



INSTITUTO FEDERAL

Sertão Pernambucano

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SERTÃO
PERNAMBUCANO

COORDENAÇÃO DO CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

Robson Pierre Naboia

**DESENVOLVIMENTO DE FILME BIOPOLIMÉRICO COM ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA CONTRA *Weissella viridescens***

Salgueiro

2025

ROBSON PIERRE NABOA

**DESENVOLVIMENTO DE FILME BIOPOLIMÉRICO COM ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA CONTRA *Weissella viridescens***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, campus Salgueiro, como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Araújo Soares

Salgueiro

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

N113 Nabôa, Robson Pierre.

Desenvolvimento de filme biopolimérico com atividade antibacteriana contra *Weissella viridescens* / Robson Pierre Nabôa. - Salgueiro, 2025.
50 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) -Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Campus Salgueiro, 2025.
Orientação: Prof. Dr. Rodrigo de Araújo Soares.

1. Tecnologia de Alimentos. 2. Bactéria ácido láctica. 3. Segurança alimentar. 4. Conservante alimentar. I. Título.

CDD 664

Robson Pierre Naboia

**DESENVOLVIMENTO DE FILME BIOPOLIMÉRICO COM ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA CONTRA *Weissella viridescens***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, campus Salgueiro, como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Aprovado em: 10/02/2025.

BANCA EXAMINADORA

Rodrigo de Araujo
Soares:06174403602

Assinado digitalmente por Rodrigo de Araujo Soares:06174403602
ND: CN=Rodrigo de Araujo Soares:06174403602, OU=IFSERTAOPE - Instituto Federal do Sertao Pernambucano, O=ICPEdu, C=BR
Razão: 'Eu estou aprovando este documento com minha assinatura de vinculação legal'
Localização: Salgueiro-PE
Data: 2025.02.24 20:00:31-0300'
Foxit PDF Reader Versão: 2024.4.0

Prof. Dr. Rodrigo de Araújo Soares (Orientador)

Documento assinado digitalmente



LUCIANA FACANHA MARQUES
Data: 24/02/2025 20:42:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Luciana Façanha Marques
IF Sertão PE – Campus Salgueiro

Documento assinado digitalmente



GLAUCIA ALVES E SILVA
Data: 24/02/2025 23:09:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Gláucia Alves e Silva
IFMT – Campus Cáceres

Documento assinado digitalmente



VICTOR MAXIMILIANO REIS TEBALDI
Data: 24/02/2025 23:31:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Victor Maximiliano Reis Tebaldi
UBM – Barra Mansa

Dedicatória

A mim, aos meus pais, aos meus amigos e aos meus professores.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sua eterna bondade, misericórdia e seu amor perante a mim.

À minha família, especialmente aos meus pais, José e Maria, por me criarem e me educarem da melhor forma possível, pela dedicação, apoio e amor.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, campus Salgueiro.

Aos professores do IFSERTÃOPE, pela excelente orientação, paciência, pelos ensinamentos e por todos os momentos em sala de aula, nas aulas práticas e nas viagens técnicas. Em especial aos professores Joabis e Francisco das Chagas e as professoras Cristiane, Camilla, Janaíne e Luciana, que com certeza fizeram toda a diferença nessa linda caminhada.

Ao meu querido professor e também orientador Rodrigo de Araújo Soares, que esteve comigo em projetos científicos, sendo essencial para o meu crescimento, me ajudando e orientando, sendo paciente, encorajador e com bastante parceria e resiliência me auxiliou nessa importante etapa da minha vida.

À técnica de laboratório Maria da Conceição, que foi minha supervisora de estágio, me orientou e amparou em todos os momentos em que precisei, grato por sua paciência, apoio e parceria.

Aos amigos e colegas da turma e do curso, que tive o prazer de conhecer, até mesmo aqueles que infelizmente não puderam continuar na graduação, grato pelo companheirismo, pelas risadas e por compartilharem comigo o tempo, a vida e a amizade de vocês, em especial Bruno, Monício, Mikael, Espedita, Tamires, Kayane, Raimundo, Jeferson, Cícera, Maria Emanuely, Eliza, Wanderson, Vanessa, Beatriz, Wedenilson, Alexsandra, Maciele e Majivânio.

