al.*, 2010; SUTTON e HILL, 2019).

Embora a alta especificidade de hospedeiros dos fagos, em relação a espécies e até cepas, possa representar uma limitação para o emprego dos bacteriófagos, também é uma vantagem por impedir a danificação das bactérias de interesse nos alimentos. Além disso, não há casos conhecidos de reações alérgicas provocadas por fagos, sendo que grande parte deles são reconhecidos como GRAS, apresentando um alto potencial como bioconservante para garantir a segurança alimentar (FIESELER *et al*, 2010).

Alguns fatores são necessários para que possa haver a aplicação do fago nos alimentos, tais como: serem bacteriófagos virulentos, já que o objetivo é provocar a lise da célula hospedeira; sua especificidade deve englobar as cepas epidemiologicamente relevantes; sua segurança deve ser analisada cautelosamente para assegurar que eles não carreguem quaisquer genes de virulência e eles precisam ser estáveis no ambiente alimentar (pH 5-9 e Temperatura >60°C) em que se destinam a ser empregados (RAY e BHUNIA, 2013).

O uso de bacteriófagos em alimentos já ocorre há alguns anos de forma promissora, sendo que muitas empresas comerciais de fagos possuem a aprovação em órgãos regulatórios para seus produtos de segurança alimentar, como *Intralytix*, *Micreos Food Safety*, FINK TEC GmbH, *Passport Food Safety Solutions* e *Phagelux* (ENDERSEN e COFFEY, 2020).

Ademais, foram divulgados estudos que apontam um bom desempenho antimicrobiano contra patógenos emergentes de origem alimentar das endolisinas de bacteriófagos, produzidas no final do ciclo lítico, como uma boa opção para superar as resistências bacterianas que podem ser ocasionadas por fagos, mostrando serem importantes para a biopreservação de alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2012; RIOS *et al.*, 2016).

Uma alternativa para superar a resistência bacteriana, é criar produtos de bacteriófagos com diversos componentes de fago de alto espectro de hospedeiros (ENDERSEN e COFFEY, 2020).

A Tabela 7 apresenta alguns bacteriófagos comercializados aprovados para aplicações em alimentos.

Tabela 7 - Produtos fagos aprovados para aplicações de segurança alimentar

Empresa	Produto	Organismo (s) Alvo	Regulamentação*	Certificações
FINK TEC GmbH (Hamm, Alemanha)	Secure Shield E1	<i>E. coli</i>	FDA, GRN 724 <i>pendente em 19 de março de 2018</i>	---
Intralytix, Inc. (Baltimore, MD, EUA)	Ecolicide [®] (Ecolicide PX [™])	<i>E. coli</i> O157: H7	USDA, Diretiva FSIS 7120.1	---
	EcoShield [™]	<i>E. coli</i> O157: H7	FDA, FCN 1018; Ministério da Saúde de Israel; Health Canada	Kosher; Halal
	ListShield [™]	<i>L. monocytogenes</i>	FDA, 21 CFR 172,785; FDA, GRN 528; EPA Reg. No. 74234-1; Ministério da Saúde de Israel; Health Canada	Kosher; Halal; OMRI
	SalmoFresh [™]	<i>Salmonella</i> spp.	FDA, GRN 435; USDA, Diretiva FSIS 7120.1; Ministério da Saúde de Israel; Health Canada	Kosher; Halal; OMRI
	ShigaShield [™] (ShigActive [™])	<i>Shigella</i> spp.	FDA, GRN 672	---
Microos Food Safety (Wageningen, Holanda)	PhageGuard Listex [™]	<i>L. monocytogenes</i>	FDA, GRN 198/218; FSANZ; EFSA; Swiss BAG; Ministério da Saúde de Israel; Health Canada	Kosher; Halal; OMRI; SKAL
	PhageGuard S [™]	<i>Salmonella</i> spp.	FDA, GRN 468; FSANZ; Swiss BAG; Ministério da Saúde de Israel; Health Canada	Kosher; Halal; OMRI; SKAL
		<i>E. coli</i> O157: H7	FDA, GRN 757 <i>pendente em 19 de março de 2018</i>	---
Passport Food Safety Solutions (West Des Moines, IA, EUA)	Finalyse [®]	<i>E. coli</i> O157: H7	USDA, Diretiva FSIS 7120.1	---

Tabela 7 – Continuação

Empresa	Produto	Organismo (s) Alvo	Regulamentação*	Certificações
Phagelux (Xangai, China)	AgriPhage TM	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. vesicatoria, <i>Pseudomonas syringae</i> pv. tomate	EPA Reg. No. 67986-1	---
	SalmoPro [®]	<i>Salmonella</i> spp.	FDA, GRN 603	---
		<i>Salmonella</i> spp.	FDA, GRN 752 <i>pendente em 19 de março de 2018</i>	---

Fonte: MOYE, WOOLSTON e SULAKVELIDZE, 2018.

*BAG, Bundesamt für Gesundheit; CFR, Código de Regulamentos Federais; FSIS, Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar; GRN, Aviso de GRAS.

4.4.3 Bioconservantes de origem animal

Diversos metabólitos antimicrobianos de origem animal já foram identificados e documentados, os quais estão relacionados a mecanismos de defesa contra ameaças externas. Os bioconservantes derivados de fontes animais incluem lisozimas, pleurocidina, defensinas, lactoferrina, ovotransferrina, protamina, lactoperoxidase, quitosana, entre outros (KEBEDE, 2019; YU, CHIN e PAIK, 2021).

A quitosana é um biopolímero constituído por unidades de glucosamina e N-acetilglucosamina conectadas por ligações β -1,4 glucosídicas, a qual é obtida principalmente através da desacetilação alcalina da quitina, que é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza e é encontrada em uma diversidade de exoesqueletos de crustáceos e moluscos, cutículas de insetos e micélios de fungos (YUSUF, 2017, 2018). A quitosana é considerada como não tóxica, biocompatível, biodegradável e possui propriedades antioxidante e antimicrobiana (YE, NEETOO e CHEN., 2008; TAYEL *et al.*, 2010). Ademais, a quitosana pode ser usada como o biopolímero base de filmes comestível com substâncias bioativas para estender a vida útil dos alimentos (DUTTA *et al.*, 2009). Assim, a quitosana atua na membrana celular bacteriana induzindo a hidrólise do peptidoglicano ou modificando sua permeabilidade e provocando falha no transporte de nutrientes extracelulares para dentro da célula, por meio da reação com o cátion amônio (NH_4^+), ou, no caso dos fungos, age induzindo o vazamento de proteína intercelular (GOY *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2019).

A lisozima é uma enzima atóxica reconhecida como GRAS, a qual está presente em ovos de galinha e leite de mamíferos, e é reconhecida por sua ação como agente antimicrobiano

em alimentos (FDA, 1998). Seu mecanismo de ação ocorre por meio da hidrólise da ligação β -1,4 entre o ácido N-acetilmurâmico e a N-acetilglucosamina no peptidoglicano da parede celular microbiana (NAIDU, 2003). Comercialmente, a lisozima é mais conhecida pelo produto fabricado pela Neova Technologies, o Inovapure, o qual promove o aumento da vida útil alimentos crus, lácteos e carnes processadas (TIWARI *et al.*, 2009).

