

CYBELLE PEREIRA DE OLIVEIRA
ORGANIZADORA

MICROBIOLOGIA NAS INOVAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS A ALIMENTOS

João Pessoa, 2025

CYBELLE PEREIRA DE OLIVEIRA
Organizadora

MICROBIOLOGIA NAS INOVAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS A ALIMENTOS

João Pessoa, 2025

Organizadora

Cybelle Pereira de Oliveira (Docente UFPB)

Colaboradoras

Raíssa Dália Paulino (SEAD UFPB)

Lívia Feijó Portela (SEAD UFPB)

Editor Chefe

Cybelle Pereira de Oliveira (Docente UFPB)

Diagramação

Luana Pinheiro da Silva (SEAD UFPB)

Edição de Arte e Capa

Samisses Ramalho (SEAD UFPB)

Revisor

Rosiane Marinho Castillo (SEAD UFPB)

O conteúdo dos capítulos deste livro, sua correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos respectivos autores. O download e o compartilhamento da obra são permitidos desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Microbiologia nas inovações biotecnológicas
aplicadas a alimentos [livro eletrônico] /
organizadora Cybelle Pereira de Oliveira ;
colaboradora Lívia Feijó Portela. -- 1. ed. --
João Pessoa, PB : Ed. dos Autores, 2025.
PDF

Vários autores.
Bibliografia.
ISBN 978-65-01-66633-4

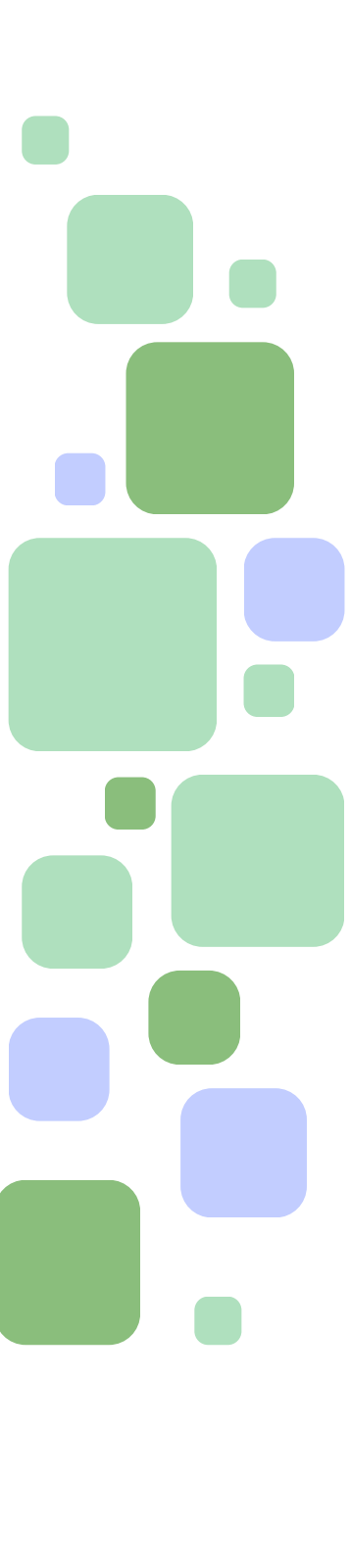
1. Biotecnologia 2. Inovações tecnológicas
3. Tecnologia de alimentos I. Oliveira, Cybelle
Pereira de. II. Portela, colaboradora Lívia Feijó.

25-297863.0

CDD-664.001579

Índices para catálogo sistemático:

1. Microbiologia dos alimentos : Tecnologia dos
alimentos 664.001579



Dedico esta obra à minha filha Maria
Clara, a todos os meus alunos e aos
amantes do lindo mundo da
Microbiologia!

APRESENTAÇÃO

Prezado leitor,

A obra *Microbiologia nas Inovações Biotecnológicas Aplicadas a Alimentos* trata-se de um ebook científico escrito em parceria com autores renomados de diversas instituições brasileiras de ensino superior: Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Universidade de Campinas (UNICAMP), IFGo (Instituto Federal Goiano), Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

Fruto do projeto de extensão intitulado *Lives Científicas 2024: Ciência e Tecnologia de Alimentos e Saúde*, da UFPB, inspirado e coordenado pela Profa. Dra. Cybelle Pereira de Oliveira (DCF/CCS/UFPB), este livro visa integrar docentes, discentes, pesquisadores e amantes da Microbiologia de diferentes instituições, além de compartilhar e difundir conhecimento científico atual e de qualidade na área da Microbiologia Aplicada à Ciência e Tecnologia de Alimentos e à Biotecnologia.

O leitor irá debruçar-se, ao longo dos sete capítulos desta obra, sobre temas como bioproteção de frutas e produtos lácteos, aplicação de bactérias lácticas em produtos de panificação, como fermentos naturais, obtenção biotecnológica de xilitol e arabinol utilizando-se do subproduto da casca de cacau, pós-bióticos, ação antimicrobiana da radiação ultravioleta C em alimentos e a aplicação de *Saccharomyces boulardii* na produção de cerveja artesanal.

Almejo uma boa leitura e uma excelente viagem ao mundo microbiano!

Profª Drª Cybelle Pereira de Oliveira

Farmacêutica. Mestra e Doutora em Ciência e Tecnologia de

Alimentos

Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF)

Centro de Ciências da Saúde (CCS)

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

AGRADECIMENTO

Meu agradecimento especial aos discentes voluntários participantes do projeto de extensão *Lives Científicas 2024: Ciência e Tecnologia de Alimentos e Saúde*, Diogo Gabriel da Silva Mendonça e Alessandra Maiara Silva Carvalho, à colaboradora Prof^a Dr^a Raíssa Dália Paulino, aos autores de cada capítulo e à Superintendência de Educação à Distância da Universidade Federal da Paraíba (SEAD/UFPB).

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	06
BIOPROTEÇÃO DE FRUTAS COM APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁTICAS	
CAPÍTULO 2	28
CASCA DE CACAU: POTENCIAL DE APLICAÇÃO NA PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE ARABITOL E XILITOL	
CAPÍTULO 3	51
FERMENTO NATURAL E BACTÉRIAS LÁTICAS: POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EM PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO	
CAPÍTULO 4	67
PÓS-BIÓTICOS: APLICAÇÕES, FUNCIONALIDADES E PERSPECTIVAS ATUAIS	
CAPÍTULO 5	88
RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA C PARA INATIVAÇÃO MICROBIANA EM ALIMENTOS: REVISÃO INTEGRATIVA	
CAPÍTULO 6	99
USO DE BIOPROTETORES EM LEITE E PRODUTOS LÁCTEOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	
CAPÍTULO 7	113
VIABILIDADE DE PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL UTILIZANDO <i>SACCHAROMYCES BOULARDII</i>	

BIOPROTEÇÃO DE FRUTAS COM APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁTICAS

**Ítallo Fernandes Cirilo¹,
Jessica Silva Freire¹,
Natália de Souza Bento²,
Talita Silveira Queiroga²,
Karina Felix Dias Fernandes²,
Evandro Leite de Souza³,
Kataryne Árabe Rimá de Oliveira³**

¹Discentes do Curso de Nutrição, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

²Discentes do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

³Docente do Departamento de Nutrição. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Pb, Brasil. E-mail: kataryne.arabe@academico.ufpb.br

INTRODUÇÃO

Cada vez mais, os consumidores estão se conscientizando da importância de uma alimentação saudável e sustentável, e esse processo vem influenciando suas escolhas alimentares, com aumento expressivo do interesse e consumo de frutas (Garin-Murguialday *et al.*, 2024). As frutas, como fontes alimentares, são saborosas, geralmente têm baixo teor calórico, são fáceis de preparar e, do ponto de vista de seu impacto na saúde humana, desempenham papel crucial na prevenção de várias doenças, quando consumidas com frequência em um plano alimentar (Badea; Diguță; Matei, 2022). Esses efeitos benéficos à saúde são atribuídos à abundância de nutrientes e fitoquímicos (compostos fenólicos, flavonoides e peptídeos bioativos) que podem exercer atividades bioativas para promoção da saúde e bem-estar (De Simone *et al.*, 2021).

Contudo, as frutas são produtos perecíveis, suscetíveis à deterioração fisiológica, alterações bioquímicas e mecânicas, além de degradação microbiana, que pode ocorrer principalmente durante o período pós-colheita. Entre 25% e 40% (do volume total) das frutas produzidas são perdidos antes do consumo devido a tratamentos pós-colheita inadequados, crescimento microbiano, maturidade e senescência, que, como consequência, podem causar degradação na qualidade nutricional e sensorial, como cor, aroma e sabor, limitando a sua vida de prateleira (Ibrahim; Aziz; Koy, 2021; Agriopoulou *et al.*, 2020). Considerando esses fatores, as frutas necessitam de cuidados pós-colheita imediatos (Ibrahim; Aziz; Koy, 2021).

Diferentes estratégias, envolvendo uma variedade de técnicas físicas, como tratamentos térmicos, refrigeração, congelamento, desidratação e reagentes químicos, como antioxidantes, conservantes e antimicrobianos, são frequentemente utilizadas para reduzir as alterações pós-colheita e prolongar a vida de prateleira das frutas. Entretanto, o uso desses métodos pode apresentar inconvenientes, como alterações nas qualidades nutricionais e sensoriais (Islam *et al.*, 2023). Além disso, drogas químicas são substâncias muito estáveis e difíceis de eliminar dos alimentos e da natureza, podendo também ser tóxicos para humanos e animais e levar ao desenvolvimento de resistência nos patógenos (Dopazo *et al.*, 2021).

Como resultado, vários estudos têm buscado soluções alternativas que visem garantir a qualidade e segurança das frutas, com destaque para biopreservação, que também atende às preferências e tendências dos consumidores, que estão mais preocupados com a segurança alimentar e ambiental (Thi *et al.*, 2023; Badea; Diguță; Matei, 2022). A biopreservação pode ser definida como a extensão do prazo de validade e melhoria da segurança dos alimentos através da utilização de microflora segura, natural ou controlada e seus produtos antimicrobianos, sem quaisquer substâncias biologicamente ativas nocivas (Islam *et al.*, 2023).

Nesse sentido, as bactérias lácticas (BAL) apresentam uma abordagem promissora por diversas razões: ocorrem naturalmente em alimentos como frutas frescas; possuem *status* de geralmente reconhecido como seguro (GRAS) e presunção qualificada de segurança (QPS); são amplamente utilizadas em aplicações alimentares e podem atuar como agentes de biocontrole devido à sua capacidade de produzir compostos antimicrobianos e de colonizar tecidos vegetais vulneráveis às infecções pós-colheita (De Simone *et al.*, 2021; Ibrahim; Aziz; Koy, 2021; Garín-Murguialday *et al.*, 2024).

Pesquisas recentes sobre o efeito das BAL afirmaram sua capacidade de produzir compostos antagonistas preparados para controlar microrganismos patogênicos, além da propriedade efetiva de eliminar por competição de nutrientes essenciais. Estas propriedades benéficas das BAL tornam-nas uma alternativa atraente aos conservantes sintéticos de alimentos, uma vez que oferecem uma solução natural e segura para a conservação de alimentos e promoção da saúde humana. Além disso, o *status* de segurança das BAL destaca sua ampla aceitação e uso na indústria de alimentos, indicando seu potencial para desenvolvimento futuro e aplicações em tecnologia de alimentos (Islam *et al.*, 2023).

Ainda, é importante ressaltar a relevância da escolha de métodos eficazes para aplicação das BAL nas frutas, melhorando a viabilidade e funcionalidade, e retardando alterações indesejáveis nos parâmetros sensoriais, como em revestimentos e filmes comestíveis ou microcápsulas de proteção (De Oliveira; Fernandes; De Souza, 2021). Assim, neste capítulo, são apresentadas informações atualizadas sobre a biopreservação de frutas por meio do uso de BAL e seus metabólitos, com uma descrição detalhada dos métodos de aplicação, mecanismos de ação e impactos da sua aplicação sobre características gerais de

qualidade e segurança das frutas, particularmente durante o armazenamento pós-colheita.

FRUTICULTURA E IMPACTO DAS PERDAS PÓS-COLHEITA

As frutas constituem parte indispensável da alimentação humana e, devido à sua riqueza nutricional, estão relacionadas à saúde da população. Considerado um setor de grande importância econômica, a fruticultura se destaca e cresce constantemente. No Brasil, a produção de frutas é de aproximadamente 59 milhões de toneladas, representando 5,5% na produção mundial, percentual que coloca o país como terceiro maior produtor mundial (Kist *et al.*, 2022).

O país possui cultivares que cobrem mais de 2 milhões de hectares, destacando-se também pela diversidade de frutas produzidas em comparação com a fruticultura mundial (Vidal, 2018). Seus maiores cultivares estão na região Nordeste, com cerca de 52%, onde o elevado desenvolvimento ocorre devido às condições climáticas favoráveis (boa luminosidade, alta temperatura e baixa umidade relativa). Em seguida, tem-se o Sudeste, com média de 26% da produção, principalmente de frutas cítricas. As culturas mais comuns nestas áreas são laranja, banana, manga e caju (Andrade, 2020).

Diante do volume de produção e exportação, a fruticultura mostra-se como setor responsável por uma elevada geração de empregos e renda ao longo de toda a cadeia produtiva, com perspectivas de crescimento para atender à demanda dos consumidores por alimentos saudáveis (Vidal, 2018). Além disso, no mercado internacional, a tendência é de expansão do comércio, principalmente de frutas tropicais, com a abertura de novos mercados, como da Ásia e do aumento do consumo em mercados existentes, como União Europeia, Estados Unidos e Japão (Neves, 2018).

Algumas frutas tropicais, como manga, abacaxi, abacate e mamão, estão entre as principais culturas agrícolas que apresentam o crescimento médio anual mais rápido (García-Villegas, 2022). O maior produtor das principais frutas tropicais é a Índia, responsável

por cerca de 30% da produção mundial. Outros grandes produtores incluem China, Indonésia, Filipinas e Tailândia. Os países da América Latina e do Caribe respondem por aproximadamente 26% da produção de frutas tropicais, sendo o Brasil um dos maiores produtores da região (Zakaria, 2023).

Nessa perspectiva de crescimento econômico, manter a qualidade das frutas torna-se essencial para sua comercialização. Porém, as frutas são alimentos perecíveis e suscetíveis a diversos danos, principalmente no período pós-colheita, em decorrência dos processos de maturação e do desenvolvimento de doenças fúngicas, que afetam sua qualidade nutricional e provocam alterações em sua aparência, estrutura, aroma e sabor. Como resultado, sua vida de prateleira fica reduzida (Kumari *et al.*, 2022).

Os processos de respiração, maturação e senescência podem provocar diferentes alterações fisiológicas, que levam ao amadurecimento acelerado das frutas. Em decorrência, ocorrem perdas de água, de peso, amolecimento e alterações de cor e sabor, as quais atingem principalmente as frutas climatéricas. Durante a maturação, essas frutas sofrem aumento da respiração até alcançar um pico, que é acompanhado por aumento na produção de etileno e na atividade de enzimas dependentes de oxigênio, responsáveis por processos de degradação das frutas (Ziv; Fallik, 2021).

Já o processo de contaminação por patógenos em frutas começa quando os patógenos germinam e penetram na cutícula do tecido através de feridas e lesões, ou quando penetram diretamente na cutícula do hospedeiro durante a estação de crescimento (Bano *et al.*, 2023). Entre os vários gêneros de fungos presentes no período de pós-colheita das frutas, destacam-se *Fusarium*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Lasiodiplodia* e *Monilinia*. Esses podem residir no ponto de introdução inicial das frutas verdes, permanecendo inativos durante o armazenamento até o amadurecimento. À medida que as frutas começam a amadurecer, esses microrganismos encontram condições favoráveis ao seu crescimento, com consequente progressão da degradação dos tecidos do hospedeiro (Dukare *et al.*, 2019).

Em consequência, o crescimento dos fungos resulta em uma série de sintomas que comprometem a aparência, sabor, textura e qualidade geral das frutas. Os sintomas incluem manchas, lesões e podridão, que podem se manifestar de diferentes formas dependendo do tipo de fungo envolvido (Bano *et al.*, 2023). Por exemplo, a podridão mole, causada por fungos do gênero *Rhizopus*,

pode resultar em aparência encharcada nos tecidos das frutas (Liu *et al.*, 2024), enquanto a antracnose, provocada por fungos do gênero *Colletotrichum*, produz manchas escuras, pequenas e afundadas (Zakaria, 2021). Essas características visíveis das doenças fúngicas não apenas reduzem a aceitação das frutas, mas também facilitam a entrada de microrganismos adicionais, resultando em deterioração mais rápida e grave (Bano *et al.*, 2023).

Estudos recentes demonstraram que aproximadamente 33% da produção mundial total de frutas é desperdiçada. Nos países em desenvolvimento, estas perdas são frequentemente mais graves devido às instalações inadequadas de refrigeração e transporte. E mesmo nos países desenvolvidos, a decomposição patogênica durante estas fases do processamento mostra-se como responsável por até 25% de perdas da produção (Dukare *et al.*, 2019; Kumari *et al.*, 2022).

Essa elevada quantidade de frutas desperdiçadas durante o manuseio pós-colheita gera uma lacuna considerável para o desenvolvimento de uma base sólida em sistemas integrados de gestão pós-colheita, com instalações adequadas para aplicação de técnicas de conservação (Ali *et al.*, 2021).

MÉTODOS TRADICIONAIS DE PRESERVAÇÃO DE FRUTAS

O manejo pré e pós-colheita contra danos físicos e, principalmente, doenças causadas por fitopatógenos tem sido um desafio e requer esforço constante, não apenas por parte dos agricultores, mas também das autoridades, visto que geram impactos tanto para a economia quanto em termos de segurança alimentar e nutricional (Matrose *et al.*, 2021; Deresa; Diriba, 2023).

Os métodos tradicionais de conservação de frutas são vistos como estratégias para a diminuição das perdas desses produtos. Esses métodos têm o objetivo de minimizar ou retardar processos físicos, químicos e biológicos deletérios resultantes da atividade biológica dos alimentos, causando perda de qualidade, diminuição do valor comercial e da vida de prateleira (Teixeira; Vimercati, 2023).

Comumente, busca-se enfrentar as doenças pós-colheita utilizando produtos químicos, como é o caso dos fungicidas sintéti-

cos, que são substâncias capazes de inibir o crescimento microbiano (Nasrollahzadeh *et al.*, 2022). Contudo, esses componentes químicos podem ocasionar o desenvolvimento de mutações e resistência em microrganismos patogênicos. Adicionalmente, com o aumento da conscientização ambiental e do conhecimento sobre os efeitos deletérios à saúde do consumidor e à qualidade final do produto, tem-se desestimulado sua aplicação ampliada (Tan; Ali; Siddiqui *et al.*, 2022; Shi; Xiang; Jiahu., 2024).

Dentre as consequências à saúde humana relacionadas ao uso indiscriminado e à manipulação inadequada de fungicidas sintéticos, destacam-se o desenvolvimento de doenças crônicas (Deresa; Diriba, 2023), câncer no colo do útero, leucemia mieloide (Souza *et al.*, 2019) e disfunções nos hormônios da tireoide (Lerro *et al.*, 2018; Shrestha *et al.*, 2018). Além disso, relaciona-se às alterações das propriedades sensoriais dos cultivares, bem como às consequências ambientais, com destaque para a destruição da camada de ozônio, contaminação de rios e reservatórios de água (Deresa; Diriba, 2023; Nasrollahzadeh *et al.*, 2022). Em consequência, barreiras sanitárias e fitossanitárias não-tarifárias vêm sendo criadas mundialmente com o intuito de controlar a entrada desses produtos químicos agropecuários e favorecer a importação de mercadorias com melhor qualidade e segurança para os consumidores (Joubert, 2022).

Além dos tratamentos químicos, visando maior controle fitopatogênico e aumento do tempo de armazenamento de frutas, outros métodos considerados tradicionais são utilizados. Dentre os quais, é possível destacar os tratamentos térmicos, como branqueamento e desidratação, e os processos de conservação pelo uso do frio, notadamente o resfriamento e o congelamento, sendo os mais utilizados (Formaggio *et al.*, 2020).

O emprego de tais métodos na cadeia produtiva é importante, visando garantir a conservação desejada. Entretanto, podem ser gerados impactos negativos, como a perda de nutrientes, alterações das propriedades sensoriais e injúrias pelo frio, como congelamento não intencional, desidratação, escurecimento/avermelhamento interno da polpa e queimaduras (Teixeira; Vimercati, 2023).

Na perspectiva de retardar a perda de qualidade e garantir a segurança de alimentos frente a contaminações microbiológicas, danos físicos e mecânicos, novas estratégias de conservação vêm sendo estudadas, com destaque para emprego de embalagens de atmosfera modificada, barreiras físicas, antimicrobianos naturais e controles biológicos.

APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁTICAS ISOLADAS E MECANISMOS DE AÇÃO

Como visto, a qualidade pós-colheita de frutas pode ser afetada, especialmente por doenças causadas por fungos (Bano *et al.*, 2023), como a antracnose (*Colletotrichum* spp.), mofo-preto (*Aspergillus niger*), fusariose (*Fusarium* spp.), e as podridões peduncular, mole (*Rhizopus* spp.), cinzenta (*Botrytis cinerea*), azul (*Penicillium italicum*) e verde (*P. digitatum*) (Singh *et al.* 2021). Dessa forma, para controlar seu desenvolvimento, tradicionalmente, são utilizadas estratégias químicas com aplicação de fungicidas sintéticos (Gandía, *et al.*, 2021). Entretanto, a procura por produtos com menos resíduos químicos impulsionou pesquisas para o desenvolvimento de novas tecnologias pós-colheita, especialmente aquelas que são seguras, ecologicamente corretas, econômicas e compatíveis com as práticas comerciais de manuseio (Shah *et al.*, 2021).

O biocontrole de alimentos é um método alternativo e novo de preservação, com crescente interesse dos consumidores. Este método pode estender a vida útil de frutas *in natura* ou minimamente processadas pelo uso de microrganismos seguros ou compostos biologicamente ativos e não tóxicos (Shah *et al.*, 2021). Nessa perspectiva, avanços significativos têm sido alcançados para explorar microrganismos antagonistas como potenciais agentes de biopreservação para controle de doenças pós-colheita (Chen *et al.*, 2021), com destaque para o uso de BAL (De Simone *et al.*, 2024b; Hashemi; Jafarpour, 2021; Volentini, *et al.*, 2023; Yin *et al.*, 2020).

As BAL produzem uma variedade de compostos antimicrobianos que possuem forte atividade antagônica contra muitos microrganismos, a citar: ácidos orgânicos (ácido láctico, fenil-láctico, cítrico, acético, fumárico, benzóico e málico), peróxido de hidrogênio, CO₂, diacetil, etanol, reuterina, acetaldeído, acetona, amônia e bacteriocinas (De Simone, *et al.*, 2024a; Riolo *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2022; Kumariya, *et al.*, 2019; Siedler; Balti; Neves, 2019). Além disso, o efeito antimicrobiano das BAL também é resultado da competição com microrganismos patogênicos por espaço e nutrientes (Chen *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2020; Fernandes *et al.*, 2021; Ibrahim, *et al.*, 2021; Mgomi *et al.*, 2023).

A aplicação de BAL ou seu sobrenadante livre de células (SLC)

em frutas tem sido utilizada como estratégia para diminuir as perdas pós-colheita e prolongar seu período de comercialização. Estes métodos foram investigados em frutas como morango (Chen *et al.*, 2020), melão (Yin *et al.*, 2020), laranja (Chen *et al.*, 2021) e limão (Volentini *et al.*, 2023). Além das frutas *in natura*, produtos minimamente processados também têm sido avaliados, como kiwis e maçãs (Alvarez *et al.*, 2021b; De Simone *et al.*, 2021; Elabd, 2019).

A título de exemplo, *Lactiplantibacillus plantarum* foi capaz de reduzir a população de *Listeria innocua* e *Listeria monocytogenes* quando aplicada em melões antes e depois da colheita (Yin *et al.*, 2020). Os efeitos demonstrados pelas cepas de *L. plantarum* contra *Listeria* podem ser atribuídos à presença de peróxido de hidrogênio e ácidos orgânicos, que podem difundir-se na membrana das células-alvo e reduzir o pH intracelular, repercutindo negativamente na atividade metabólica (De Simone, *et al.*, 2024a); e bacteriocinas, que promovem permeabilização da membrana e formação de poros causadores de lise celular (Kumariya *et al.* 2019).

Ainda, doze diferentes cepas de BAL e seus SLC foram testados contra uma suspensão de esporos de *Penicillium digitatum* inoculados em laranjas. Tanto as frutas tratadas com *L. plantarum* CKXP13 e CWXP24 quanto aquelas tratadas com os metabólitos secundários obtiveram redução significativa no diâmetro de lesão na fruta. No entanto, a atividade fungicida do SLC reduziu após neutralização do pH e tratamento com proteases, sugerindo a produção de ácidos orgânicos e bacteriocinas, com a identificação de genes codificadores destas proteínas nas cepas testadas (Chen *et al.* 2021).

Ao analisar o efeito do SLC de duas cepas de *L. plantarum* (PAN01 e UFG 121) em kiwis minimamente processados e artificialmente contaminados com *Botrytis cinerea*, De Simone *et al.* (2021) observaram que houve retardo no crescimento do fitopatógeno e prolongamento da vida de prateleira da fruta. Este efeito foi relacionado à alta concentração de ácido lático presente no SLC, reduzindo o pH e aumentando a ação antagonista (De Simone, *et al.*, 2021), assim como à presença de outros compostos orgânicos voláteis que, em combinação, promovem efeito sinérgico, mesmo sem ter forte ação no pH do meio (Siedler; Balti; Neves, 2019).

De Simone *et al.* (2024a) estudaram a atividade antifúngica do SLC de oito cepas de *L. plantarum* contra *Aspergillus niger*. A cepa *L. plantarum* WCFS1 apresentou a maior atividade inibitória contra o

patógeno. Entretanto, inconsistências das cepas com teores de ácidos parecidos, mas atividades inibitórias distintas, trouxeram à tona a hipótese de que estes ácidos orgânicos por si só não explicam completamente a atividade antifúngica, havendo um efeito sinérgico com outros metabólitos produzidos pelas cepas, como álcoois, cetonas e ésteres.

A atividade de biocontrole exercida pela suspensão de células de *L. plantarum* CM-3 em diversas concentrações e pelo SLC contra *B. cinerea* foi avaliada em morangos, sendo observada redução significativa da incidência e do diâmetro da lesão causada pelo fitopatógeno. Estes efeitos foram dependentes da concentração aplicada. Contudo, os filtrados isentos de células não proporcionaram qualquer proteção contra *B. cinerea* (Chen *et al.*, 2020). Desse modo, o resultado obtido relaciona-se com o crescimento significativo da população de *L. plantarum*, que foi maior quando o fungo estava presente no morango. Isso implica que uma competição por espaço e nutrientes pode ser o fator do efeito antagonico observado (Chen *et al.*, 2020; Ibrahim *et al.*, 2021; Mgomi *et al.*, 2023).

Nesse sentido, a atividade inibitória *in vitro* do SLC mostra-se como cepa-dependente, estando relacionada com a competência do antagonista em produzir compostos orgânicos voláteis não só em quantidade, mas em composição adequada para promover o efeito supressor do fitopatógeno (Chen *et al.*, 2020; De Simone *et al.*, 2021; Chen *et al.* 2021). Apesar disso, a atividade antifúngica de culturas de BAL propriamente ditas geralmente apresenta-se mais forte quando comparado ao tratamento com o SLC *in vitro*. Isso pode ser justificado pela produção contínua de compostos antagonistas pelas BAL quando ainda imersas no meio de crescimento (Fugaban, *et al.*, 2023).

As atividades antagonicas também se explicam através da competição pelos nutrientes presentes no ambiente, que pode ocorrer em virtude da concorrência passiva, onde uma espécie consome mais nutrientes, restando menos para outra, que terá seu crescimento limitado. Ainda, pode ocorrer por meio de concorrência severa, em que células colonizam o território de modo que conseguem afastar ou destruir seus concorrentes a partir da produção de substâncias, como bacteriocinas, peróxido de hidrogênio e biofilmes (Ibrahim, *et al.*, 2021).

Contudo, ressalta-se que a aplicação isolada de BAL pode trazer consigo efeitos indesejados no que diz respeito à qualidade sensorial das frutas, pois a produção de compostos orgânicos voláteis por parte dos microrganismos antagonistas tem a capacidade de

danificar as células vegetais, levando à liberação de diferentes compostos, como β -ocimeno, limoneno e β -mirceno, que tornam a fruta sensorialmente menos aceitável para o consumidor (De Oliveira; Fernandes; De Souza, 2021; Mandha *et al.* 2022). Em adição, a utilização de BAL promove mudanças na cor (escurecimento) da fruta, por meio de reações oxidativas e não oxidativas nos polifenóis, resultando em produtos intermediários coloridos que promovem o escurecimento (Alvarez *et al.*, 2021b).

Desse modo, são pensadas estratégias que inserem as BAL de forma combinada com outros métodos, como os revestimentos, que, além reduzir o efeito no paladar, têm a capacidade de aumentar a sobrevivência das BAL na matriz ao longo do armazenamento e servir como uma barreira adicional no controle de fitopatógenos e no retardo da senescência (De Simone *et al.*, 2024b; Elabd, 2019).

APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁTICAS COMBINADA COM OUTRAS ESTRATÉGIAS DE CONTROLE

Visando melhorar a sobrevivência das cepas de BAL, assim como reduzir possíveis efeitos negativos nos parâmetros sensoriais das frutas, as aplicações em conjunto com outros métodos vêm sendo também investigadas, com ênfase na utilização de revestimentos comestíveis e no encapsulamento das células (Linares-Morales *et al.*, 2018). Dentre as principais matrizes utilizadas para carrear as BAL, estão o alginato de sódio e de cálcio, quitosana, gelatina, goma arábica e frutooligossacarídeos (FOS) (De Oliveira; Fernandes; De Souza, 2021), com a possibilidade de aplicação por diferentes métodos, como por imersão, *spray* ou extrusão (Linares-Morales *et al.*, 2018).

Outras matrizes também vêm sendo exploradas como possíveis carreadoras das BAL. Em um estudo, por exemplo, foi utilizado um revestimento à base de *Konjac glucomannan*, um polissacarídeo obtido do tubérculo da *Amorphophallus konjac*, como veículo de três cepas de *L. plantarum* para recobrir kiwis minimamente processados e reduzir o desenvolvimento de bolores e leveduras. As frutas foram mantidas a 4°C por 5 dias e, neste período, o tratamento aplicado foi capaz de limitar o desenvolvimento destes

deteriorantes e de reduzir acentuadamente o grau de decomposição e mudanças de cor, mantendo os teores de clorofila e ácido ascórbico das fatias de kiwis (Hashemi; Jafarpour, 2021).

Outra possibilidade é o uso de exopolissacarídeos (EPSs) como base para revestimentos comestíveis. O EPS da bactéria *Weissella confusa* foi utilizado em conjunto com a cepa *L. plantarum* A6 como forma de biocontrole contra *Fusarium* sp., *Aspergillus niger* e *Rhizopus stolonifer* em tomates-cereja armazenados a 30°C e 4°C. Os resultados encontrados mostraram que as frutas revestidas com a combinação obtiveram menor perda de peso e taxa de respiração, maior nível de firmeza e retardo nas mudanças físico-químicas, além de inibir o crescimento de *Fusarium* sp. e *R. stolonifer*, repercutindo em maior tempo de prateleira da fruta (Álvarez, et al., 2021a).

No estudo de De Simone et al. (2024b), cinco cepas de *L. plantarum* foram carregadas em alginato de sódio para o controle da severidade da lesão e dos sintomas causados por *Aspergillus niger* em uvas cv. Itália, sendo observada redução no diâmetro das lesões e dos sintomas causados pela infecção durante 14 dias de armazenamento refrigerado.

Alvarez et al., (2021b) utilizaram o alginato de sódio em conjunto com FOS e inulina para transportar *Lactiplantibacillus rhamnosus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* em pedaços de maçãs, com o intuito de avaliar seu efeito contra *Listeria innocua* e *Escherichia coli*. Como resposta ao tratamento, ambas as bactérias tiveram efeito benéfico contra *L. innocua*, reduzindo sua contagem nas maçãs, mas o mesmo efeito não foi observado frente a *E. coli*.

De forma semelhante, *L. rhamnosus* foi testado frente a *E. coli* e *L. innocua* após a aplicação em revestimentos contendo alginato de sódio e/ou inulina e oligofrutose em mirtilos minimamente processados. Foi reportada a redução da contagem de *L. innocua* nos mirtilos tratados, enquanto não foi observado efeito sobre a contagem de *E. coli*. Também foi analisada a porcentagem de deterioração, na qual houve menor deterioração nas frutas revestidas com BAL por até 14 dias (Bambace; Álvarez; Moreira, 2019).