Aos meus queridos amigos Amanda, Carla, Rafael, Rodrigo e Vitória, que em momentos difíceis, se fizeram presentes, quando pensei em desistir, em trancar o curso, vocês me abraçaram, me encorajaram a continuar, quantas vezes eu estava destruído por dentro e foram vocês que me apoiaram, me levantaram, e até mesmo sem perceber, seus atos de amizade acabaram me fazendo concluir o curso, nunca esquecerei de vocês.

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente para a conclusão desta graduação.

E por último, mas não menos importante, estou imensamente grato a mim mesmo, por nunca desistir diante das dificuldades e por ter me esforçado para concluir essa linda jornada acadêmica na minha vida.

“Sonhos determinam o que você quer, ação determina o que você conquista.”

(Aldo Novak)

RESUMO

A crescente demanda por alimentos de alta qualidade, e a preocupação da indústria com a resistência de microrganismos deteriorantes têm impulsionado o desenvolvimento de novas embalagens. Carnes e produtos cárneos estão entre os alimentos mais propensos a deterioração microbiana devido às suas características intrínsecas, tais como pH, atividade de água e alto teor de nutrientes. Dentre os microrganismos envolvidos na deterioração, destacam-se as bactérias do grupo ácido láctico (BAL), especialmente a *Weissella viridescens*, que pode causar limo, esverdeamento da superfície *off-flavor* em carnes embaladas a vácuo. Este trabalho teve como objetivos avaliar as concentrações inibitórias mínimas (CIM) *in vitro* de quatro conservantes alimentares contra a *W. viridescens*: nitrito de sódio, metabissulfito de sódio, benzoato de sódio e sorbato de potássio e desenvolver um filme biopolimérico com atividade antimicrobiana contra a *W. viridescens*. Benzoato de sódio e sorbato de potássio foram testados em concentrações de 50.000 a 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto nitrito de sódio e metabissulfito de sódio variaram de 20.000 a 156 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O metabissulfito de sódio apresentou a maior atividade (CIM 313 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), seguido pelo nitrito de sódio (CIM 5.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Benzoato de sódio e sorbato de potássio não apresentaram atividade antimicrobiana nas concentrações testadas. Foram produzidas 11 formulações com diferentes concentrações de albumina e glicerol, todos tendo o conservante alimentar metabissulfito de sódio na concentração de 9.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Foi utilizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) com três repetições no ponto central, sendo analisadas a Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) e o Diâmetro de Halo Inibitório (DHI). Apenas a formulação contendo 39% de glicerol e 3,5 g de albumina apresentou ação antimicrobiana contra a bactéria *W. viridescens*, com DHI médio de 6,55 mm e PVA médio de 1,59 $\text{g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$. Os resultados indicam que a formulação desenvolvida possui potencial para aplicação em embalagens antimicrobianas para carnes, podendo contribuir para a extensão da vida útil do produto.

Palavras-chave: bactéria ácido láctica; segurança alimentar; conservante alimentar.

ABSTRACT

The increasing demand for high-quality food, and the industry's concern with the resistance of deteriorating microorganisms, have driven the development of new packaging. Meats and meat products are among the most prone foods to microbial deterioration due to their intrinsic characteristics, such as pH, water activity and high nutrient content. Among the microorganisms involved in spoilage, lactic acid bacteria (LAB) stand out, especially *Weissella viridescens*, which can cause slime, surface greening and off-flavor in vacuum-packed meats. This work aimed to evaluate the minimum inhibitory concentrations (MIC) *in vitro* of four food preservatives against *W. viridescens*: sodium nitrite, sodium metabisulfite, sodium benzoate and potassium sorbate and to develop a biopolymeric film with antimicrobial activity against *W. viridescens*. Sodium benzoate and potassium sorbate were tested at concentrations from 50,000 to 1,000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, while sodium nitrite and sodium metabisulfite ranged from 20,000 to 156 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Sodium metabisulfite showed the highest activity (MIC 313 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), followed by sodium nitrite (MIC 5,000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Sodium benzoate and potassium sorbate did not show antimicrobial activity at the tested concentrations. Eleven formulations were produced with different concentrations of albumin and glycerol, all containing the food preservative sodium metabisulfite at a concentration of 9,000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. A Central Composite Rotational Design (CCRD) with three replicates at the central point was used, and Water Vapor Permeability (WVP) and Inhibitory Halo Diameter (IHD) were analyzed. Only the formulation containing 39% glycerol and 3.5 g of albumin showed antimicrobial action against the bacterium *W. viridescens*, with an average IHD of 6.55 mm and an average WVP of 1.59 $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$. The results indicate that the developed formulation has potential for application in antimicrobial packaging for meats, and may contribute to extending the shelf life of the product.