Alguns exemplos de bioconservantes de origem animal estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8 - Bioconservantes de origem animal

Exemplo	Fonte	Alvo	Referências
Defensina	Vertebrados e invertebrados	Bactérias, fungos e vírus	GANZ, 2003
Dermaseptina S4	Pele de sapo	Bactérias, fungos e vírus	MOR e NICOLAS, 1994
Lactoperoxidase	Leite	Bactérias	RUSSELL, 1991; de WIT e VAN HOOYDONK, 1996
Lactoferrina	Leite	Bactérias, fungos e parasitas	AL-NABULSI e HOLLEY, 2005
Lipídeos	Leite e animais	Bactérias	ISAACS <i>et al.</i> , 1990; LAMPE <i>et al.</i> , 1998; WANG e JOHNSON, 1997
Lisozima	Ovos brancos de galinhas	Bactérias	TIWARI <i>et al.</i> , 2009
Magaininas	Sapo africano com garras	Bactérias	ZASLOFF <i>et al.</i> , 1988
Ovotransferrina	Ovo	<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	IBRAHIM <i>et al.</i> , 2000
Pleurocidina	Pele de Solha-de-inverno	Bactérias, fungos e vírus	COLE <i>et al.</i> , 1997
PR-39	Suíno	Bactérias	SHI <i>et al.</i> , 1996
Quitosana	Crustáceos e artrópodes	Atividade antimicrobiana	BEN-SHALOM <i>et al.</i> , 2003; JE e KIM, 2006; LIU <i>et al.</i> , 2006

Fonte: LEE e PAIK, 2016.

A protamina é uma molécula de proteína alcalina policationica, constituída por resíduos de arginina (2/3) e outros aminoácidos (1/3), a qual é extraída do salmão para utilização comercial (PARK, 2004). A protamina possui um amplo espectro antimicrobiano, agindo contra bactérias Gram-positivas, bactérias Gram-negativas e alguns fungos, e seu mecanismo de ação consiste no bloqueio de alguns processos relacionados a membrana, como a inibição

de substâncias específicas dos sistemas de transporte de elétrons da mitocôndria (ASPEDON e GROISMAN, 1996; TIWARI *et al.*, 2009).

A lactoferrina é uma glicoproteína antimicrobiana de 80kDa da família da transferrina que se liga ao ferro, que é achada no leite e em outras seções exócrinas como o sistema imunológico inato, mais especificamente nos grânulos secundários dos neutrófilos (PMNs), a qual tem regulamentação para aplicação como bioconservante em alguns países. A lactoferrina apresenta ação antimicrobiana contra vírus, parasitas e bactérias, com dois mecanismos distintos, um sequestrando o ferro e inibindo o crescimento microbiano, e outro relacionado às grandes manchas catiônicas que se manifestam na superfície da lactoferrina (LEGRAND *et al.*, 2005; BARBIROLI *et al.*, 2012; GYAWALI e IBRAHIM, 2014; DURAN e KAHVE, 2017).

4.5 Embalagens e filmes bioconservantes

Embalagem para alimento, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (RDC n. 91/01), é o invólucro, recipiente ou qualquer forma de acondicionamento, removível ou não, destinada a cobrir, empacotar, envasar ou manter, especificamente ou não, matérias-primas, produtos semielaborados ou produtos acabados, com a finalidade de protegê-los de agente externos, de alterações e de contaminações, assim como de adulterações.

De modo geral, as substâncias que compõem as embalagens apresentam ação passiva sobre os alimentos, com o objetivo de ter uma interação mínima sobre eles, atuando apenas como barreira entre este e o meio externo. Todavia, vários sistemas de embalagem têm sido planejados com a finalidade de melhorar as limitações das embalagens, incluindo substâncias ativas para propiciar interações desejáveis com o alimento, como atividade antimicrobiana (ROONEY, 1995; HAFSA *et al.*, 2016).

As embalagens ativas inseridas com compostos antimicrobianos têm se sobressaído, uma vez que as reações de deterioração têm início na superfície do alimento, onde o filme de recobrimento atua (BERNARDI *et al.*, 2019). Essas embalagens alteram as condições do produto, aumentando sua vida útil, segurança e qualidade e/ou melhorando suas características sensoriais, e sua eficiência depende do contato direto com o alimento, de forma que haja migração do composto presente na embalagem para a superfície do produto, quando utilizado composto com propriedades de volatilidade o contato direto da embalagem-produto não se faz necessário (VERMEIREN *et al.*, 2002).

Além da ação antimicrobiana, as embalagens bioativas também podem possuir atividade antioxidante, a qual pode ser classificada em:

(a) absorvedoras: contribuem com a remoção de compostos indesejáveis encarregados pela aceleração da degradação do alimento, como o oxigênio, excesso de água, etileno, dióxido de carbono;

(b) libertadoras: são aquelas onde substâncias antioxidantes foram incorporadas intencionalmente na matriz polimérica, filmes ativos, e visam proteger o alimento embalado contra a oxidação (TIAN *et al.*, 2013).

A utilização de filmes e revestimentos comestíveis, os quais são camadas de materiais aplicados a produtos alimentícios, como método de conservação, pode melhorar a qualidade e segurança dos alimentos, simultaneamente ao fornecimento de uma barreira semipermeável ao vapor de água e gases entre os alimentos e a atmosfera circundante, pois tem a vantagem de incorporar diversos ativos na matriz polimérica, aumentando os atributos funcionais dessas embalagens (LIN e ZHAO, 2007; TAVASSOLI-KRAFANI *et al.*, 2016; ROJAS-GRAÜ *et al.*, 2009). Por normalmente serem fabricados a partir de subprodutos de origem agrícola e marinha, igualmente satisfazem às responsabilidades ambientais podendo ser uma alternativa a embalagens de alimentos de fontes não renováveis e, conseqüentemente, diminuindo o desperdício de produtos e a utilização de materiais de difícil degradação (THARANATHAN, 2003).

A principal diferença entre um revestimento comestível e um filme, é que o primeiro é aplicado na forma líquida sobre o alimento, normalmente por pulverização ou imersão do produto na solução do material comestível, e o segundo é moldado em folhas sólidas, isso porque passa por um processo de secagem e é subsequentemente aplicado à superfície do alimento em forma de sacos, embalagens ou cápsulas (FALGUERA *et al.*, 2011).

A adição do agente antimicrobiano/antioxidante nos filmes poliméricos pode ser feita de duas formas: incorporação e imobilização. No primeiro caso, há liberação do agente antimicrobiano para dentro do alimento por meio de difusão, enquanto na imobilização o composto atua somente em nível de superfície (HAN, 2005).

No preparo das embalagens, certas características relativas às matérias-primas, como ser inerte, atóxico e impermeável a microrganismos, devem ser consideradas para cumprir sua conservação e preservá-la da degradação e do contato com fatores externos (SUNG *et al.*, 2013). Desse modo, a fabricação de filmes antimicrobianos deve conter pelo menos um componente capaz de formar uma matriz contínua, adesiva e coesiva adequada. Assim, a formulação compõe-se em um solvente (etanol, água e outros), um agente formador de filme (polímero), um agente de ajuste de pH (ácido, hidróxido de sódio e outros), plastificantes (sorbitol, glicerol e água) e um agente antimicrobiano (JAFARZADEH, *et al.*, 2020).

Os OEs são candidatos interessantes para o desenvolvimento de filmes ou embalagens bioativadas por possuírem atividade antimicrobiana e altas concentrações de compostos fenólicos que conferem elevada atividade antioxidante (GÁLVEZ *et al.*, 2014; KANMANI e RHIM, 2014). Além disso, as bacteriocinas são ideais para aplicação em embalagens antimicrobianas por interagirem com a superfície externa do microrganismo (parede celular e membrana plasmática) e não necessitam ser internalizadas para exibirem o efeito antimicrobiano (RESTUCCIA *et al.*, 2010). A utilização de metabólitos de leveduras e bacteriófagos também estão sendo estudadas.

Portanto, o método da embalagem bioconservante promove vantagens em comparação com a adição direta dos aditivos aos alimentos, tais como: demanda de menores quantidades do aditivo; a atuação ocorre onde realmente acontecem os processos de deterioração, na superfície do alimento; difusão controlada a partir da superfície dos filmes para a matriz alimentar (possibilitando um prolongamento do efeito protetor desejável do conservante); e a eliminação de passos adicionais dentro de um processo produtivo (BOLUMAR *et al.*, 2011).

Algumas das embalagens ativas e suas aplicações estão na Tabela 9, outras tabelas apresentando a incorporação de bactérias e leveduras em filmes e revestimentos comestíveis encontram-se no Anexo B.