Cepas de *Levilactobacillus brevis*, *Lactiplantibacillus pentosus* e *Limosilactobacillus fermentum* foram incorporadas em revestimento de alginato de sódio para aplicação em goiabas e mangas. Este tratamento buscou inibir o crescimento de espécies de *Colletotrichum* nativas destas frutas. As frutas tratadas apresentaram um atraso no desenvolvimento da antracnose, assim como houve menor severidade das lesões após 15 dias de

armazenamento. As alterações físico-químicas também foram observadas, sendo relatada a redução na perda de peso, nos sólidos solúveis totais e diminuição das perdas de ácido ascórbico nas frutas revestidas (Fernandes; De Oliveira; De Souza, 2021).

A encapsulação também tem sido considerada como alternativa para aumentar a taxa de sobrevivência de BAL, assim como manter sua atividade de biopreservação. Revestimentos à base de alginato foram formulados satisfatoriamente com a incorporação de células encapsuladas de *L. rhamnosus* B-445, exibindo efeito positivo nas propriedades sensoriais e na redução da contagem de bactérias mesófilas, levedura e fungos em maçãs minimamente processadas (Elabd, 2019). A aplicação combinada de *L. plantarum* encapsulado e eugenol em maçãs minimamente processadas foi mais eficaz em reduzir o declínio da qualidade físico-química e inibir o crescimento de patógenos e microrganismos deteriorantes (Du *et al.*, 2023).

CONCLUSÃO

As perdas pós-colheita são um entrave para o desenvolvimento da fruticultura, ocorrendo principalmente devido ao crescimento de microrganismos fitopatogênicos. A busca por inovações tecnológicas que melhorem a qualidade das frutas e garantam a segurança frente à contaminação microbiana é crescente e emergencial. A utilização de BAL e seus metabólitos isoladamente, ou em combinação com outros métodos, tem-se mostrado uma alternativa sustentável e eficiente para a prevenção de doenças pós-colheita em frutas de interesse comercial, com destaque para a redução dos danos e sintomas causados por fitopatógenos.

Em consequência, a aplicação de culturas de BAL como tratamento pós-colheita pode contribuir para a extensão da vida útil das frutas ao longo da cadeia de processamento, possibilitando o aumento dos ganhos econômicos, com maior volume de produção e comercialização. Além disso, é provável que os produtores consigam alcançar um mercado consumidor cada vez mais preocupado com a segurança alimentar e ambiental. No entanto, desafios como escolha dos métodos de aplicação, as cepas de BAL, as concentrações celulares e os mecanismos de ação ainda precisam ser mais bem detalhados para garantir a viabilidade da sua aplicação em escala industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOPOULOU, S. *et al.* Lactic acid bacteria as antibacterial agents to extend the shelf life of fresh and minimally processed fruits and vegetables: Quality and safety aspects. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 952, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>. Acesso em: 05 jun. de 2024.

ALI, A. *et al.* Economic and environmental consequences of postharvest loss across food supply Chain in the developing countries. **Journal of cleaner production**, v. 323, p. 129146, 2021.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129146>. Acesso em: 17 jun. 2024.

KIST, B. B. *et al.* **Anuário brasileiro de Horti&Fruti**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2022. Disponível em:

https://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2022/04/HORTIFRUTI_2022.pdf. Acesso em: 17 jun. de 2024.

ÁLVAREZ, A. *et al.* Use of an exopolysaccharide-based edible coating and lactic acid bacteria with antifungal activity to preserve the postharvest quality of cherry tomato. **LWT**, v. 151, p. 112225, 2021a.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112225>. Acesso em: 24 mai. 2024.

ÁLVAREZ, M. V. *et al.* Prebiotic-alginate edible coating on fresh-cut apple as a new carrier for probiotic lactobacilli and bifidobacteria.

LWT, v. 137, p. 110483, 2021b. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110483>. Acesso em: 24 mai. 2024.

ANDRADE, P. F. S. Prognóstico 2020: Fruticultura análise da conjuntura. **DERAL: Departamento de Economia Rural**, Governo do Paraná. 7 p. 2020. Disponível em:

https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-01/fruticultura_2020.pdf. Acesso em: 22 mai. 2024.

BADEA, F.; DIGUȚĂ, C. F.; MATEI, F. The use of lactic acid bacteria and their metabolites to improve the shelf life of perishable fruits and vegetables. **Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies**, v. 26, n. 1, p. 117-125, 2022. Disponível em: https://biotechnologyjournal.usamv.ro/pdf/2022/issue_1/Art15.pdf. Acesso em: 05 jun. de 2024.

BAMBACE, M. F.; ALVAREZ, M. V.; MOREIRA, M. D. R. Novel functional blueberries: Fructo-oligosaccharides and probiotic lactobacilli incorporated into alginate edible coatings. **Food Research International**, v. 122, p. 653-660, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.040>. Acesso em: 24 mai. 2024.

BANO, A. *et al.* Elicitation of fruit fungi infection and its protective response to improve the postharvest quality of fruits. **Stresses**, v. 3, n. 1, p. 231-255, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/stresses3010018>. Acesso em 03 jun. de 2024.

CHEN, C. *et al.* A novel endophytic strain of *Lactobacillus plantarum* CM-3 with antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. **Biological Control**, v. 148, p. 104306, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104306>. Acesso em: 24 mai. 2024.

CHEN, O. *et al.* Screening lactic acid bacteria from pickle and cured meat as biocontrol agents of *Penicillium digitatum* on citrus fruit. **Biological Control**, v. 158, p. 104606, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104606>. Acesso em: 22 mai. 2024.

DE OLIVEIRA, K. Á. R.; FERNANDES, K. F. D.; DE SOUZA, E. L. Current advances on the development and application of probiotic-loaded edible films and coatings for the bioprotection of fresh and minimally processed fruit and vegetables. **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2207, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10092207>. Acesso em: 25 mai. 2024.

DERESA, E. M.; DIRIBA, F. T. Phytochemicals as Alternative Fungicides for Controlling Plant Diseases: A Comprehensive Review of Their Efficacy, Commercial Representatives, Advantages, Challenges for Adoption, and Possible Solutions. **Heliyon**, v. 9, n. 3, p. 1-16, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9984788/>. Acesso em: 16 mai. 2024.

DE SIMONE, N. *et al.* Antifungal activity of *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from fruit and vegetables and detection of novel antifungal VOCs from fungal-LAB co-cultures. **Food Bioscience**, v. 58, p. 103824, 2024a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103824>. Acesso em: 24 mai. 2024.

DE SIMONE, N. *et al.* Inclusion of Antifungal and Probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* strains in Edible Alginate Coating as a Promising Strategy to Produce Probiotic Table Grapes and Exploit Biocontrol Activity. **Horticulturae**, v. 10, n. 4, p. 419, 2024b. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/horticulturae10040419>. Acesso em: 22 mai. 2024.

DE SIMONE, N. *et al.* Screening of lactic acid bacteria for the bio-control of *Botrytis cinerea* and the potential of *Lactiplantibacillus plantarum* for eco-friendly preservation of fresh-cut kiwifruit. **Microorganisms**, v. 9, n. 4, p. 773, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040773>. Acesso em: 22 mai. 2024.

DOPAZO, V. *et al.* Bio-preservative potential of microorganisms isolated from red grape against food contaminant fungi. **Toxins**, v. 13, n. 6, p. 412, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins13060412>. Acesso em: 05 jun. 2024.

DU, G. *et al.* Influence of encapsulated *Lactobacillus plantarum* and eugenol on the physicochemical properties and microbial community of fresh-cut apples. **Food chemistry: X**, v. 17, p. 100563, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100563>. Acesso em: 12 jun. 2024.

DUKARE, A. S. *et al.* Exploration of microbial antagonists for the control of post-harvest fruit diseases: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 59, n. 9, p. 1498-1513, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1417235>. Acesso em: 20 mai. 2024.

ELABD, M. A. Development of bioactive packaging: Probiotic coating for improving fresh-cut apples quality. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 4, p. 17-24, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.30780/IJTRS.V04.I01.003>. Acesso em: 05 jun. 2024.

FERNANDES, K. F. D.; DE OLIVEIRA, K. Á. R.; DE SOUZA, E. L. Application of potentially probiotic fruit-derived lactic acid bacteria loaded into sodium alginate coatings to control anthracnose development in guava and mango during storage. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 15, p. 573–587, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09871-8>. Acesso em: 24 mai. 2024

FORMAGGIO, D. B. *et al.* Como minimizar perda de nutriente em unidades de alimentação e nutrição. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 12, n. 3, 2020. Disponível em: <https://www.univates.br/revistas/index.php/destaques/article/view/2686/1726>. Acesso em: 16 mai. 2024.

FUGABAN, J. I. I. *et al.* Evaluation of Antifungal Metabolites Produced by Lactic Acid Bacteria. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 15, p. 1447–1463, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09995-5>. Acesso em: 25 mai. 2024.

GANDÍA, M. *et al.* Potential of antifungal proteins (AFPs) to control *Penicillium* postharvest fruit decay. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 6, p. 449, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7060449>. Acesso em: 24 mai. 2024.

GARCÍA-VILLEGAS, A. *et al.* Cosmeceutical potential of major tropical and subtropical fruit by-products for a sustainable revalorization. **Antioxidants**, v. 11, n. 2, p. 203, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox11020203>. Acesso em: 25 mai. 2024.

GARIN-MURGUIALDAY, N. *et al.* Lactic Acid Bacteria and *Bacillus subtilis* as Potential Protective Cultures for Biopreservation in the Food Industry. **Applied Sciences**, v. 14, n. 10, p. 4016, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app14104016>. Acesso em: 05 jun. 2024.

HASHEMI, S. M. B. JAFAR POUR, D. Bioactive edible film based on Konjac glucomannan and probiotic *Lactobacillus plantarum* strains: Physicochemical properties and shelf life of fresh-cut kiwis. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 2, p. 513–522, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15568>. Acesso em: 25 mai. 2024.

IBRAHIM, P. S.; AZIZ, K. E. KOY, R. A. Application of locally isolated lactic acid bacteria metabolites as bio-preservatives to increase shelf-life, safety and quality of some fruits. **Anbar Journal of Agricultural SCIENCES**, v. 19, n. 2, p. 269–284, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.32649/AJAS.2021.175999>. Acesso em: 05 jun. 2024.

IBRAHIM, S. A. *et al.* Lactic Acid Bacteria as Antimicrobial Agents: Food Safety and Microbial Food Spoilage Prevention. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 3131, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10123131>. Acesso em: 25 mai. 2024.

ISLAM, S. *et al.* Probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* DMR14 for preserving and extending shelf life of fruits and fruit juice. **Heliyon**, v. 9, n. 6, p. e17382, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17382>. Acesso em: 05 jun. 2024.

JOUBERT, B. **Sanitary and phytosanitary measures as barriers to trade: A South African perspective**. University of Oslo: New Order, 2022. Disponível em: https://repository.nwu.ac.za/bitstream/handle/10394/41382/Joubert_B.pdf?sequence=1. Acesso em: 18 jun. 2024.

KUMARI, C. *et al.* Genome editing technology for genetic improvement of fruits and vegetables to alleviate post-harvest losses. **Bioengineering**, v. 9, n. 4, p. 176, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/bioengenharia9040176>. Acesso em: 20 mai. 2024.

KUMARIYA, R. *et al.* Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. **Microbial pathogenesis**, v. 128, p. 171-177, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.002>. Acesso em: 24 mai. 2024.

LERRO, C. C. *et al.* Occupational pesticide exposure and subclinical hypothyroidism among male pesticide applicators. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 104431, p. 1-11, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/oemed-2017-104431>. Acesso em: 17 jun. 2024.

LI, B. *et al.* Biocontrol potential of 1-pentanal emitted from lactic acid bacteria strains against *Aspergillus flavus* in red pepper (*Capsicum annuum* L.). **Food Control**, v. 142, p. 109261, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109261>. Acesso em: 21 mai. 2024.

LINARES-MORALES, J. R. *et al.* Biocontrol processes in fruits and fresh produce, the use of lactic acid bacteria as a sustainable option. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, [s.l.], v. 2, p. 50, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00050>. Acesso em: 21 mai. 2024.

LIU, Q. *et al.* *Rhizopus* stolonifer and related control strategies in postharvest fruit: A review. **Heliyon**, v. 10, n. 8, p. e29522, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29522>. Acesso em: 22 mai. 2024.

MANDHA, J. *et al.* Effect of lactic acid fermentation on volatile compounds and sensory characteristics of mango (*Mangifera indica*) juices. **Foods**, v. 11, n. 3, p. 383, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods11030383>. Acesso em: 19 jun. 2024.

MATROSE, N. A. Plant extracts and other natural compounds as alternatives for post-harvest management of fruit fungal pathogens. **Food Bioscience**, v. 41, p. 1- 15, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100840>. Acesso em: 16 mai. 2024.

MGOMI, F. C. *et al.* Lactic acid bacteria biofilms and their antimicrobial potential against pathogenic microorganisms. **Biofilm**, v. 5, p. 100118, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2023.100118>. Acesso em: 24 mai. 2024.

NASROLLAHZADEH, A. *et al.* Antifungal Preservation of Food by Lactic Acid Bacteria. **Foods**, v. 11, n. 3, p. 1-18, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods11030395>. Acesso em: 16 mai. 2024.

NEVES, L. C. **Manual pós-colheita da fruticultura brasileira**. SciELO-EDUEL, 2018. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=LeaCDwAAQBAJ&pg=PT3&hl=pt-BR&source=gbs_toc_r&cad=2#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 17 mai. 2024.

RIOLO, M. *et al.* Antifungal activity of selected lactic acid bacteria from olive drupes. **Food Bioscience**, v. 52, p. 102422, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102422>. Acesso em: 25 mai. 2024.

SHAH, S. *et al.* Pre-storage chitosan-thyme oil coating control anthracnose in mango fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 284, p. 110139, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110139>. Acesso em: 22 mai. 2024.

SIEDLER, S.; BALTI, R.; NEVES, A. R.. Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. **Current opinion in biotechnology**, v. 56, p. 138-146, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.015>. Acesso em: 15 mai. 2024.

SINGH, D. **Postharvest Handling and Diseases of Horticultural Produce**. Flórida: CRC Press, 2021.

SHI, C.; XIANG, L.; JIAHU, G. Exploring the Frontier of Fruit Diseases Management: Advances in Nano-Based and Biocontrol Strategies and Underlying Action Mechanism. **South African Journal of Botany**, v. 166, p. 612–623, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.01.060>. Acesso em: 16 mai. 2024.

SHRESTHA, S. *et al.* Incident thyroid disease in female spouses of private pesticide applicators. **Environment International**, v. 118, p. 282–292, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.05.041>. Acesso em: 17 jun. 2024.

SOUZA, J. S. *et al.* Maternal glyphosate-based herbicide exposure alters antioxidant-related genes in the brain and serum metabolites of male rat offspring. **NeuroToxicology**, v. 74, p. 121–131, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.06.004>. Acesso em: 17 jun. 2024.

TAN, H. G.; ALI, A.; SIDDIQUI, Y. Current Strategies, Perspectives and Challenges in Management and Control of Postharvest Diseases of Papaya. **Scientia Horticulturae**, v. 301, p. 111139, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111139>. Acesso em: 16 mai. 2024.

TEIXEIRA, Q. J. L.; VIMERCATI, C. W. **Fundamentos de processos térmicos, processos não térmicos e tecnologias do processamento de alimentos**. 49. ed. Vitória: Editora Universitária – Edufes, 2023.

THI, Q. V. C. *et al.* Effect of lactic acid bacteria and *Bacillus* on anthracnose disease in postharvest papaya fruit. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 24, n. 11, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d241106>. Acesso em: 05 jun. 2024.

VIDAL, M. F. Fruticultura na área de atuação do BNB. **Caderno Setorial Etene**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, ano 3, n. 35, 2018. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/1021/1/2018_CDS_35.pdf. Acesso em: 20 mai. de 2024.

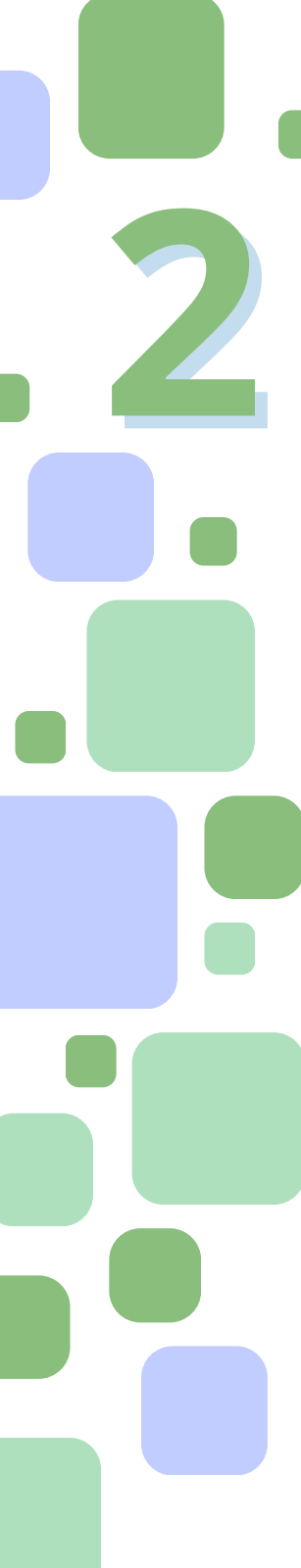
VOLENTINI, S. I. *et al.* Biological control of green and blue molds on postharvest lemon by lactic acid bacteria. **Biological Control**, v. 185, p. 105303, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105303>. Acesso em: 24 mai. 2024.

YIN, H. B. *et al.* Biocontrol of *Listeria* in cantaloupes with lactic acid bacteria. **Journal of food processing and preservation**, v. 44, n. 6, p. e 14465, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfpp.14465>. Acesso em: 15 mai. 2024.

ZAKARIA, L. *Fusarium* species associated with diseases of the main tropical fruit plants. **Horticulturae**, v. 3, p. 322, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322>. Acesso em 22 de mai. de 2024.

ZAKARIA, L. Diversity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in tropical fruit crops—A review. **Agriculture**, v. 11, n. 4, p. 297, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture11040297>. Acesso em: 25 mai. 2024.

ZIV, C; FALLIK, E. Postharvest storage techniques and quality evaluation of fruits and vegetables for reducing food loss. **Agronomy**, [s.l.], v. 11, n. 6, p. 1133, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox11020203>. Acesso em: 04 jun. 2024.



CASCA DE CACAU: POTENCIAL DE APLICAÇÃO NA PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE ARABITOL E XILITOL

**Gabriel Zenatte Frugoli,
Danielle Garcia Ribeiro Galvão,
Gabriel Cicalese Bevilaqua,
Marcus Bruno Soares Forte**

Laboratório de Engenharia Metabólica e Bioprocessos
(LEMeB), Departamento de Engenharia e Tecnologia
de Alimentos (DETA), Faculdade de Engenharia de
Alimentos (FEA), Universidade de Campinas
(UNICAMP), Campinas, SP, Brasil. E-mail:
forte@unicamp.br

INTRODUÇÃO

A produção de cacau é um setor agrícola de relevância mundial, expandindo-se para atender à crescente demanda por chocolate e seus derivados. Originário das regiões de florestas úmidas da América Central e do Sul, o cacauzeiro é encontrado apenas em regiões tropicais. O enfoque econômico central da produção de cacau reside em suas sementes, que são empregadas na fabricação do chocolate e seus produtos correlatos (Sodré, 2008; Vásquez *et al.*, 2019). Em 2019, a produção mundial de cacau atingiu a marca de 5,6 milhões de toneladas, com os países do leste africano se destacando com as maiores porcentagens. O Brasil, por sua vez, assumiu a sétima posição entre os principais produtores globais, contribuindo com 4,6% da produção global, com áreas de cultivo localizadas no Pará, na Bahia, no norte de Minas Gerais e no Espírito Santo (Brainer, 2021).

Como consequência do aumento da produção de cacau, também se gera uma quantidade significativa de resíduos agroindustriais. A casca de cacau corresponde ao principal resíduo gerado no beneficiamento, constituindo de 67 a 76% do peso dos frutos. Após a quebra do fruto e a remoção das sementes, esse material é frequentemente descartado nas próprias plantações de cacau, sendo utilizado como compostagem e adubação. Contudo, a grande quantidade de cascas descartadas no campo, além de representar um aproveitamento econômico incompleto da matéria-prima, pode servir como substrato para a proliferação excessiva de fungos fitopatogênicos, que podem impactar negativamente a produção dos cacauzeiros (Lahive *et al.*, 2019; Lu *et al.*, 2018).

As estruturas macromoleculares da casca de cacau, compostas principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, podem ser hidrolisadas e aproveitadas em bioprocessos para a produção de compostos de maior valor agregado, como xilitol e arabitol, poliálcoois que possuem amplo potencial de aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Apesar de existirem desafios no desenvolvimento de bioprocessos para o pré-tratamento, fermentação e purificação de tais bioprodutos a partir da casca de cacau, essas alternativas de aproveitamento não só podem valorizar economicamente o resíduo, mas também contribuem

para a sustentabilidade da cadeia produtiva do cacau, reduzindo a geração de resíduos. Dessa forma, a utilização da casca de cacau em bioprocessos representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de produtos bioquímicos de interesse e para a melhoria da eficiência e sustentabilidade na produção de cacau (Bevilaqua *et al.*, 2023; Farias *et al.*, 2022; Lu *et al.*, 2018).

ALTERNATIVAS DE APROVEITAMENTO DA CASCA DE CACAU

A casca de cacau pode ser um recurso de interesse para diversas aplicações sustentáveis. Os primeiros estudos e aplicações associadas à casca de cacau utilizam-na em processos de compostagem, como uma alternativa prática e eficaz para evitar o descarte inadequado do resíduo. Aplicado de maneira correta, é capaz de enriquecer o solo com matéria orgânica, melhorando a estrutura do solo, aumentando a retenção de água e fornecendo nutrientes como potássio, fósforo e nitrogênio. Além disso, a casca de cacau pode ser incorporada à ração animal, especialmente para ruminantes, oferecendo uma fonte adicional de energia e melhorando a digestibilidade da ração, desde que processada adequadamente (Chang *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2018).

A casca de cacau também pode originar compostos de maior valor agregado, sendo considerada uma fonte de macromoléculas polissacarídicas de interesse para a indústria de alimentos. A casca contém de 6 a 13% de pectina, um polímero que tem a capacidade de formar hidrogéis, conferindo propriedades gelificantes e estabilizantes amplamente aproveitadas pelas indústrias alimentícia, farmacêutica e biomédica, representando um produto de alto valor agregado que pode ser extraído desse resíduo (Barrios-Rodríguez *et al.*, 2022; Cortés-Camargo *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2018).

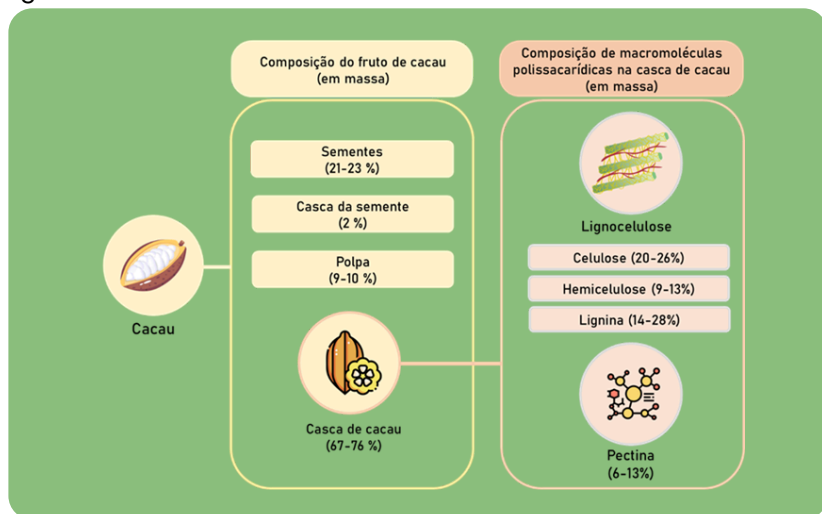
Outro componente presente na casca de cacau é a estrutura lignocelulósica. Essa estrutura tridimensional, que está presente na parede celular das plantas lenhosas, compõe a maior parte dos sólidos da casca de cacau e é formada por três macromoléculas principais: celulose, hemicelulose e lignina (Lu *et al.*, 2018). As biomassas lignocelulósicas são os materiais mais abundantes e renováveis do mundo para a produção de biocombustíveis, como o

álcool de 2ª geração, além uma gama extremamente variada de outros compostos de alto valor agregado (Cai *et al.*, 2017; Okolie *et al.*, 2021; Rodionova *et al.*, 2022). A composição de cada biomassa é específica e depende da planta, origem, variedade, época de colheita e outros fatores, o que resulta na necessidade de adaptação dos processos para cada variedade específica (Mankar *et al.*, 2021; Ashokkumar *et al.*, 2022). A Figura 1 apresenta a proporção média entre os componentes da casca de cacau e a composição, em termos de macromoléculas, da casca do fruto.

A celulose é um polissacarídeo natural composto por unidades de glicose ligadas entre si. Sua estrutura linear e altamente cristalina torna-a insolúvel em água e resistente à degradação por muitos agentes químicos e biológicos. Apesar disso, por meio de processos de hidrólise, suas cadeias podem ser quebradas até a liberação de glicose, que pode ser fermentada para produzir etanol, um biocombustível renovável. Dessa forma, a celulose desempenha um papel crucial na produção de álcool de segunda geração (Farias *et al.*, 2022).

Quanto à hemicelulose, trata-se de um grupo de polissacarídeos complexos que facilita a ligação entre as microfibrilas de celulose e a matriz de lignina, estabilizando a estrutura da parede celular. Diferente da celulose, que é composta majoritariamente de unidades de glicose, a hemicelulose é formada por uma variedade de monossacarídeos, incluindo, além da glicose, pentoses como xilose e arabinose. Essa diversidade de açúcares confere à hemicelulose uma estrutura ramificada e menos cristalina, tornando-a mais solúvel e menos resistente à degradação química e enzimática (Farias *et al.*, 2022; Mussatto & Dragone, 2016).

Figura 1. Composição mássica do cacau e composição lignocelulósica da casca do fruto.



Fonte: autores

Uma alternativa de aproveitamento de biomassas lignocelulósicas, como a casca de cacau, é a partir da separação das frações que as compõem. Para isso, tratamentos físico-químicos e processos de hidrólise podem ser aplicados, de modo a separar e/ou hidrolisar as estruturas básicas de celulose, hemicelulose e lignina. A partir da hidrólise completa da celulose, é possível obter glicose; da hemicelulose, podem ser obtidas pentoses, como xilose e arabinose, além da glicose. Nesses tratamentos, a casca pode ser submetida a processos de redução de tamanho, irradiação, extrusão, explosão a vapor, sonicação, imersão em água quente, exposição a soluções ácidas ou básicas, hidrólise enzimática e outros processos (Yeraldi *et al.*, 2022).

Tratamentos térmicos como o uso de ácido sulfúrico diluído em temperaturas superiores a 120°C, por exemplo, solubilizam e hidrolisam a estrutura hemicelulósica, gerando um licor rico em pentoses, além de glicose, ácido acético e outros compostos (Farias *et al.*, 2022; Queiroz *et al.*, 2021). A aplicação de tais processos térmicos também torna a estrutura lignocelulósica remanescente mais suscetível à ação enzimática, o que facilita os processos hidrolíticos sobre a celulose, liberando açúcares que também podem ser aproveitados em bioprocessos (Farias *et al.*, 2022).

Apesar da fração celulósica de biomassas vegetais ser tradicionalmente mais aplicada devido ao potencial na produção de bioetanol a partir de glicose, o licor hemicelulósico das biomassas pode ser utilizado em processos fermentativos diversos (Bevilaqua *et al.*, 2023; Queiroz *et al.*, 2021). A hemicelulose é, portanto, uma fonte significativa de açúcares fermentescíveis, o que a torna um componente-chave na produção de produtos bioquímicos de maior valor agregado, como xilitol e arabitol, produtos que podem ser obtidos a partir da fermentação de pentoses (Bevilaqua *et al.*, 2023; Farias *et al.*, 2022).

A Tabela 1 apresenta estudos que valorizam a casca de cacau e outras biomassas vegetais, focados em utilizar a estrutura lignocelulósica hidrolisada como substrato para a produção de etanol e biocompostos de alto valor agregado. Ressalta-se que, mesmo existindo estudos aplicados especificamente para a casca do cacau, o aproveitamento desse resíduo é uma temática emergente no meio científico.

Tabela 1. Estudos de aproveitamento lignocelulósico da casca de cacau e outras biomassas vegetais para a produção de biocombustíveis e compostos de alto valor agregado.

Biomassa		Processos hidrolíticos aplicados	Microrganismo	Produto	Referência
Casca cacau	de	Ácido enzimático	+ <i>Candida tropicalis</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Etanol	Valladares-diestra <i>et al.</i> (2022)
Casca cacau	de	Alcalino enzimático	+ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Etanol	Hernández-Mendoza <i>et al.</i> (2021)
Casca cacau	de	Ácido	<i>Candida boidinii</i>	Xilitol	Santana <i>et al.</i> (2018)
Bagaço cana-de-açúcar	de	Ácido	<i>Candida tropicalis</i>	Arabitol e xilitol	Bevilaqua <i>et al.</i> (2023)
Bagaço sisal	de	Ácido	<i>Debaryomyces hansenii</i>	Arabitol e xilitol	De Medeiros <i>et al.</i> (2020)

Fonte: autores (2022)

ARABITOL E XILITOL: APLICAÇÕES E PROCESSOS FERMENTATIVOS

Uma das principais técnicas para extração de valor das biomassas está na aplicação dos monômeros, obtidos por hidrólise das macromoléculas da biomassa, em processos fermentativos (Haldar; Purkait, 2021). Os monômeros obtidos da hidrólise parcial ou total da biomassa podem ser convertidos em outros produtos de interesse, como a transformação de glicose em frutose, ácido glucônico, etileno glicol, sorbitol, ácido levulínico entre outros (Okolie *et al.*, 2021; Yuan *et al.*, 2022). Dentre os açúcares extraídos da fração hemicelulósica, dois se destacam: a xilose e a arabinose. Esses monômeros podem ser utilizados na produção de arabitól e xilitol, polióis de grande relevância no mercado, sendo reconhecidos há 20 anos como dois dos 12 componentes químicos derivados diretamente dos açúcares da biomassa com grande potencial econômico e inovador (Werpy; Petersen, 2004).

As aplicações potenciais do xilitol e do arabitól são as mais diversas, como estabilizantes de cor, prebióticos, agentes texturizantes, agentes amaciantes e umectantes, além de servirem como compostos base para outros derivados, como ácido láctico, etilenoglicol, ácido xilônico, ácido arabinônico e até nylons (Farias *et al.*, 2022; Werpy; Petersen, 2004).

Dentre as aplicações mais populares, o uso como edulcorante (aditivo capaz de conferir sabor doce ao alimento) que promove uma sensação de frescor é a que mais se destaca, sendo o xilitol amplamente utilizado pela indústria de alimentos. Com valor energético de 2,4 kcal/g (aproximadamente 60% do valor da sacarose), e doçura relativa de 100 (mesmo valor da sacarose), esse poliálcool apresenta uma doçura por caloria maior do que a sacarose. Isso faz com que o xilitol seja muito utilizado para adoçar produtos consumidos por pessoas em dietas de baixa caloria e até mesmo diabéticos, uma vez que não precisa do auxílio da insulina em sua metabolização (Mäkinen, 2014; Tiefenbacher, 2017).

Durante a pandemia de covid-19, foi descoberta uma nova aplicação para o xilitol, como agente coadjuvante na produção de um spray nasal usado como tratamento auxiliar para a doença, sendo possível sua utilização devido às propriedades antimicrobianas do composto (Go *et al.*, 2020). Essas mesmas propriedades também permitem que o xilitol seja utilizado como insumo em produtos de cuidado pessoal da pele, contribuindo não somente no controle do

microbioma, mas também na hidratação da pele (Anglenius; Tiihonen, 2020).

O Arabitól, enantiômero do xilitol, é um edulcorante alternativo que, assim como o xilitol, também possui um efeito refrescante decorrente da dissolução endotérmica quando em contato com a água. No entanto, possui um valor energético significativamente inferior, de 0,2 kcal/g, e entre 40-60% da doçura relativa à sacarose (Hunter; Rosenstein, 1968; Wanat *et al.*, 2022). Estudos recentes indicam seu potencial como regulador microbiológico, tanto com um efeito anticariogênico (Loman; Ju, 2015), quanto no auxílio do controle à obesidade pelo auxílio na regulação da microbiota intestinal (Li *et al.*, 2023).