Keywords: lactic acid bacteria; food safety; food preservative.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Microtubos contendo meio de congelamento.....	27
Figura 2 – Colônias da <i>W. viridescens</i>	27
Figura 3 – Técnicas de avaliação antimicrobiana: (A) Placa de microtitulação e (B) Estriamento em placas de petri.....	28
Figura 4 – Preparação da solução filmogênica: (A) Homogeneização magnética e (B) Homogeneização ultrassônica.....	30
Figura 5 – Suporte circular contendo a solução filmogênica.....	31
Figura 6 – Preparação das amostras para determinação da Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA): (A) Corpo de prova, (B) Visão superior do recipiente com o corpo de prova, (C) Recipiente de vidro com sílica e corpo de prova, (D) Dessecador com solução saturada de NaCl contendo os recipientes de vidro.....	32
Figura 7 – Medição do halo inibitório.....	33
Figura 8 – Aspecto visual dos filmes biopoliméricos.....	37
Figura 9 – Superfície de resposta para a influência das concentrações de glicerol e albumina na PVA dos filmes.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentrações dos conservantes alimentares testados para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	28
Tabela 2 – Matriz do Delineamento Experimental.....	29
Tabela 3 – Valores médios de Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e Diâmetro de halo inibitório(DHI).....	37
Tabela 4 – Análise de Variância.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	American Society Standard Testing and Materials
BAL	Bactéria Ácido Láctico
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BS	Benzoato de Sódio
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
DHI	Diâmetro de Halo Inibitório
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FDA	Food and Drug Administration
IDA	Ingestão Diária Aceitável
MBS	Metabissulfito de Sódio
MRS	Man, Rogosa e Sharpe
MRSA	Man, Rogosa e Sharpe Agar
MS	Ministério da Saúde
NCCLS	National Committee For Clinical Laboratory Standards
NS	Nitrito de Sódio
pH	Potência de Hidrogênio
PVA	Permeabilidade ao Vapor de Água
SP	Sorbato de Potássio
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TSB	Tryptic Soy Broth
UFC	Unidade Formadora de Colônia
WVTR	Taxa de Transmissão de Vapor de Água

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
%	Porcentagem
®	Marca Registrada
δ	Espessura do filme
ΔP	Diferença de pressão de vapor entre as duas faces do filme
kPa	Quilopascal
W	Unidade de medida de energia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	16
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivos Específicos.....	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1	<i>Weissella viridescens</i>	17
3.2	Conservantes alimentares.....	17
3.2.1	Metabissulfito de sódio.....	18
3.2.2	Benzoato de sódio.....	19
3.2.3	Sorbato de potássio.....	20
3.2.4	Nitrito de sódio.....	21
3.3	Filmes e revestimentos biopoliméricos.....	22
3.4	Albumina.....	23
3.5	Glicerol.....	24
4	METODOLOGIA.....	26
4.1	Compostos antimicrobianos.....	26
4.2	Cultura bacteriana e meios de cultura.....	26
4.3	Manutenção e padronização da cultura bacteriana.....	26
4.4	Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> dos conservantes.....	28
4.5	Elaboração dos filmes de albumina.....	29
4.6	Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA).....	31
4.7	Determinação do Diâmetro do Halo Inibitório (DHI) para avaliação da atividade antimicrobiana do filme.....	33
4.8	Análise estatística.....	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1	Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> dos conservantes.....	35
5.2	Elaboração dos filmes de albumina.....	36
6	CONCLUSÃO.....	41
	REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

Para a indústria alimentícia, a qualidade e segurança dos alimentos é objetivo primordial a ser alcançado, seja qual for o produto elaborado. Assim, técnicas são utilizadas para garantir que o produto tenha alta qualidade e características desejáveis, sejam elas físicas, químicas ou microbiológicas. O uso de aditivos químicos é um dos métodos utilizados para obter tais objetivos, sendo seu uso regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (Brasil, 2020).