Tabela 9 - Embalagens ativas e aplicações como agentes antioxidantes na indústria alimentar

Polímero	Antioxidante	Alimento	Referência
Polietileno de baixa densidade	BHT e α - tocoferol	Flocos de aveia	WESSLING, NIELSEN e GIACIN, 2001
Acetato de celulose	Sulfito e cisteína	Maças fatiadas	OLIVEIRA, SOARES, e VIANA, 2008
Quitosana	Extrato de chá verde	Salsicha de porco	SIRIPATRAWAN e NOIPHA, 2012
Copolímero de etileno e álcool vinílico	Diferentes antioxidantes naturais	Sardinhas salgadas	LÓPEZ-DE-DICASTILLO <i>et al.</i> , 2012
Acetato de celulose	Óleo essencial de alecrim	Peito de frango	MELO <i>et al.</i> , 2012
Polietileno de baixa densidade	α - tocoferol	Salmão	BARBOSA-PEREIRA <i>et al.</i> , 2013
Quitosana	Extrato de urucum	Óleo de palma	SANTANA <i>et al.</i> , 2013
Quitosana	Óleo essencial de alecrim	Filetes de peixe	ABDOLLAHI <i>et al.</i> , 2014
Quitosana	Óleo essencial de gengibre	Peixe	REMYA <i>et al.</i> , 2016

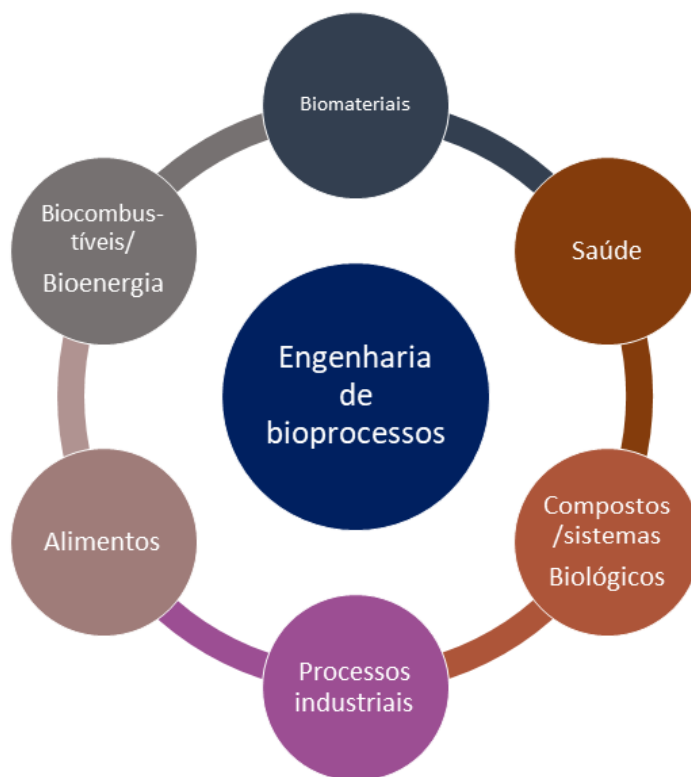
Fonte: SOUZA, 2018.

5 ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E O MERCADO DOS BIOCONSERVANTES

A Engenharia de Bioprocessos dispõe de conceitos de disciplinas da Biotecnologia, Engenharia Química, Mecânica, Elétrica, Médica, Ambiental e Industrial para aplicá-los em processos fundamentados no uso de microrganismos e/ou componentes celulares, bem como matérias biológicas não vivas, seja para produzir novos produtos ou degradar resíduos nocivos com finalidade de interesse social, como ilustrado na Figura 2.

Além disso, o Engenheiro de Bioprocessos é um profissional apto para projetar detalhadamente equipamentos, desenvolver sensores e algoritmos de controle e as estratégias de produção, objetivando além da redução de custos, a fabricação de produtos de alta qualidade em escala industrial, de modo que atua em diversos segmentos da indústria, como por exemplo, a de alimentos e bebidas, farmacêutica, química, agroindústria e a de papel e celulose (SHULER e KARGI, 2001; DORAN, 2012). Alguns exemplos de produtos relacionados a Engenharia de Bioprocessos estão descritos no Anexo C.

Figura 2 - As aplicações da engenharia de bioprocessos centradas nas necessidades da humanidade



Fonte: Traduzido de LIU, 2020.

Portanto, visto que os desafios relacionados ao desenvolvimento e produção de alguns bioconservantes estão relacionados a encontrar novas moléculas seguras com aspectos antimicrobianos e antioxidantes, limitação do seu espectro de ação, a sua estabilidade e escalabilidade, a atuação do Engenheiro de Bioprocessos junto a outros profissionais da biotecnologia nessa área é essencial. Este profissional, colocando em prática seus conhecimentos em Bioinformática, Engenharia Genética e Molecular, Modelagem de Processos, dentre outros já citados, consegue encontrar e desenvolver as soluções para os problemas listados, como identificar novos bioconservantes por meio de sequenciamento genético em banco de dados, projetar sistemas de imobilização de células/substâncias, biomoléculas com um maior espectro de ação, microrganismos recombinantes de fácil escalabilidade e embalagens bioativas.

Ademais, o mercado global de bioconservantes é muito promissor, o qual de acordo com o relatório da *Market Study Report* publicado em 2020, está sendo impulsionado por conta dos crescentes gastos com a saúde e possui potencial de crescimento a uma taxa de mais de 15,0% durante o período entre 2017 e 2025, sendo que em 2016 foi avaliado em 3,5 bilhões de dólares. Apesar de ser um mercado mundial, a maior parte das empresas envolvidas nele se encontram na América do Norte e Europa, como a BioCision LLC, Biomatrix Inc, Chart MVE Biomedical, Panasonic co-operation, Qiagen NV, VWR International LLC, proporcionando a participação e criação de novas empresas e startups na América Latina e especialmente no Brasil, visto que a indústria alimentícia representa cerca de 10,6% do Produto Interno Bruto (PIB) do país e exporta alimentos e bebidas para mais de 190 países, de acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Alimentos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do avanço da tecnologia dos alimentos, o aparecimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes na linha de produção da indústria alimentícia ainda é fortemente presente, causando impactos negativos sociedade e economia dos países, ademais, o uso inadequado e a longo prazo de conservantes químicos compactua com esses efeitos ao provocar problemas de saúde e ambiental.

Os bioconservantes de origem vegetal, apresentam moléculas com amplo espectro antimicrobiano e antioxidantes, e seus compostos apresentam estruturas adaptadas para interagir com alvos moleculares e celulares diferentes. Além disso, estudos demonstraram que esses compostos já apresentam uma boa atividade conservante em baixas concentrações e em uma variedade de alimentos.

Os bioconservantes de origem microbiana já são utilizados há séculos em alimentos fermentáveis e diversas pesquisas apresentaram sua aplicabilidade em muitos outros alimentos com uma boa eficiência, inibindo o crescimento de microrganismos patogênicos e aumentando a vida útil do produto. Embora possuam um espectro de ação limitado, há ferramentas que possibilitam a criação de moléculas híbridas ou geneticamente modificadas e, então, superar essa barreira.

Ademais, há muitos metabólitos antimicrobianos advindos de animais e seus produtos, como leite e ovo, sendo que alguns já são comercializados como bioconservantes e expõe uma boa eficiência e aceitação do mercado. Muitos desses conservantes são incorporados ou utilizados como polímeros em embalagens bioativas sozinhos ou em adição a bioconservantes de outras origens, promovendo vantagens em comparação com a adição direta dos aditivos aos alimentos e ampliando o já crescente mercado dos conservantes de origem natural.

Desta forma, embora os desafios existentes, o uso de bioconservantes é uma alternativa promissora para a segurança alimentar e ambiental, pois os resíduos gerados são atóxicos ao ambiente. Além disso, por possuírem um espectro de ação conhecido e específico, não destroem substâncias e microrganismos desejáveis no alimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASZADEH, A. **Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi.** Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology, v. 24, n. 2, p. e51-e56, 2014.