Esse polióis são comumente produzidos por meio de processos de redução química, como a hidrogenação da xilose em xilitol ou da arabinose em arabitól, em que são utilizadas altas temperaturas e pressão (80-130°C e 0,1-2 MPpa), e metais, catalisadores seletivos, como cobalto, chumbo, níquel, ródio e rutênio (Arcaño *et al.*, 2020; Audemar *et al.*, 2020; Barahona *et al.*, 2022; Musci *et al.*, 2020; Yamaguchi; Mizugaki; Mitsudome, 2021). Todas essas condições, aliadas aos processos de purificação da biomassa lignocelulósica, hidrólise, e purificação do produto final, resultam em custos de produção elevados, sobretudo em razão do alto consumo energético e dos impactos ambientais decorrentes da utilização de catalisadores metálicos (Murzin *et al.*, 2020; Piedrahita-Rodríguez *et al.*, 2022).

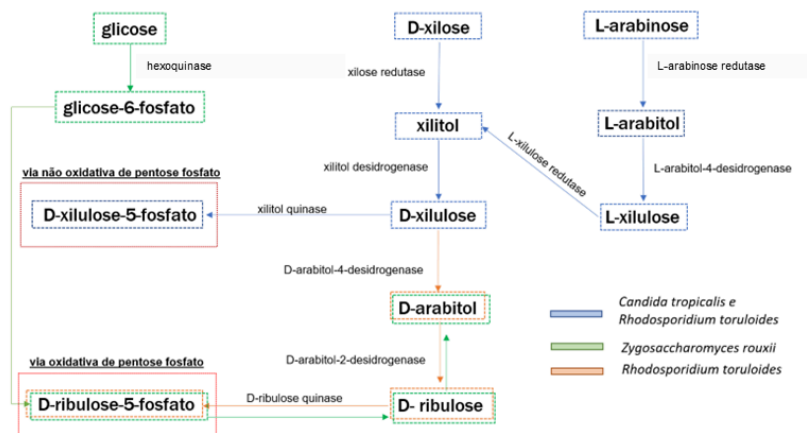
Uma alternativa à hidrogenação química é a produção de polióis a partir da rota biológica por meio de processos fermentativos. Diversos microrganismos são capazes de metabolizar xilose, arabinose e glicose, convertendo-os em polióis. Devido às diferentes características metabólicas dos microrganismos, bem como a presença de intermediários metabólicos comuns, há atualmente diversas possibilidades para a produção dos polióis.

A conversão de xilose em xilitol é uma das mais estudadas, sendo geralmente realizada por uma gama de linhagens de leveduras selvagens como as dos gêneros *Candida*, *Pichia*, *Debaryomyces* *Kluyveromyces* (López-linares *et al.*, 2018; Queiroz *et al.*, 2022) ou até *Saccharomyces* modificada geneticamente (Granström; Izumori; Leisola, 2007). Dentre as produtoras de arabitól, podem ser citadas: *Candida tropicalis*, *C. shehatae*, *Pichia stipitis*, *P. tannophilus*, *P. guilliermondii*, *Torulopsis shehatae* e *Rhodotorula mucilaginosa* (Kordowska-Wiater, 2015; Ravikumar *et al.*, 2022).

Apesar de várias leveduras compartilharem rotas comuns para a assimilação de açúcares, cada uma possui particularidades com

diferentes direcionamentos nas rotas metabólicas, com intermediários diferentes. Xilitol e arabitol são caracterizados como metabólitos secundários, como pode ser verificado na Figura 2, ou seja, o “objetivo” das células não é a produção destes polióis, mas sim o direcionamento de tais produtos intermediários para a conversão em moléculas capazes de ser utilizadas para a produção de energia.

Figura 2. Exemplificação de diferentes vias metabólicas utilizadas por leveduras para a produção de xilitol e arabitol.



Adaptado de: Adamczyk; Coradetti; Gladden, (2023); Lee *et al.*, (2021), Li *et al.*, (2023), Zhang *et al.*, (2016), Zhang *et al.*, (2021).

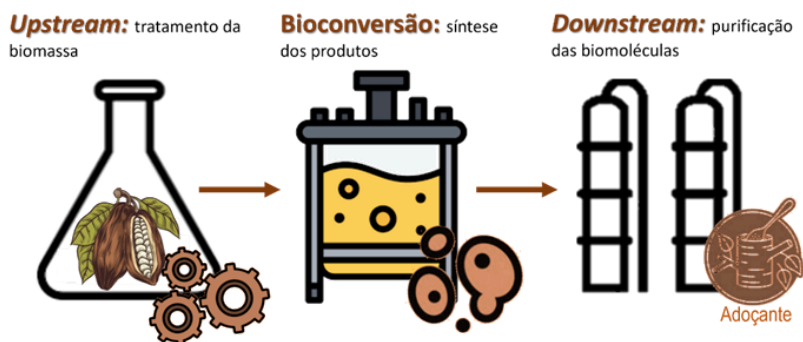
O processo de transformação dos açúcares em polióis acontece dentro da célula, onde esses compostos se acumulam devido a um desbalanceamento entre os cofatores utilizados pelas enzimas. Para uma grande parte das leveduras produtoras de xilitol, maiores concentrações do bioproduto são observadas quando menores concentrações de oxigênio estão disponíveis. Esse fenômeno ocorre devido ao oxigênio estar diretamente ligado a quais rotas metabólicas a levedura irá realizar e, por consequência, quais cofatores serão regenerados em determinadas taxas. Para o xilitol, por exemplo, esse estado de oxigenação desfavorece a regeneração dos cofatores utilizados pela xilitol desidrogenase, resultando no acúmulo desse produto intermediário, que é posteriormente excretado para fora de célula devido ao equilíbrio osmótico (Hahn-Hägerdal *et al.*, 1994; Zha *et al.*, 2021).

Diversos hidrolisados têm sido estudados para a produção de polióis a partir de biomassas lignocelulósicas, como bagaço de cana-de-açúcar, milho, casca de arroz, cacau (Hernández-Pérez *et al.*, 2019) bem como bambu, madeira, espiga de milho e bagaço de maçã (Albuquerque *et al.*, 2014). Especificamente sobre a casca do cacau, Santana e colaboradores (2018) investigaram a produção de xilitol utilizando hidrolisado de casca de cacau detoxificado, com linhagem de *Candida boidinii*. O processo de hidrólise foi otimizado, atingindo uma concentração máxima de xilose liberada de 11,03 g/L. Nesse estudo, a máxima concentração de xilitol alcançada foi de 11 g/L, a partir de 25 g/L de xilose no hidrolisado concentrado e detoxificado, em 384 horas, com uma conversão máxima de 0,69 g de xilitol por grama de xilose em 264 horas.

PROCESSOS DE PURIFICAÇÃO DE ARABITOL E XILITOL BIOTECNOLÓGICOS

Os processos de purificação de arabitól e xilitol obtidos por vias biotecnológicas são fundamentais para garantir a qualidade e segurança de seu uso em diversas aplicações industriais. Esses álcoois de açúcar, amplamente utilizados nas indústrias alimentícia, farmacêutica e odontológica, necessitam de métodos eficientes para a remoção de impurezas (Hernández-Pérez *et al.*, 2019; Mussatto; Roberto, 2002). Especialmente quando a matriz é lignocelulósica, o caldo contendo os polióis tende a ser mais complexo, acarretando em muitas operações de separação. De forma geral, a obtenção de uma biomolécula a partir de uma matriz vegetal envolve três grandes etapas: o *upstream*, a fermentação e o *downstream*, como mostra a Figura 3 (Pessoa Jr; Kilikian, 2020). O *upstream* é a etapa onde ocorre o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica para a liberação das moléculas-alvo, como visto na seção 2. A fermentação corresponde à conversão das moléculas-alvo em produtos desejados, sendo esse processo catalisado por microrganismos potenciais, conforme descrito na seção 3. O *downstream*, por sua vez, refere-se à purificação e recuperação dos produtos da fermentação, resultando, de fato, os bioprodutos.

Figura 3. Esquema geral de um bioprocesso: etapas de pré-tratamento, fermentação e purificação.



Fonte: autores

O esquema geral do *downstream* aplicado depende fortemente do caldo a ser purificado e da natureza da matriz lignocelulósica utilizada como substrato, dadas as variadas características dos meios e das biomoléculas de interesse, que podem ser ácidos orgânicos, antibióticos, proteínas, polióis, entre outros (Pessoa Jr; Kilikian, 2020). Quanto mais complexa for a matriz, mais operações unitárias de separação serão requeridas, o que implica maiores custos operacionais. O objetivo dessa etapa, portanto, é recuperar e purificar as substâncias de interesse até a obtenção do padrão comercial.

Tendo isso em vista, não há um processo consolidado de purificação de biomoléculas, principalmente devido à grande quantidade de produtos que podem ser obtidos de forma biotecnológica e à diversidade das matrizes e microrganismos catalisadores. No entanto, de forma genérica, a purificação pode ser dividida em quatro princípios sequenciais: remoção de células de microrganismos e fragmentos maiores do meio de cultivo (clarificação); purificação primária ou de baixa resolução; purificação de alta resolução e, por fim, o acondicionamento final da biomolécula (Pessoa Jr; Kilikian, 2020).

A clarificação é uma das primeiras etapas de purificação nos processos biotecnológicos, pois remove impurezas suspensas no meio. Essas impurezas são geralmente oriundas do meio fermentativo, como substratos e a própria biomassa microbiana. Esse processo resulta na diminuição da turbidez do meio contendo os produtos de interesse. Algumas operações unitárias comuns na

clarificação são filtração, centrifugação, floculação, entre outras (Geankoplis, 2003).

Como discutido na seção 3, durante a fermentação, o substrato é transportado para dentro da célula e convertido em produtos intermediários das rotas metabólicas, podendo permanecer como intracelulares ou não. Quando os compostos de interesse são intracelulares, é necessária uma etapa adicional para garantir a liberação do produto para o meio externo. Essa etapa de purificação envolve o rompimento da parede celular dos microrganismos permitindo a liberação dos produtos da fermentação. Isso pode ser feito pelo princípio de cisalhamento e hidrólise, utilizando operações unitárias como homogeneização, ultrassom, moagem e rompimento químico ou enzimático (Pessoa Jr; Kilikian, 2020).

Como mencionado, o xilitol pode ser produzido a partir de biomassas lignocelulósicas, como o bagaço da cana-de-açúcar e a casca de cacau, por microrganismos como *Candida tropicalis*, que, em sua rota de assimilação da D-xilose, sintetiza esse poliól como um produto intermediário que é diretamente transportado para o meio extracelular (Bevilaqua *et al.*, 2023). Neste caso, não ocorre a etapa de lise celular e o xilitol está presente no caldo fermentado. De maneira similar, o L-arabitol também pode ser produzido por leveduras que, em condições limitadas de aeração, secretam este poliól para o meio externo (Kordowska-Wiater, 2015).

A etapa de purificação de baixa resolução consiste na separação do produto desejado das substâncias, ditas contaminantes, que apresentam características físico-químicas distintas. No caso de um caldo fermentado de hidrolisado hemicelulósico contendo os polióis, as substâncias contaminantes que podem ser separadas nesta etapa podem ser proteínas, água, compostos fenólicos, íons, compostos inorgânicos, entre outros. As operações unitárias comuns nesta etapa de separação são precipitação, ultrafiltração com membrana, adsorção, extração líquido-líquido, concentração, entre outras (Alves *et al.*, 2021).

Em contraponto, a purificação de alta resolução compreende a separação do produto desejado das substâncias contaminantes que apresentam características físico-químicas muito semelhantes (Pessoa Jr; Kilikian, 2020). Esta é uma das etapas mais difíceis na separação e, portanto, tende a ser mais dispendiosa, com operações e tecnologias mais avançadas. No contexto do caldo fermentado contendo os polióis de interesse, as substâncias contaminantes que se assemelham aos produtos são principalmente açúcares residuais da fermentação, como xilose e

arabinose, e co-produtos da fermentação, como o glicerol (Cardoso; Forte, 2021). Pode haver também a presença de ácidos orgânicos e inorgânicos, oriundos dos processos hidrolíticos e da própria biomassa lignocelulósica. Nesta etapa, geralmente é utilizada cromatografia para a separação das moléculas. De acordo com a natureza dos compostos envolvidos, é possível definir um tipo de cromatografia a ser utilizada. Podemos citar cromatografia de troca iônica, cromatografia por afinidade, cromatografia de interação hidrofóbica, cromatografia de exclusão molecular e até membranas adsorptivas. Os princípios que envolvem essas operações variam desde densidade de carga, adsorção em sítios específicos, hidrofobicidade a diferença de massa molar.

Estudos na literatura reportam a recuperação de xilitol contido em caldo fermentado de hidrolisado de biomassas lignocelulósicas por contato com diferentes materiais adsorptivos em batelada. Um dos estudos pioneiros foi de Gurgel e colaboradores (1995), que avaliaram carvão ativado e resinas de troca iônica na purificação de xilitol do meio fermentado de hidrolisado de bagaço da cana-de-açúcar. Seus resultados mostraram que o carvão, nas condições de 25% do material adsorvente, a 80 °C por 60 min e pH 6.0 foi eficiente na clarificação do meio. O estudo de Silva e colaboradores (2000), por sua vez, avaliou o incremento de policloreto de alumínio com o carvão ativado na purificação por adsorção. Seus experimentos foram realizados em pH 9, a 50 °C por 50 min. Os resultados mostraram que o policloreto de alumínio e o carvão ativado promoveram uma redução de 93,5% nos compostos fenólicos e uma perda de 9,7% de xilitol do meio fermentado, que se tornou mais descolorido, facilitando a separação do xilitol.

Já o estudo de Kumar e colaboradores (2019) utilizou hidrolisado de sabugo de milho para a produção de caldo fermentado contendo xilitol. A purificação foi realizada em três etapas sequenciais: primeiro, foi adicionado hidróxido de cálcio e borbulhado gás carbônico sob condições controladas de pH e temperatura; em seguida, o licor contendo xilitol foi tratado com resinas de troca iônica e carvão ativado para elevar ainda mais a pureza. O caldo fermentado contendo xilitol também foi purificado por meio da adsorção em cromatografia em coluna com carvão ativado como leito fixo adsorvente (Cardoso; Forte, 2021). Os resultados demonstraram uma boa separação do poliálcool de compostos como etanol, proteínas e substâncias que dão cor ao caldo.

Estudos utilizando membranas de filtração também foram efetivos na purificação do caldo fermentado contendo xilitol obtido de bagaço da cana-de-açúcar. O trabalho de Alves e colaboradores (2021) avaliou três tipos diferentes de membranas: microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração. Esse sistema de purificação sequencial foi capaz de purificar o poliol de proteínas e compostos coloridos do caldo fermentado em níveis bastantes elevados.

Nesta etapa crucial que é a purificação de biomoléculas, é comum não ter apenas uma única etapa. Portanto, é necessário utilizar um sistema de etapas para se alcançar a pureza desejada. Um exemplo disso tem-se no trabalho de Kresnowati (2019), que utilizou técnicas combinadas de ultrafiltração e eletrodeionização para purificar xilitol de um caldo fermentado, cuja biomassa é o resíduo da indústria de óleo de palma bruto: cachos vazios de dendê. Essas técnicas combinadas foram capazes de remover 99% de microrganismos, 99% de pigmentos e mais de 99% de impurezas iônicas.

Há poucos registros na literatura sobre a purificação de L-arabitol a partir de biomassas lignocelulósicas. Os estudos de Mingguo *et. al* (2011) citado por Kordowska-Wiater (2015) apresentam uma metodologia biológica para a purificação de L-arabitol de um licor rico em outros polióis como xilitol, sorbitol e manitol. Foi utilizada a bactéria *Bacillus megaterium* para consumir estes polióis deixando o licor rico apenas em L-arabitol. Etapas sequenciais de purificação com carvão ativado e resinas de troca iônica também foram utilizadas. Após esta purificação adicional do caldo de fermentação por troca iônica e descoloração, o L-arabitol foi cristalizado com uma pureza de 98,5%.

Finalmente, o acondicionamento final do bioproduto é a preparação da molécula-alvo pensando no seu consumidor. Portanto, suas características como pureza, morfologia e granulometria devem ser tratadas como a última etapa do processo produtivo. As operações unitárias de purificação comumente empregadas são a cristalização, liofilização e secagem (Pessoa Jr; Kilikian, 2020). Há muitas pesquisas que abordam a cristalização do xilitol biotecnológico. Os trabalhos de Martínez *et al.* (2007) e Martínez *et al.* (2008) detalham a purificação por cristalização deste poliol de um caldo fermentado de hidrolisado do bagaço da cana-de-açúcar. A purificação do primeiro estudo revela etapas como centrifugação, tratamento, concentração e finaliza com a cristalização para a obtenção dos cristais de xilitol. Este processo resultou em xilitol em cristais com

pureza de 92-94%. O outro trabalho estudou parâmetros de cristalização por adição de antissolvente, temperatura e taxas de resfriamento. Os resultados permitiram a determinação de parâmetros de modelagem e a estimativa do tamanho médio do cristal a partir de diferentes condições experimentais. O trabalho de Marques-júnior e Rocha (2021) também estudou a cristalização de xilitol do caldo fermentado do bagaço de caju. Eles estudaram diferentes antissolventes na cristalização do xilitol. Entre os solventes testados, havia o líquido iônico. Os resultados obtidos foram promissores, e os rendimentos dos processos se assemelham ao xilitol comercial.

Vimos, portanto, que a etapa de purificação é crucial para a viabilidade do processo biotecnológico e depende de inúmeros fatores, principalmente da natureza da matriz lignocelulósica, do processo de pré-tratamento e obtenção das biomoléculas. No entanto, ainda há muito a ser explorado e desenvolvido em termos de técnicas de purificação. Pesquisas contínuas são necessárias para aprimorar essas técnicas, tornando-as mais eficientes e economicamente viáveis. Além disso, a purificação de arabitol a partir de biomassas lignocelulósicas, entre elas a casca de cacau, é um campo que carece de dados extensivos e detalhados. Investigações futuras poderão fornecer informações valiosas para otimizar o processo e expandir suas aplicações industriais. Portanto, o desenvolvimento de métodos inovadores e a obtenção de novos dados são essenciais para superar os desafios atuais e avançar no uso sustentável e eficaz da biomassa lignocelulósica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMCZYK, P. A.; CORADETTI, S. T.; GLADDEN, J. M. Non-canonical d-xylose and l-arabinose metabolism via d-arabitol in the oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides*. **Microbial Cell Factories**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 1–18, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02126-x>.

ALBUQUERQUE, T. L. De *et al.* **Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review**. [S. l.]: Elsevier, 2014.

ALVES, Y. P. C. *et al.* From by- to bioproducts: selection of a nanofiltration membrane for biotechnological xylitol purification and process optimization. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 125, p. 79–90, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.10.005>.

ANGLENIUS, H.; TIHONEN, K. Evaluation of xylitol as an agent that controls the growth of skin microbes: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Cutibacterium acnes*. **Korean J. Microbiol.**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 54–58, 2020. Disponível em: <https://www.kjom.org/journal/view.html?uid=185&pn=lastest&vmd=Full>.

ARCAÑO, Y. D. *et al.* Xylitol: A review on the progress and challenges of its production by chemical route. **Catalysis Today**, [s. l.], v. 344, p. 2–14, 2020.

ASHOKKUMAR, V. *et al.* Recent advances in lignocellulosic biomass for biofuels and value-added bioproducts – A critical review. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 344, p. 126195, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852421015376>.

AUDEMAR, M. *et al.* Selective Hydrogenation of Xylose to Xylitol over Co/SiO₂ Catalysts. **ChemCatChem**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 1973–1978, 2020. Disponível em: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cctc.201901981>.

BARAHONA, G. A. *et al.* Reaction mechanism and intrinsic kinetics of sugar hydrogenation to sugar alcohols on solid foam Ru/C catalysts – From arabinose and galactose to arabitol and galactitol.

Chemical Engineering Science, [s. l.], v. 254, p. 117627, 2022.

Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009250922002111>.

BARRIOS-RODRÍGUEZ, Y. F. *et al.* Cocoa Pod Husk: A High-Pectin Source with Applications in the Food and Biomedical Fields.

ChemBioEng Reviews, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 462–474, 2022.

BEVILAQUA, G. C. *et al.* Simultaneous production of xylitol and arabitol by *Candida tropicalis* fermentation improving agro-industrial wastes valorization. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 140, p. 29–45, 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.04.006>.

BRAINER, M. S. de C. P. Produção de cacau. **Caderno Setorial ETENE**, [s. l.], v. 6, n. 149, p. 23, 2021. Disponível em:

https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/650/3/2021_CDS_149.pdf.

CAI, J. *et al.* Review of physicochemical properties and analytical characterization of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 76, p. 309–322, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1364032117304033>.

CARDOSO, B. S.; FORTE, M. B. S. Purification of biotechnological xylitol from *Candida tropicalis* fermentation using activated carbon in fixed-bed adsorption columns with continuous feed. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 126, p. 73–80, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960308520305861>.

CHANG, C.-C.; KUO, H.-W.; CHENG, W. Effectiveness of various cacao pod husk extraction byproducts in promoting growth and immunocompetence in *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, [s. l.], v. 134, p. 108632, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1050464823001183>.

CORTÉS-CAMARGO, S. *et al.* New Sources of Pectin: Extraction, Processing, and Industrial Applications. In: **UTILIZATION OF PECTIN IN THE FOOD AND DRUG INDUSTRIES**. [S. l.]: IntechOpen, 2023. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/85664>.

DE MEDEIROS, L. L. *et al.* Structural-chemical characterization and potential of sisal bagasse for the production of polyols of industrial interest. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 451–461, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s43153-020-00049-3>.

FARIAS, D. *et al.* New biotechnological opportunities for C5 sugars from lignocellulosic materials. **Bioresource Technology Reports**, [s. l.], v. 17, n. January, 2022.

GEANKOPLIS, C. J. **Transport Processes and Separation Process Principles**. 4. ed. New Jersey: Prentice Hall PTR, 2003.

GO, C. C. *et al.* Potential Role of Xylitol Plus Grapefruit Seed Extract Nasal Spray Solution in COVID-19: Case Series. **Cureus**, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://www.cureus.com/articles/43909-potential-role-of-xylitol-plus-grapefruit-seed-extract-nasal-spray-solution-in-covid-19-case-series>.

GRANSTRÖM, T. B.; IZUMORI, K.; LEISOLA, M. A rare sugar xylitol. Part II: biotechnological production and future applications of xylitol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 74, n. 2, p. 273–276, 2007. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-006-0760-4>.

GURGEL, P. V. *et al.* Xylitol recovery from fermented sugarcane bagasse hydrolyzate. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 52, n. 3, p. 219–223, 1995.

HAHN-HÄGERDAL, B. *et al.* Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 16, n. 11, p. 933–943, 1994.

HALDAR, D.; PURKAIT, M. K. A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and advancements. **Chemosphere**, [s. l.], v. 264, p. 128523, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128523>.

HERNÁNDEZ-MENDOZA, A. G. *et al.* Optimization of alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 154, n. October, 2021.

HERNÁNDEZ-PÉREZ, A. F. *et al.* Xylitol bioproduction: state-of-the-art, industrial paradigm shift, and opportunities for integrated biorefineries. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s. l.], v. 39, n. 7, p. 924–943, 2019.

HUNTER, F. D.; ROSENSTEIN, R. D. The crystal structure of D,L-arabinitol. **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, [s. l.], v. 24, n. 12, p. 1652–1660, 1968. Disponível em: <https://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0567740868004802>.

KORDOWSKA-WIATER, M. Production of arabitol by yeasts: Current status and future prospects. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 119, n. 2, p. 303–314, 2015.

KRESNOWATI, M. T. A. P. *et al.* Combined ultrafiltration and electrodeionization techniques for microbial xylitol purification. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 114, p. 245–252, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.01.005>.

KUMAR, V. *et al.* Improved upstream processing for detoxification and recovery of xylitol produced from corncob. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 291, n. July, p. 121931, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121931>.

LAHIVE, F.; HADLEY, P.; DAYMOND, A. J. The physiological responses of cacao to the environment and the implications for climate change resilience. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 1–22, 2019.

LEE, J. W. *et al.* Engineering xylose metabolism in yeasts to produce biofuels and chemicals. **Current Opinion in Biotechnology**, [s. l.], v. 67, p. 15–25, 2021.

LI, X. *et al.* D-Arabitol Ameliorates Obesity and Metabolic Disorders via the Gut Microbiota–SCFAs–WAT Browning Axis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 71, n. 1, p. 522–534, 2023. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.2c06674>.

LI, X. *et al.* High-level production of D-arabitol by *Zygosaccharomyces rouxii* from glucose: Metabolic engineering and process optimization. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 367, n. September 2022, p. 128251, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128251>.

LOMAN, A. Al; JU, L.-K. Inhibitory effects of arabitol on caries-associated microbiologic parameters of oral Streptococci and Lactobacilli. **Archives of Oral Biology**, [s. l.], v. 60, n. 12, p. 1721–1728, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996915300364>.

LÓPEZ-LINARES, J. C. *et al.* Bioresource Technology Xylitol production by *Debaryomyces hansenii* and *Candida guilliermondii* from rapeseed straw hemicellulosic hydrolysate. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 247, n. September 2017, p. 736–743, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.139>.

LU, F. *et al.* Valorisation strategies for cocoa pod husk and its fractions. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, [s. l.], v. 14, n. July, p. 80–88, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.07.007>.

MÄKINEN, K. K. Authorised EU health claims for xylitol and sugar-free chewing gum (SFCG). In: FOODS, NUTRIENTS AND FOOD INGREDIENTS WITH AUTHORISED EU HEALTH CLAIMS. [S. l.]: Elsevier, 2014. p. 46–72. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857098429500030>.

MANKAR, A. R. *et al.* Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 334, p. 125235, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852421005745>.

MARQUES JÚNIOR, J. E.; ROCHA, M. V. P. Development of a purification process via crystallization of xylitol produced for bioprocess using a hemicellulosic hydrolysate from the cashew apple bagasse as feedstock. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 44, n. 4, p. 713–725, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02480-9>.

MARTÍNEZ, E. A. *et al.* Batch cooling crystallization of xylitol produced by biotechnological route. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s. l.], v. 84, n. 3, p. 376–381, 2009.

MARTÍNEZ, E. A. *et al.* Downstream process for xylitol produced from fermented hydrolysate. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 40, n. 5, p. 1193–1198, 2007.

MINGGUO, J. *et al.* Microbiological Purification of L -Arabitol from Xylitol Mother Liquor. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 21, n. November 2010, p. 43–49, 2011.

MURZIN, D. Y. *et al.* Techno-Economic Analysis for Production of L -Arabitol from L -Arabinose. **Chemical Engineering & Technology**, [s. l.], v. 43, n. 7, p. 1260–1267, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ceat.202000125>.

MUSCI, J. J. *et al.* Selective aqueous-phase hydrogenation of glucose and xylose over ruthenium-based catalysts: influence of the support. **Molecular Catalysis**, [s. l.], v. 495, p. 111150, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468823120304132>.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G. M. **Biomass Pretreatment, Biorefineries, and Potential Products for a Bioeconomy Development**. [s. l.]: Elsevier Inc., 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00001-3>.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xylitol: A sweetener with benefits for human health. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 401–413, 2002.

OKOLIE, J. A. *et al.* Chemistry and Specialty Industrial Applications of Lignocellulosic Biomass. **Waste and Biomass Valorization**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 2145–2169, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s12649-020-01123-0>.

PESSOA JR, A.; KILIKIAN, B. V. **Purificação de Produtos Biotecnológicos: operações e processos com aplicação industrial**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2020.

PIEDRAHITA-RODRÍGUEZ, S. *et al.* Current Production Biotechnological Advances in of Xylitol. *In*: CURRENT ADVANCES IN BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF XYLITOL. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 163–180. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-04942-2_8.

QUEIROZ, S. S. de *et al.* Fermentative Production of Xylitol from Various Lignocellulosic Hydrolysates. *In: CURRENT ADVANCES IN BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF XYLITOL*. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 51–66. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-04942-2_3.

QUEIROZ, S. de S. *et al.* Xylitol and ethanol co-production from sugarcane bagasse and straw hemicellulosic hydrolysate supplemented with molasses. **Biomass Conversion and Biorefinery**, [s. l.], 2021.

RAVIKUMAR, Y. *et al.* Microbial hosts for production of D-arabitol: Current state-of-art and future prospects. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 120, n. December 2021, p. 100–110, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.029>.

RODIONOVA, M. V. *et al.* A comprehensive review on lignocellulosic biomass biorefinery for sustainable biofuel production. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 1481–1498, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0360319921041549>.

SANTANA, N. B. *et al.* Production of xylitol and bio-detoxification of cocoa pod husk hemicellulose hydrolysate by *Candida boidinii* XM02G. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 1–15, 2018. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0195206>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SILVA, S. S. *et al.* Downstream processing for xylitol recovery from fermented sugar cane bagasse hydrolysate using aluminium polychloride. **Zeitschrift fur Naturforschung – Section C Journal of Biosciences**, [s. l.], v. 55, n. 1–2, p. 10–15, 2000.

SODRÉ, G. A. A ESPÉCIE *Theobroma cacao* : NOVAS PERSPECTIVAS PARA A MULTIPLICAÇÃO DE CACAUEIRO. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 413, 2008.

TIEFENBACHER, K. F. Technology of Main Ingredients—Sweeteners and Lipids. *In: WAFER AND WAFFLE*. [S. l.]: Elsevier, 2017. p. 123–225. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012809438900003X>.

VALLADARES-DIESTRA, K. K. *et al.* **Bioresource Technology A biorefinery approach for pectin extraction and second-generation bioethanol production from cocoa pod husk.** [s. l.], v. 346, n. November 2021, 2022.

VÁSQUEZ, Z. S. *et al.* Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. **Waste Management**, [s. l.], v. 90, p. 72–83, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X19302454>.

WANAT, M. *et al.* Rotamers in Crystal Structures of Xylitol, D-Arabitol and L-Arabitol. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 7, 2022.

YAMAGUCHI, S.; MIZUGAKI, T.; MITSUDOME, T. Efficient D-Xylose Hydrogenation to D-Xylitol over a Hydrotalcite-Supported Nickel Phosphide Nanoparticle Catalyst. **European Journal of Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 2021, n. 33, p. 3327–3331, 2021. Disponível em: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejic.202100432>.

YERALDI, M. *et al.* **Assessment of the Pretreatments and Bioconversion of Lignocellulosic Biomass Recovered from the Husk of the Cocoa Pod.** [s. l.], 2022.

YUAN, Z. *et al.* Heterogeneous strategies for selective conversion of lignocellulosic polysaccharides. **Cellulose**, [s. l.], v. 29, n. 6, p. 3059–3077, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04434-8>.

ZHA, J. *et al.* Yeast-Based Biosynthesis of Natural Products From Xylose. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [s. l.], v. 9, p. 26, 2021.

ZHANG, L. *et al.* Stepwise metabolic engineering of *Candida tropicalis* for efficient xylitol production from xylose mother liquor. **Microbial Cell Factories**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–12, 2021.

ZHANG, Z. *et al.* Strategies for eliminating l-arabinitol in the bioconversion of xylitol. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 51, n. 12, p. 1964–1972, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359511316303464>. Acesso em: 7 fev. 2022.

FERMENTO NATURAL E BACTÉRIAS LÁTICAS: POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EM PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO

**Ana Regina Simplício de Medeiros¹,
Gabriel Victor Pinheiro Barbosa²,
Marcus Vinicius de Souza Couto³,
Angela Maria Tribuzy De
Magalhães Cordeiro⁴,
Estefânia Fernandes Garcia⁵**

¹Mestranda do Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroalimentar. Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil.

²Graduando do Curso de Gastronomia. Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional. Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB.

³Mestrando do Curso de Pós-graduação em Ciências da Nutrição. Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil.

⁴Docente do Departamento de Tecnologia de Alimentos. Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional. Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB.

⁵Docente do Departamento de Gastronomia. Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional. Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil. E-mail:

estefania.fernandes@academico.ufpb.br

INTRODUÇÃO

A fermentação, uma das técnicas mais antigas no processamento de alimentos, é amplamente reconhecida por suas propriedades funcionais, pela capacidade de alterar o sabor e por melhorar a biodisponibilidade dos nutrientes (Fan *et al.*, 2024). Na panificação, a principal mudança causada pela fermentação é a transformação de uma massa densa em uma massa levedada. Isso ocorre devido à geração de CO₂, resultante do metabolismo dos microrganismos (De Vuyst *et al.*, 2017).

Comumente, dois tipos de agentes de fermentação são usados na fabricação de pães: o fermento biológico instantâneo, que consiste em preparações comerciais de *Saccharomyces cerevisiae*, e o fermento natural. Este último é composto de uma mistura de farinha de cereais e água, na qual uma população heterogênea de microrganismos, principalmente bactérias ácido-láticas (BAL) e leveduras, realiza a fermentação (De Vuyst *et al.*, 2021; Fekri *et al.*, 2024).