Dentre as diversas classes de aditivos alimentares, os conservantes são de extrema importância na garantia e controle da segurança alimentar, uma vez que eles têm a função de inibir total ou parcialmente o crescimento e ação de microrganismos, sejam eles patogênicos ou não (Ferreira *et al.*, 2020). Além disso, têm a capacidade de preservar as características do alimento, sempre respeitando os limites estabelecidos pelas legislações (Souza *et al.*, 2019). Cada conservante age de forma diferente frente aos mais diversos microrganismos e, por isso, a escolha do conservante deve respeitar, concomitantemente, a legislação e ter efetividade contra o microrganismo alvo.

A deterioração de carnes e seus derivados ocorre devido a fatores como pH, atividade de água e alto teor de nutrientes, que favorecem o crescimento microbiano (Teixeira *et al.*, 2021). Em carnes embaladas a vácuo, as bactérias ácido-láticas, especialmente *Weissella viridescens*, representam um problema significativo (Martins *et al.*, 2020). Essas bactérias estão associadas ao esverdeamento da superfície e ao desenvolvimento de off-flavors, resultando na rejeição do produto pelos consumidores (Teixeira *et al.*, 2021). Diante disso, a escolha de embalagens que protejam contra contaminações externas e auxiliem na redução de microrganismos indesejáveis no alimento é essencial.

A indústria de embalagens para alimentos busca constantemente novos materiais que melhorem a qualidade dos produtos e agreguem valor aos consumidores (Domingos *et al.*, 2018). A crescente demanda por alimentos de alta qualidade, aliada à preocupação da indústria com a resistência de microrganismos deteriorantes e patogênicos, impulsiona o desenvolvimento de embalagens inovadoras (Ongaratto; Vital; Prado, 2022). Neste contexto, as embalagens comestíveis, como filmes e revestimentos, vêm ganhando destaque. Elas são produzidas a partir de compostos seguros para o consumo humano, geralmente biopolímeros

como proteínas, carboidratos e lipídios, ou a combinação desses elementos (Costa et al., 2017).

As proteínas são particularmente promissoras na formação de filmes, pois suas estruturas podem ser modificadas para alcançar propriedades desejáveis, além de oferecerem boas barreiras contra lipídios, oxigênio e dióxido de carbono em condições de baixa umidade relativa (Pires & Andretta, 2020). A albumina, proteína presente na clara do ovo, surge como uma alternativa viável para a produção de filmes biopoliméricos de origem animal, devido ao seu baixo custo e potencial aplicação como revestimento comestível (Guérin & Audic, 2007). Além disso, a incorporação de compostos antimicrobianos nesses filmes pode contribuir para a segurança microbiológica, inibindo o crescimento de microrganismos na superfície dos alimentos (Kumar et al., 2022).

Diante disso, este estudo teve como objetivo desenvolver um filme biopolimérico à base de albumina, acrescido de um conservante alimentar, com atividade antimicrobiana contra *Weissella viridescens* e baixa permeabilidade ao vapor de água, visando sua aplicação em produtos cárneos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um filme biopolimérico a base de albumina que tenha ação antimicrobiana contra a bactéria *Weissella viridescens*.