ABDOLLAHZADEH, E.; REZAEI, M.; HOSSEINI, H. **Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat.** Food Control, v. 35, n. 1, p. 177–183, jan. 2014.

ABRANTES, S. *et al.* **Avaliação de corantes artificiais em bebidas não alcoólicas e não gaseificadas.** Revista Analytica, Rio de Janeiro, n. 27, p. 30-33, 2007.

ACUÑA, Leonardo *et al.* **A new hybrid bacteriocin, Ent35-MccV, displays antimicrobial activity against pathogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria.** FEBS Open Bio, v. 2, n. 1, p. 12–19, 1 Jan 2012.

ACUÑA, Leonardo *et al.* **Inhibitory Effect of the Hybrid Bacteriocin Ent35-MccV on the Growth of *E. coli* and *Listeria monocytogenes* in Model and Food Systems.** Food and Bioprocess Technology, v. 8, n. 5, p. 1063–1075, 24 Jan 2015.

AL-MAMUN, M.; CHOWDHURY, T.; BISWAS, B.; ABSAR, N. **Food Poisoning and Intoxication: A Global Leading Concern for Human Health.** In **Food Safety and Preservation: Modern Biological Approaches to Improving Consumer Health;** Grumezescu, A. M., Holban, A. M., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA; Chapter 11, p. 307–352, 2018.

ALVAREZ-SIEIRO, P. *et al.* **Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 100, n. 7, p. 2939–2951, 10 Feb 2016.

ANTUNES, M.D.; DANNENBERG, G. S.; FIORENTINI, A. M.; PINTO, V. Z.; LIM, L.T.; ZAVAREZE, E. R.; DIAS, A. R. G. **Antimicrobial electrospun ultrafine fibers from zein containing eucalyptus essential oil/cyclodextrin inclusion complex.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 104, p. 874–882, 2017.

ANVISA. **Critérios gerais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos.** RDC Nº 91, de 11 de maio de 2001. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-91-de-11-de-maio-de-2001.pdf/view>>. Acesso em 01 de novembro de 21.

ARNISON, Paul G. *et al.* **Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: overview and recommendations for a universal nomenclature.** Nat. Prod. Rep., v. 30, n. 1, p. 108–160, 2013.

ASENSIO, CM *et al.* **Conservação de qualidade de queijo cottage orgânico com óleos essenciais de orégano.** LWT- Ciência e tecnologia de alimentos, v. 60, p. 664-671, 2015.

ASPEDON, A.; GROISMAN, E. A. **The antibacterial action of protamine: evidence for disruption of cytoplasmic membrane energization in *Salmonella typhimurium*.** Microbiology, v. 142, n. 12, p. 3389–3397, 1 dez. 1996.

Associação Brasileira da Indústria de Alimentos. **Números do setor.** Disponível em: <<https://www.abia.org.br/numeros-setor>>. Acesso em: 22 nov. 2021.

BAGAMBOULA, C. F.; UYTENDAELE, M.; DEBEVERE, J. **Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*.** Food microbiology, v. 21, n. 1, p. 33–42, 2004.

BAKALINSKY, A.T., **Metabolites of yeasts as biopreservatives.** In Food Biopreservatives of Microbial Origin, Ray, B. and Daeschel, M.A., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, p. 347, 1992.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. **Biological effects of essential oils – a review.** Food Chemical Toxicology. v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BALCIUNAS, E. M *et al.* **Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review.** Food Control, v. 32, n. 1, p. 134–142, jul. 2013.

BARBA, F. J. *et al.* **Innovative technologies for food preservation: Inactivation of spoilage and pathogenic microorganisms.** Academic Press, 2017.

BARBIROLI, A. *et al.* **Antimicrobial activity of lysozyme and lactoferrin incorporated in cellulose-based food packaging.** Food Control, v. 26, n. 2, p. 387–392, ago. 2012.

BARBOSA, L. N. *et al.* **In vitro Antibacterial and Chemical Properties of Essential Oils Including Native Plants from Brazil against Pathogenic and Resistant Bacteria.** Journal of Oleo Science, v. 64, n. 3, p. 289–298, 2015.

BARI, Md L.; UKUKU, D. O. (Ed.). **Foodborne pathogens and food safety.** CRC press, 2015.

BERNARDI, A. O.; GARCIA, M. V.; COPETTI, M. V. **Food industry spoilage fungi control through facility sanitization.** Current Opinion in Food Science, v. 29, p. 28–34, 2019.

BHUNIA, A. K. **Foodborne microbial pathogens: mechanisms and pathogenesis.** Springer, 2018.

BINTSIS, T. **Foodborne pathogens.** AIMS Microbiology, v. 3, n. 3, p. 529–563, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6604998/>>. Acesso em: 27 out. 2021.

BOLUMAR, T.; ANDERSEN, M. L.; ORLIEN, V. **Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment.** Food Chemistry, v. 129, n. 4, 1406–1412, 2011.

BURT, S. **Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods — a review.** International Journal of Food Microbiology, v. 94, p. 223–253, 2004.

CHIKINDAS, M. L. *et al.* **Functions and emerging applications of bacteriocins.** Current opinion in biotechnology, v. 49, p. 23–28, 2018.

CINTAS, L. M. *et al.* **Bacteriocins of lactic acid bacteria.** Food Science and Technology International, v. 7, n. 4, p. 281-305, 2001.

COSTA, DC *et al.* **Avanços na análise de compostos fenólicos de plantas aromáticas e suas potenciais aplicações.** Tendências em ciência e tecnologia de alimentos, v.45, p.336-354, 2015.

COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, R. P. **Bacteriocins: developing innate immunity for food.** Nature Reviews Microbiology, v. 3, n. 10, p. 777–788, Out 2005.

COTTER, P. D.; ROSS, R. P.; HILL, C. **Bacteriocins—a viable alternative to antibiotics?.** Nature Reviews Microbiology, v. 11, n. 2, p. 95-105, 2013.

DANNENBERG, G. S. *et al.* **Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*.** Innovative Food Science & Emerging Technologies, v. 36, p. 120-127, 2016.

DANNENBERG, G. S. *et al.* **Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: Potential for application as active packaging for sliced cheese.** LWT - Food Science and Technology, v. 81, p. 314-318, 2017.

DE ALCÂNTARA PONTES, A. K. *et al.* **Microrganismos dos alimentos: patogênicos, deteriorantes e indicadores de qualidade.** Ciências da saúde: campo promissor em pesquisa 9. Atena editora p. 118–130, 2020.

DHIMAN, R.; AGGARWAL, N. K. **Efficacy of plant antimicrobials as preservative in food.** In: Food Preservation and Waste Exploitation. IntechOpen, 2019.

DIMA, C.; DIMA, S. **Essential oils in foods: Extraction, stabilization, and toxicity.** Current Opinion in Food Science, v. 5, p. 29–35, 2015.

DJENANE, D. *et al.* **Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *E. coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef.** Food Science and Technology International. Ciencia Y Tecnologia De Los Alimentos Internacional, v. 17, n. 6, p. 505–515, dez. 2011.

DORAN, P. M. **Bioprocess engineering principles.** Elsevier, 2012.

DURAN, A.; KAHVE, H. I. **The use of lactoferrin in food industry.** Acad J Sci, v. 7, p. 89-94, 2017.

DUTTA, P. K. *et al.* **Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications.** Food chemistry, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.

EGAN, K. *et al.* **Bacteriocins: Novel Solutions to Age Old Spore-Related Problems?** Frontiers in Microbiology, v. 7, 8 Abr 2016.

EL ABED, N. *et al.* **Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Thymus capitata* Essential Oil with Its Preservative Effect against *Listeria monocytogenes* Inoculated in Minced Beef Meat.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, p. 1-11, 2014.

EL ASBAHANI, A. et al. **Essential oils: From extraction to encapsulation**. International journal of pharmaceutics, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.