O uso de fermento biológico ainda é dominante em produtos industrializados, enquanto os fermentos naturais são mais comuns entre os produtores artesanais (Rizzello *et al.*, 2019; Albagli *et al.*, 2021). No entanto, o uso de fermento natural em produções de larga escala vem aumentando (Paucean *et al.*, 2024), devido à crescente demanda por produtos saudáveis e naturais (Albagli *et al.*, 2021; Fekri *et al.*, 2024). Diversos estudos (Papadimitriou *et al.*, 2019; Fang *et al.*, 2023; Sanmartín *et al.*, 2024; Viola *et al.*, 2024) têm demonstrado os efeitos positivos da fermentação natural na qualidade tecnológica e nutricional do pão.

O mercado global de produtos de fermentação natural foi avaliado em US\$ 2,19 bilhões em 2020, com uma taxa de crescimento anual prevista de 8% até 2030 (Lima *et al.*, 2023). A Europa é a maior consumidora destes produtos, seguida da América do Norte, com projeções futuras apontando o forte crescimento no continente asiático (Albagli *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2023). Nos últimos anos, grandes empresas de panificação, como a Bauducco (Brasil), Marilan (Brasil), IREKS GmbH (Alemanha), Knead Love (EUA), incorporaram produtos de fermentação natural ao seu portfólio (Lima *et al.*, 2023), reforçando a demanda por esse tipo de alimento.

Atualmente, destacam-se quatro tipos de fermentos naturais,

que podem ser inoculados ou não com culturas iniciadoras, melhorando, assim, seu desempenho tecnológico e funcional. No entanto, dependendo do tipo de fermentação utilizada, é necessário tempo e profissionais qualificados para a sua correta manutenção (Reale *et al*, 2020), o que torna o processo caro e de difícil padronização. Nesse contexto, o uso de fermentos naturais com culturas iniciadoras apresenta-s como uma alternativa viável, pois conduz o processo fermentativo de maneira controlada (Siepmann *et al*, 2019).

Quanto às cepas iniciadoras do fermento, o ideal é utilizar aquelas que se adaptem bem às condições empregadas na panificação e que sejam resistentes à microbiota dos ingredientes, ambiente e utensílios utilizados. A literatura (Suo *et al.*, 2020) tem sugerido que a localização geográfica é determinante nos tipos de microrganismos encontrados nas massas fermentadas, juntamente com a temperatura e outros fatores ambientais.

FERMENTO NATURAL E BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS

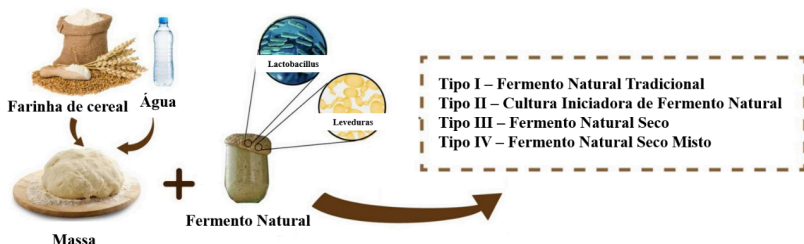
O fermento natural é composto de uma mistura de farinha de cereais e água, na qual uma população heterogênea de bactérias, principalmente as Bactérias Ácido Láticas (BAL) e leveduras, realiza a fermentação (De Vusyt *et al*, 2021). As leveduras estão diretamente ligadas à formação de dióxido de carbono (CO₂), enquanto as BAL produzem, principalmente ácidos orgânicos e outros compostos aromáticos (Catzeddu, 2019). Quando comparaas ao “fermento de padeiro” (*Saccharomyces cerevisiae*), as BAL apresentam diversas vantagens em termos sensoriais, nutricionais, tecnológicos e de biossegurança (Papadimitriou *et al*, 2019; Viola *et al*, 2024).

Existem quatro tipos de fermentos naturais (Figura 01) classificados de acordo com o tipo de inóculo e a tecnologia utilizada para iniciar a fermentação (Stefanello *et al.*, 2018; Catzeddu, 2019; Papadimitriou *et al*, 2019; De Vuyst *et al*, 2021). O primeiro, denominado Tipo I, é obtido por meio da fermentação espontânea das BAL e leveduras naturalmente presentes na farinha, na água, nos utensílios e no ambiente. A sua alimentação é realizada através de alimentações diárias da propagação, técnica que consiste na reinoculação da massa anterior (massa mãe) com farinha e água, até que se atinja a estabilização e o

amadurecimento das BAL, por volta de uma semana, quando poderá ser utilizada na produção de panificáveis fermentados.

Durante os primeiros dias de fermentação, a microbiota do fermento natural se modifica em sua composição, com redução de espécies gram-negativas e aumento das gram-positivas. O amadurecimento do fermento é caracterizado, entre as BAL, pela predominância de lactobacilos heterofermentativos. A medida em que os processos de propagação ocorrem, predominam espécies que se adaptam melhor às condições desse ecossistema criado (Ventimiglia *et al.*, 2015; Gobetti *et al.*, 2016; De Vuyst *et al.*, 2021).

Figura 1. Infográfico Sobre os Tipos de Fermentos Naturais



Fonte: Fekri *et al* (2024), com adaptações.

O fermento do tipo II foi desenvolvido para o uso industrial e consiste na adição de uma cultura iniciadora, em altas concentrações, à mistura de farinha e água, sem a necessidade da técnica de propagação, no intuito de acidificar o meio de forma rápida e conferir atributos de sabor. Nesse tipo de fermento, utilizam-se Bactérias Ácido Láticas (BAL) isoladas que tenham por característica a tolerância a pHs mais baixos. A forte acidificação, no entanto, pode inibir o desenvolvimento das leveduras naturais, sendo necessário o uso de fermento de padeiro na fase final do processo de fermentação (De Vuyst, 2017; Catzeddu, 2019; Papadimitriou *et al.*, 2019; De Vuyst *et al.*, 2021).

Semelhante ao tipo II, o fermento do Tipo III também recebe a adição de uma cultura iniciadora. No entanto, esse fermento natural passa por um processo de desidratação, sendo os mais comuns a liofilização e o spray-drying (Stefanello *et al.*, 2018; Papadimitriou *et al.*, 2019) por garantirem a viabilidade celular após o processo (Albagli *et al.*, 2021; Caglar *et al.*, 2021). Por fim, o fermento do tipo IV é caracterizado pela inoculação de uma cultura iniciadora seguida da técnica de propagação, constituindo uma

uma junção do tipo II com o tipo I (Catzeddu, 2019; Papadimitriou *et al*, 2019). A adição deliberada de uma cepa específica permite o direcionamento do processo fermentativo, garantindo a obtenção de características sensoriais, tecnológicas, funcionais e nutricionais daquele isolado aos produtos finais da panificação (Montemurro *et al*, 2020).

Os microrganismos presentes no fermento natural derivam de diversos fatores, entre eles podemos citar os ingredientes utilizados, os utensílios empregados, a forma de inoculação e as condições geográficas (Suo *et al*, 2020; De Vusyt, 2017, De Vusyt *et al*, 2021; Gunduz *et al*, 2022). Em se tratando das BAL, o gênero mais frequentemente observado em seu isolamento é o *Lactobacillus*, embora outros gêneros, como *Pediococcus*, *Leuconostoc* e *Weissella*, também sejam frequentemente citados na literatura (Reale, *et al*, 2020; Sevgili *et al*, 2023).

Embora mais de 60 espécies de *Lactobacillus* tenham sido isoladas e identificadas em fermentos naturais, apenas uma pequena parte pode ser considerada específica deste habitat, como é o caso dos *Fructilactobacillus sanfranciscensis* e *Companilactobacillus alimentarius*. Isso se deve ao fato de que diversas outras espécies, como o *Lactiplantibacillus plantarum* e *Levilactobacillus brevis*, por exemplo, são encontrados em diferentes matrizes alimentares (Catzeddu, 2019), não sendo exclusivas de fermentos. Essa ampla capacidade adaptativa em diferentes nichos decorre de sua diversidade metabólica (Mozzi, 2016).

As BAL são um grupo heterogêneo de bactérias gram-positivas, catalase-negativas, não formadoras de esporos, anaeróbicas (aerotolerantes), obrigatoriamente fermentativas que desempenham papel importante na produção de alimentos fermentados e podem se apresentar morfologicamente em forma de cocos (esféricas) ou de bacilos (bastonetes) (Mozzi, 2016; Gopal, 2020; De Vuyst *et al*, 2021). Não costumam ser patogênicas, com exceção de algumas espécies pertencentes aos gêneros *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Carnobacterium*. Devido à sua utilização segura em produtos alimentares, e por estar presente em uma diversidade de alimentos, as BAL possuem o status de GRAS (*Generally Recognized as Safe*) e de qualidade alimentar (Mozzi, 2016; Gopal, 2020).

Do ponto de vista metabólico, as BAL podem ser classificadas em dois grupos, conforme a vida de fermentação dos carboidratos: i) homofermentativas, que utilizam a glicose, pela via Embden-Meyerhof, produzindo lactato como produto final, como ocorre com *Lactobacillus amylovorus* e *Comanilactobacillus*

heilongjiangensis presentes na microbiota do fermento natural; e ii) heterofermentativas, que utilizam os carboidratos, principalmente a maltose, pela via do 6-fosfogluconato/fosfocetolase, para produzir etanol, acetato e dióxido de carbono, além de lactato. As espécies *Fructilactobacillus sanfranciscensis* e *Levilactobacillus brevis* são cepas heterofermentativas obrigatórias e *Lactiplantibacillus plantarum* e *Companilactobacillus alimentarius* são cepas heterofermentativas facultativas. Este grupo é o mais adaptado ao ecossistema do fermento natural (Mozzi, 2016; Gopal, 2020; De Vuyst *et al*, 2021; Pérez-Alvarado *et al*, 2022).

Esses microrganismos contribuem de forma significativa nos alimentos fermentados, não só influenciando no desenvolvimento das características sensoriais desejáveis, mas também garantindo sua estabilidade microbiológica (Stefanello *et al*, 2018). A alta concentração de BAL na massa de pães elaborados com fermento natural, por exemplo, resulta da produção de ácidos orgânicos que reduzem significativamente o pH da massa e representa inúmeras vantagens (Papadimitriou *et al*, 2019).

A redução do pH ativa as proteases presentes nos cereais, levando à liberação de peptídeos que são, em seguida, hidrolisados em aminoácidos pelas peptidases intracelulares das BAL. Esse processo enriquece a massa com aminoácidos, que não apenas melhoram o aroma do produto, mas também aumentam sua digestibilidade. Além disso, o baixo pH favorece uma rede de glúten mais elástica (Rossel *et al*, 2016; Catzeddu, 2019). Os tópicos seguintes descrevem de forma mais aprofundada sobre os potenciais tecnológicos e bioativos das BAL em produtos de panificação.

POTENCIAL TECNOLÓGICO E BIOATIVO DE BAL APLICADO À PANIFICAÇÃO

As mudanças bioquímicas que acontecem em um pão de fermentação natural, resultantes da ação enzimática (endógenas ou microbianas), influenciam diretamente em sua qualidade. Essas enzimas são ativadas em decorrência da ação das BAL, cuja rápida acidificação constitui uma de suas principais características tecnológicas, resultante do seu metabolismo (Gunduz *et al*, 2022).

Fatores endógenos e exógenos, como o tipo de microrganismo e a temperatura de fermentação, fazem com que o pH do fermento natural maduro oscile entre 3,5 e 4,4 (Catzeddu, 2019; Reale *et al*, 2020). Essas alterações que ocorrem durante o processo fermentativo podem ser percebidas sensorialmente na textura e no sabor dos produtos de panificação, mas também de forma indireta no aumento da vida de prateleira, de volume e melhoria de valor nutricional (Siepmann *et al.*, 2017; Catzeddu, 2019).

A ativação das proteases e amilases como consequência da acidificação favorece a maciez e a extensibilidade da massa. O glúten é um complexo proteico formado por duas frações de proteínas, a gliadina e glutenina, responsáveis pela viscosidade e elasticidade. A hidrólise dessas proteínas, promovida pela ação das proteases, resulta em uma emulsão mais estável, com maior extensibilidade e menor elasticidade (Siepmann *et al.*, 2017), permitindo a expansão da massa ao mesmo tempo que retém o dióxido de carbono produzido durante a fermentação, o que contribui para o aumento do volume e maciez do pão (Catzeddu, 2019; Papadimitriou *et al*, 2019; Siepmann *et al* 2019). A perda de maciez, aroma e crocância dos produtos de panificação se dá devido ao seu envelhecimento, causado pela retrogradação do amido. Em farinhas integrais, as enzimas xilanase e endoxilanase retardam essa retrogradação (Siepmann *et al.*, 2017). No mais, a casca mais grossa dos pães preparados com fermento natural dificulta a evaporação da água, favorecendo retenção de umidade.

Algumas BAL, além de alterarem a rede de glúten, produzem polissacarídeos de alto peso molecular, os Exopolissacarídeos (EPS). Esses polímeros influenciam nas características reológicas, texturais e sensoriais de diversos alimentos, atuando na viscosidade, estabilização e emulsificação (Reale *et al*, 2020). O EPS produzido pelas BAL liga-se à água disponível nesses produtos, evitando a exsudação, o que impacta principalmente o retardo do envelhecimento do produto (Pérez-Alvarado *et al*, 2022). Além de beneficiar a textura e reologia das massas fermentadas, os EPS contribuem diretamente na saúde de seus consumidores, estimulando a produção de ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) através da fermentação dos carboidratos, com potencial para prevenir inflamações e infecções intestinais (Gill *et al*, 2018; Pérez-Alvarado *et al*, 2022).

Outro fator que compromete a vida útil dos produtos de panificação, além do envelhecimento, é a deterioração microbiana, por fungos e algumas espécies de *Bacillus* (Catzeddu, 2019). Na indústria, para evitar perdas econômicas, utiliza-se aditivos

químicos para conservar esses alimentos. No entanto, diversos estudos já demonstraram a capacidade antifúngica das BAL. Entre os metabólitos que exercem essa função, destacam-se os ácidos láctico, acético e fórmico, dióxido de carbono, diacetil, peróxido de hidrogênio, ácido capróico, ácidos graxos 3-hidroxi, ácido fenilático, dipeptídeos cíclicos, reuterina e fungicinas, além das bacteriocinas, que inibem ou eliminam o crescimento de bactérias patogênicas ou deteriorantes (Ganzle, 2015; Siepmann *et al.*, 2017; Catzeddu, 2019; Papadimitriou *et al.*, 2019; Pérez-Alvarado *et al.*, 2022). Estes compostos permitem que os pães e produtos de panificação fermentados não necessitem da adição de aditivos químicos como conservantes, ressaltando o seu potencial de bioatividade.

Estudos recentes têm evidenciado que o fermento natural pode ser uma fonte rica em compostos bioativos. Esses compostos não apenas contribuem para o sabor, aroma e textura dos produtos fabricados com fermento natural, mas também conferem benefícios à saúde quando consumidos. A capacidade metabólica de BAL de produzir uma ampla gama de compostos bioativos são influenciadas por diversos fatores, incluindo pH, tempo e temperatura da fermentação (Pérez-Alvarado *et al.*, 2022). Nesse contexto, explorar os potenciais bioativos do fermento natural não só amplia nosso entendimento sobre os processos fermentativos, mas também abre novas perspectivas para o desenvolvimento de produtos com propriedades salutares e funcionais (Papadimitriou *et al.*, 2019).

Dentre os ácidos graxos sintetizados pelas BAL, destacam-se o acetato, propionato e butirato, que possuem propriedades terapêuticas potenciais em transtornos como depressão, estresse, autismo, esquizofrenia e ansiedade (Păcularu-Burada *et al.*, 2020; Pérez-Alvarado *et al.*, 2022). Além disso, as BAL também agem em relação à biodisponibilidade de minerais essenciais, como o cálcio, potássio, ferro, e zinco, principalmente em pães integrais. As farinhas integrais são ricas em ácido fítico, um composto antinutricional insolúvel presente naturalmente em cereais, que se liga aos minerais e impede a sua absorção. A ativação das fitases (enzimas que quebram o ácido fítico) pelos ácidos orgânicos da fermentação aumentam a biodisponibilidade desses micronutrientes (Siepmann *et al.*, 2017; Catzeddu, 2019; De Vuyst *et al.*, 2021).

O índice glicêmico (IG) é uma medida que classifica os alimentos com base em seu potencial para aumentar os níveis de glicose no sangue após sua ingestão. Ele pode ser classificado como baixo,

moderado e alto. Arora *et al.*, (2021) realizaram uma revisão da literatura e verificaram a redução desse índice, de alto para moderado, em pães fermentados com o fermento natural. Quando adicionados de fibra dietética (5 a 10%), a diminuição é mais pronunciada, resultando em um valor glicêmico baixo. Rizello *et al.* (2019) correlacionaram essa redução do IG à acidificação das BAL nos produtos fermentados. O pH ácido dessas massas aumenta a densidade dos pães (Gobbetti *et al.*, 2014; Siepmann *et al.*, 2017), retardando sua absorção, devido a formação de amido resistente (Rizello *et al.*, 2019; Arora *et al.*, 2021).

No que se refere à digestibilidade, os pães adicionados com fermento natural apresentam melhores resultados quando comparados aos pães tradicionais. A síntese de ácidos orgânicos, especialmente o ácido láctico, reduz a digestibilidade do amido, enquanto o ácido acético e o ácido propiônico retardam o esvaziamento gástrico (Siepmann *et al.*, 2017). Outro ponto importante no consumo de produtos com fermento natural é a diminuição da alergenicidade das farinhas de trigo e centeio (Păcularu-Burada *et al.*, 2020; Pérez-Alvarado *et al.*, 2022).

A atividade proteolítica promove hidrólise da rede de glúten e suas frações proteicas, sendo as responsáveis pelas reações alérgicas. Além das alergias, algumas pessoas desenvolvem doença celíaca, uma intolerância ao glúten, através de um mecanismo autoimune, que resulta em inflamações e danos à mucosa do intestino delgado (Di Cagno *et al.*, 2010). Ensaios clínicos, realizados por Di Cagno *et al.*, (2010); Greco *et al.*, (2011) e Mandile *et al.*, (2017), demonstraram que a proteólise realizada pelas BAL, de forma controlada, degrada totalmente esses complexos proteicos, tornando seguro o consumo destes produtos por pacientes celíacos, sendo uma alternativa *glúten free*.

Uma característica comum na origem de muitas doenças inflamatórias crônicas é o desenvolvimento do estresse oxidativo, que está relacionado à geração de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (Galli *et al.*, 2018). Os antioxidantes presentes nos alimentos desempenham papel importante na neutralização dessas EROs. Pesquisas revelaram que as BAL presentes em produtos fermentados têm a capacidade de gerar peptídeos bioativos, que são fragmentos proteicos, com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Galli *et al.*, 2018; Luti *et al.*, 2020).

Os peptídeos resultantes da fermentação de cereais possuem uma relevância potencial significativa, uma vez que são elementos essenciais na dieta diária de várias culturas ao redor do mundo (Luti *et al.*, 2020). A acidificação decorrente dos ácidos orgânicos

tem a capacidade de aumentar a extração do fenol, do mesmo modo que consegue promover a hidrólise de formas fenólicas complexas, influenciando o perfil fenólico de uma matriz alimentar e sua capacidade antioxidante (Sidari *et al*, 2020).

Paucean *et al* (2024) registraram o crescimento médio de compostos fenólicos de 7,8% em pães de trigo fermentados por 24h, enquanto em pães de farinha de espelta o crescimento foi de 11,8%. Percebe-se que a fermentação natural potencializa a disponibilidade destes compostos nas massas fermentadas e em seus produtos finais. Esse comportamento é devido à capacidade das BAL de liberar os compostos que estão ligados à farinha. Embora os valores apresentados possam variar, devido ao tipo de farinha e à metodologia utilizada, o padrão de aumento durante a fermentação é o mesmo. Por suas propriedades antioxidantes, os compostos fenólicos possuem, consequentemente, propriedades anticancerígenas (Călinoiu e Vodnar, 2018).

CONCLUSÃO

A fermentação natural, um processo ancestral, revela-se como uma ferramenta tecnológica promissora para a produção de alimentos mais saudáveis e saborosos. A ação das BAL confere aos produtos de panificação características únicas, que transcendem a simples produção de gás carbônico para o crescimento da massa. A acidificação do meio, a produção de compostos bioativos e a modulação da microbiota intestinal são apenas alguns dos benefícios associados ao consumo de pães fermentados naturalmente. A crescente demanda por alimentos funcionais e a conscientização acerca da importância de uma alimentação saudável tem impulsionado as pesquisas sobre a microbiota do fermento natural e sua aplicação em produtos de panificação. Nesse contexto, não apenas a identificação e caracterização desses microrganismos se mostram relevantes, mas também a seleção de cepas predominantes com potenciais tecnológicos e bioativos constitui um ponto-chave para o desenvolvimento de fermentos naturais com características controladas. A fermentação natural, portanto, configura-se uma área promissora tanto para a inovação na indústria alimentícia quanto para a promoção da saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBAGLI, G.; SCHWARTZ, I. M.; AMARAL, P. F.; FERREIRA, T. F.; FINOTELLI, P. V. How dried sourdough starter can enable and spread the use of sourdough bread. **LWT**, v. 149, p. 111888, 2021.

ARORA, K.; AMEUR, H.; POLO, A.; DI CAGNO, R.; RIZZELLO, C. G.; GOBBETTI, M. Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: a systematic review. **Trends in Food Science e Technology**, v. 108, p. 71–83, 2021. DOI: 10.1016/J.TIFS.2020.12.008.

CAGLAR, N.; ERMIŞ, E.; DURAK, M. Z. Spray-dried and freeze-dried sourdough powders: Properties and evaluation of their use in breadmaking. **Journal of Food Engineering**, v. 292, p. 110355, 2021.

CĂLINOIU, L. F.; VODNAR, D. C. Whole grains and phenolic acids: a review on bioactivity, functionality, health benefits and bioavailability. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1615, 2018. DOI: 10.1155/2019/3685264.

CATZEDDU, P. Sourdough Breads. In: **Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention**. Elsevier Inc, p. 177–188, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-12-814639-2.00014-9.

DE VUYST, L.; COMASIO, A.; VAN KERREBROECK, S. Sourdough production: fermentation strategies, microbial ecology, and use of non-flour ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 15, p. 2447–2479, 2021.

DE VUYST, L.; VAN KERREBROECK, S.; LEROY, F. Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation. **Advances In Applied Microbiology**, v. 100, p. 49–160, 2017. DOI: 10.1016/bs.aambs.2017.02.003.

DI CAGNO, R. *et al.* Gluten-free Sourdough Wheat Baked Goods Appear Safe for Young Celiac Patients: A Pilot Study. **The Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 51, n. 6, 2010. DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181f22ba4.

FAN, L.; MA, S.; LI, L.; HUANG, J. Fermentation biotechnology applied to wheat bran for the degradation of cell wall fiber and its potential health benefits: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 275, p. 133529, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133529>.

FANG, L. *et al.* Effects of mixed fermentation of different lactic acid bacteria and yeast on phytic acid degradation and flavor compounds in sourdough. **LWT**, v. 174, 2023. DOI: [10.1016/j.lwt.2023.114438](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114438).

FEKRI, A.; ABEDINZADEH, S.; TORBATI, M.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; SAVAGE, G. P. Considering sourdough from a biochemical, organoleptic, and nutritional perspective. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 125, p. 105853, 2024. DOI: [10.1016/j.jfca.2023.105853](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105853).

GALLI, V. *et al.* Effect of selected strains of lactobacilli on the antioxidant and anti-inflammatory properties of sourdough. **International Journal of Food Microbiology**, v. 286, p. 55–65, 2018. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.018](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.018).

GÄNZLE, M. G. Lactic metabolism revisited: Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. **Current Opinion in Food Science**, v. 2, p. 106–117, 2015. DOI: [10.1016/j.cofs.2015.03.001](https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001).

GILL, P. A.; ZELM, M. C.; MUIR, J. G.; GIBSON, P. R. Review article: short chain fatty acids as potential therapeutic agents in human gastrointestinal and inflammatory disorders. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 48, p. 15–34, 2018. DOI: [10.1111/apt.14689](https://doi.org/10.1111/apt.14689).

GOBBETTI, M. *et al.* Drivers for the establishment and composition of the sourdough lactic acid bacteria biota. **International Journal of Food Microbiology**, v. 239, p. 3–18, 2016.

GOBBETTI, M.; RIZZELLO, C. G.; DI CAGNO, R.; DE ANGELIS, M. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. **Food Microbiology**, v. 37, p. 30–40, 2014. DOI: [10.1016/j.fm.2013.04.012](https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.012).

GOPAL, P. K. Lactic Acid Bacteria: An Overview. **Nutrition and Health**, The New Zealand Institute for Plant and Food Research, Palmerston North, Manawatu-Whanganui, New Zealand, 2020. DOI: 10.1016/B978-0-12-818766-1.00018-0.

GRECO, L. *et al.* Safety for Patients With Celiac Disease of Baked Goods Made of Wheat Flour Hydrolyzed During Food Processing. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 9, p. 24–29, 2020.

GUNDUZ, C. P. B.; AGIRMAN, B.; GAGLIO, R.; FRANCIOSI, E. *et al.* Evaluation of the variations in chemical and microbiological properties of the sourdoughs produced with selected lactic acid bacteria strains during fermentation. **Food Chemistry: X**, v. 14, p. 100357, 2022. DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100357.

LIMA, T. T. M. *et al.* How to deliver sourdough with appropriate characteristics for the bakery industry? The answer may be provided by microbiota. **Food Bioscience**, v. 56, p. 103072, 2023. DOI: 10.1016/j.fbio.2023.103072.

LUTI, S. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory properties of sourdoughs containing selected Lactobacilli strains are retained in breads. **Food Chemistry**, v. 322, 2020. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126710.

MANDILE, R. *et al.* Lack of immunogenicity of hydrolysed wheat flour in patients with coeliac disease after a short-term oral challenge. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 46, p. 440–446, 2017. DOI: 10.1111/apt.14175.

MONTEMURRO, M. *et al.* Selection of non-Lactobacillus strains to be used as starters for sourdough fermentation. **Food Microbiology**, v. 90, p. 103491, 2020.

MOZZI, F. Lactic Acid Bacteria. **Encyclopedia of Food and Health**. Centro de Referencia para Lactobacilos, San Miguel de Tucumán, Argentina, 2016. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00414-1.

PĂCULARU-BURADA, B.; GEORGESCU, L. A.; BAHRIM, G. E. Current approaches in sourdough production with valuable characteristics for technological and functional applications. **The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI Food Technology**, v. 44, p. 132–148, 2020. DOI: 10.35219/foodtechnology.2020.1.08.

PAPADIMITRIOU, K. *et al.* Sourdough Bread. **Innovations in Traditional Foods**, p. 127–158, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-12-814887-7.00006-X.

PAUCEAN, A. *et al.* Nutritional composition, in vitro carbohydrates digestibility, textural and sensory characteristics of bread as affected by ancient wheat flour type and sourdough fermentation time. **Food Chemistry: X**, v. 22, p. 101298, 2024. DOI: 10.1016/j.fochx.2024.101298.

PÉREZ-ALVARADO, O. *et al.* Role of lactic acid bacteria and yeasts in sourdough fermentation during breadmaking: Evaluation of postbiotic-like components and health benefits. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 969460, 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.969460.

REALE, A. *et al.* Selection criteria of lactic acid bacteria to be used as starter for sweet and salty leavened baked products. **LWT**, v. 133, 2020. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110092.

RIZZELLO, C. G. *et al.* Sourdough Fermented Breads are More Digestible than Those Started with Baker's Yeast Alone: An In Vivo Challenge Dissecting Distinct Gastrointestinal Responses. **Nutrients**, v. 11, p. 2954, 2019.

ROSSELL, C. M. Bread: Chemistry of Baking. **Encyclopedia of Food and Health**. Institute of Agrochemistry and Food Technology, Valencia, Spain, 2016. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00088-X.

SANMARTÍN, G. *et al.* Bioprospecting of sourdough microbial species from artisan bakeries in the city of Valencia. **Food Microbiology**, v. 120, p. 104474, 2024. DOI: 10.1016/j.fm.2024.104474.

SEVGILI, A. *et al.* Molecular identification of LAB and yeasts from traditional sourdoughs and their impacts on the sourdough bread quality characteristics. **Current Research in Food Science**, v. 6, p. 100479, 2023. DOI: 10.1016/j.crfs.2023.100479.

SIDARI, R. *et al.* Persistence and effect of a multistrain starter culture on antioxidant and rheological properties of novel wheat sourdoughs and bread. **Foods**, v. 9, 2020. DOI: 10.3390/foods9091258.

SIEPMANN, F. B.; DE ALMEIDA, B. S.; WASZCZYNSKYJA, N.; SPIER, M. N. Influence of temperature and of starter culture on biochemical characteristics and the aromatic compounds evolution on type II sourdough and wheat bread. **LWT**, v. 108, p. 199–206, 2019. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.03.065.

SIEPMANN, F. B.; RIPARI, V.; WASZCZYNSKYJ, N.; SPIER, M. R. Overview of sourdough technology: from production to marketing. **Food Bioprocess Technology**, v. 11, p. 242–270, 2017. DOI: 10.1007/s11947-017-1968-2.

STEFANELLO, R. F. *et al.* Trehalose as a cryoprotectant in freeze-dried wheat sourdough production. **LWT**, v. 89, p. 510–517, 2018. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.11.011.

SUO, B.; CHEN, X.; WANG, Y. Recent research advances of lactic acid bacteria in sourdough: origin, diversity, and function. **Current Opinion in Food Science**, 2020. DOI: 10.1016/j.cofs.2020.09.007.

VENTIMIGLIA, G. *et al.* Codominance of *Lactobacillus plantarum* and obligate heterofermentative lactic acid bacteria during sourdough fermentation. **Food Microbiology**, v. 51, p. 57–68, 2015.

VIOLA, E. *et al.* Selection of lactic acid bacteria from home-made sourdoughs for resistance to the main almond skin polyphenols. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 15, p. 100951, 2024. DOI: 10.1016/j.jafr.2023.100951



PÓS-BIÓTICOS: APLICAÇÕES, FUNCIONALIDADES E PERSPECTIVAS ATUAIS

**Daiana Grigório da Silva¹,
Mariana de Oliveira Silva²,
Isabelle de Lima Brito Polari³,
Catherine Teixeira de Carvalho³,
Cybelle Pereira de Oliveira³**

¹Bacharel em Agroindústria. Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Pb, Brasil.

²Doutoranda do Curso de Pós-graduação em Ciência de Alimentos. Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

³Docente do Departamento de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Pb, Brasil. E-mail: cybelleoliveira.ufpb@gmail.com

INTRODUÇÃO

O interesse pela alimentação saudável e as evidências científicas de que os alimentos funcionais são benéficos à saúde, fazem do consumo destes uma das formas de melhorar a qualidade de vida. De acordo com Aguiar *et al.* (2019), alimentos funcionais podem ser definidos como qualquer alimento que, além do seu valor nutricional, tenha um efeito positivo na saúde, no desempenho físico ou no estado mental de um indivíduo. Alimentos funcionais podem ser classificados de acordo com o alimento em si ou com a presença de ingredientes bioativos, como os probióticos.

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos não patogênicos que, quando ingeridos em quantidades adequadas, podem conferir benefícios à saúde dos indivíduos (Hill *et al.*, 2014). Espécies probióticas estão sendo estudadas para tratar, prevenir ou reduzir o risco de doenças não transmissíveis, mas também para utilização no desenvolvimento de novos produtos e tecnologias inovadoras (Pimentel *et al.*, 2023). Entretanto, segundo Marcial-Coba *et al.* (2019), alguns fatores limitam o uso de probióticos em matrizes alimentares, como baixa resistência ao calor, dificuldade em manter as células viáveis necessárias durante o armazenamento e alterações nas propriedades físico-químicas.

Nos últimos anos, estudos têm demonstrado que nem todos os mecanismos que produzem benefícios à saúde requerem viabilidade bacteriana, levando ao surgimento de novos termos como pós-bióticos. Pós-bióticos são definidos como preparações de microrganismos inanimados ou seus componentes que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (Salminen *et al.*, 2021). Esses compostos têm chamado a atenção por apresentarem maior vida útil e também, pela presença de algumas moléculas que podem apresentar atividades biológicas, como antioxidante, anti-inflamatória e imunomoduladora, podendo contribuir para a saúde do hospedeiro e contribuindo positivamente para as suas funções fisiológicas (Aguiar-Toalá *et al.*, 2018).

O uso de pós-bióticos para prevenir e tratar diversas doenças como Alzheimer e esclerose múltipla, já foi investigado, com relatórios preliminares que parecem promissores. Além disso, uma revisão bibliográfica publicada recentemente enfatiza que os

pós-bióticos têm múltiplas propriedades farmacodinâmicas contra bactérias vivas (Żółkiewicz *et al.*, 2020).