2.2 Objetivos específicos

1. Avaliar as concentrações inibitórias mínimas (CIM) de quatro conservantes alimentares contra a *W. viridescens*: benzoato de sódio, metabissulfito de sódio, nitrito de sódio e sorbato de potássio.
2. Determinar a melhor combinação de albumina e glicerol para a formação de um filme biopolimérico.
3. Analisar a Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) e o Diâmetro de Halo Inibitório (DHI) dos filmes biopoliméricos desenvolvidos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Weissella viridescens*

A *W. viridescens* é uma bactéria do grupo ácido láctico (BAL), pertencente à família Leuconostocaceae, ordem Lactobacillales e classe Bacilli (Martins, 2019). Ela é não patogênica, é gram positiva, não formadora de esporos, catalase negativa e anaeróbia facultativa. São heterofermentativas, produzindo dióxido de carbono, ácido láctico e acético a partir da fermentação de açúcares (Ma *et al.*, 2022). Podem ser encontradas em uma grande variedade de *habitats*, desde a epiderme até na saliva ou fezes de seres humanos (Martins *et al.*, 2020). Essa bactéria possui boa resistência térmica, crescendo na faixa de temperatura de 15 °C a 45 °C, o que resulta em elevada capacidade adaptativa, tornando-se um microrganismo de importância para a indústria de carnes (Kameník *et al.*, 2015).

Bactérias do gênero *Weissella* estão associadas à deterioração de produtos cárneos, causando esverdeamento, *off flavor* e formação de limo (Teixeira *et al.*, 2021), o que leva os consumidores a rejeitarem esses produtos. Sua presença pode resultar em mudanças indesejáveis, como o surgimento de sabores e odores ruins (azedo); produção de gases (CO₂ e H₂); alteração na textura (amolecimento, liquefação) e mudança de cor (esverdeamento) (Marques, 2017). Um produto cárneo contaminado por essa bactéria trará consequências negativas, como a perda da qualidade nutricional e diminuição da vida útil do produto (Marques, 2017).

Para limitar o crescimento desta bactéria, o controle de temperatura e pH são fundamentais (Ramos, 2017), além de práticas de limpeza e manipulação correta de alimentos (Naboa *et al.*, 2023).

3.2 Conservantes alimentares

De acordo com a Portaria nº 540, da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde (MS), aditivo alimentar é “qualquer ingrediente adicionado

intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento” (Brasil, 1997). Vale ressaltar que nenhum método substitui a adoção das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e, por isso, é vetado o uso de aditivos com propósito de encobrir falhas no processamento e/ou manipulação; induzir o consumidor ao erro, engano ou confusão; ou esconder alterações ou adulterações da matéria prima ou do produto elaborado (Brasil, 2020).

Os conservantes alimentares são produtos químicos ou substâncias naturais colocadas nos alimentos para evitar ou atrasar sua degradação, assegurando sua segurança, qualidade e duração. Esses componentes evitam o desenvolvimento de microrganismos (bactérias, fungos filamentosos e leveduras) e reações químicas indesejadas, como oxidação e fermentação (Vincenzi *et al.*, 2021).

Os conservantes são controlados pela ANVISA e podem ser de origem natural ou artificial. Entre os naturais estão o ácido cítrico (frutas cítricas), o ácido tartárico (uvas), o vinagre, o sal e o açúcar. Já os sintéticos incluem o sorbato de potássio, benzoato de sódio, ácido propiônico, nitratos e nitritos, metabissulfito de sódio, entre outros. As principais funções dos conservantes são impedir o crescimento microbiano, evitar a oxidação, regular o pH, estabilizar a cor e textura e aumentar a segurança alimentar. Alguns exemplos de uso dos conservantes em alimentos são as carnes processadas, os produtos lácteos, frutas enlatadas, conservas e alimentos congelados (Silva, 2019).

3.2.1 Metabissulfito de sódio

O metabissulfito de sódio, também conhecido como pirossulfito de sódio, é um aditivo alimentar utilizado para prevenir a degradação e aumentar a durabilidade de alimentos (Aragão *et al.*, 2008). Sua fórmula química é $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, sua aparência é um pó branco ou levemente amarelado, com um cheiro característico de enxofre (Nascimento, 2017). Ele se dissolve muito bem em água, onde forma íons bissulfito, que são responsáveis por suas propriedades químicas. Sensível à umidade e calor, ele se decompõe liberando dióxido de enxofre, que é eficaz em muitas de suas aplicações (Góes *et al.*, 2006). É comumente utilizado nas aplicações de vinhos e bebidas alcoólicas; frutas e legumes enlatados ou congelados; produtos cárneos processados

(embutidos, presuntos); queijos e laticínios; molhos e condimentos (Ilie-Mihai *et al.*, 2022). Suas propriedades incluem a inibição do crescimento de bactérias, leveduras e fungos filamentosos; prevenção da oxidação e escurecimento (Ahmadi *et al.*, 2019); estabilização da cor e textura de alimentos, tudo isso devido às suas propriedades antioxidante e agente branqueador. Redutor forte, reage com oxigênio formando ácido sulfúrico (Machado & Toledo, 2006).