ENDERSEN, L.; COFFEY, A. **The use of bacteriophages for food safety**. Current Opinion in Food Science, v. 36, p. 1–8, Dez 2020.

FALGUERA, V. *et al.* **Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use**. Trends in Food Science and Technology, v. 22, n. 6, p. 292–303, 2011.

FDA, Bad Bug Book. **Handbook of foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins**. Food and Drug Administration, Silver Spring, MD, USA, 2012.

FDA. **Direct food substances affirmed as generally recognized as safe; egg white lysozyme**. Federal Register Volume, v. 63, p. 12421-12426, 1998.

FIESLER, L. *et al.* Bacteriophages and food safety. In: LACROIX, C. (ed.). **Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation**. [S. l.]: Elsevier, 2010. cap. 6, p. 161-174.

FINK, A. **Conducting research literature reviews: from the Internet to paper**. 4th Edition. Los Angeles: Sage Publications, 2014.

FRIEDLY, E. C., *et al.* **In Vitro Antilisterial Effects of Citrus Oil Fractions in Combination With Organic Acids**. Journal of Food Science, v. 74, n. 2, 2009.

GÁLVEZ, A. *et al.* **Food Biopreservation**. 1. ed. [S. l.]: Springer-Verlag New York, 2014. ISBN 9781493920297.

GARCÍA, P. *et al.* **Endolisinas fágicas: ¿nuevos bioconservantes para alimentos?**. Instituto De Productos Lácteos De Asturias. Villaviciosa, Asturias, 2010.

GARCÍA, P. *et al.* **Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins**. Trends in food science & technology, v. 21, n. 8, p. 373-382, 2010.

GIL, A. **Como elaborar projetos de pesquisa**. Atlas: São Paulo, 2007.

GOUVEA, F. S.; ROSENTHAL, A.; FERREIRA, E. H. R. **Plant extract and essential oils added as antimicrobials to cheeses: a review**. Ciência Rural, v. 47, 2017.

GOY, R. C.; MORAIS, S. T. B.; ASSIS, O. B. G. **Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on E. coli and S. aureus growth**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 26, n. 1, p. 122–127, jan. 2016.

GUIMARÃES, A *et al.* **Edible Films and Coatings as Carriers of Living Microorganisms: A New Strategy Towards Biopreservation and Healthier Foods**. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 17, n. 3, p. 594–614, 2018. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1541-4337.12345>. Acesso em: 29 Oct. 2021.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. **Natural products as antimicrobial agents**. Food control, v. 46, p. 412-429, 2014.

HAFSA, J. *et al.* **Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil.** LWT - Food Science and Technology, v. 68, p. 356–364, 2016.

HAN, J.H. **Antimicrobial packaging systems.** In: Han JH (Ed.) *Innovations in food packaging.* Baltimore, Elsevier Science & Technology Books. p. 80-107, 2005.

HAYOUNI, E. A., CHRAIEF, I., ABEDRABBA, M., BOUIX, M., LEVEAU, J.-Y., MOHAMMED, H., HAMDI, M. **Tunisian Salvia officinalis L. and Schinus molle L. essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat.** International Journal of Food Microbiology, v. 125, n. 3, p. 242–251, 2008.

IORDACHE, F. *et al.* **Nanostructured materials for prolonged and safe food preservation.** Food Preservation, p. 305–335, 2017.

JAFARZADEH, S. *et al.* **Biodegradable green packaging with antimicrobial functions based on the bioactive compounds from tropical plants and their by-products,** Trends in Food Science & Technology, v. 100, p. 262-277, 2020.

KANMANI, P.; RHIM, J.W. **Development and characterization of carrageenan/grapefruit seed extract composite films for active packaging.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 68, p. 258-266, 2014.

KEBEDE, B. **The Preservative Efficacy of Antimicrobial Proteins and Metabolites from Microorganisms, Animals and Plants as Potential Alternative to Chemical Food Preservation: A Review.** [S.l.: s.n.], 2019.

KLAENHAMMER, T. R. **Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria.** FEMS microbiology reviews, v. 12, n. 1-3, p. 39-85, 1993.

KUMAR, H. *et al.* **A Study On Consumer Awareness, Safety Perceptions & Practices About Food Preservatives And Flavouring Agents Used In Packed/Canned Foods From South India.** National Journal Of Community Medicine, v. 4, n. 3, p. 402-406, 2013.

LEE, K. A. *et al.* **Antimicrobial and antioxidative effects of onion peel extracted by the subcritical water.** Food science and biotechnology, v. 20, n. 2, p. 543-548, 2011.

LEE, N. K.; PAIK, H. D. **Status, Antimicrobial Mechanism, and Regulation of Natural Preservatives in Livestock Food Systems.** Korean Journal for Food Science of Animal Resources, v. 36, n. 4, p. 547–557, 2016.

LEGRAND, D. *et al.* **Lactoferrin.** Cellular and Molecular Life Sciences, v. 62, n. 22, nov. 2005.

LEONARDI, J.G.; AZEVEDO, B.M. **Métodos de conservação de alimentos.** Revista Saúde em Foco, v. 10, n. 1, p. 51-61, 2018.

LIN, D.; Zhao, Y. **Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 6, p. 60–75, 2007.

LIU, S. **Bioprocess engineering: kinetics, sustainability, and reactor design**. Elsevier, 2020.

MARKET STUDY REPORT. **Biopreservation Market - Global Forecast to 2025**. Disponível em: <<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biopreservation-media-storage-equipment-market-842.html>>. Acesso em: 22 nov. 2021.

MARTINS, D. I.; MÍDIO, A. F. **Toxicologia de alimentos**. 2. Ed. São Paulo: Varela, 2000.

MARTINS, W. F. **Predição do crescimento de *Weissella viridescens* sob condições não isotérmicas**. 2015, 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

MONK, A.B. *et al.* **Bacteriophage applications: where are we now?** Letters in Applied Microbiology, v. 51, n. 4, p. 363–369, 14 Set 2010.

MORO, A. *et al.* **Inibição de fungos micotoxigênicos pela inovadora cobertura de queijo com plantas aromáticas**. Jornal da Ciência da Alimentação e Agricultura, v.93, p.1112-1118, 2013.

MOYE, Z.; WOOLSTON; J.; SULAKVELIDZE, A. **Bacteriophage Applications for Food Production and Processing**. Viruses, v. 10, n. 4, p. 205, 19 Abr 2018.

NAIDU, A. S. **Antimicrobials from animals**. Natural antimicrobials for the minimal processing of foods, p. 133, 2003.

NG, Z. J. *et al.* **Application of bacteriocins in food preservation and infectious disease treatment for humans and livestock: a review**. RSC Advances, v. 10, n. 64, p. 38937–38964, 2020. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2020/ra/d0ra06161a#cit5>>. Acesso em: 9 nov 2021.

NIU, F. *et al.* **Physical and antimicrobial properties of thyme oil emulsions stabilized by ovalbumin and gum arabic**. Food Chemistry, v. 212, p. 138-145, 2016.

OGAKI, M. B.; FURLANETO, M. C.; MAIA, L. F. **Revisão: Aspectos gerais das bacteriocinas**. Brazilian Journal of Food Technology, v. 18, n. 4, p. 267–276, Dez 2015. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjft/a/RWbydrVtbsPYBCcvphpKrvS/?lang=pt#>>. Acesso em: 9 nov 2021.

OLIVEIRA, H. *et al.* **Bacteriophage endolysins as a response to emerging foodborne pathogens**. Trends in Food Science & Technology, v. 28, n. 2, p. 103–115, Dez 2012.

OOTANI, M. A. *et al.* **Use of essential oils in agriculture**. Journal of biotechnology and biodiversity, v. 4, n. 2, p. 162-175, 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE: OMS. **23 million people falling ill from unsafe food each year in Europe is just the tip of the iceberg**. 5 june of 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/05-06-2019-23-million-people-falling-ill-from-unsafe-food-each-year-in-europe-is-just-the-tip-of-the-iceberg>>. Acesso em: 15 de agosto de 21.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE: OMS. **Food safety is everyone's business**. 6 june of 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/06-06-2019-food-safety-is-everyones-business>>. Acesso em: 27 Oct. 2021.