Apesar de ser um conceito relativamente recente, estudos com pós-bióticos têm alto potencial para novas descobertas e aplicações futuras em alimentos. Com base nisso, este artigo tem como objetivo destacar a importância dos pós-bióticos e fornecer uma revisão de literatura sobre seu uso nos últimos anos.

CONCEITO E ASPECTOS REGULATÓRIOS

Vários pesquisadores propuseram termos diferentes para descrever pós-bióticos, como: probióticos inativos, probióticos não viáveis, abióticos, probióticos fantasmas. A definição do termo pós-biótico tem sido uma fonte de desacordo entre pesquisadores e está sendo discutida e atualizada conforme as pesquisas e descobertas avançam (Malashree *et al.* 2019). Para Pimentel *et al.* (2023), um pós-biótico é considerado "qualquer substância liberada ou produzida pela atividade metabólica de um microrganismo que tenha um efeito benéfico (direto ou indireto) no hospedeiro". Aguilar-Toalá *et al.* (2018) definem pós-bióticos como "células microbianas mortas ou não viáveis, fragmentos de células que são sintetizados naturalmente por microrganismos probióticos durante os processos de fermentação ou em laboratório".

Diante de diversas definições, em 2019, a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) convocou um grupo de profissionais especializados em nutrição, fisiologia, gastroenterologia, pediatria, ciência dos alimentos e microbiologia para revisar a definição e o escopo dos pós-bióticos nos avanços científicos (Pimentel *et al.* 2023). No entanto, tem sido sugerido usar a definição de que pós-bióticos são "a preparação de microrganismos inanimados e/ou seus constituintes que fornecem benefícios à saúde do hospedeiro". Acredita-se que esta definição consensual esteja mais alinhada com o entendimento do conceito (Salminen *et al.* 2021)

O termo usado pelo comitê foi inanimado e não inativo ou inativado. O uso do termo inanimado refere-se à um microrganismo vivo que foi morto. Portanto, foi determinado que algumas informações seriam importantes para a preparação dos

pós-bióticos, como a caracterização do microrganismo e o método de inativação. Além disso, a inativação deve ser comprovada, a composição da preparação pós-biótica deve ser totalmente descrita, os aspectos de segurança avaliados e determinados (Pimentel *et al.* 2023).

PRINCIPAIS REPRESENTANTES DOS PÓS-BIÓTICOS

Pós-bióticos referem-se à fatores solúveis (metabólitos ou subprodutos) secretados por bactérias vivas ou liberados após lise bacteriana, como enzimas, peptídeos, ácidos teicóicos, citopeptídeos derivados de peptidoglicanos, sobrenadantes livres de células, polissacarídeos e proteínas da superfície celular e ácidos orgânicos.

BACTERIOCINAS

Bacteriocinas são peptídeos sintetizados nos ribossomos, que possuem atividade antimicrobiana. As bacteriocinas diferem em sua composição de aminoácidos, biossíntese, transporte e mecanismo de ação. Em alimentos, as bacteriocinas podem ocorrer naturalmente como um produto da microbiota normal ou introduzidas (cultura starter ou probióticos). Certas bacteriocinas de bactérias Gram-positivas produzidas por bactérias ácido lácticas (LAB) têm atraído muita atenção devido ao seu status GRAS (Generally Recognized as Safe) e seu uso potencial como um aditivo seguro, possuindo propriedades competitivas sobre outros microrganismos aliados (Ogaki *et al.* 2015).

As ações das bacteriocinas sobre microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos têm mecanismos diferentes. Nos microrganismos Gram-positivos, geralmente haverá interferência na síntese da parede celular, formando poros, que causarão a morte da célula bacteriana alvo. Em relação aos Gram-negativos, a ação geralmente ocorre pelo metabolismo do DNA, RNA ou proteínas. Devido aos seus efeitos antimicrobianos, as bacteriocinas são confundidas com antibióticos, o que pode inviabilizar seu uso em alimentos e medicamentos (Luna and Oliveira, 2021).

SOBRENADANTES LIVRES DE CÉLULAS

O sobrenadante sem células é constituído por metabolitos ativos produzidos por bactérias e leveduras no fluido circundante. Podem ser produzidos diretamente a partir de culturas de células. Após o período de incubação, os microrganismos são centrifugados e depois removidos. O sobrenadante é filtrado por razões de esterilidade (Scarpellini *et al.* 2022).

Estudos realizados com sobrenadantes produzidos a partir de diferentes culturas microbianas revelaram diferentes atividades. Por exemplo, os sobrenadantes de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* têm efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes nas células epiteliais intestinais, macrófagos e neutrófilos, reduzem a secreção da citocina pró-inflamatória, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), aumentam a secreção de citocinas anti-inflamatórias Interleucina 10 (IL-10) (De Marco *et al.* 2018).

Os sobrenadantes de culturas bacterianas dos géneros *Lactobacilli* e *Bifidobacteria* também demonstraram apresentar atividade antimicrobiana, impedindo a invasão de enterócitos por estirpes enteroinvasivas de *Escherichia coli* in vitro. Embora estas propriedades antimicrobianas possam ser devidas à inibição da adesão de estirpes patogênicas, através da competição por locais receptores, os sobrenadantes celulares podem também ter efeitos locais no ambiente intestinal, nas barreiras celulares e na expressão de genes protectores (Khodaii *et al.* 2017).

O sobrenadante de *Lactobacillus plantarum* demonstrou um efeito nutricional na estrutura da barreira intestinal. Os sobrenadantes de *Saccharomyces boulardii* apresentaram atividades anti-inflamatória e antioxidante semelhante aos sobrenadantes de células bacterianas (Izuddin *et al.*, 2020).

EXOPOLISSACARÍDEOS

Durante a sua multiplicação, os microrganismos produzem biopolímeros com diferentes propriedades químicas. Estes biopolímeros podem ser provenientes da parede celular bacteriana, formando um grupo heterogêneo de substâncias denominado exopolissacáridos (EPS). O EPS tem função na indústria alimentar como estabilizador, emulsionante e agente de retenção de água, embora as suas funções biológicas não sejam totalmente compreendidas (Ruijgrok *et al.*, 2024). A utilização de EPS em produtos farmacêuticos e alimentos funcionais tem despertado recentemente interesse.

De acordo com Prasad e Purohit (2023), o EPS derivado de bactérias ácido lácticas (LAB) tem muitas aplicações industriais potenciais, tais como o seu papel como agente gelificante, espessante, emulsionante, estabilizador, aglutinante de água e agente de adesão. Além disso, o EPS produzido por LAB tem um papel potencial na preparação de produtos lácteos e cereais.

Alguns EPSs produzidos por estirpes de *Lactobacillus* sp., isoladas de frutos de durião fermentados, demonstraram ter propriedades antibacterianas e antioxidantes. Foi demonstrado que a capacidade potencial antioxidante do EPS obtido de *Lactobacillus helveticus* é decorrente de ligação à íons ferro (Li *et al.* 2014; Khalil *et al.* 2018).

Outra classe de EPS, como os β -glucanos, pode aumentar as respostas imunológicas mediadas por células contra bactérias, vírus, parasitas e outras células cancerígenas. Curiosamente, o β -glucano também pode aumentar o efeito dos probióticos, promovendo a adesão dos lactobacilos à parede intestinal (Vetvicka; Vetvickova, 2015).

ENZIMAS

As enzimas industriais são produzidas pelo crescimento de bactérias e fungos em fermentação submersa ou em estado sólido. A fermentação submersa é o principal modo de fermentação utilizado pelas bactérias. As operações unitárias na produção de enzimas incluem a fermentação e a filtração. As enzimas brutas são ainda purificadas por precipitação, seguida de centrifugação e secagem à vácuo ou liofilização (Singh and Panesar 2023).

Enquanto mecanismos de defesa celular, as enzimas antioxidantes (por exemplo, glutatíon peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase e NADH-oxidase) são essenciais para a sobrevivência dos microrganismos. Um estudo efetuado por Izuddin *et al.* (2020) demonstrou as propriedades antioxidantes dos pós-bióticos derivados de *Lactobacillus plantarum*. Este efeito foi observado devido a um aumento da concentração sérica de GPx.

Num outro estudo, utilizando as estirpes *Lactobacillus plantarum* 30B e *Lactobacillus acidophilus* 900 em ratos com doença inflamatória intestinal, as estirpes com maior atividade catalase foram mais eficazes na redução da inflamação do que as mesmas estirpes bacterianas produtoras de SOD. Além disso, ambas as estirpes apresentaram uma temperatura corporal mais baixa em comparação com os grupos controle (Tomusiak-Plebanek *et al.* 2018).

ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC)

Os ácidos graxos de cadeia curta são essenciais para a saúde do hospedeiro. Desta forma, a avaliação dos ácidos graxos produzidos pela fermentação prebiótica se torna um fator importante na análise do potencial destes compostos. O ácido butírico é um AGCC relacionado à proteção contra os cânceres de cólon e de reto e é uma fonte de energia para a microbiota intestinal; o ácido propiônico reduz a síntese de colesterol no fígado e aumenta o metabolismo lipídico e a oxidação do acetato pelo coração (Maldonado-Contreras *et al.* 2020).

Outro AGCC importante, o propionato, é sintetizado a partir da conversão de succinato em metilmalonil-CoA através da via do succinato. O propionato também pode ser sintetizado a partir do acrilato com o lactato como precursor, através da via do acrilato e da via do propanodiol, na qual açúcares como a fucose e a ramnose servem de substratos (Scott *et al.* 2006).

Num estudo, foi demonstrado que o butirato aumenta a expressão de citocinas imunossupressoras (IFN, IL-10, TGF- β) e regula negativamente várias citocinas e receptores pró-inflamatórios (receptores de carga de amostra (TLR) 2/4, Caspase-1, NLRP3, IL-1 β , IL-18, IL-33, IL-25, MAPK). Estes efeitos imunossupressores do butirato devem-se à inibição da atividade do fator de transcrição NF- κ B e das suas vias intracelulares (Lee *et al.* 2017).

LISADOS BACTERIANOS

Os lisados bacterianos (LB) são obtidos pela degradação química ou mecânica de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas comumente encontradas no ambiente. Sua aplicação clínica é baseada no conceito de ligação funcional entre o sistema imunológico intestinal e o sistema respiratório (Qi *et al.* 2022).

Os lisados bacterianos são utilizados como imunomoduladores para aumentar a regulação da resposta imune contra agentes infecciosos. Assim, quando um organismo patogênico atravessa a barreira epitelial, ele é reconhecido pelas células dendríticas residentes nos tecidos que, juntamente com as células epiteliais, induzem a quimiotaxia dos fagócitos (macrófagos e neutrófilos). Haverá então um aumento na sua atividade citotóxica, permitindo a morte e eliminação do microrganismo invasor (Pfefferle; Prescott; Kopp, 2013).

Uma meta-análise de 2018, incluindo mais de 4.800 crianças, mostrou que crianças que receberam uma formulação de LBs

comercialmente disponível tiveram uma incidência significativamente menor de infecções do trato respiratório em comparação aos controles (Yin *et al.* 2018). Da mesma forma, uma revisão sistemática de 2020 demonstrou a eficácia da terapia adjuvante de LB na redução da frequência de sibilância e asma em crianças (De Boer *et al.*, 2021).

Já a ingestão de *Lactobacillus paracasei* inativado pelo calor pode ser adequada para reduzir os sintomas de olho seco, que são causados principalmente pela exposição repetitiva de longo prazo à luz azul emitida por telas de LED (Cui and Qu 2021).

METABÓLITOS

Os metabólitos secundários são compostos extracelulares secretados no meio de cultura durante o crescimento e a diferenciação de um organismo vivo e podem ser isolados e caracterizados principalmente para fins industriais e farmacêuticos (Rojas; Buitrago, 2019).

Os ácidos fólicos são produzidos por bactérias intestinais e têm efeitos benéficos e prejudiciais. A suplementação ou superprodução de ácido fólico pode acelerar a carcinogênese em grupos de alto risco e pacientes com câncer colorretal. Portanto, do ponto de vista clínico, o uso de tais pós-bióticos pode ter uma relação hipotética não linear entre o status do folato e o risco de câncer (Kok *et al.* 2020).

A vitamina K é um cofator essencial para a síntese de fatores de coagulação. Embora a contribuição do microbioma para produção de vitamina K tenha sido identificada, a vitamina K produzida localmente parece ter um mecanismo subjacente. A concentração de vitamina K no intestino humano está relacionada à estrutura do microbioma. Um ensaio randomizado de Karl *et al.* (2017), com 80 homens e mulheres na pós-menopausa, teve como objetivo quantificar e identificar associações entre concentrações de menaquinona e concentrações séricas de vitamina K, composição da microbiota intestinal e inflamação. Os resultados mostraram que não houve alterações nos biomarcadores inflamatórios.

A vitamina K é um composto lipossolúvel e está presente na membrana microssomal do fígado. É responsável pela biossíntese de fatores de coagulação e desempenha um papel importante na homeostasia através da ativação de fatores de coagulação específicos (Rajagopal *et al.* 2022).

A vitamina K2 desempenha um papel essencial no metabolismo do cálcio, ativando proteínas importantes como a osteocalcina e a

proteína da matriz Gla; as duas trabalham juntas para remover o cálcio de locais inapropriados, levando esse mineral aos ossos, ajudando a tratar e prevenir a osteoporose (Bonaldi and Leroy 2024).

Algumas formas de vitamina K2, como a menaquinona, são encontradas em alimentos ingeridos, como queijo, natto e coalhada. Curiosamente, elas também são produzidas por certos gêneros bacterianos transgênicos, já que a maioria das bactérias Gram-positivas são anaeróbicas e bactérias aeróbicas usam menaquinonas em suas vias de transporte de elétrons. Algumas das bactérias produtoras de menaquinona são *Eubacterium lentus*, que induz MK-6; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* e spp. *cremoris*, que produz principalmente MK-8 e MK-9, e *Bacteroides fragilis*, que produz MK-10, MK-11 e MK-12 (Camelo-Castillo *et al.*, 2021).

Polifenóis são metabólitos secundários encontrados em alimentos e em plantas medicinais. Eles são candidatos cada vez mais comuns e procurados para obtenção de extratos e fármacos farmacologicamente ativos com efeitos na promoção da saúde, prevenção e tratamento de doenças, incluindo câncer (Vuolo *et al.* 2019). Os polifenóis modulam a estrutura e são simultaneamente metabolizados pela microbiota intestinal. A observação de que o hospedeiro pode responder de forma diferente às intervenções dietéticas formou a base para o desenvolvimento do termo "metabolômica" (Cortés-Martín *et al.* 2020).

A metatipagem investiga a relação entre fenótipos metabólicos e os metabólitos derivados do microbioma intestinal, que caracterizam o metabolismo dos compostos originais, fornecendo assim uma justificativa para o desenvolvimento da "nutrição personalizada" (Espín *et al.* 2017). Os pós-bióticos derivados de polifenóis dietéticos incluem: urolitina A (UA), equol e 8-prenilnaringenina (8-PN).

Pesquisas realizadas em camundongos usando urolitina A (UA), um metabólito derivado da microflora intestinal de elagitaninos de romã, com o objetivo de prevenir a obesidade induzida pela dieta e disfunções metabólicas, mostraram que o tratamento com UA aumentou o gasto energético, aumentando a termogênese no tecido adiposo marrom e induzindo o escurecimento do tecido adiposo branco. Este estudo mostrou que UA, um metabólito derivado da microflora intestinal de produtos naturais, previne e também reverte a obesidade induzida por uma dieta rica em gordura promovendo a termogênese no tecido adiposo marrom e no tecido adiposo branco. Além do efeito antiobesidade, UA causou uma série de efeitos metabólicos benéficos, incluindo melhora da

sensibilidade à insulina e redução da inflamação sistêmica e fígado gorduroso, que são pelo menos parcialmente devidos à perda de peso (Xia *et al.* 2020).

ESTRATÉGIAS PARA OBTENÇÃO DE PÓS-BIÓTICOS

A Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) reconhece que o processo de produção de um pós-biótico implica uma etapa deliberada para inativar as células viáveis da cepa parental. Esse processo pode ser alcançado por diferentes etapas técnicas, como tratamento térmico (talvez o método mais viável), alta pressão, radiação ou exposição aeróbica simples à bactérias anaeróbicas estritas (Salminen *et al.*, 2021).

Foi realizado um estudo para determinar o potencial de bactérias ácido lácticas quando usadas como uma mistura multicepa, em comparação com aquelas usadas como monocepas. Para esse fim, três cepas de *Lactobacillus acidophilus*, especificamente as cepas LAP5, LAFL e LAH7, foram mortas pelo calor, ao aquecer uma suspensão de células (10^9 UFC/mL) a 100 °C por 30 min, sendo posteriormente misturadas. A letalidade foi demonstrada em placa (Lin *et al.* 2007). É importante notar que as células não viáveis retêm seu potencial para fornecer efeitos benéficos ao hospedeiro a nível intestinal in vivo, facilitando assim o desenvolvimento de formulações mais seguras com melhores propriedades. No entanto, a forma de inativação, seu efeito sobre os componentes estruturais celulares e seu efeito sobre a atividade biológica variarão de acordo com o método utilizado (Deshpande *et al.* 2018).

Em contraste com os pós-bióticos, os probióticos são microrganismos vivos que, quando ingeridos em quantidades suficientes, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Os probióticos devem fornecer um número efetivo de células viáveis ao longo da vida útil do produto. Na prática, os produtos probióticos podem ter um grande número de células não viáveis, pois algumas células podem perder sua viabilidade durante as técnicas de produção de biomassa, etapas de fabricação ou preservação e armazenamento do produto antes da compra. Os produtos geralmente contêm 0,5 a 1,0 UFC, além das contagens de

células viáveis esperadas para compensar possíveis perdas durante o armazenamento e manuseio do produto (Thirumalai *et al.* 2024).

Probióticos e pós-bióticos têm algumas características em comum, como a necessidade de estudos de eficácia para demonstrar seus benefícios, e outras que os distinguem (os primeiros são administrados vivos, enquanto os últimos são administrados em sua forma inanimada), mas vale ressaltar que nenhum probiótico se torna um pós-biótico apenas porque perde a viabilidade celular durante o armazenamento.

MECANISMO DE AÇÃO

Devido à alta diversidade de substâncias classificadas como pós-bióticos e a estrutura limitada deste estudo, esta seção resume apenas os mecanismos de ação mais importantes dos pós-bióticos. É importante notar que atualmente não há dados suficientes para entender completamente o papel complexo da epigenética.

De acordo com Żółkiewicz *et al.* (2020), os pós-bióticos podem ter efeitos pleiotrópicos no corpo humano ao estimular a diferenciação de linfócitos T reguladores e a síntese de citocinas anti-inflamatórias. O pós-biótico corrige o desequilíbrio entre os dois braços principais do sistema imunológico, representados pelos linfócitos Th1 e Th2. O equilíbrio entre os linfócitos Th1 e Th2 é fundamental para a regulação do sistema imunológico e os distúrbios levam a várias doenças imunológicas, incluindo doenças atópicas.

EFEITO IMUNOMODULADOR

O papel imunomodulador do microbioma intestinal tem sido proposto há muito tempo. Por exemplo, o butirato, induz a

diferenciação de células T reguladoras (Tregs) no intestino. O propionato, aumenta a formação periférica de Treg. Vários pós-bióticos (sobrenadante, detritos da parede celular) isolados de culturas de *Bacillus coagulans* também induzem a produção de citocinas anti-inflamatórias e promovem respostas imunes dependentes de Th2 do T helper (Hoffman *et al.*, 2023).

O propionato pode induzir seletivamente a apoptose em células de câncer gástrico (Cousin *et al.* 2012). Curiosamente, os AGCC também podem regular a expressão de oncogenes e repressores por meio de modificações epigenéticas: o sobrenadante de *Lactobacillus rhamnosus* GG aumenta a expressão de ZO-1 (responsável pela permeabilidade intercelular) e diminui a expressão de MMP-9 ao penetrar nas células cancerosas (Żólkiewicz *et al.* 2020)

EFEITO TUMORAL

Como a inflamação está ligada à carcinogênese, qualquer substância que iniba a inflamação também pode ter potencial anticâncer. De fato, o propionato produzido por *Propionibacterium freudenreichii* demonstrou induzir seletivamente a apoptose em células de câncer gástrico (Cousin *et al.* 2012).

Os AGCCs também afetam a regulação de oncogenes e genes supressores por meio de modificações epigenéticas. O sobrenadante de *Lactobacillus rhamnosus* GG aumentou a expressão de ZO-1 (responsável pela estrutura correta das junções estreitas entre as células e adesão celular) e reduziu a expressão de MMP-9 (ajuda a degradar a matriz intercelular, promovendo assim a infiltração do câncer). A exposição ao sobrenadante de *Lactobacillus rhamnosus* GG ajudou a reduzir a invasão de células tumorais colorretais em um modelo in vitro (Escamilla *et al.* 2012).

AUTOFAGIA

Autofagia é um processo de autodegradação que limpa as células e seus componentes teciduais. É uma resposta eficaz a vários estímulos estressantes, como a dieta. O peptidoglicano bacteriano promove a autofagia por meio do receptor NOD1 (Irving *et al.*, 2014)

Em mais detalhes, os pós-bióticos de *Lactobacillus fermentum* desencadeiam a autofagia em hepatócitos HepG2, resultando em proteção contra hepatotoxicidade induzida. Além disso, a urolitina A inibe a mitofagia, a autofagia das mitocôndrias, e pode potencialmente prevenir ou retardar o envelhecimento muscular (Dinic *et al.*, 2017).

A ocitocina, um importante neuropeptídeo ginecológico que também estimula e acelera a cicatrização de feridas, é frequentemente ignorada por não especialistas. LB obtido pela sonicação de *Lactobacillus reuteri* aumentou significativamente o número de células produtoras de ocitocina no núcleo periventricular do hipotálamo, aumentando assim as concentrações hormonais no sangue em modelos animais. A administração pós-biótica subsequente a probióticos em modelos animais e humanos confirmou esses resultados, com um bom perfil de segurança (Varian *et al.* 2017).

APLICAÇÕES ATUAIS E FUTURAS

A vantagem inquestionável dos pós-bióticos é que eles evitam o problema de adquirir genes de resistência à antibióticos e fatores de virulência, que podem ocorrer in vivo quando os probióticos são usados. Os pós-bióticos eliminam a necessidade de exposição à microrganismos vivos, o que é particularmente importante em crianças com sistemas imunológicos imaturos e barreira intestinal permeável (Mishra *et al.* 2024).

O bom perfil de segurança dos pós-bióticos os torna um candidato razoável para um alimento funcional. Ao discutir a aplicação clínica dos pós-bióticos, não se pode ignorar a galactosil-lactose (3'-GL), que é formada pela fermentação de oligossacarídeos do leite humano e, portanto, pode ser classificada como epibiótica. Além de sua atividade imunomoduladora, a 3'-GL tem propriedades naturais e melhora a integridade da barreira intestinal. Como as bactérias e seus fragmentos e metabólitos são passados para o bebê a partir do leite materno, essa mistura complexa claramente não pode ser substituída por uma única substância (Kavita *et al.* 2024).

Alimentos funcionais podem ser enriquecidos com pós-biotina para aumentar a atividade imunológica do hospedeiro. Por exemplo, a fração livre de células do leite fermentado preveniu a infecção por *Salmonella* em um modelo de camundongo. Nos últimos anos, os efeitos imunomoduladores dos pós-bióticos foram relatados. Em detalhes, os AGCCs, e mais especificamente o propionato, são capazes de modular Tregs (Arpaia *et al.* 2013).

Os pós-bióticos são considerados uma opção terapêutica viável para doenças alérgicas porque restauram o equilíbrio das respostas imunes mediadas por Th1/Th2 e ajudam o sistema imunológico a amadurecer. Os estudos disponíveis apoiam o uso de pós-bióticos para prevenir ataques de asma/sífilis em crianças (de Boer *et al.* 2021).

Entre os metabólitos da fermentação de carboidratos pela microbiota intestinal está o AGCC butirato, que influencia positivamente na saúde intestinal e cardiovascular por meio de seus efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes (Hodgkinson *et al.* 2023). Seu papel exato na regulação da disfunção das células endoteliais e imunes é complexo, o que ainda é uma área aberta para pesquisa. Os pós-bióticos podem ter efeitos benéficos nas alergias alimentares. Um estudo clínico com 226 crianças mostrou que a presença de uma microbiota bacteriana rica em butirato estava associada à resolução precoce da alergia ao leite (Bunyavanich *et al.* 2016).

Alguns pós-bióticos podem exercer efeitos antibacterianos diretos servindo de barreira intestinal, ligando-se competitivamente aos receptores requeridos por certas bactérias patogênicas, alterando a expressão do gene hospedeiro ou modulando o ambiente local (Khodaii *et al.*, 2017). Ensaios clínicos randomizados em um grupo de crianças de 12 a 48 meses mostraram que a ingestão diária de produtos contendo *Lactobacillus paracasei*, mostrou que o pós-biótico reduziu diarreia,

gastroenterite aguda, faringite, laringite e traqueíte (Malagón-rojas *et al.* 2020).

Um estudo realizado para avaliar a capacidade das células musculares lisas do cólon humano de se protegerem de danos miogênicos induzidos por lipopolissacarídeos (LPS), usando sobrenadantes coletados de culturas de *Lactobacillus rhamnosus* GG (cepa ATCC53103), mostra que os sobrenadantes tiveram efeito na restauração parcial do encurtamento celular induzido por LPS, mas não tiveram efeito na inibição da contração induzida por eles (Cicenia *et al.* 2016).

A modulação da microbiota intestinal com probióticos parece afetar as reações inflamatória da COVID-19 e neutralizar diretamente a replicação do SARS-CoV-2 (Spagnolello *et al.* 2021). Nos estudos *in vitro* e *in silico* de Rather *et al.* (2021), um extrato de *Lactobacillus plantarum* Probio-88 (P88-CFS) foi capaz de inibir significativamente a replicação do SARS-CoV-2. Além disso, células tratadas com P88-CFS apresentaram redução significativa nas citocinas inflamatórias. Com base em dados de acoplamento molecular computacional, foi revelado que a atividade antiviral desta cepa é derivada da fitoncina E (PlnE) e F (PlnF), que podem se ligar à helicase do SARS-CoV-2. Assim, esses pós-bióticos podem atuar como "bloqueadores" durante a replicação do RNA viral (Rather *et al.* 2021).

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que o uso de pós-bióticos é uma estratégia terapêutica e preventiva. De acordo com dados atuais, esses elementos têm efeitos pleiotrópicos, incluindo propriedades imunomoduladoras, anti-inflamatórias, antioxidantes e anticâncer. Algumas dessas propriedades são até mesmo usadas clinicamente. Comparados aos probióticos, os pós-bióticos têm maior estabilidade de armazenamento e maior prazo de validade. O desenvolvimento preciso no campo dos pós-bióticos requer fortes recursos industriais para atuar na saúde humana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR-TOALÁ, J. E. *et al.* Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. **Trends in Food Science and Technology**, v. 75, n. February, p. 105–114, 2018.

ARPAIA, N. *et al.* Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. **Nature**, v. 504, n. 7480, p. 451–455, 2013.

BONALDO, F.; LEROY, F. Review: Bacterially produced vitamin K2 and its potential to generate health benefits in humans. **Trends in Food Science & Technology**, v. 147, p. 104461, 1 maio. 2024.

CAMELO-CASTILLO, A. *et al.* Gut microbiota and the quality of oral anticoagulation in vitamin K antagonists users: A review of potential implications. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 4, p. 1–16, 2021.

CICENIA, A. *et al.* Protective Role of Postbiotic Mediators Secreted by *Lactobacillus rhamnosus* GG Versus Lipopolysaccharide-induced Damage in Human Colonic Smooth Muscle Cells. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 50, p. S140–S144, 1 dez. 2016.

CUI, Y.; QU, X. Genetic mechanisms of prebiotic carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria: Emphasis on *Lactocaseibacillus casei* and *Lactocaseibacillus paracasei* as flexible, diverse and outstanding prebiotic carbohydrate starters. **Trends in Food Science & Technology**, v. 115, p. 486–499, 1 set. 2021.

DE BOER, G. M. *et al.* Bacterial lysate add-on therapy to reduce exacerbations in severe asthma: A double-blind placebo-controlled trial. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 51, n. 9, p. 1172–1184, 2021.

DE MARCO, S. *et al.* Probiotic cell-free supernatants exhibited anti-inflammatory and antioxidant activity on human gut epithelial cells and macrophages stimulated with LPS. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 4 jun, 2018.

DESHPANDE, G.; ATHALYE-JAPE, G.; PATOLE, S. Para-probiotics for preterm neonates – The next frontier. **Nutrients**, p. 1–9, 5 jul. 2018.

DINIĆ, M. *et al.* Lactobacillus fermentum postbiotic-induced autophagy as potential approach for treatment of acetaminophen hepatotoxicity. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 6 apr. 2017.

ESCAMILLA, J.; LANE, M. A.; MAITIN, V. Cell-free supernatants from probiotic lactobacillus casei and lactobacillus rhamnosus GG decrease colon cancer cell invasion in vitro. **Nutrition and Cancer**, v. 64, n. 6, p. 871–878, 1 ago. 2012.

HETZEL, M. *et al.* Acryloyl-CoA reductase from Clostridium propionicum: An enzyme complex of propionyl-CoA dehydrogenase and electron-transferring flavoprotein. **European Journal of Biochemistry**, v. 270, n. 5, p. 902–910, 2003.

HILL, C. *et al.* Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

HOFFMAN, K. *et al.* The immunomodulatory roles of the gut microbiome in autoimmune diseases of the central nervous system: Multiple sclerosis as a model. **Journal of Autoimmunity**, v. 137, p. 1–40, 1 maio. 2023.

IRVING, A. T. *et al.* The Immune Receptor NOD1 and Kinase RIP2 Interact with Bacterial Peptidoglycan on Early Endosomes to Promote Autophagy and Inflammatory Signaling. **Cell Host & Microbe**, v. 15, n. 5, p. 623–635, 14 maio. 2014.

IZUDDIN, W. I. *et al.* Dietary postbiotic lactobacillus plantarum improves serum and ruminal antioxidant activity and upregulates hepatic antioxidant enzymes and ruminal barrier function in post-weaning lambs. **Antioxidants**, v. 9, n. 3, p. 1–13, 2020.

KAVITA *et al.* Postbiotics: An alternative and innovative intervention for the therapy of inflammatory bowel disease. **Microbiological Research**, 1 fev. 2024.

KHALIL, E. S. *et al.* Probiotic properties of exopolysaccharide-producing lactobacillus strains isolated from tempoyak. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 1–20, 2018.

KOK, D. E. *et al.* Bacterial folate biosynthesis and colorectal cancer risk: more than just a gut feeling. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 2, p. 244–256, 2020.

LEE, C. *et al.* Sodium butyrate inhibits the NF-kappa B signaling pathway and histone deacetylation, and attenuates experimental colitis in an IL-10 independent manner. **International Immunopharmacology**, v. 51, p. 47–56, 1 out. 2017.

LI, W. *et al.* Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 351–359, 15 fev. 2014.

LIN, W. H. *et al.* Immune effect of heat-killed multistrain of *Lactobacillus acidophilus* against *Salmonella typhimurium* invasion to mice. **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, n. 1, p. 22–31, 2007.

MALASHREE, L. *et al.* “Postbiotics” – One Step Ahead of Probiotics. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, n. 01, p. 2049–2053, 2019.

MALDONADO-CONTRERAS, A. *et al.* Associations between Diet, the Gut Microbiome, and Short-Chain Fatty Acid Production among Older Caribbean Latino Adults. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 120, n. 12, p. 2047– 2060, 1 dez. 2020.

MELBYE, P. *et al.* Short-chain fatty acids and gut microbiota in multiple sclerosis. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 139, n. 3, p. 208–219, 2019.

MISHRA, N. *et al.* Potential of postbiotics for the treatment of metabolic disorders. **Drug Discovery Today**, v. 29, n. 4, 1 apr. 2024.

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, 2015.

PFEFFERLE, P. I.; PRESCOTT, S. L.; KOPP, M. Microbial influence on tolerance and opportunities for intervention with prebiotics/probiotics and bacterial lysates. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, jun. 2013.

PIMENTEL, T. C. *et al.* Postbiotics: An overview of concepts, inactivation technologies, health effects, and driver trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 138, n. May, p. 199–214, 2023.

QI, Y. *et al.* The effect of oral bacterial lysates on the respiratory microbiome in patients with chronic obstructive pulmonary disease exacerbations – A pilot study. **Medicine in Microecology**, v. 14, 1 dez. 2022.

RAJAGOPAL, S. *et al.* Vitamin K in human health and metabolism: A nutri-genomics review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 119, p. 412–427, 1 jan. 2022.