O metabissulfito de sódio desempenha um papel importante em várias aplicações industriais, como na indústria têxtil, de papel e no tratamento de água e fabricação de produtos químicos, no qual atua como um redutor (Aragão *et al.*, 2008). O uso em altas concentrações do metabissulfito de sódio pode gerar subprodutos que afetam o meio ambiente, como o dióxido de enxofre, além de provocar reações adversas como urticária, anafilaxia, hipotensão, náuseas e, em indivíduos sensíveis, crises asmáticas (Favero; Ribeiro; Aquino, 2011). Por isso, é importante seguir os protocolos corretos de descarte e uso.

O consumo excessivo pode causar irritação gastrointestinal e, em concentrações muito elevadas, liberar dióxido de enxofre, que é tóxico (Junior *et al.*, 2010). Os limites para uso em alimentos e bebidas são definidos por autoridades como o *Codex Alimentarius*, a FDA (Food and Drug Administration – EUA) e a ANVISA, com o objetivo de garantir segurança ao consumidor. A IDA (Ingestão Diária Aceitável), está estabelecida em não ultrapassar $0,7 \text{ mg.Kg}^{-1}$ de peso corpóreo/dia, expressa em SO_2 (Who, 2005; Machado; Toledo, 2006).

3.2.2 Benzoato de sódio

O benzoato de sódio ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$), oriundo do ácido benzoico misturado ao hidróxido de sódio, é um conservante alimentar frequentemente usado para prevenir o crescimento de microrganismos, como bactérias, leveduras e fungos filamentosos, em alimentos. O aspecto físico do benzoato de sódio é um pó cristalino branco ou granulado, que se dissolve facilmente em água. Sua composição química é o sal de sódio do ácido benzoico, que se dissolve melhor em água do que sua forma ácida. Ele funciona como um inibidor de fungos e bactérias, especialmente em ambientes com pH ácido (abaixo de 4,5), onde se transforma em ácido benzoico, sua forma ativa (Food Ingredients Brasil, 2011).

Aprovado pela ANVISA e pela FDA, é frequentemente utilizado em: refrigerantes e bebidas alcoólicas; frutas enlatadas e conservas; molhos e condimentos; produtos cárneos

processados (Pessoa *et al.*, 2015). O benzoato de sódio confere um sabor forte e apimentado, exatamente por isso o seu uso é delimitado para um respectivo número de produtos, e seu principal uso está nas bebidas carbonatadas, mas também é usado em salada e torta de frutas, geleias, doces, margarinas e balas (Ferreira *et al.*, 2020).

Segundo Cherubin (1998), o valor biológico dos alimentos não é modificado quando adicionado o benzoato de sódio e no organismo não acontece a acumulação, pois o benzoato de sódio reage com a glicina produzindo ácido hipúrico, conseqüentemente são eliminados entre 66 e 95% do total consumido e o restante é transformado à ácido glucônico. A IDA do benzoato de sódio não deve ultrapassar 5 mg.Kg-1 expresso em ácido benzoico (Ferreira *et al.*, 2020).

3.2.3 Sorbato de potássio

O sorbato de potássio ($C_6H_7KO_2$) um sal derivado do ácido sórbico, é amplamente utilizado como conservante em alimentos, bebidas e cosméticos (Vinzenci *et al.*, 2021). Sua principal função é inibir o crescimento de fungos, leveduras e certas bactérias, prolongando a vida útil dos produtos. Devido à sua alta solubilidade em água, ele pode ser facilmente incorporado em diversas formulações (Rodrigues *et al.*, 2013).