PADILLA BARILLAS, S. P. **Efecto del extracto etanólico de propóleos (EEP) como bioconservante, sobre la durabilidad y características sensoriales de las salchichas frescas tipo Bratwurst.** 2017. Tese de Doutorado. Universidad de San Carlos de Guatemala.

PADOVAN L, Scocchi M, Tossi A. **Structural aspects of plant antimicrobial peptides.** *Curr Prot Pept Sci*, v. 11, p. 210–219, 2010.

PARK, K. W. **Protamine and protamine reactions.** *International anesthesiology clinics*, v. 42, n. 3, p. 135-145, 2004.

PENG, Y.; WU, Y.; LI, Y. **Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials.** *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 59, p. 282-289, 2013.

PILET, M. F.; LEROI, F. **Applications of protective cultures, bacteriocins and bacteriophages in fresh seafood and seafood products.** In: *Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation.* Woodhead Publishing, p. 324-347, 2011.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and Food Spoilage;** Springer: Boston, MA, USA, 2009.

RAVICHANDRAN, M. *et al.* **Enhancement of antimicrobial activities of naturally occurring phenolic compounds by nanoscale delivery against *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in broth and chicken meat system.** *Journal of Food Safety*, v. 31, p. 462-471, 2011.

RAWAT, S. **Food Spoilage: Microorganisms and their prevention.** *Asian Journal of Plant Science and Research*, v. 5, n. 4, p. 47-56, 2015.

RAY, B. The need for food biopreservation. In: RAY, Bibek; DAESCHEL, Mark. **Food Biopreservatives of Microbial Origin.** 2. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2018. cap. 1, p. 2-21. ISBN 9780367411930.

RAY, B.; BHUNIA, A. **Fundamental Food Microbiology,** Fifth Edition. CRC Press, 2013.

REIS, J. B. *et al.* **Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares.** *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.

REN, B. *et al.* **Application of biopreservatives in meat preservation: a review.** *International Journal of Food Science & Technology*, v. 56, n. 12, p. 6124–6141, 25 Ago 2021.

RESTUCCIA, D. *et al.* **Regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications.** *Food Control*, v. 21, n. 11, p. 1425, 2010.

RIOS, A. C. *et al.* **Alternatives to overcoming bacterial resistances: State-of-the-art.** *Microbiological Research*, v. 191, p. 51–80, Out 2016.

RODRÍGUEZ, J. M.; MARTÍNEZ, M. I.; KOK, J. **Pediocin PA-1, a Wide-Spectrum Bacteriocin from Lactic Acid Bacteria.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 42, n. 2, p. 91–121, mar. 2002.

ROJAS, C. e VARGAS, P., **Bacteriocinas: sustituto de preservantes tradicionales en la industria alimentaria**. Tecnología en Marcha, v. 21, n. 2, p. 9-16, 2008.

ROJAS-GRAÜ, M.A., SOLIVA-FORTUNY, R., MARTÍN-BELLOSO, O. **Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review**. Trends in Food Science and Technology, v. 20, p. 438–447, 2009.

ROMAN, J. A.; MARTINS, A. H.; CESAR, T. M.; MARIOTTO, T. C. **Aditivos alimentares em refrescos e a sua relação com a saúde humana**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel, PR, 2008.

ROONEY, M.L. Overview of active food packaging. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, p. 1-37, 1995.

SAVADOGO, A. *et al.* **Bacteriocins and lactic acid bacteria - a minireview**. African Journal of Biotechnology, v. 5, n. 9, 2006. Disponível em: <<https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/42771>>. Acesso em: 10 nov 2021.

SCHULZ, D.; BONELLI, R. R.; BATISTA, C. R. V. **Bacteriocinas e enzimas produzidas por Bacillus sp. para conservação e processamento de alimentos**. Alimentos e Nutrição. Araraquara, v.16, n.4, p. 403-411, 2005.

SHKOPOROV, A. N.; HILL, C. **Bacteriophages of the human gut: the “known unknown” of the microbiome**. Cell host & microbe, v. 25, n. 2, p. 195-209, 2019.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess engineering: basic concepts**. Prentice hall international series in the physical and chemical engineering sciences, 2001.

SILVA, C. C. G.; SILVA, S. P. M.; RIBEIRO, S. C. **Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation**. Frontiers in Microbiology, v. 9, 9 Abr 2018.

SILVA, F. T. **Ação do óleo essencial de gengibre (Zingiber officinale) encapsulado em fibras ultrafinas de proteína isolada de soja, poli (óxido de etileno) e zeína no controle antimicrobiano in situ**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÕES. **Surto Doenças Transmitidas por Alimentos**. 8 de março de 2016. Disponível em:<<http://portalsinan.saude.gov.br/surto-doencas-transmitidas-por-alimentos-dta>>. Acesso em: 15 de agosto de 21.

SKARIYACHAN, S.; GOVINDARAJAN, S. **Biopreservation potential of antimicrobial protein producing Pediococcus spp. towards selected food samples in comparison with chemical preservatives**. Int. J. Food Microbiol, v. 291, p. 189–196, 2019.

SOLTANI, S. *et al.* **Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations**. FEMS Microbiology Reviews, v. 45, n. 1, 2 Set 2020.

SOUZA, V. G. L. D. **Desenvolvimento de bio-nanocompósitos de quitosano/montmorilonite incorporados com extratos naturais como embalagens ativas para alimentos**. Orientadora: Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando. 2018. Dissertação (Doutorado em Qualidade Alimentar) - Universidade Nova de Lisboa.

- STEWART, G. G. **Brewing and distilling yeasts**. Springer International Publishing, 2017.
- SUNG, S.-Y., SIN, L.T., TEE, T.-T., BEE, S.-T., RAHMAT, A.R., WAWA, R., TAN, A.-C., VIKHRAMAN, M. **Antimicrobial agents for food packaging applications**. Trends in Food Science and Technology, v.33, p. 110–123, 2013.
- SUTTON, T. D. S. e HILL, C. **Gut Bacteriophage: Current Understanding and Challenges**. Frontiers in Endocrinology, v. 10, 29 Nov 2019.
- SVOBODA, K.; BROOKER, J. D.; ZRUSTOVA, J. **Antibacterial and antioxidant properties of essential oils: Their potential applications in the food industries**. In: I International Symposium on Natural Preservatives in Food Systems, v. 709, p. 35-44, 2005.
- SWEIS, I. E.; CRESSEY, B. C. **Potential role of the common food additive manufactured citric acid in eliciting significant inflammatory reactions contributing to serious disease states: A series of four case reports**. Toxicol. Rep, v. 5, p. 808–812, 2018.
- TAVASSOLI-KRAFANI, E., SEKARCHIZADEH, H., MASOUDPOUR-EHABADI, M. **Development of edible films and coatings from alginates and carrageeens**. Carbohydrate Polymers, v. 137, p. 360–374, 2016.
- TAYEL, A. A. *et al.* **Inhibition of microbial pathogens by fungal chitosan**. International Journal of Biological Macromolecules, v. 47, n. 1, p. 10–14, jul. 2010.
- TAYEL, A. A.; EL-TRAS, WAEL F. **Plant extracts as potent biopreservatives for Salmonella typhimurium control and quality enhancement in ground beef**. Journal of Food Safety, v. 32, n. 1, p. 115-121, 2012.
- THARANATHAN, R. N. **Biodegradable films and composite coatings: Past, present, and future**. Trends in Food Science & Technology, v. 14, p. 71–78, 2003.
- TIAN, F., DECKER, E. A, GODDARD, J. M. **Controlling lipid oxidation of food by active packaging technologies**. Food & Function, v. 4, n. 5, p. 669, 2013.
- TIWARI, B. K.; VALDRAMIDIS, V. P.; O' DONNELL, C. P.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J. **Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 57, n. 14, p. 5987–6000, 22 jul. 2009.
- VÁSQUEZ, S. M.; SUÁREZ, H.; ZAPATA, S. **Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas em la conservación de la carne**. Revista Chilena de Nutrición, v. 36, n.1, 2009.
- VERMEIREN, L., DEVLIEGHERE, F., DEVEBERE, J. **Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts**. Food Additives and Contaminants, v. 19, p. 163-171, 2002.
- WANG, Y *et al.* **Synergistic inhibition mechanism of pediocin PA-1 and L-lactic acid against Aeromonas hydrophila**. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, v. 1862, n. 10, p. 183346, out. 2020.