ROJAS, J.; BUITRAGO, A. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Biosynthesized by Plants and Its Relationship With Prevention of Neurodegenerative Diseases. **Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications**, p. 3–31, 1 jan. 2019.

RUIJGROK, G. *et al.* Synthesis and application of bacterial exopolysaccharides. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 78, p. 102418, 1 fev. 2024.

SALMINEN, S. *et al.* The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 9, p. 649–667, 2021.

SCARPELLINI, E. *et al.* From pre- and probiotics to post-biotics: A narrative review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 1, 2022.

SCOTT, K. P. *et al.* Whole-genome transcription profiling reveals genes up-regulated by growth on fucose in the human gut bacterium “Roseburia inulinivorans”. **Journal of Bacteriology**, v. 188, n. 12, p. 4340–4349, 2006.

SHARMA, M.; SHUKLA, G. Metabiotics: One step ahead of probiotics; an insight into mechanisms involved in anticancerous effect in colorectal cancer. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1–15, 2016.

SHENDEROV, B. A. Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. **Microbial Ecology in Health & Disease**, v. 24, n. 0, 12 abr. 2013.

SINGH, J.; PANESAR, P. S. Industrial enzymes: Basic information, assay, and applications. **Basic Biotechniques for Bioprocess and Bioentrepreneurship**, p. 295–309, 1 jan. 2023.

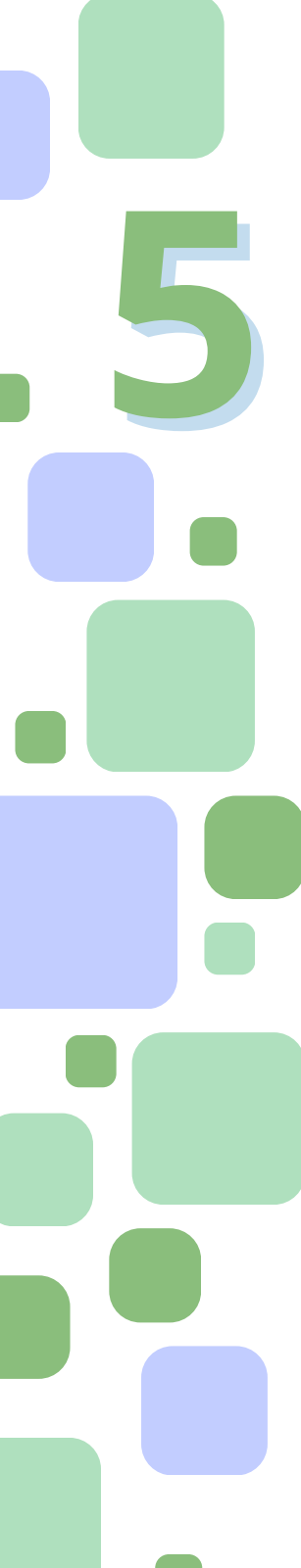
THIRUMALAI, A. *et al.* A review of the current state of probiotic nanoencapsulation and its future prospects in biomedical applications. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 57, 1 abr. 2024.

TOMUSIAK-PLEBANEK, A. *et al.* Lactobacilli with superoxide dismutase-like or catalase activity are more effective in alleviating inflammation in an inflammatory bowel disease mouse model. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 12, p. 3221–3233, 2018.

VARIAN, B. J. *et al.* Microbial lysate upregulates host oxytocin. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 61, p. 36–49, 1 mar. 2017.

VETVICKA, V.; VETVICKOVA, J. Glucan supplementation enhances the immune response against an influenza challenge in mice. **Annals of Translational Medicine**, v. 3, n. 2, p. 1–7, 2015.

ŻÓŁKIEWICZ, J. *et al.* Postbiotics—a step beyond pre- and probiotics. **Nutrients**, v. 12, n. 8, p. 1–17, 2020.



RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA C PARA INATIVAÇÃO MICROBIANA EM ALIMENTOS: REVISÃO INTEGRATIVA

**Wiaslan Figueiredo Martins¹,
Ellen Godinho Pinto¹,
Dayana Silva Batista Soares¹,
Ana Paula Stort Fernandes¹,
Bianca Ferreira Augustinho²,
Maria do Socorro de Caldas
Pinto³,
Danielle de Sousa Severo⁴**

¹Docente do Departamento de Alimentos do Instituto Federal Goiano (IF Goiano). Campus Morrinhos. Email: wiaslan.martins@ifgoiano.edu.br.

²Tecnóloga em Alimentos Instituto Federal Goiano (IF Goiano). Campus Morrinhos.

³Docente do Centro de Ciência Humanas e Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Campus IV.

⁴Doutora em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

INTRODUÇÃO

A luz ultravioleta C (UV-C), com uma faixa de comprimento de onda de 200-280 nm, é reconhecida como uma tecnologia não térmica eficaz para melhorar a segurança de alimentos e prolongar a vida útil de vários produtos alimentícios, inativando microrganismos genéticos e deteriorantes (Delorme *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Pandiselvam *et al.*, 2022).

Estudos demonstraram que a luz UV-C pode efetivamente inativar microrganismos em várias superfícies de alimentos e em líquidos, levando a uma redução na carga microbiana e a uma extensão da vida útil. A aplicação de luz UV-C demonstrou ser benéfica na preservação da qualidade e segurança de produtos lácteos, frutas, vegetais e frutos do mar sem alterar significativamente seus atributos sensoriais, físico-químicos e nutricionais quando condições ideais são aplicadas (Delorme *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020).

Embora o tratamento UV-C geralmente mantenha a qualidade dos produtos alimentares, pode induzir alterações reológicas e texturais em alguns casos, particularmente na superfície das amostras tratadas devido à baixa profundidade de penetração da luz UV-C (Pandiselvam *et al.*, 2022). Além disso, os parâmetros de tratamento, como a dose de UV e o tempo de exposição, são críticos para alcançar os efeitos antimicrobianos desejados sem comprometer a qualidade dos alimentos (Delorme *et al.*, 2020; Idzwana *et al.*, 2020; Lamikanra *et al.*, 2006). Por exemplo, morangos tratados com doses mais elevadas de UV-C exibiram maior firmeza e retenção de nutrientes (Idzwana *et al.*, 2020), enquanto a água de coco tratada com UV-C apresentou vida útil prolongada com ligeiras alterações na cor e turbidez (Chantakun *et al.*, 2022). Curiosamente, alguns estudos relataram não apenas a inativação microbiana, mas também um aumento de certos compostos benéficos, como os antioxidantes, que podem aumentar o valor nutricional dos produtos alimentares tratados (Li *et al.*, 2020; Lv *et al.*, 2023; Prajapati *et al.*, 2021).

A radiação UV-C surge como um método promissor para aumentar a vida útil e para melhorar a segurança de alimentos de uma gama de produtos alimentares, reduzindo as cargas microbianas deteriorantes e patogênicas. A eficácia do tratamento

UV-C na preservação da qualidade dos alimentos e ao mesmo tempo no prolongamento da vida útil está bem documentada em várias categorias de alimentos, incluindo laticínios, carnes, frutas, vegetais e frutos do mar, com impacto mínimo em suas propriedades sensoriais e nutricionais quando aplicado sob condições controladas (Artés Hernández *et al.*, 2008; Lamikanra *et al.*, 2022; Lopez-Malo; Palou, 2004; Pandiselvam *et al.*, 2022).

Diante desse contexto, destaca-se a importância e relevância desta pesquisa de revisão integrativa sobre a aplicação do tratamento UV-C em alimentos. Assim, este trabalho de revisão tem como objetivo resumir, a partir de artigos científicos publicados nos últimos 4 anos, a aplicação do tratamento UV-C em alimentos, contextualizando sua eficiência na inativação de microrganismos em diferentes alimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

IDENTIFICAÇÃO DOS ARTIGOS

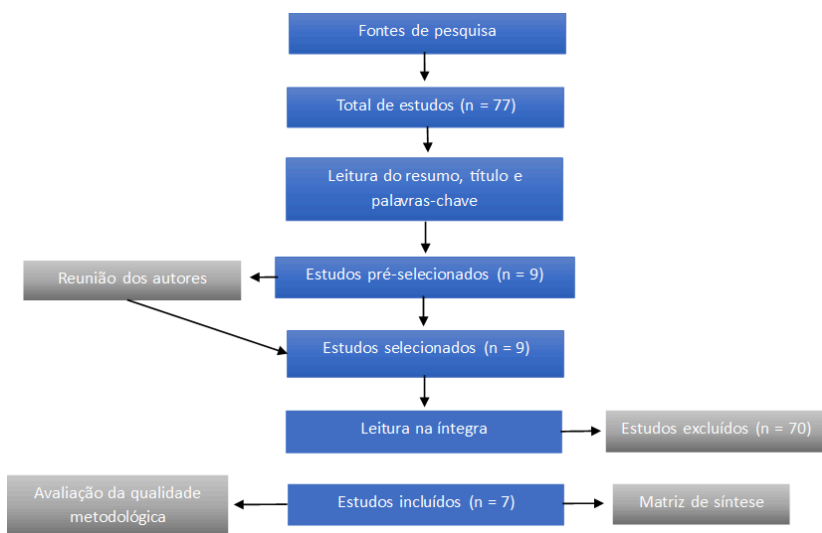
Esta revisão integrativa tem como objetivo compilar e sintetizar evidências sobre a aplicação da Radiação Ultravioleta tipo C (UV-C) na inativação de microrganismos em alimentos. A metodologia seguiu um protocolo para assegurar a inclusão de estudos relevantes e de qualidade, envolvendo cinco etapas principais: definição da questão de pesquisa, critérios de inclusão e exclusão, estratégia de busca, seleção dos estudos, e análise e síntese dos dados.

A questão de pesquisa foi formulada para responder à seguinte pergunta: “Quais são as evidências disponíveis sobre a eficácia da Radiação Ultravioleta tipo C na inativação de microrganismos em diferentes tipos de alimentos?” Os critérios de inclusão foram estabelecidos para garantir a relevância e a qualidade dos estudos selecionados, sendo eles: estudos experimentais sobre o uso de UV-C na inativação de microrganismos em alimentos, publicados nos últimos quatro anos, em inglês, e com texto completo disponível. Os critérios de exclusão incluíram estudos que não abordassem diretamente a inativação de microrganismos por UV-C em alimentos, publicações como cartas ao editor, opiniões ou

resumos de conferências sem dados completos, e estudos duplicados ou redundantes.

A estratégia de busca foi conduzida na base de dados ScienceDirect. Foram utilizados os seguintes termos e combinações de palavras-chave: *Ultraviolet light C*, *Bacteria*, *Food safety*, *Inactivation* e *Shelf life*. A seleção dos estudos ocorreu em duas etapas. Na triagem inicial, os títulos e resumos dos artigos encontrados foram revisados pelos autores, excluindo aqueles que claramente não atendiam aos critérios de inclusão. Na análise detalhada, os artigos selecionados foram avaliados na íntegra (Figura 1). A análise e síntese dos dados foram organizadas e analisadas qualitativamente, permitindo uma compreensão abrangente dos resultados e a identificação de padrões e lacunas na literatura existente.

Figura 1. Fluxograma da revisão integrativa do trabalho.



Fonte: elaborada pelo autor (2024).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sete artigos selecionados para a revisão integrativa foram lidos na íntegra e suas principais informações analisadas. A busca eletrônica inicial resultou em 77 artigos baseados nas palavras-chave. Após uma seleção manual, com leitura dos títulos, foram descartados aqueles que não atendiam aos critérios de inclusão, culminando em sete artigos para análise.

Os estudos investigaram a aplicação do UV-C em diferentes tipos de alimentos, incluindo leite, sucos, frutas, vegetais, especiarias e leite em pó. A variedade de microrganismos estudados abrange bactérias patogênicas (como *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes*), bactérias deteriorantes, fungos, leveduras e esporos fúngicos. As dosagens de radiação UV-C, os tempos de exposição e o design dos reatores empregados variaram entre os estudos. Além disso, os métodos de avaliação da eficácia do tratamento diferiram, englobando análise microbiológica, avaliação da qualidade sensorial e análise de compostos bioativos.

No estudo de Dasalkar *et al.* (2024), o leite foi processado através de um sistema de reator contínuo com uma taxa de fluxo de 168 mL/min e dosagens de UV variando entre 0, 1,5, 3,1 e 4,6 J/cm². Esses parâmetros foram cruciais para determinar a eficácia do tratamento na inativação dos microrganismos presentes. Amostras de leite de vaca inoculadas com *E. coli*, *S. enterica* e *L. monocytogenes* apresentaram concentrações iniciais de 6,88, 6,96 e 7,45 log₁₀ UFC/mL, respectivamente. Após o tratamento com UV-C, observou-se uma redução significativa na contagem de *E. coli*. Os autores associaram esses resultados aos achados de Koutchma *et al.* (2004), que indicaram que o leite possui uma transmissão de luz UV-C muito baixa, absorvendo significativamente devido à presença de compostos solúveis e suspensos, solutos orgânicos e outros materiais. Isso representa um desafio para a eficácia do tratamento UV-C, exigindo ajustes na dosagem e no design do reator para maximizar a inativação microbiana.

Hassan *et al.* (2020) observaram reduções significativas em microrganismos deteriorantes (bactérias aeróbicas totais e fungos e leveduras) e patógenos inoculados artificialmente (*E. coli* e *Salmonella* spp.) em especiarias secas moídas (pimenta, funcho e

coentro) tratadas com doses de 3,5, 7,0 e 10,4 kJ/m² de radiação UV-C.

O estudo de Wai *et al.* (2024) concentrou-se na inativação microbiana do suco de manga por meio de tratamento UV. O suco tratado com UV mostrou uma redução significativa na contagem microbiana, com uma diminuição de 5,19 log a 120 J/cm². Parâmetros de qualidade como turbidez, compostos bioativos e atividade antioxidante alteraram-se com o aumento da exposição UV. As amostras tratadas com UV demonstraram maior vida útil e melhores atributos de qualidade em comparação às amostras pasteurizadas e controle. Os autores relataram ainda que o tratamento UV combinado com outros métodos é recomendado para aumentar a inativação microbiana e prolongar a vida útil.

Na pesquisa de Yu *et al.* (2024), a esterilização por UV-C no leite de cabra em pó resultou em uma redução significativa na contagem total de bactérias e coliformes. Os resultados mostraram que o leite em pó de cabra não esterilizado tinha uma contagem de bactérias de $1,62 \times 10^5$ UFC/g e uma contagem de coliformes de 35 UFC/g, enquanto o leite em pó de cabra esterilizado por UV-C atendeu aos padrões chineses para leite em pó, com contagens bacterianas totais $<2 \times 10^4$ UFC/g e contagens de coliformes <10 UFC/g. Esses resultados destacam a capacidade da radiação UV-C como um método bactericida eficaz para garantir a segurança e a qualidade do leite de cabra em pó.

O trabalho de Rajalingam, Choi e Van Haute (2024) relatou que a população de *L. monocytogenes* foi significativamente inativada ($<1,65 \log_{10}$ UFC/cm²) em cenouras tratadas com UV-C, tanto descascadas quanto não descascadas. No entanto, cenouras não descascadas e sem tratamento UV-C não mostraram inativação significativa do patógeno. O estudo revelou que o tratamento com UV-C em cenouras resultou em uma redução significativa da população de *L. monocytogenes* para níveis abaixo do limite de detecção, e a eficácia antimicrobiana foi mantida por pelo menos 72 horas após o tratamento. A eficácia bactericida do UV-C variou entre diferentes cepas de *L. monocytogenes*, mas todas foram afetadas pelos efeitos letais do tratamento com UV-C.

Kozono *et al.* (2023) exploraram o uso da radiação UV em sucos, focando na inativação de *E. coli* O157 e *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Os resultados indicam que a UV-C é eficaz na redução de patógenos, mas a presença da microbiota nativa pode influenciar a eficiência do processo. Além disso, o artigo ressalta que a UV-C pode alterar parâmetros nutricionais e sensoriais do produto, sendo importante monitorar esses efeitos para garantir a

qualidade do alimento processado. A inativação de *E. coli* com UV-C resultou em reduções de 4,1–5,1 ciclos logarítmicos na bebida isotônica de frutas mistas e 4,5–5,6 ciclos logarítmicos na bebida isotônica de laranja. Em comparação, a inativação de *A. acidoterrestris* foi menor, com reduções de 3,7–4,0 ciclos logarítmicos. A inativação de *E. coli* foi mais eficaz do que a de esporos de *A. acidoterrestris*, que mostraram maior resistência ao tratamento com UV-C, provavelmente devido à sua estrutura robusta e capacidade de sobrevivência em condições adversas. O UV-C foi considerado adequado, atingindo níveis de redução necessários e mantendo os níveis de hidroximetilfurfural (HMF) abaixo do limite permitido, mostrando eficácia na inativação dos esporos de *A. acidoterrestris*.

No contexto dos esporos fúngicos, Menezes *et al.* (2020) utilizaram tratamentos com luz UV-C com diferentes irradiâncias para avaliar ascósporos de *Aspergillus fischeri* e *Paecilomyces niveus* em suco de maçã clarificado. Os resultados mostraram que o tratamento com luz UV-C levou a maior redução microbiana em comparação ao tratamento térmico a 85 °C e 90 °C. O modelo bifásico de primeira ordem foi capaz de descrever e prever a inativação desses esporos pela luz UV-C de forma eficaz. As irradiâncias mais eficazes para inativar os ascósporos de *A. fischeri* e *P. niveus* foram 36 W/m², resultando em uma redução de 5,7 logs para *A. fischeri* e 4,2 logs para *P. niveus* após 10 minutos de exposição. Em contraste, a menor irradiância testada, de 6,5 W/m², não alcançou essas reduções após 30 minutos de exposição. O estudo concluiu que o tratamento UV-C nas irradiâncias testadas é uma aplicação promissora para prevenir a deterioração de *A. fischeri* e *P. niveus* em sucos.

Todos os estudos confirmam a eficiência da UV-C na inativação de patógenos, deteriorantes e esporos bacterianos e de fungos. Contudo, também apontam a necessidade de otimizar as condições de tratamento para líquidos opacos devido à baixa penetração da radiação. A baixa penetração em líquidos opacos é uma preocupação comum, que pode ser abordada com o uso de reatores especializados que aumentam a exposição à UV e pela consideração dos parâmetros físicos dos alimentos, como a turbidez. Kozono *et al.* (2023) e Dasalkar *et al.* (2024) enfatizaram a importância de monitorar alterações nutricionais e sensoriais nos alimentos tratados, sugerindo que o tratamento UV deve ser cuidadosamente controlado para preservar a qualidade do produto.

CONCLUSÃO

A aplicação da radiação UV-C na inativação de microrganismos em alimentos surge como uma tecnologia promissora e vantajosa para a indústria alimentícia. Sua eficácia contra patógenos, deteriorantes e esporos, aliada à capacidade de estender a vida útil e preservar as características sensoriais e nutricionais dos alimentos, a torna uma alternativa atraente aos métodos térmicos tradicionais. No entanto, desafios técnicos relacionados à penetração em líquidos opacos e à manutenção da qualidade do produto exigem atenção. O desenvolvimento de sistemas de tratamento otimizados e a monitoração rigorosa dos efeitos da radiação UV-C são cruciais para garantir a viabilidade e a segurança dessa tecnologia na indústria alimentícia. Assim, pesquisas contínuas são necessárias para aprimorar as técnicas de aplicação da radiação UV-C, expandindo seu potencial para garantir a segurança microbiológica e a qualidade dos alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTÉS-HERNÁNDEZ, F.; ESCALONA, V. H.; ROBLES, P. A.; MARTÍNEZHERNÁNDEZ, G. B.; ARTÉS, F. Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 3, p. 414–421, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/JSFA.3460>.

CHANTAKUN, R.; PATPATANAPONG, W.; SAE-OU, S.; SUPAPVORAKUL, C.; CHAROENTHAIKIJ, P.; KASEMSAP, P. Effectiveness of UV-C treatment on postharvest quality and microbial decay of 'Festival' strawberries. **Horticulturae**, v. 8, n. 6, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8060465>.

DASALKAR, A. H.; MAGULURI, R. K.; VAISHNAV, S. R.; SINGH, S. A.; YANNAM, S. K. Impact of UV-C Treatment on the Inactivation of Microbes and Amino Acid Composition in Cow Milk and Buffalo Milk: A Comparative Study. **International Dairy Journal**, v. 156, p. 105979, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.105979>.

DELORME, M. M.; GUIMARÃES, J. T.; COUTINHO, N. M.; BALTHAZAR, C. F.; ROCHA, R. S.; SILVA, R.; MARGALHO, L. P.; PIMENTEL, T. C.; SILVA, M. C.; FREITAS, M. Q.; GRANATO, D.; SANT'ANA, A. S.; DUART, M. C. K. H.; CRUZ, A. G. Ultraviolet radiation: an interesting technology to preserve quality and safety of milk and dairy foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 102, p. 146–154, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.001>.

HASSAN, A. B.; AL MAIMAN, S. A.; ELKHATIM, K. A. S.; Elbadr, N. A.; Alsulaim, S.; Osman, M. A.; Mohamed Ahmed, I. A. Effect of UV-C radiation treatment on microbial load and antioxidant capacity in hot pepper, fennel and coriander. **LWT**, p. 134, 109946, 2020.

IDZWANA, M. I. N.; CHOU, K. S.; SHAH, R. M.; SOH, N. C. The effect of ultraviolet light treatment in extending shelf life and preserving the quality of strawberry (*Fragaria x ananassa*) cv. Festival. **International Journal of Food, Agriculture, and Natural Resources**, v. 1, n. 1, p. 15–18, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.46676/ij-fanres.v1i1.4>.

KOUTCHMA, T.; KELLER, S.; CHIRTEL, S.; PARISI, B. Ultraviolet disinfection of juice products in laminar and turbulent flow reactors. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 5, p. 179–189, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2004.01.004>.

KOZONO, Y.; TANAKA, A.; MATSUMURA, K. Novel Insights into the Role of Phosphatidic Acid in the Regulation of Autophagy. **Cell Reports**, v. 42, n. 4, p. 112422, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112422>.

LAMIKANRA, O.; KUENEMAN, D.; UKUKU, D.; BETT-GARBER, K. L. Effect of processing under ultraviolet light on the shelf life of fresh-cut Cantaloupe Melon. **Journal of Food Science**, v. 70, p. C534–C539, 2006.

LÁZARO, C. A.; MONTEIRO, M. L. G.; CONTE-JUNIOR, C. A. Combined Effect of Modified Atmosphere Packaging and UV-C Radiation on Pathogens Reduction, Biogenic Amines, and Shelf Life of Refrigerated Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets. **Molecules**, v. 25, p. 3222, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25143222>.

LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E. **Ultraviolet light and food preservation**. In: Novel food processing technologies. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2004. Chapter 18. eBook ISBN 9780429225055.

LV, Y.; FU, A.; SONG, X.; WANG, Y.; CHEN, G.; JIANG, Y. 1-Methylcyclopropene and UVC treatment effect on storage quality and antioxidant activity of ‘Xiaobai’ apricot fruit. **Foods**, v. 12, n. 6, p. 1296, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods12061296>.

MENEZES, N. M. C.; LONGHI, D. A.; ORTIZ, B. O.; JUNIOR, A. F.; ARAGÃO, G. M. F. DE. Modeling the inactivation of *Aspergillus fischeri* and *Paecilomyces niveus* ascospores in apple juice by different ultraviolet light irradiances. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, p. 108773, 2020.

PANDISELVAM, R.; BARUT GÖK, S.; YÜKSEL, A. N.; TEKGÜL, Y.; ÇALI KAN KOÇ, G.; KOTHAKOTA, A. Evaluation of the impact of UV radiation on rheological and textural properties of food. **Journal of Texture Studies**, 2022.

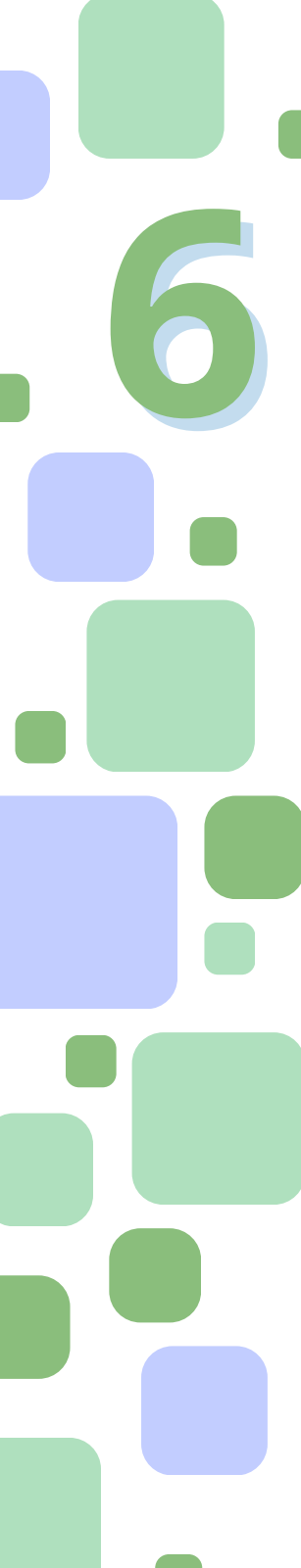
PRAPAJATI, B. G.; SHARMA, G.; MEHTA, A. K. Use of Medicinal and Aromatic Plants in Traditional Medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112915, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112915>.

RAHMAN, M. S. **UV light in food preservation**. In: Handbook of food preservation. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2020. Chapter 10. eBook ISBN 9780429091483.

RAJALINGAM, N.; CHOI, S.-Y.; VAN HAUTE, S. Ultra violet-C pretreatment enhances the antimicrobial efficacy of unpeeled carrots against subsequent contamination with *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 421, p. 110800, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110800>.

WAI, H. H.; SHIEKH, K. A.; JAFARI, S.; KIJPATANASILP, I.; ASSATARAKUL, K. Ultraviolet irradiation as alternative non-thermal cold pasteurization to improve quality and microbiological parameters of mango juice during cold storage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 415, 2024.

YU, Z.; FU, S.; LI, L.; LIU, Y. Quality characteristics of goat milk powder produced by freeze drying followed by UV-C radiation sterilization. **Food Chemistry: X**, v. 22, 2024.



USO DE BIOPROTETORES EM LEITE E PRODUTOS LÁCTEOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

**Gerla Castello Branco Chinelate¹,
Krause Gonçalves Silveira
Albuquerque²,
João Paulo Alves Marinho²**

¹Docente do Curso de Engenharia de Alimentos da
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco
(UFAPE). E-mail: gerla.chinelate@ufape.edu.br.

²Graduando em Engenharia de Alimentos da
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco
(UFAPE)

INTRODUÇÃO

Os produtos lácteos são definidos como alimentos derivados do leite e incluem uma ampla variedade de itens como queijo, manteiga, iogurte, bebida láctea entre outros. Esses alimentos são ricos nutricionalmente, tendo em sua composição proteínas e minerais, como o cálcio, essencial no desenvolvimento ósseo. Porém são produtos com alta perecibilidade, havendo a necessidade da adição de conservantes para prolongar a vida de prateleira, aditivo “*mal visto*” por consumidores. Sendo uma alternativa a esses aditivos, os bioprotetores.

Os bioprotetores são microrganismos, principalmente bactérias ácido lácticas (BAL), que são utilizados na indústria alimentícia para aumentar a segurança microbiológica e a vida útil dos alimentos. Esses microrganismos atuam através de diferentes mecanismos, incluindo a produção de compostos antimicrobianos como bacteriocinas, a competição por nutrientes e a modificação do pH do ambiente, inibindo o crescimento de patógenos e microrganismos deteriorantes (Danielski, 2018; Engstrom *et al.*, 2021).

Os bioprotetores são utilizados em alimentos visando a melhora da segurança e a durabilidade dos produtos. Sua aplicação é ampla na indústria, segundo Papadimitriou *et al.*, 2018, a aplicação de *Lactobacillus rhamnosus* em queijos demonstrou eficácia na inibição de *listeria monocytogenes*. Bacteriocinas produzidas por bactérias ácido-láticas, como nisina, tem demonstrado eficiência na preservação de leite, iogurtes e queijos, devido às suas propriedades antimicrobianas (Silva *et al.*, 2018). Wu *et al.* (2020) destacam que a incorporação de culturas protetoras em frutas e vegetais minimamente processados também ajuda a manter a qualidade sensorial e microbiológica, prolongando a vida útil desses produtos. São estes alguns exemplos de aplicação dos bioprotetores.

A presente pesquisa tem como objetivo explorar o uso de bioprotetores em produtos lácteos, focando em sua definição, importância comercial e nutricional, mecanismos de atuação e benefícios comerciais. Estudos anteriores indicam que a aplicação de BAL, como *Lactobacillus* e *Carnobacterium*, pode oferecer uma abordagem eficaz e natural para a conservação de alimentos, promovendo tanto a saúde dos consumidores quanto a sustentabilidade da indústria alimentícia (Danielski, 2018).

MATERIAIS E MÉTODOS

ESTRATÉGIA DE BUSCA

A revisão sistemática seguiu as diretrizes metodológicas estabelecidas pelo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). Foram utilizadas bases de dados como Google Acadêmico, Pubmed e Scielo, para realizar uma busca abrangente de estudos relevantes. A busca foi conduzida com a seleção de termos-chave específicos como "bioprotetores", "culturas bioprotetoras", "cultivo bioprotetector" e "bioprotective culture". Além disso, utilizou-se operadores booleanos "AND" e "OR" para combinar termos e ampliar a busca.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão compreenderam estudos publicados entre 2019 e 2023, nos idiomas inglês e português. Foram selecionados artigos que apresentavam dados sobre a eficácia de bioprotetores em produtos lácteos. Exclui-se artigos repetidos, capítulos de livros, cartas ao editor, resumos de conferência, resenhas e estudos que não abordavam diretamente a utilização de bioprotetores em produtos lácteos.

SELEÇÃO DE ARTIGOS

Inicialmente, foi conduzida uma análise criteriosa dos títulos e resumos dos estudos obtidos, com o objetivo de remover duplicações. Os artigos selecionados passaram por uma leitura completa, excluindo aqueles que não atendiam aos objetivos da pesquisa. As informações relevantes foram organizadas em uma tabela contendo dados como referência, tipo de bioprotetor, técnica de aplicação, eficácia do bioprotetor, modelo experimental (células, animal, humano) e os principais achados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 1.860 resultados foram encontrados. Após, foram retiradas as dissertações, teses, resumos e pôsteres. Após revisão dos textos completos, dez estudos foram selecionados para esta revisão sistemática.

Quadro 01. Descrição dos estudos selecionados para a construção da revisão sistemática

Produto Elaborado	Cultura Bioprotetora	Referência
Coalhada com leite de búfala	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Lactococcus lactis</i>	Motta; Quadros; Lermen, 2023
Queijo	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> bv. <i>diacetylactis</i> (<i>Lactobacillus plantarum</i>)	Engstrom; Anderson; Glass, 2021
Leite Cru	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Carnobacterium</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Hafnia alvei</i> <i>Enterococcus faecium</i>	Sun et al., 2019
Iogurte	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>L. plantarum</i>	Evstatieva; Nikolova, 2023
Queijo	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	Aljasir; D'Amico, 2021.
Queijo de ovelha	Fresh-Q	Skulska; Tsisaryk, 2019.
Queijo Fresco	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>L. rhamnosus</i>	Makki et al., 2020
Queijo Pecorino Sardo Dolce	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>sunkii</i>	Meloni et al., 2023

Queijo tipo: Talaga, Ras, Domiaty e Feta.	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp.	Al-Gamal et al., 2019
Iogurte	Produto comercial: Fresh-Q	Nielsen et al., 2021

Fonte: Autores (2024)

EFEITO DE CULTURAS PROTETORAS COMERCIAIS E BACTERIANAS EM QUEIJOS DE ALTA UMIDADE

O estudo teve como objetivo investigar a eficácia de culturas protetoras comerciais e fermentados bacterianos na inibição de *Listeria monocytogenes* em queijos com alto teor de umidade. Durante o experimento, as culturas utilizadas, incluindo CSV-1, demonstraram capacidade significativa de redução dos patógenos, com destaque para CSV-1, que apresentou a maior diminuição das contagens de *L. monocytogenes*. Os resultados evidenciaram que o uso dessas culturas não apenas inibiu eficazmente os micro-organismos indesejáveis, como também manteve a qualidade sensorial do produto. Concluiu-se que a aplicação de culturas protetoras e fermentados bacterianos é uma estratégia eficiente para aumentar a segurança microbiológica de queijos de alta umidade, proporcionando um método viável para melhorar a conservação desses produtos.