YANG, S-C. *et al.* **Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals.** *Frontiers in Microbiology*, v. 5, 26 Maio 2014.

YE, M.; NEETOO, H.; CHEN, H. **Control of *Listeria monocytogenes* on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films.** *Food Microbiology*, v. 25, n. 2, p. 260–268, fev. 2008.

YU, H. H.; CHIN, Y-W.; PAIK, H-D. **Application of Natural Preservatives for Meat and Meat Products against Food-Borne Pathogens and Spoilage Bacteria: A Review.** *Foods*, v. 10, n. 10, p. 2418, 12 Out 2021.

YUSUF, M. **Biomedical Applications of Chitosan.** *Handbook of Ecomaterials*, p. 1-12, 2017.

YUSUF, M. **Natural antimicrobial agents for food biopreservation.** In: *Food Packaging and Preservation*. Academic Press, p. 409-438, 2018.

ZHANG, Y. *et al.* **Atividade antibacteriana e mecanismo do óleo essencial de canela contra *E. coli* e *Staphylococcus aureus*.** *Controle Alimentar*, v.59, p.282-289, 2016.

ZHAO, S. *et al.* **Shelf life of fresh chilled pork as affected by antimicrobial intervention with nisin, tea polyphenols, chitosan, and their combination.** *International Journal of Food Properties*, v.22, n. 1, p. 1047-1063, 2019.

ANEXO A

Tabela 10 - Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas e óleos essenciais adicionados a queijos

Tipo de Queijo	Antimicrobiano natural (fonte e concentração)	Atividade inibitória (microrganismos, contagens e condições de armazenamento)	Referência
Muçarela	Óleo essencial de tomilho e sálvia (1500mg kg ⁻¹)	Inibição de <i>Pseudomonas spp</i> e coliformes armazenados em 10 °C por 6 dias	GAMMARIELLO <i>et al.</i> (2008)
Kareich	Pimenta de Caiena (3%) ou Pimenta Verde (9%)	Inibição de <i>S. aureus</i> (1x10 ⁸ CFU g ⁻¹) para níveis indetectáveis dentro de 2 dias de armazenamento a 4 °C ± 2 °C.	WAHBA <i>et al.</i> (2010)
Feta	Orégano (0,1mL 100g ⁻¹) Tomilho (0,1mL 100g ⁻¹)	Inibição de <i>L. monocytogenes</i> e <i>E. coli</i> 0157: H7 população (104 UFC g ⁻¹) por 18 e 22 dias, respectivamente, após armazenamento em embalagem de atmosfera modificada (50% CO ₂ e 50% N ₂) a 4 °C.	GOVARIS <i>et al.</i> (2011)
Cheddar	Alho (mergulhando 25g de queijo em 100mL de solução de extrato vegetal).	Inibição de <i>L. monocytogenes</i> (2 log CFU mL ⁻¹) após armazenamento a 23 °C durante 9 dias.	SHAN <i>et al.</i> (2011)
Coalhada	Safranal (35µg kg ⁻¹)	Inibiu mais de 15% do crescimento de <i>Penicillium verrucosum</i> (população de 105 CFU mL ⁻¹ de esporo)	LIBRÀN <i>et al.</i> (2014)
Domiat	Óleo de semente de cominho preto (0,1% e 0,2%)	Diminuída em <i>Salmonella enteritidis</i> e <i>Escherichia coli</i> contagens de 3,95 log UFC mL ⁻¹ a 2,6 log UFC g ⁻¹ após armazenamento a 4 °C durante 42 dias.	HASSANIEN <i>et al.</i> (2014)
Leite de ovelha	Óleo essencial de alecrim (215mg L ⁻¹)	Impediu o crescimento de <i>Clostridium spp.</i> contagem 3log CFU g ⁻¹ amadurecido por 5 meses a 12 °C	MORO <i>et al.</i> (2015)
Coalho	Óleos essenciais do timo (2,5µL mL ⁻¹)	Contagens reduzidas de 1,3 log CFU mL ⁻¹ (da contagem inicial) de <i>L. monocytogenes</i> incubados a 10 °C por 24 horas	CARVALHO <i>et al.</i> (2015)
À base de cheddar	Canela (400 µg mL ⁻¹), alho (625 µg mL ⁻¹), capim-limão (550 µg mL ⁻¹), agrião (475 µg mL ⁻¹), alecrim (750 µg mL ⁻¹), salva (825 µg mL ⁻¹) e extratos de orégano (950µg mL)	Todas as concentrações de extrato individualmente inibiram o população de <i>L. monocytogenes</i> (4x10 ⁵ CFU mL ⁻¹) incubado a 37 °C por 24 horas	TAYEL <i>et al.</i> (2015)

Fonte: GOUVEA *et al.*, 2017.

ANEXO B

Tabela 11 - Incorporação de bactérias vivas em filmes e revestimentos comestíveis, mostrando microrganismos, matriz polimérica, aditivos, aplicação em alimentos e patógenos inibidos por esses filmes ou revestimentos comestíveis

Referência	Microrganismo	Matriz Polimérica	Aditivos	Alimento de aplicação	Inibição de patógenos
Tapia <i>et al.</i> (2007)	<i>B. lactis</i> Bb-12	Alginate e gelano	Glicerol, N-acetilcisteína, ácido ascórbico, óleo de girassol. CaCl ₂ como reticulador	Maça e mamão	(b)
Moayednia <i>et al.</i> (2009)	<i>L. acidophilus</i>	Alginate	Cloreto de cálcio como agente de reticulação e citrato de sódio como agentes quelantes	Morangos	(b)
Gialamas <i>et al.</i> (2010)	<i>L. sakei</i>	Caseinato de sódio	Sorbitol (aumenta a viabilidade celular)	Carne fresca	<i>L. monocytogenes</i>
Concha-Meyer <i>et al.</i> (2011)	<i>C. mataromaticum</i>	Alginate e amido	Nisina. Glicerol como plastificante	Salmão defumado a frio	<i>L. monocytogenes</i>
Altamirano-Fortoul <i>et al.</i> (2012)	<i>L. acidophilus</i>	Amido	Microcápsulas de isolado de proteína de soro de leite, carboximetilcelulose, pectina, inulina e agave	Pão	(b)
López de Lacey <i>et al.</i> (2012)	<i>L. acidophilus</i> and <i>B. bifidum</i>	Gelatina	Glicose e cisteína. Sorbitol e glicerol como plastificantes	Peixe (hake)	Microrganismo produtor de H ₂ S, microrganismos luminescentes
Kanmani and Lim (2013)	<i>L. plantarum</i> , <i>L. reuteri</i> and <i>L. acidophilus</i>	Pululano, pululano / amido de batata (também, tapioca e amido de milho)	Nenhum aditivo foi usado	(a)	(b)
Sánchez-González <i>et al.</i> (2013)	<i>L. plantarum</i>	Caseinato de sódio, proteína de ervilha, metilcelulose e hidroxipropilmetilcelulose	Glicerol como plastificante	(a)	<i>L. innocua</i>
López de Lacey <i>et al.</i> (2014)	<i>L. paracasei</i> L26 and <i>B. lactis</i> B94	Agar	Chá verde. Glicerol como plastificante	Peixe (pescada)	Bactérias produtoras de H ₂ S e bactérias luminescentes. <i>Pseudomonas</i> spp., Enterobacteriaceae

Tabela 11 - Continuação

Referência	Microrganismo	Matriz Polimérica	Aditivos	Alimento de aplicação	Inibição de patógenos
Romano <i>et al.</i> (2014)	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> and <i>L. plantarum</i>	Metilcelulose	Fruto-oligossacarídeos. Sorbitol como plastificante	(a)	(b)
Soukoulis <i>et al.</i> (2014)	<i>L. rhamnosus</i> GG	Gelatina	Fibras solúveis (inulina, polidextrose, glicose-oligossacarídeos e trigo dextrina). Glicerol como plastificante	(a)	(b)
Soukoulis <i>et al.</i> (2014)	<i>L. rhamnosus</i> GG	Alginato de sódio e alginato de sódio / soro de leite proteína	Glicerol como plastificante	Pão	(b)
Sanchez-Gonzalez <i>et al.</i> (2014)	<i>L. acidophilus</i> and <i>L. reuteri</i>	Caseinato de sódio e metilcelulose	Glicerol como plastificante	(a)	<i>L. innocua</i>
Tavera-Quiroz <i>et al.</i> (2015)	<i>L. plantarum</i>	Metilcelulose	Frutooligossacarídeos e ácido ascórbico. Ácido cítrico como reticulador e sorbitol como plastificante	Lanches de maçã	(b)
Soukoulis <i>et al.</i> (2016)	<i>L. rhamnosus</i> GG	Amido (arroz ou milho), proteína (gelatina de pele, caseinato de sódio, proteína de soja)	Glicerol como plastificante	(a)	(b)
Pereira <i>et al.</i> (2016)	<i>B. animalis</i> and <i>L. casei</i>	Soro proteico isolado	Glicerol como plastificante	(a)	(b)
Soukoulis <i>et al.</i> (2017)	<i>L. rhamnosus</i> GG	Alginato de sódio, pectina, kappa-carragena / goma de alfarroba e gelatina na presença ou ausência de concentrado protéico de soro	Glicerol como plastificante	(a)	(b)

Fonte: GUIMARÃES *et al.*, 2018.

(a)As células vivas não foram testadas em uma aplicação alimentar apenas em filmes e revestimentos. (b) Não testado contra patógenos.

Tabela 12 - incorporação de leveduras vivas em filmes e revestimentos comestíveis, mostrando microrganismo antagônico, matriz polimérica, aditivos, aplicação em alimentos e patógenos inibidos por esses filmes ou revestimentos comestíveis

Referência	Microrganismo	Matriz Polimérica	Aditivos	Alimento de aplicação	Inibição de patógenos
McGuire & Baldwin, 1994	<i>C. oleophila Montrocher</i>	Metilcelulose e hidroxipropilcelulose	Sorbato de potássio	Toranja	Naturalmente crescido
Potjewijd <i>et al.</i> , 1995	<i>C. guilliermondii</i> e <i>Devaryomyces sp.</i>	Metilcelulose, carboximetilcelulose de sódio e hidroxipropilcelulose	Glicose e cloreto de cálcio	Laranja	Naturalmente crescido
McGuire & Hagenmaier, 1996	<i>C. oleophila</i>	Goma-laca, látex de goma-laca, éster de resina de madeira de éster de goma-laca	Etanol, morfina, amônia, KOH e ácido oleico. Propilenoglicol como plastificante	Toranja	Naturalmente crescido
McGuire & Dimitroglou, 1999	<i>C. oleophila</i>	Goma-laca, éster de sacarose	Propilenoglicol como plastificante e ácido oleico ou polissorbato 80 como surfactante	Toranja	Naturalmente crescido
Sharma <i>et al.</i> , 2006	<i>C. utilis</i>	Quitosana	Tween-80	Tomate	<i>A. alternata</i> e <i>G. candidum</i>
Fan <i>et al.</i> , 2009	<i>C. laurentii</i>	Alginato	Glicerol, ácido palmítico, monoestearato de glicerol, b-ciclodextrina	Morango	Naturalmente crescido
Yinzhe & Shaoying, 2013	<i>Fermento de cerveja</i>	Carboximetilcelulose e alginato	Nenhum aditivo foi usado	Uva	(b)
Aloui <i>et al.</i> , 2015	<i>W. anomalus</i>	Alginato de sódio e goma de alfarroba	Glicerol	Laranja	<i>P. digitatum</i>
Parafati <i>et al.</i> , 2016	<i>W. anomalus</i> , <i>M. pulcherrima</i> e <i>A. pullulans</i>	Goma de alfarroba	Nenhum aditivo foi usado	Tangerina	<i>P. digitatum</i> e <i>P. italicum</i>
Marin <i>et al.</i> , 2016	<i>C. sake</i>	Hidroxipropilmetilcelulose, amido de milho, caseinato de sódio e proteína de ervilha	Ácido oleico, span 80, tween 85 como surfactantes. Glicerol como plastificante	Uva	<i>B. cinerea</i>
Marin <i>et al.</i> , 2017	<i>C. sake</i>	Hidroxipropilmetilcelulose, amido de milho, caseinato de sódio e proteína de ervilha	Ácido oleico, span 80, tween 85 como surfactantes. Glicerol como plastificante	(a)	(b)

Fonte: GUIMARÃES *et al.*, 2018. As células vivas não foram testadas em uma aplicação alimentar apenas em filmes e revestimentos. (b) Não testado contra patógenos

ANEXO C

Tabela 13 - Exemplos de produtos de bioprocessamento

Produto	Organismo típico usado
BIOMASSA	
Inoculantes agrícolas para fixação de nitrogênio	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
Fermento de pão	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Culturas iniciais de queijo	<i>Lactococcus</i> spp.
Inoculantes para produção de silagem	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Proteína unicelular	<i>Candida utilis</i> or <i>Pseudomonas methylotrophus</i>
Culturas iniciais de iogurte	<i>Streptococcus thermophilus</i> and <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
ÁCIDOS ORGÂNICOS	
Ácido Cítrico	<i>Aspergillus niger</i>
Ácido glucônico	<i>Aspergillus niger</i>
Ácido itacônico	<i>Aspergillus itaconicus</i>
Ácido láctico	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
AMINOÁCIDOS	
L-Arginina	<i>Brevibacterium flavum</i>
Ácido L-glutâmico	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
L-Lisina	<i>Brevibacterium flavum</i>
L-fenilalanina	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
Outros	<i>Corynebacterium</i> spp.
ENZIMAS	
α -Amilase	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
Glucoamilase	<i>Aspergillus niger</i>
Glicose isomerase	<i>Bacillus coagulans</i>
Pectinases	<i>Aspergillus niger</i>
Proteases	<i>Bacillus</i> spp.
Rennin	<i>Mucor miehei</i> or recombinant yeast
ANTIBIÓTICOS	
Cefalosporinas	<i>Cephalosporium acremonium</i>
Penicilina	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Antibióticos aminoglicosídeos (por exemplo, estreptomicina)	<i>Streptomyces griseus</i>
Ansamícinas (por exemplo, rifamicina)	<i>Nocardia mediterranei</i>
Antibióticos aromáticos (por exemplo, griseofulvina)	<i>Penicillium griseofulvum</i>
Antibióticos macrolídeos (por exemplo, eritromicina)	<i>Streptomyces erythreus</i>
Antibióticos nucleosídeos (por exemplo, puromicina)	<i>Streptomyces alboniger</i>
Antibióticos macrólidos de polieno (por exemplo, candidina)	<i>Streptomyces viridoflavus</i>
Antibióticos polipeptídicos (por exemplo, gramicidina)	<i>Bacillus brevis</i>
Tetraciclina (por exemplo, 7-clortetraciclina)	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
TECIDOS E CÉLULAS TERAPÊUTICAS	
Células de cartilagem	Condrócitos humanos (paciente)
Pele	Células da pele humana
INSETICIDAS	
Esporos bacterianos	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Esporos de fungos	<i>Hirsutella thompsonii</i>

Fonte: DORAN, Pauline, 2012.