BIOPROTETOR DE COALHADA

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactococcus lactis* na inibição de *Listeria monocytogenes* em coalhada produzida com leite de búfala. A pesquisa demonstrou que ambas as culturas possuíam uma alta capacidade de inibir *L. monocytogenes*, reduzindo significativamente a carga microbiana ao longo do tempo, de $2,67 \times 10^7$ para $1,35 \times 10^4$ UFC/g em 240 horas. Além de melhorar a segurança microbiológica, as culturas mantiveram a qualidade sensorial da coalhada. A conclusão do estudo foi que essas culturas são altamente eficazes para a biopreservação de produtos lácteos, especialmente coalhada, oferecendo uma solução natural para prolongar a vida útil e garantir a segurança dos alimentos.

EFICÁCIA DE CULTURAS PROTETORAS EM QUEIJOS

Este estudo investigou a eficácia de diferentes culturas protetoras comerciais na inibição de patógenos em queijos elaborados com leite cru. As culturas testadas, incluindo *Lactococcus lactis* e *Lactobacillus plantarum*, mostraram-se eficazes na redução de patógenos como *Listeria monocytogenes*. Os resultados indicaram que essas culturas não apenas diminuem a presença de micro-organismos patogênicos, mas também podem melhorar aspectos sensoriais dos queijos. Concluiu-se que o uso de culturas protetoras é uma prática promissora para aumentar a segurança de queijos de leite cru, fornecendo uma barreira adicional contra contaminações e contribuindo para a qualidade geral dos produtos lácteos.

POTENCIAL PROBIÓTICO DE CULTURAS PROTETORAS COMERCIAIS ASSOCIADAS A LATICÍNIOS

O estudo avaliou o potencial probiótico de culturas protetoras comerciais em produtos lácteos de leite de vaca e búfala. As culturas foram testadas para sobrevivência em condições gastrointestinais simuladas e sua eficácia contra *Listeria monocytogenes* em experimentos in vitro e in vivo. Os resultados mostraram que as culturas possuíam alta capacidade de sobrevivência e eram eficazes na inibição de *L. monocytogenes*. A conclusão foi de que essas culturas têm um potencial significativo como probióticos, contribuindo para a segurança dos alimentos e promovendo benefícios à saúde do consumidor, o que destaca a importância de sua aplicação em produtos lácteos.

QUEIJO FRESCO COM DIFERENTES CULTURAS PROTETORAS

O objetivo deste trabalho foi investigar o impacto de diferentes culturas protetoras sobre o desenvolvimento microbiano e as características sensoriais do queijo fresco. As culturas testadas demonstraram uma capacidade significativa de inibir microrganismos indesejáveis, resultando em melhorias na segurança do produto. Além disso, os queijos produzidos com essas culturas apresentaram melhores características sensoriais, como sabor e textura, em comparação aos controles. A conclusão foi que a aplicação de culturas protetoras em queijo fresco é uma estratégia eficaz para melhorar tanto a segurança microbiológica quanto a qualidade sensorial, tornando esses produtos mais seguros e agradáveis ao consumidor.

IOGURTE FERMENTADO COM CULTURAS BIOPROTETORAS

O estudo visou avaliar o uso de culturas bioprotetoras em iogurte fermentado para inibir patógenos e prolongar sua vida útil. As culturas, incluindo *Lactobacillus rhamnosus*, mostraram eficácia significativa na redução de *Listeria monocytogenes*, mantendo as características sensoriais do iogurte. Os resultados indicaram que essas culturas são eficazes para aumentar a segurança microbiológica do iogurte, além de preservar seu sabor e textura. A conclusão geral foi que o uso de culturas bioprotetoras é uma abordagem promissora para a produção de iogurtes mais seguros e de alta qualidade, oferecendo uma alternativa natural para a conservação de produtos lácteos.

IOGURTE BIOPROTETOR

Este trabalho teve como objetivo analisar o efeito de culturas bioprotetoras na inibição de *Listeria monocytogenes* e outros patógenos em iogurte. As culturas, incluindo *Lactobacillus plantarum* e *Lactococcus lactis*, foram eficazes na redução dos níveis de patógenos e na manutenção da qualidade sensorial durante o armazenamento. A conclusão foi de que as culturas bioprotetoras não apenas melhoram a segurança dos iogurtes, mas também mantêm as qualidades organolépticas do produto. Essa abordagem representa uma solução eficaz e natural para a conservação de iogurtes, garantindo produtos mais seguros para os consumidores.

QUEIJO DE OVELHA (BRYNZA)

O estudo focou na melhoria da tecnologia de produção de queijo Brynza de leite de ovelha com o uso de culturas bioprotetoras para aprimorar a segurança e a qualidade do produto. As culturas, incluindo *Lactobacillus rhamnosus*, demonstraram ser eficazes na redução de fungos e leveduras, prolongando a vida útil do queijo e melhorando suas características organolépticas. Concluiu-se que o uso de culturas bioprotetoras é uma prática eficaz para aumentar a segurança microbiológica e a qualidade sensorial do queijo Brynza, destacando-se como uma abordagem promissora para produtos lácteos de leite de ovelha.

EFEITO DE CULTURAS PROTETORAS COMERCIAIS E BACTERIANAS EM PRODUTOS LÁCTEOS

Este estudo investigou o efeito de diferentes culturas protetoras em diversos produtos lácteos para controlar a contaminação microbiológica. As culturas, como *Lactobacillus plantarum* e *Lactococcus lactis*, mostraram variações na eficácia de acordo com o tipo de produto e o patógeno alvo, mas foram geralmente eficazes na inibição de microrganismos indesejáveis. A conclusão foi que as culturas protetoras são uma ferramenta valiosa para melhorar a segurança microbiológica de uma ampla gama de produtos lácteos, oferecendo benefícios tanto para a conservação quanto para a qualidade dos alimentos.

AValiação DA EFICÁCIA DE CULTURAS PROTETORAS EM QUEIJO

O trabalho teve como propósito avaliar a eficácia de culturas protetoras em queijo fresco para inibir patógenos e prolongar a vida útil do produto. As culturas aplicadas demonstraram uma significativa capacidade de inibição de *Listeria monocytogenes*, além de melhorar as propriedades sensoriais do queijo. Concluiu-se que o uso de culturas protetoras é uma prática eficaz para aumentar a segurança alimentar e melhorar a qualidade sensorial do queijo fresco, sendo uma estratégia importante para a produção de queijos mais seguros e de alta qualidade.

ANÁLISE DOS TRABALHOS

Os artigos analisados apresentam uma visão abrangente sobre a aplicação de culturas bacterianas em produtos lácteos, destacando tanto a funcionalidade tecnológica quanto os benefícios à saúde. A introdução de culturas protetoras, como *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, e *Lactobacillus rhamnosus*, tem mostrado ser uma estratégia eficaz para aumentar a segurança alimentar e estender a vida útil dos produtos lácteos. Esses microrganismos não apenas inibem o

crescimento de patógenos como *Listeria monocytogenes*, mas também melhoram as características sensoriais, como sabor e textura.

Em particular, o uso de *Lactococcus lactis* e *Leuconostoc mesenteroides* em associação mostrou-se promissor, com uma redução significativa na contagem de *L. monocytogenes*, indicando uma potente ação sinérgica na inibição de patógenos. Essa associação não apenas melhora a segurança do produto final, mas também pode contribuir para a promoção de características sensoriais desejáveis, como o desenvolvimento de aromas e texturas específicas.

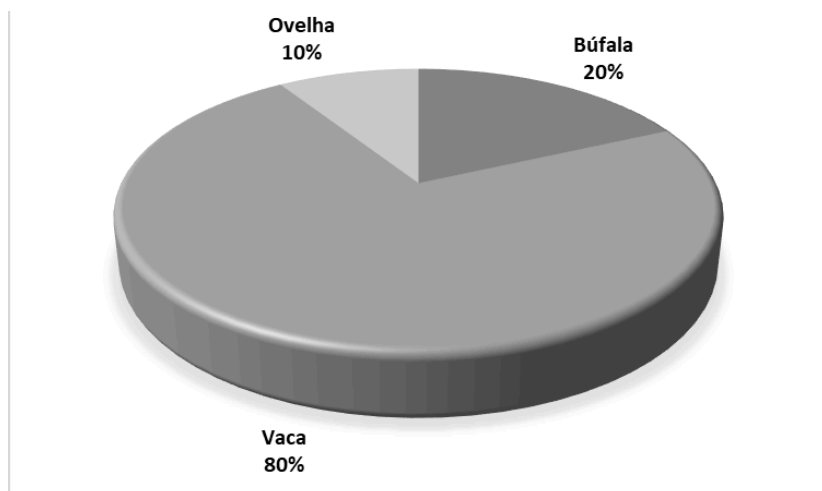
Por outro lado, a utilização de culturas como *Lactobacillus plantarum* e *Enterococcus faecium* mostrou uma eficácia significativa na inibição de uma ampla gama de patógenos Gram-positivos, demonstrando a versatilidade e a importância dessas culturas na indústria de laticínios. Essas culturas são também reconhecidas por sua capacidade de produzir bacteriocinas, compostos antimicrobianos naturais que contribuem para a preservação dos alimentos.

Comparando os métodos e resultados apresentados, observa-se uma tendência consistente na eficácia das culturas protetoras na melhoria da segurança microbiológica e na qualidade sensorial dos produtos lácteos. A diversidade de cepas e suas combinações permite uma aplicação específica dependendo do tipo de produto e dos desafios microbiológicos enfrentados. Além disso, a substituição parcial de conservantes químicos por culturas bacterianas apresenta uma solução atraente para a indústria de laticínios, atendendo à crescente demanda por produtos mais naturais e saudáveis.

ANÁLISE DO USO DE CULTURA BIOPROTETORA EM PRODUTOS LÁCTEOS UTILIZANDO LEITE DE DIFERENTES ESPÉCIES

Vale salientar que os estudos analisados apresentaram leites de diferentes espécies como matéria prima, sendo usados os leites de vaca, búfala e ovelha, de forma conjunta ou individual, sendo majoritariamente empregado o leite de vaca. Os mesmos apresentam diferentes características em relação a sua composição e sua percepção sensorial, o que ressalta a importância da análise da atuação das diferenças culturais em relação às características particulares de cada produto e dos seus respectivos derivados.

Figura 1. Espécies animais utilizadas para produção de leite empregado nos estudos sobre uso de culturas bioprotetoras.



Fonte: Autores (2024)

No que diz respeito ao leite de vaca as culturas de *Lactobacillus plantarum* e *Lactococcus lactis* mostraram eficácia significativa na inibição de patógenos como *Listeria monocytogenes*, um microrganismo patógeno associado ao uso de leite cru para elaboração de queijos, apresentando resistência a temperaturas de refrigeração e podendo causar doenças graves, como meningite e osteomielite (BARANCELLI, 2011; BATISTELLA *et al.*, 2021).

Já na produção de queijo de leite de ovelha, Skulska e Tsisaryk (2019) realizaram o estudo com o queijo Brynza, onde a substituição parcial de cloreto de sódio por cloreto de potássio, associada a aplicação de culturas com *Lactobacillus rhamnosus*, mostrou-se eficaz na inibição de fungos e leveduras, prolongando a vida útil do produto.

Ao isolar culturas presentes em leite de búfala Motta *et al.*, 2023 identificou *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactococcus lactis*, as quais apresentaram propriedades antimicrobianas, em específico na inibição de patógenos Gram-negativos como a *Salmonella*, a aplicação a cultura bioprotetora na coalha estudada apresentou uma redução significativa de carga microbiana, evidenciando a potencialidade das culturas isoladas como agentes para a

proteção de produtos lácteos, sendo possível ainda a realização de estudos mais amplos, em outros campos da produção de alimentos.

CONCLUSÃO

A partir do levantamento realizado, foi possível identificar a aplicação de culturas bacterianas em produtos lácteos como uma estratégia com múltiplos benefícios, dos quais é possível citar a inibição de patógenos, prolongamento da vida útil e melhoria das características sensoriais dos produtos elaborados. Através das informações obtidas e posterior análise, ressalta-se a necessidade da exploração progressiva da temática, buscando a otimização do uso das culturas bioprotetoras na indústria de produtos lácteos, proporcionando alimentos associados a saúde e qualidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-GAMAL, M. S.; IBRAHIM, G. A.; SHARAF, O. M.; RADWAN, A. A.; DABIZA, N. M.; YOUSSEF, M. F. El-ssayad. O potencial protetor de bactérias lácticas selecionadas contra os contaminantes mais comuns em vários tipos de queijo no Egito. **Heliyon**, v. 5, e01362, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01362>.

ALJASIR, S. F.; D'AMICO, D. J. Probiotic potential of commercial dairy-associated protective cultures: In vitro and in vivo protection against *Listeria monocytogenes* infection. **Food Research International**, v. 149, p. 110699, 2021.

BARANCELLI, G.V. et al. *Listeria monocytogenes*: Ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.78, n.1, p.155-168, 2011.

BATISTELLA, V. M. C.; PEDROSA, A. Qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal artesanais. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 5, p. 99-104, 2021.

ENGSTROM, S. K.; ANDERSON, K. M.; GLASS, K. A. Effect of commercial and bacterial protective cultures on *Listeria monocytogenes* growth in high-moisture model cheese. **Journal of Food Protection**, v. 84, n. 5, p. 772-780, 2021. Available at: <https://doi.org/10.4315/JFP-20-247>.

EVSTATIEVA, Y.; NIKOLOVA, D. Probiotic potential of commercial dairy-associated protective cultures: in vitro and in vivo protection against *Listeria monocytogenes* infection. **Foods**, v. 12, n. 13, p. 2552, 2023. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods12132552>.

MAKKI, G. M.; KOZAK, S. M.; JENCARELLI, K. G.; ALCALINE, S. D. Evaluation of the efficacy of commercial protective cultures against mold and yeast in queso fresco. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 9946-9957, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18769>.

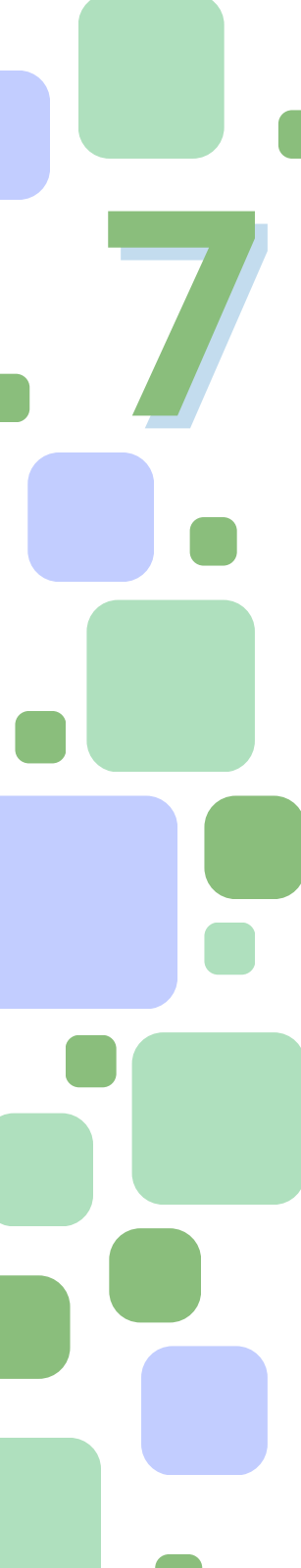
MOTTA, A. S.; QUADROS, D. S.; LERMEN, A. M. Cultivo associado de *Leuconostoc mesenteroides* LB10.4 e *Lactococcus lactis* L4A8: propriedades antimicrobianas e potencial aplicação. **Veterinária e Zootecnia**, v. 30, p. 001-012, 2023. ISSN Eletrônico 2178-3764.

PAPADIMITRIOU, K. *et al.* Protective Cultures for the Safety of Animal-Derived Foods. **SpringerLink**, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00003-018-1163-7>. Acesso em: 29 jul. 2024.

SILVA, S. *et al.* Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation. **Frontiers in Microbiology**, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.00594/full>. Acesso em: 29 jul. 2024.

SUN, L.; D'AMICO, D. J.; ALJASIR, S. F.; GENSLER, C. A eficácia de culturas protetoras comerciais individuais e combinadas contra *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli* produtora de toxina shiga O157 e não O157 em meio de crescimento e leite cru. **Elsevier**, 2019.

WU, C. *et al.* The Application of Protective Cultures in Cheese: A Review. **MDPI**, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/4/4/73>. Acesso em: 29 jul. 2024.



VIABILIDADE DE PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL UTILIZANDO *SACCHAROMYCES BOULARDII*

**Karen Pequeno Brasil
Montenegro¹,
Rafael Limongi de Souza²,
Kristerson Reinaldo de Luna
Freire³**

¹Biotechnologista pelo Departamento de Biotecnologia.
Centro de Biotecnologia. Universidade Federal da
Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB.

²Doutorando em Biotecnologia pela Rede RENORBIO.
Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN,
Brasil.

³Docente do Departamento de Tecnologia de
Alimentos. Centro de Biotecnologia. Universidade
Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB. E-mail:
kristerson@cbiotec.ufpb.br

INTRODUÇÃO

De acordo com o Decreto Nº 9.902, de 8 de junho de 2019, Art. 36, cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro. Segundo Morado (2009), até o final do século XIX o processo de fermentação não era compreendido. Por isso, acreditava-se que era algo mágico e até mesmo, milagroso. Foi somente em 1827 que o botânico Jean Baptiste Henri Joseph Desmazières publicou um artigo que falava da levedura como um ser vivo, mas sem ser atribuído à atividade fermentativa. Depois disso o francês Charles Cagniard-Latour, em 1837, confirmou sua capacidade reprodutiva, seu aspecto globular e sua aparente alimentação com base em açúcares da cana-de-açúcar. Os estudos continuaram até que, em 1883, o cientista Emil Christian Hansen foi capaz de isolar, cultivar uma cepa de levedura e compreender sua ação (The beer times, 2006).

As leveduras cervejeiras, tradicionalmente usadas na produção de cervejas, são cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (tipo ale) ou *S. pastorianus* (tipo lager), que representam um grupo diversificado de microrganismos (Oliveira, 2011).

S. boulardii é uma levedura similar morfológicamente a *S. cerevisiae*. Apesar de serem provenientes do mesmo gênero, elas diferem em diversas propriedades metabólicas, genéticas e até mesmo taxonômicas. *S. boulardii* foi inicialmente isolada de frutos da lichia e mangostim, em 1923, pelo cientista francês Henri Boulard (Kegele *et al*, 2009). Atualmente, essa levedura é utilizada tanto como agente profilático quanto como agente terapêutico de diarreias e outras doenças gastrointestinais. Estudos mais aprofundados levaram a descoberta de propriedades que comprovam sua ação probiótica como a sobrevivência no trânsito do trato gastrointestinal, seu crescimento ótimo à 37°C e a capacidade de inibir agentes patogênicos (Czeruka, 2007).

Visando o melhor entendimento sobre o uso da espécie de *S. boulardii* no processo de fabricação de cerveja, o intuito deste trabalho foi estabelecer um experimento para o acompanhamento

da cinética de fermentação do mosto cervejeiro para a produção de cerveja a partir de uma linhagem de *S. bouldarii* comercialmente disponível na forma farmacêutica em cápsula e conhecida pelo nome de Floratil®.

MATERIAL E MÉTODOS

As matérias-primas, utilizadas na fabricação da cerveja foram: água potável filtrada, decolorada e acidificada com solução ácido fosfórico 10%, malte de cevada, extrato de lúpulo, extrato de malte sem lúpulo Coopers Light/Claro, extrato de lúpulo HopAlpha Tetra, adquiridos em lojas especializadas pela internet. Levedura *S. bouldarii* proveniente do medicamento Floratil® (200 mg). Foi adquirido em farmácia na cidade de João Pessoa. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia Cervejeira, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, e em parceria com o Laboratório de Produtos Fermento Destilados – LPFD/CT/UFPB.

PRODUÇÃO DO MOSTO

A produção do mosto foi realizada nas seguintes etapas: a moagem foi conduzida em moinho de dois rolos (MonsterMill®), com abertura de 0,8 mm, a mosturação foi realizada em três paradas: a primeira a 64 °C por 60 minutos; a segunda a 69 °C por 20 minutos, com rampa de 5 min.; a terceira a 76 °C por 1 minuto, com rampa de 8 minutos. O consumo de amido foi verificado pelo reagente iodo 0,02 N. Após a mosturação, o mosto foi recirculado e filtrado em tina de clarificação com fundo falso, onde a própria palha do malte fez a função de elemento filtrante, até completar a clarificação.

O mosto clarificado foi transferido para a tina de fervura, e o resíduo da mosturação foi lavado com água filtrada, pré-aquecida (76°C) e com pH controlado (5,5), até que o líquido filtrado saísse da tina de clarificação na densidade específica de 1,010 g/cm³. Após atingir fervura, o mosto permaneceu fervente durante 60 minutos, quando foi resfriado, utilizando-se um *chiller* de imersão com circulação de água gelada, até a temperatura de 15 °C. Após

isso, o mosto foi fracionado em recipientes e armazenado em freezer com temperatura de -18°C .

PREPARAÇÃO DO INÓCULO

Para o preparo do inóculo, 300 mL do mosto previamente produzido foi descongelado. Após o descongelamento, o mosto foi fervido em erlenmeyer por 15 min para descontaminação. Então, o mosto foi resfriado em banho de gelo e foi adicionado a ele 3 cápsulas do medicamento Floratil® (*Saccharomyces boulardii* – 17 liofilizada), totalizando 3 bilhões de células, sendo mantido em agitação magnética por 24 h, para a propagação.

PRODUÇÃO DA CERVEJA

Foram descongelados 3 L do mosto, mantido a 0°C por dois dias, sendo o sobrenadante transferido para tina de fervura com mangueira atóxica acoplada em um tubo sifão, para a seleção do mosto límpido. Em seguida, foram adicionadas 12 gotas de extrato de lúpulo HopAlpha Tetra visando atingir um amargor de 10 IBUs, quantidade esta mínima de amargor para uma cerveja leve e clara. O mosto foi mantido em fervura por 15 min para descontaminação, resfriado em banho de gelo até atingir a temperatura de 22°C transferido para o tanque de fermentação.

Durante este processo, realizou-se a contagem de células em câmara de Neubauer do meio de propagação, visando saber o volume do inóculo a ser adicionado no mosto, para obtermos no final 50 bilhões de células viáveis disponíveis para a fermentação (White; Zainasheff, 2010). Adicionou-se 250 mL do inóculo no fermentador que foi mantido a uma temperatura de 19°C para a fermentação. O envase foi realizado no 15º dia após o início da fermentação, realizado em garrafas de 300 mL, previamente lavadas e sanitizadas com solução a 0,1% de desinfetante em pó a base de ácido peracético (PAC 200 – ADPRO). As garrafas foram fechadas com arrolhador manual e armazenadas em temperatura ambiente, por um período mínimo de 7 dias, e depois mantidas em geladeira ($4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$) até o início das análises.

ANÁLISE FERMENTATIVA

Foi utilizado um fermentador com capacidade de 3 L de mosto. Airlocks foram utilizados para que o CO_2 pudesse ser eliminado

durante a fermentação sem que o fermentado entrasse em contato com o ar, evitando contaminação e oxidação.

CRESCIMENTO CELULAR

Foram coletadas amostras do mosto em fermentação a cada 4 h, até serem completadas aproximadamente 90 h de fermentação, todas em triplicata. As amostras foram coletadas através de uma torneira posicionada no meio do fermentador. As amostras foram analisadas através do método turbidimétrico, com o espectrofotômetro (NOVA – ABBE REFRACTOMETER) a 610nm. Como branco foi utilizado apenas o mosto sem a adição das leveduras, separado previamente e mantido em uma temperatura de aproximadamente 0°C para evitar contaminação. Para a obtenção da curva padrão foram submetidas a centrifugação (1020 g, rotor 12436, Centrífuga MPW-350, USA), em 8000 RPM por 6 min das amostras coletadas, descartado o sobrenadante e o resíduo suspenso com soro a 0,9 % NaCl, sendo realizada cinco diluições seriadas de 1:1, para posterior leitura em espectrofotômetro a 610 nm. Foi utilizado como branco apenas o soro a 0,9% NaCl.

CONCENTRAÇÃO DO SUBSTRATO

Foram coletadas amostras a cada 4h até serem completadas aproximadamente 90 h de fermentação, todas em triplicata. As medições foram realizadas utilizando-se um refratômetro previamente calibrado, e os resultados foram expressos em °Brix escala numérica de refração utilizada para determinar a concentração de sólidos solúveis da amostra analisada (IAL, 2008).

As medidas realizadas no refratômetro refletem a medida do extrato real, ou seja, são os sólidos solúveis mais o álcool etílico, sendo necessária posterior correção da leitura. Estes resultados podem ser convertidos em densidade específica (SG), expressos em g/cm³, através da equação 1.

$$SG=1,000019+SS(0,003878634261280) , \quad (1)$$

onde SS= sólidos solúveis medidos em °Brix (Sparre's Brewery, 2017).

Para a medida da porcentagem de atenuação aparente foi utilizada a equação 2

$$(\% \text{ de atenuação}) = \frac{(OG-FG)}{(OG-1)} \times 100 , \quad (2)$$

onde OG é a densidade original do mosto antes da fermentação e FG é a densidade da cerveja após a fermentação (White; Zainasheff, 2010).

pH

Foram coletadas amostras a cada 4 h até que se completassem aproximadamente 90 h de fermentação. Foi obtido por medição direta com uso de pHmetro de bancada, calibrada com solução tampão de pH 4,0 e 7,0 (IAL, 2008).

DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA

A determinação da biomassa foi feita pelo método do peso seco. O peso seco consiste em utilizar um microtubo de massa conhecida e adicionar 2 mL do caldo fermentado. O microtubo foi submetido à centrifugação (10000 rpm por 10 minutos). Ao final da centrifugação, o sobrenadante foi descartado. O sedimento foi pesado e levado à estufa (OLIDEF-CZ) a 85 °C por 24h. Em seguida, o sedimento livre de umidade foi pesado. O procedimento foi realizado em triplicata. O peso seco foi determinado de acordo com a equação 3 (Lima, 2001).

$$PS \text{ (g/mL)} = \frac{(\text{massa do microtubo} + \text{sedimento livre de umidade}) - \text{massa do microtubo}}{\text{volume da amostra}} \quad (3)$$

sendo PS = peso seco

CONTAGEM E VIABILIDADE CELULAR

A contagem do número de células totais e viáveis, além da viabilidade celular foram realizadas por contagem em hemocitômetro na configuração de Neubauer, utilizando-se coloração diferencial das células pela solução de azul de metileno (0,1%), e analisado em microscópio binocular (Tecnal- Coleman, modelo NI07), com aumento final de 400 X. A contagem de células foi realizada no inóculo, a cada 24 h durante a fermentação e na cerveja pronta (White; Zainasheff, 2010). O cálculo da viabilidade é realizado segundo a equação 4, Para o cálculo de células totais/mL é utilizada a equação 5 e para o cálculo do valor de células viáveis/mL se utiliza a equação 6.

$$\text{Viabilidade (\%)} = \frac{(\text{n}^\circ \text{ total de células} - \text{n}^\circ \text{ células mortas})}{(\text{n}^\circ \text{ total de células}) \times 100} \quad (4)$$

$$\frac{\text{células}}{\text{mL}} = n^{\circ} \text{ de cél contadas} \times 5 \times \text{Fator de diluição} \times 10^4 \quad (5)$$

$$\frac{\text{células}}{\text{mL}} = n^{\circ} \text{ de cél Viáveis} \times 5 \times \text{Fator de diluição} \times 10^4 \quad (6)$$

TESTE LIMITE DE ATENUAÇÃO

Com o mosto já pronto para fermentação foi retirada uma amostra de uma forma asséptica (200 mL), adicionados a 10g (aproximadamente 100 bilhões de células) da levedura *S. boulardii* e deixado em agitação magnética por 24 horas. Visando atingir sua atenuação máxima do mosto. O resultado é expresso em FG (densidade final). O teste serve para saber o nível máximo de atenuação de uma levedura em determinado mosto (White; Zainasheff, 2010).

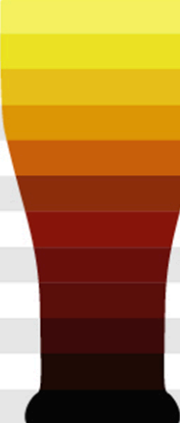
DETERMINAÇÃO DA COR

Foi determinado segundo o método 9.6 da European Brewery Convention – EBC (2010), obtendo os resultados em EBC (Figura 1). Foi coletada uma amostra de aproximadamente 10 ml em triplicata da cerveja em temperatura ambiente e foi realizada a decarbonatação utilizando o ultrassom por 20 min. Após a decarbonatação as amostras foram centrifugadas, por 10 min a 8.000 RPM e encaminhadas ao espectrofotômetro (NOVA – ABBE REFRACTOMETER) onde foram medidas a 430 nm e o branco sendo água destilada. Com o resultado da absorbância colocamos os valores na equação 7 para obter o resultado em EBC.

$$EBC = (Abs \ 430 \ nm \times 12,7 \times d), \quad (7)$$

sendo d = 1 para as cervejas sem diluição.

Figura 1. Diagrama de cores para classificação dos tipos de cerveja

MACRO DIVISÃO	SRM	TONALIDADE	EBC	CLASSIF.
Palha	2 – 3		3,94 – 5,91	Cerveja Clara até 20 EBC
Amarelo	3 – 4		5,91 – 7,88	
Ouro	4 – 5		7,88 – 9,85	
Âmbar	6 – 9		11,82 – 17,73	
Profundo âmbar / cobre luz	10 – 14		19,70 – 27,58	
Cobre	14 – 17		27,58 – 33,49	Cerveja Escura ≥ 20 EBC
Profundo cobre/castanho claro	17 – 18		33,49 – 35,46	
Castanho	19 – 22		37,43 – 43,34	
Castanho Escuro	22 – 30		43,34 – 59,10	
Castanho muito escuro	30 – 35		59,10 – 68,95	
Preto	35 +		68,95 – 78,80	
Preto opaco	40+		>78,80	

Fonte: Adaptado do BJCP, 2015

DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS

Para determinação dos açúcares redutores utilizou-se o método DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico) descrito por Santos (2007) e que está de acordo com o protocolo da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Agroindústria Tropical. Essa metodologia consiste na redução do ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, em que há a oxidação do grupo aldeído do açúcar a grupo ácido carboxílico. O reagente DNS possui uma cor amarelada, após o aquecimento, torna-se avermelhado de acordo com a concentração de açúcares redutores presente na solução, o que permite sua leitura em espectrofotômetro a 540nm.

O teste foi realizado em triplicata. Pesou-se 0,5 g da cerveja e foi realizada uma diluição de acordo com o °Brix da cerveja, seguindo a Equação 8.

$$\frac{0,5\text{ml} \times (\text{Valor do } ^\circ\text{Brix} - 0,1)}{0,1} \quad , \quad (8)$$

O resultado é a quantidade de água destilada em mL a ser utilizada para a diluição. Transferiu-se 1 mL desta diluição para um tubo de ensaio, juntamente com 1 mL de ácido clorídrico (HCl) à 1M e foi colocado em fervura por cinco minutos, depois foi adicionado

3mL de NaOH 1M e retirado uma alíquota de 1mL dessa solução, colocada em outro tudo de ensaio e adicionado 1 mL de DNS. Submeteu-se o tubo a 5 min em banho quente e resfriado em banho de gelo. Após o resfriamento foi adicionado 4 mL de água e com esta solução, realizou-se leitura em espectrofotômetro (NOVA – ABBE REFRACTOMETER) a 540 nm. Para o preparo do branco, no lugar de 0,5 mL da amostra, colocou-se 0,5 mL de água.

TEOR ALCOÓLICO

O ebuliômetro foi utilizado para quantificar o teor de álcool em soluções mistas álcool-água, por meio da diferença entre as temperaturas de ebulição da água pura e da solução. Baseado nessa comparação foi possível determinar o percentual de álcool (v/v), com o auxílio de uma régua referencial (Costa, 2010).

O equipamento conta com um condensador acoplado, assim como um termômetro para a medição da temperatura. Em seguida o pavio da lamparina foi aceso e aguardou-se entre 3 e 5 minutos para que a temperatura ficasse estabilizada. Anotou-se a temperatura e com o auxílio da régua de correção foi determinado o teor alcoólico do fermentado. Ao término de cada leitura, o termômetro foi removido e o ebuliômetro foi lavado com água destilada.

DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS

Os parâmetros cinéticos analisados foram a velocidade específica de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$), produtividade em células (P_x).

A velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) foi estimada pelo método de detecção da fase de crescimento exponencial.

A produtividade em células e o fator de conversão de substrato em células foram determinados pelas Equações 9 (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

$$P_x = \frac{X_{\text{máx}} - X_0}{t_f} \quad (9)$$

Onde:

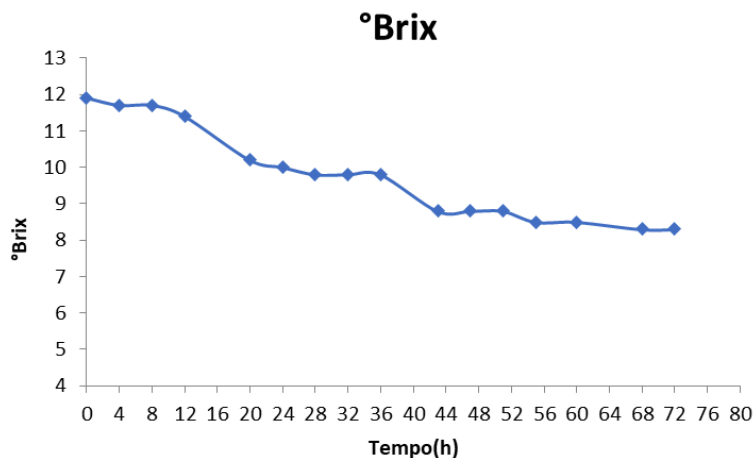
$X_{\text{máx}}$ – Concentração máxima de células [g.L⁻¹]; X_0 – Concentração inicial de células [g.L⁻¹]; t_f – tempo final de fermentação [h]; YX/S – Fator de conversão de substrato em células [g.gx⁻¹]; S_0 – Concentração inicial de substrato [g.L⁻¹]; S – Concentração final de substrato [g.L⁻¹]; P_x – produtividade em células [g.L⁻¹.h⁻¹].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO PILOTO

Inicialmente, foi utilizado o extrato de malte comercial, por teoricamente ser um extrato mais límpido, e gerar uma maior uniformidade para o experimento, além de posterior padronização. O extrato de malte utilizado foi da empresa Coopers (*light* claro, sem lúpulo). No primeiro teste de fervura, observou-se a presença de precipitados, que foram removidos após o resfriamento. Após a preparação do inóculo, todo conteúdo foi adicionado ao extrato de malte, mantido a uma temperatura de 22°C, onde continha $5,65 \times 10^8$ células/mL, com uma concentração inicial de 11,9 °Brix. Foram realizadas coletas para a verificação do consumo de extrato ao longo de 72h de fermentação e observou-se que a cerveja parou de atenuar em 8,3 °Brix, ou seja, o processo fermentativo não se completou. Na Figura 2 estão representados os valores obtidos ao longo da análise.

Figura 2. Consumo do substrato (°Brix) pelo tempo de fermentação no primeiro experimento piloto



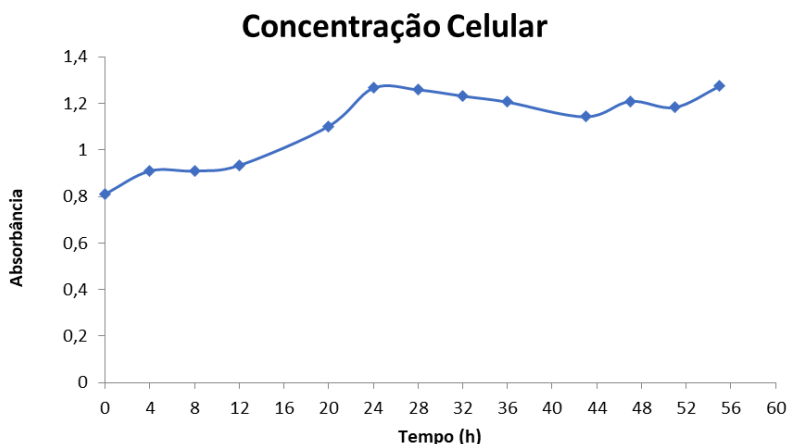
Fonte: (Autores)

Como a levedura usada tinha atenuado o mosto em testes prévios, acreditou-se que o motivo pelo qual a cerveja não atenuou tenha sido o extrato de malte utilizado para a fermentação. Foi realizado o teste limite de fermentação e o valor da leitura da densidade após 24 horas foi de $1,033 \text{ g/cm}^3$ (8,25 °Brix), mostrando que este extrato possui baixa fermentabilidade.

Optou-se por um segundo experimento piloto, substituindo o extrato de malte pelo mosto cervejeiro que foi produzido e filtrado de acordo com descrito na metodologia, de densidade $1,038 \text{ g/cm}^3$ que manteve a limpidez necessária para a realização das análises fermentativas e, após o teste limite fermentação, apresentou o valor de densidade de $1,009 \text{ g/cm}^3$, após 24 horas.

Após a inoculação do fermento, uma contagem de células foi realizada no tempo zero. Foi inoculado 450 bilhões de células viáveis, o que é maior do que o esperado (50 bilhões). Na Figura 3, pode observar o gráfico de concentração celular feito com os valores de absorbância. Devido ao número de células inoculadas, foi decidido realizar um novo experimento onde foi realizado o cálculo da taxa de inóculo, antes de introduzir o fermento no mosto, pra obter uma estimativa do número de células produzidas ao final da propagação da levedura, visando inocular a quantidade ideal (50 bilhões de células ou 1,80 milhões de células/mL/°P) para a quantidade de cerveja a ser produzida (3 litros).

Figura 3. Gráfico de absorbância por tempo do processo fermentativo no segundo experimento piloto.



Fonte: (Autores)

Os experimentos pilotos foram realizados a fim de ajustar as melhores condições para o processo fermentativo, devido ao fato da levedura *S. bouldardii* não ser uma levedura cervejeira.

TERCEIRO EXPERIMENTO

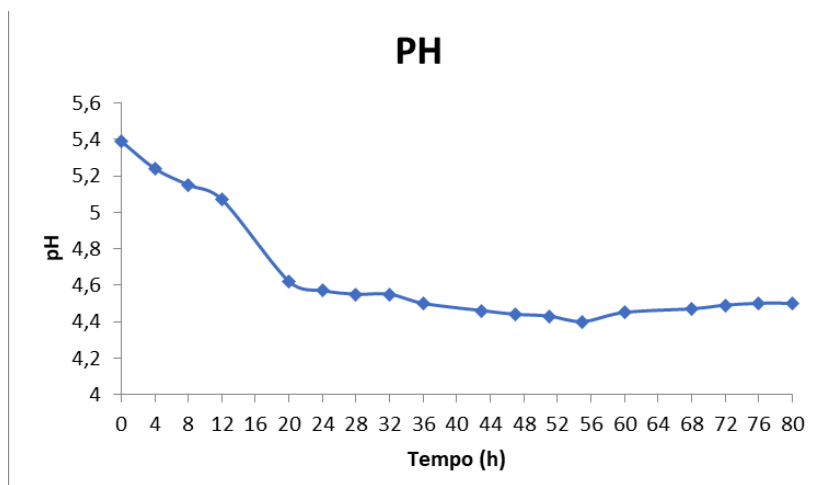
O mosto cervejeiro utilizado foi o mesmo do segundo experimento piloto (9,3 °Brix), mas antes de inocular a levedura no mosto, foi realizada a contagem de células e cálculo de viabilidade do inóculo propagado. Foi coletado do recipiente de propagação um volume suficiente para que haja 50 bilhões de células no fermentador, para 3 litros de mosto (White; Zainasheff, 2010). Os resultados da redução do pH para o experimento final estão apresentados na Figura 4.

Pode-se observar na figura 4 que a *Saccharomyces bouldardii* se comporta de forma semelhante as leveduras cervejeiras tradicionais, *Saccharomyces cerevisiae* ou *Saccharomyces pastorianus*, como observado nos experimentos de Barreto (2017). Ainda que, o pH 4,5 é similar ao das cervejas comerciais (Barreto, 2017).

No início da fermentação o pH foi de 5,4 e, no decorrer do processo fermentativo, ele diminuiu exponencialmente até atingir o valor de 4,5 em 36 horas de fermentação, e permaneceu nesta faixa (4,4-4,5) até o final do processo. Logo, durante a fermentação o pH diminuiu em uma unidade. Segundo Aquarone *et al.* (2001), com o aumento da concentração de CO₂, bem como com a produção de ácidos orgânicos, na fase anaeróbica do metabolismo das leveduras, é comum e esperado haver diminuição dos valores de pH.

Alguns autores sugerem que a superexpressão de genes relacionados à síntese de proteínas e respostas a estresses bióticos, poderiam contribuir para o aumento da taxa de crescimento e melhor sobrevivência de *S. bouldardii* ao pH ácido. (Edwards-Ingram *et al.* 2007).

Figura 4. Gráfico pH pelo tempo de fermentação



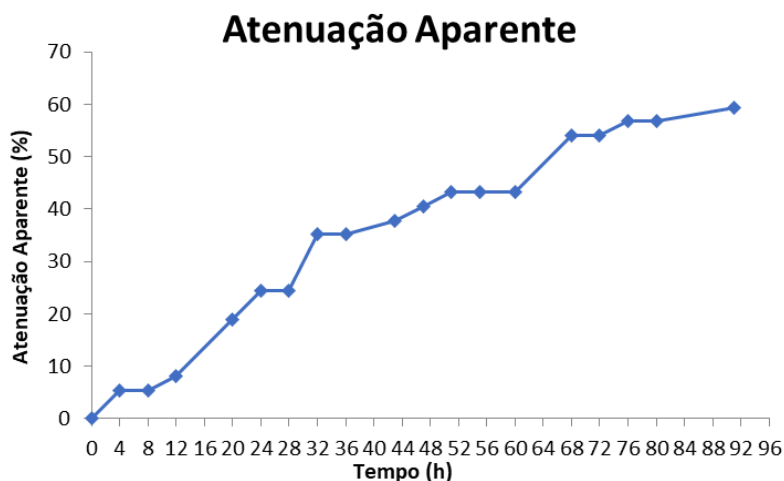
Fonte: (Autores)

Segundo a Fermentis (2017) a levedura cervejeira *S. cerevisiae* se comporta de forma exponencial em relação a porcentagem de atenuação. No entanto, a *S. boulardii* demonstrou um comportamento próximo da linearidade, que pode ser explicado pela falta de adaptação da levedura com o mosto cervejeiro. Logo, foi observado que para *S. boulardii*, a curva de atenuação aparente (Figura 5), não apresentou comportamento exponencial característico de leveduras adaptadas ao processo fermentativo.

Às 96 horas de fermentação, a atenuação aparente registrada foi de 59 %, os sólidos solúveis foi de 3.8 °Brix (1,015 g/cm³). Após este momento, os sólidos solúveis medidos permaneceram constantes até o envase. O limite máximo de atenuação da *S. boulardii* neste mosto é de 1,009 g/cm³, o que daria uma atenuação máxima de 76 %, mostrando que, nas condições avaliadas na fermentação, essa levedura pode se enquadrar na categoria de baixa atenuação (White; Zainasheff, 2010).

Para confirmação dessa capacidade atenuativa, faz-se necessário realizar novos experimentos em temperaturas maiores (21-24 °C) e com densidades originais maiores (1,050-1,060 g/cm³). Esses resultados sugerem que *S. boulardii*, apesar de possuir uma atenuação mais linear, apresentou uma boa capacidade fermentativa, nas condições testadas.

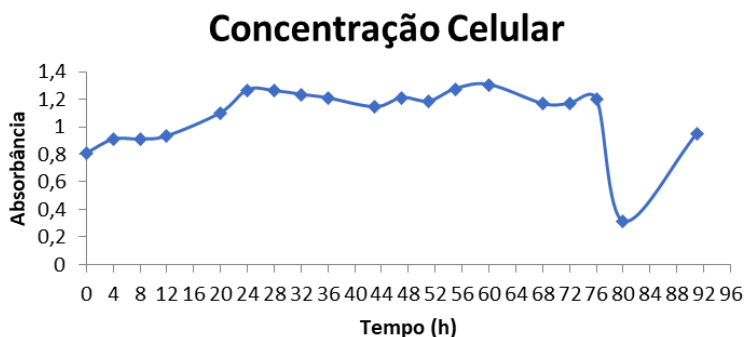
Figura 5. Gráfico da porcentagem de atenuação aparente por tempo de fermentação.



Fonte: (Autores)

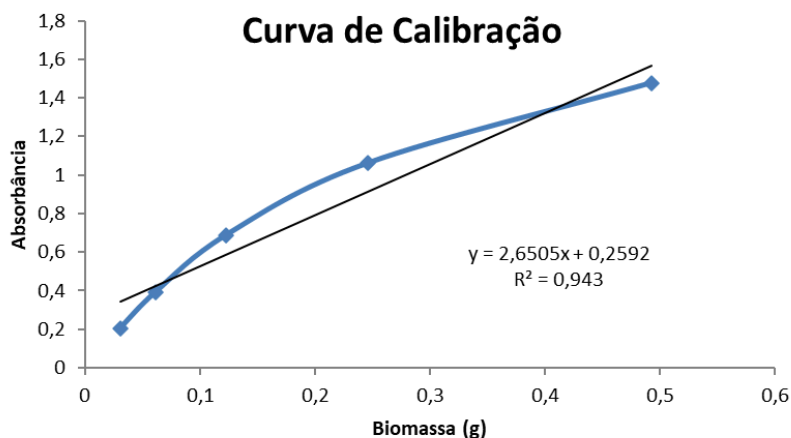
Pode-se observar na Figura 7 a curva de calibração da diluição do ponto 28 da Figura 6. Selecionou-se este ponto, pois é o momento de maior concentração ao longo do processo fermentativo. A amostra foi diluída em série, cinco vezes, com proporção de 1:1. Após as diluições, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro e foi realizado um gráfico de absorbância X (fatores de diluição). Em seguida, conhecendo os valores de absorbância, o maior resultado dessa diluição foi correlacionado com a maior massa do processo fermentativo, adquirido pela análise do peso seco (Tabela 2).

Figura 6. Gráfico da concentração celular pelo método da absorbância pelo tempo de fermentação



Fonte: (Autores)

Figura 7. Curva de calibração relacionando a maior absorbância do processo fermentativo com sua biomassa



Fonte: (Autores)

Com a correlação entre absorbância e biomassa, foi obtida a equação da reta (Figura 7), a fim de converter valores de

absorbância em valores em gramas com um grau de confiabilidade de 94%. Com a equação da reta conhecida, o gráfico da Figura 8 foi construído, comparando a biomassa celular com o consumo de substrato em °Brix no decorrer do tempo de fermentação.

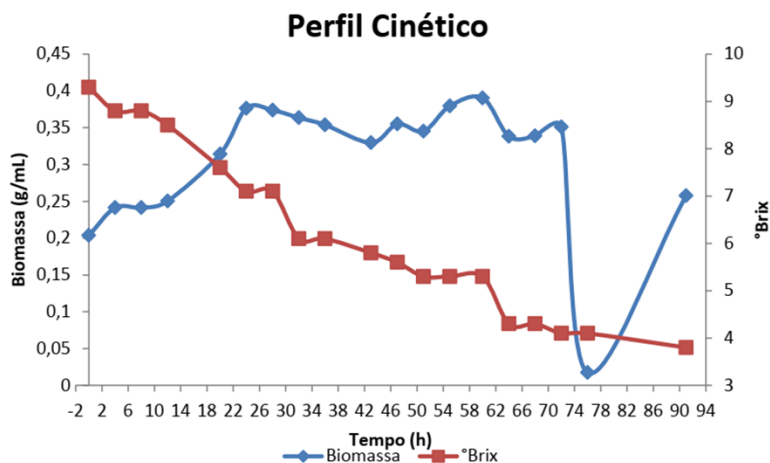
Ao comparar os resultados de *S. boulardii* observados na Figura 8 com a *S. cerevisiae* da Fermentis® (cepa S-04) realizado por Fernandes (2017) (Figura 9). Pode-se observar que a levedura comercial S-04 iniciou seu processo de floculação às 32 horas após o início da fermentação. *S. boulardi*, apenas inicia o processo nas últimas horas de análise, após 72 horas, mostrando que a levedura S-04 inicia seu processo de floculação antes do que *S. boulardii*.

Tabela 2. Valores das análises de peso seco em pontos específicos durante a fermentação.

Peso seco (g/mL)	
Ponto 28	0,49285
Ponto 32	0,46480
Ponto 36	0,45415
Ponto 43	0,46040
Ponto 47	0,45465
Ponto 51	0,45780

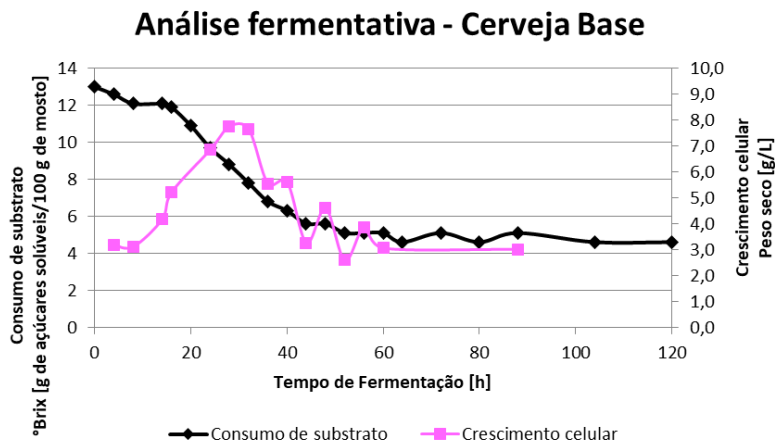
Fonte: (Autores)

Figura 8. Correlação desenvolvida através da equação da reta, entre o valor da biomassa e o consumo de substrato ao longo do processo fermentativo.



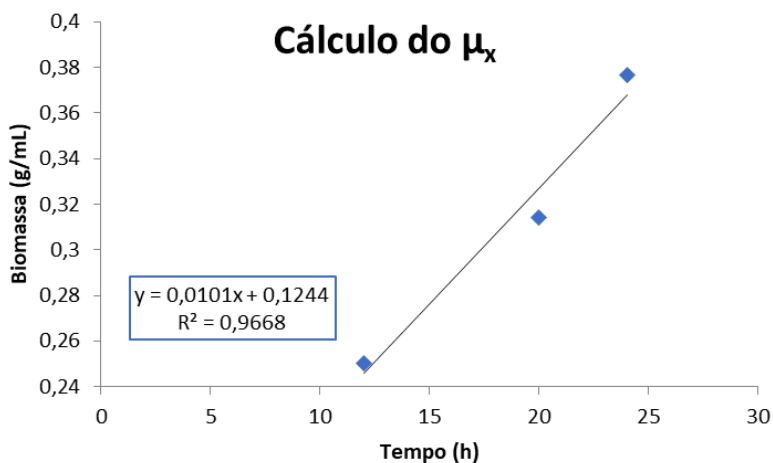
Fonte: (Autores)

Figura 9. Correlação desenvolvida por Fernandes (2017).



Ao ser calculado a tangente das fases crescentes da curva, obteve-se a equação da reta, onde o coeficiente angular corresponde a velocidade específica de crescimento (Figura 10). Logo, a fase que melhor representa o crescimento é das 12h às 24h, totalizando 3 pontos.

Figura 10. Linha de tendência linear para obtenção do μ_{\max} (velocidade específica de crescimento celular), para fase mais próxima da exponencial do experimento.

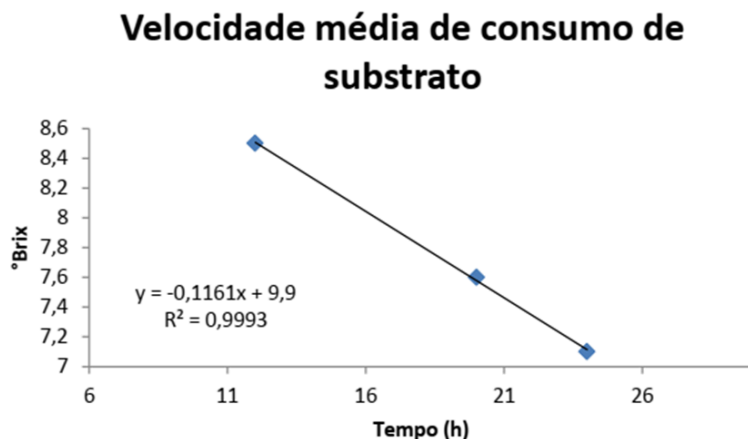


Fonte: (Autores)

O μ_{\max} é o coeficiente angular da reta, ou seja, $\mu_x = 0,0101 \text{ h}^{-1}$. Quando comparado com Fernandes (2017), pode-se observar que o resultado da velocidade específica de crescimento obtido com *S. bouldarii* foi menor do que a obtida com *S. cerevisiae* (S-04, Fermentis®) ($\mu_{\max} = 0,2352 \text{ h}^{-1}$), ou seja, *S. bouldarii* tem um crescimento mais lento.

O coeficiente angular da reta da Figura 11 equivale ao valor da velocidade média de consumo de substrato (V_m), ou seja, $V_m = 0,1161 \text{ g/L.h}$. Comparado com os dados de Fernandes (2017), obteve-se o seguinte resultado: $V_m = 0,2889 \text{ g/L.h}$. A fermentação de *S. bouldarii* é mais lenta em relação ao consumo de substrato do que *S. cerevisiae* (S-04- Fermentis®).

Figura 11. Linha de tendência linear para a obtenção da velocidade média de consumo de substrato (V_m).



Fonte: (Autores)

Na Tabela 3 podemos observar o valor da produtividade em células e os valores dos fatores de conversão de *S. boulardii* no processo fermentativo.

Tabela 3. Valores do fator de conversão de substrato em células ($Y_{x/s}$) e produtividade em células (P_x)

Parâmetro	Unidade	Resultados
$Y_{x/s}$	g_x/g_s	0,19548
P_x	$g.L^{-1}.h^{-1}$	0,02050

Fonte: (Autores)

O resultado obtido para a análise de produtividade em células com a *S. boulardii* foi de $0,02050 \text{ g.L}^{-1}.h^{-1}$, quando compara-se esse valor com o obtido por Fernandes (2017), ao analisar a *S. cerevisiae* S-04 produzida pela Fermentis® ($P_x = 0,0875 \text{ g.L}^{-1}.h^{-1}$), observa-se que a *S. boulardii* teve uma menor produtividade em biomassa, que pode ter sido proveniente da diferença de temperatura de fermentação. Fernandes (2017) fermentou a *S. cerevisiae* à 22°C e a *S. boulardii* fermentou à 19°C .

Em Malta (2006), foram calculados o valor de conversão do

substrato em células em quatro diferentes ensaios com *S. cerevisiae*. Os valores obtidos foram 0,07 g/g; 0,10 g/g; 0,22 g/g; 0,36 g/g. Os resultados obtidos com a *S. boulardii* estão de acordo com os obtidos por Malta (2006).

Na figura 6, pode ser observado um ponto discrepante na curva 80 horas, o que não é observado durante os demais horários de análise. O erro no resultado às 80 h, pode ter ocorrido devido a problemas técnicos na UFPB no momento da análise, por queda de energia.

A fermentação pode ser dividida em três etapas. A primeira etapa é a de latência, caracterizada pelo pouco crescimento celular, como observado na Figura 6 nas primeiras 6 primeiras horas de fermentação. Na segunda fase as células entram em crescimento exponencial, onde há o maior consumo de açúcar e a produção de etanol. Na Figura 6, pode-se observar esse crescimento durante as primeiras 24 horas de fermentação, onde chega ao máximo o valor da absorbância.

Após esses valores, o número total de células nas amostras chega à etapa estacionária das células para a fermentação. Isso pode ser observado durante as demais horas do processo de fermentação, onde o valor da absorbância se mostra constante até chegar ao último ponto, às 91 horas, que evidencia o processo de floculação, já que o valor da absorbância ($A = 0,952$) é próximo ao final de estágio de latência ($A = 0,933$, 12 h). Este processo é irreversível e faz com que algumas células de leveduras se juntem formando agregados (Guido *et al.*, 2004). Segundo Dequin (2001), para a produção de cerveja, a floculação é importante para a obtenção de um produto límpido e de bom aroma.

A eficiência da fermentação e o perfil da qualidade do produto final estão intimamente ligados à quantidade e a saúde da levedura utilizada (Briggs *et al.*, 2004). Portanto, avaliar e prever a viabilidade celular, bem como o desempenho da levedura durante a fase de fermentação é um requisito importante no processo produtivo (Carvalho *et al.*, 2008).

Pode-se observar na Tabela 4 as concentrações celulares durante os primeiros dias de fermentação, apresentando o valor máximo de células 6×10^7 células/mL, com 86% de viabilidade, no terceiro dia de fermentação. Após essa fase as células começaram a flocular, diminuindo a quantidade e viabilidade, diminuindo o consumo de extrato.

Tabela 4. Quantidade e viabilidade das células de leveduras de *Saccharomyces boulardii*, nos dias de fermentação (1-4) e na cerveja pronta depois de engarrafada e pronta para consumo.

	Nº total de células/ mL	Viabilidade (%)
Dia 1	1,09 x 10 ⁷	71%
Dia 2	3,85 x 10 ⁷	53%
Dia 3	6 x 10 ⁷	89%
Dia 4	3,65 x 10 ⁷	62%
Cerveja engarrafada ¹	1,72 x 10 ⁷	86%

¹ A análise foi realizada 15 dias após o envase. **Fonte:** (Autores)

Na Tabela 4 também pode-se observar que, mesmo após o envase, as células de *S. boulardii* continuaram viáveis, indicando que a cerveja possui células viáveis suficientes para apresentar propriedades probióticas. A ANVISA determina que para um alimento ser probiótico ele precisa ter um número mínimo de 10⁸ a 10⁹ unidades formadoras de colônias (UFC) (Brasil, 2008).

Levando em consideração que uma cápsula do medicamento Floratil® liofilizado contém 10⁹ células viáveis, seriam necessários 67,6 mL da cerveja para equivaler a esta mesma quantidade de células.

As cervejas foram submetidas às análises físico-químicas, após engarrafamento, todas em triplicata e as médias dos resultados estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados das análises físico-químicas realizadas na cerveja engarrafada.

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	
Determinação de cor (EBC)	9,15 ± 0,0105
Teor Alcoólico (ABV)	4,5 % ± 0,1527
Açúcares Redutores (g/L)	7,76 ± 0,0025
Sólidos solúveis (°Brix)	2,8

Fonte: (Autores)

O resultado para determinação de cor da cerveja engarrafada foi de 9,15 EBC. Na Tabela de cores (Figura 1), equivale à tonalidade ouro, uma cerveja clara. Esse resultado pode se enquadrar em alguns estilos tipo *ale* apresentadas no BJCP (*Beer Judge Certification Program*) (Strong; England, 2015). A análise de teor alcoólico pelo ebuliômetro apontou para um teor alcoólico de 4,5 % ABV. Esse valor diverge do resultado teórico calculado, que seria 3,4% ABV (Smith, 2017).

Segundo Goiana (2016), nos experimentos analisando cinco tipos de cervejas artesanais do Ceará, fermentadas com *S. cerevisiae*, os autores observaram que uma das marcas analisadas obteve o resultado de 7,3 g/L de açúcares redutores, sendo semelhante ao resultado obtido neste trabalho. Já quando comparamos o resultado obtido com Fernandes (2017), observa-se uma grande diferença no valor obtido (21,5 g/L). Essa diferença pode ser atribuída à adição de acerola na cerveja analisada por Fernandes (2017), aumentando, assim os açúcares redutores.

A cerveja produzida com *S. boulardii* é viável do ponto de vista fermentativo, nas condições utilizadas neste trabalho. A fermentação apresentou uma boa descrição das fases, mostrando que a floculação é mais lenta que algumas cepas comerciais, característica essa que faz com que seja comparada a uma cepa *S. cerevisiae* que fermenta o estilo alemão “Weissbier”, uma cerveja cuja levedura é de baixa floculação.

Com relação à atenuação, apesar de considerada baixa, faz-se necessário um experimento com um mosto de densidade original (OG) maior e temperaturas de fermentação maiores, para melhor análise. A cerveja produzida é uma cerveja de baixo teor alcoólico e

que apresentou um bom número de células viáveis na garrafa, podendo ser futuramente avaliada quanto ao potencial probiótico. É necessário também realizar testes sensoriais de aceitação, mas, do ponto de vista geral, a cerveja feita com *S. boulardii* não apresentou *off flavors* e possui características de leve presença de fenólicos, levemente frutada, semelhante a uma cerveja “Weissbier”, com características próprias.

CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi possível observar que *S. boulardii*, apesar de não ser uma levedura tradicionalmente utilizada na produção de cerveja, apresentou um bom comportamento cinético quando colocada em condições de fermentação cervejeira, produzindo uma cerveja de qualidade.

A levedura demonstrou um bom delineamento das etapas de fermentação nas primeiras 96 horas analisadas, evidenciando essas fases de forma clara, com uma floculação mais lenta, mas eminente. Observou-se uma fermentação um pouco mais lenta em comparação com leveduras cervejeiras usuais, porém constante,, atenuando 59 % do mosto ao final de 96 h. Os demais parâmetros, como o valor de pH (4,5), teor alcoólico (4,5 % ABV) e coloração (9,15 EBC) apresentaram valores similares aos resultados obtidos com *S. cerevisiae*.

Constatou-se também que a levedura, mesmo após o envase, apresentou uma concentração de um 1 bilhão de células viáveis por 68 mL de cerveja, indicando um possível potencial probiótico da cerveja, embora sejam necessários novos testes para comprovar esse potencial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotechnologia na produção de alimentos**. Vol. 4. São Paulo: Editora Blücher, 2001. 523 p.

BARRETO, M. C.; OLIVEIRA, H. G. D. Monitoramento das propriedades físico-químicas de cerveja artesanal. In: **57º Congresso Brasileiro de Química**, Gramado/RS, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos produtos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. IX – Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**. Julho de 2008.

BRIGGS, D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. **Brewing: Science and Practice**. Cambridge: CRC Press, 2004.

CARVALHO, G. B. M.; SILVA, D. P.; BENTO, C. V.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; FELIPE, M. G. A.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Banana as adjunct in beer production: Applicability and performance of fermentative parameters. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 155, p. 53-62, 2008.

COSTA, M. R. **Estudo comparativo das hidrolises ácidas e enzimas de matérias-primas amiláceas visando a obtenção de etanol**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas.

CZERUCKA, D.; PICHE, T.; RAMPAL, P. Review Article – Yeast as probiotics – *Saccharomyces boulardii*. **Aliment Pharmacol Ther**, 2007.

DEQUIN, S. The potential of genetic engineering for improving brewing, winemaking and baking yeasts. **Applied Microbiology Biotechnology**, 2001.

EDWARDS-INGRAM, L.; GITSHAM, P.; BURTON, N.; WARHURST, G.; CLARKE, I.; HOYLE, D.; OLIVER, S. G.; STATEVA, L. Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Environmental Microbiology**, 2007.

FERMENTIS. **Tips and tricks Active dry yeast and fermentation explained to brewers**. Disponível em:

https://fermentis.ovh/wpcontent/uploads/2017/09/Brochure_Tips_and_Tricks_GB_web_planche-bd.pdf. Acesso em: 13 nov. 2017.

FERNANDES, L. M. **Produção sensorial de cervejas com acerola (*Malpighia emarginata* DC)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.

GOIANA, M. *et al.* Análises físico-químicas de cervejas artesanais pale ale comercializadas em Fortaleza, Ceará. In: **XXV Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Gramado/RS, outubro 2016.

GUIDO, L. F.; RODRIGUES, P. G.; RODRIGUES, J. A.; GONCALVES, C. R.; BARROS, A. A. **Food Chemistry**, 2004.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008.

KEGELE, F. C. O. *et al.* *Saccharomyces boulardii*: novas perspectivas para a terapia em diarreia aguda. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=4243. Acesso em: 01 nov. 2017.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotechnology Industrial: Fundamentos**. v.1. São Paulo: Edgard Blücher, 1. ed., 2001. 254 p.

MALTA, H. L. **Estudo de parâmetros de propagação de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*) para produção de cachaça de alambique**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.

MORADO, R. **Larousse da cerveja**. 1. ed. São Paulo: Lafonte, 2009.

OLIVEIRA, N. A. M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. Monografia (Pós-Graduação em Microbiologia) Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.

SANTOS, S. F. M. **Estudo da produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato**. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN.

SPARRE'S BREWERY. Plato, SG and Brix conversion formulas. Disponível em: <https://biohazardbrewery.wordpress.com/brewing-links/brewerymath/plato-sg-brix-conversion-formulas/>. Acesso em: 12 nov. 2017.

SMITH, B. J. **BeerSmith Home Brewing Software, Recipes, Forum, Blog, Podcast and More**. Disponível em: <http://beersmith.com/>. Acesso em: 05 maio 2017.

STRONG, G.; ENGLAND, K. **Beer Judge Certification Program: 2015 style guidelines**. Disponível em: https://www.bjcp.org/docs/2015_Guidelines_Beer.pdf. Acesso em: 06 out. 2018.

THE BEER TIMES. Louis Pasteur e Emil Christian Hansen, os médicos da cerveja. 2016. Disponível em: <https://www.thebeertimes.com/2016/10/30/louis-pasteur-y-emil-christian-hansen-los-doctores-de-la-cerveza/>. Acesso em: 10 nov. 2017.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **YEAST: The practical guide to beer fermentation**. Colorado: Brewers Publication, 2010.