Esse conservante atua interferindo no metabolismo energético dos microrganismos, dificultando sua reprodução e sobrevivência. É comumente aplicado em alimentos como queijos, iogurtes, molhos, pães, frutas secas, refrigerantes e vinhos, onde ajuda a preservar o sabor e a textura, além de reduzir a necessidade de refrigeração. Além disso, é utilizado em cosméticos, como loções, cremes, shampoos e maquiagens, para prevenir contaminações por fungos, bem como na conservação de ração animal e em soluções farmacêuticas (Vinzenci *et al.*, 2021).

Considerado seguro pela FDA e outras autoridades regulatórias, quando aplicado dentro dos limites estabelecidos. Pode provocar reações alérgicas leves em pessoas sensíveis, como irritação na pele ou mucosas. É metabolizado pelo corpo de forma natural, sendo transformado em dióxido de carbono e água. A eficácia do sorbato de potássio é maior em produtos com pH ácido (abaixo de 6,5). Em ambientes alcalinos, sua ação conservadora é diminuída. O uso excessivo pode mudar o sabor dos alimentos. O sorbato de potássio é biodegradável e visto como um composto com baixo impacto ambiental (Vincenzi, 2021).

O sorbato de potássio é muito utilizado em alimentos habitualmente consumidos pela população, tais como: alimentos de panificação, produtos lácteos, frutas e legumes em conserva, temperos e condimentos, alimentos dietéticos para fins medicinais e bebidas aromatizadas, destiladas e fermentadas (Assis *et al.*, 2021).

De acordo com Assis *et al.* (2021), ultrapassar o limite de consumo assentado pode levar a genotoxicidade e que por essa razão diminuiu a IDA (Ingestão Diária Aceitável) de 25 mg/kg de peso corporal/dia para 3 mg/kg de peso corporal/dia, temporariamente. Ainda segundo o mesmo estudo, os principais alimentos que contribuem para o consumo do sorbato de potássio são pães, produtos finos de panificação e bebidas aromatizadas. Vale salientar que a ANVISA regula e normatiza um limite de utilização do sorbato de potássio para cada grupo alimentar, sem ultrapassar a IDA, que está estabelecida para não ultrapassar 25 mg.Kg-1 (Ferreira *et al.*, 2020).

3.2.4 Nitrito de sódio

O nitrito de sódio é um produto químico muito usado na indústria de alimentos, medicamentos e em processos industriais. Seu uso principal está ligado à preservação de alimentos, especialmente carnes, por causa de suas características antimicrobianas e de coloração. Sua fórmula química é NaNO_2 e tem aspecto físico de um pó cristalino branco ou um pouco amarelado, que se dissolve facilmente em água. Suas propriedades químicas incluem atuar como agente oxidante e redutor em várias condições, e sua estabilidade varia com a temperatura e o pH. Embora seja eficaz em pequenas quantidades, pode ser perigoso em altas concentrações, exigindo supervisão cuidadosa em seu uso (Rodrigues, 2013).

Suas principais utilizações estão na indústria alimentícia como conservante em carnes, usado em embutidos como salsichas, presuntos e bacon, onde impede o crescimento de alguns microrganismos. É utilizado também como fixador de cor, pois dá a coloração rosada típica de carnes curadas ao reagir com a mioglobina para formar nitrosomioglobina. Seu uso também inclui a intensificação de sabor, pois aprimora o perfil de sabor dos produtos cárneos. Outra importante utilização do nitrito de sódio é na indústria farmacêutica, onde é empregado como precursor em sínteses químicas e em medicamentos usados para tratar envenenamento por cianeto (Vincenzi, 2021).

Altas quantidades de nitrito de sódio podem resultar em uma condição chamada

metemoglobinemia, que diminui a habilidade do sangue de transportar oxigênio (Iamarino, 2015). É visto como possivelmente cancerígeno, pois pode criar nitrosaminas em ambientes ácidos ou de alta temperatura (como durante o cozimento), especialmente na presença de aminas secundárias. Assim, é muito importante se atentar para os limites de consumo, e seu uso é rigorosamente controlado em alimentos, com quantidades máximas e mínimas permitidas que variam conforme a legislação de cada país (Vincenzi, 2021). Quando usado em níveis seguros, diminui o risco de botulismo (causado pela toxina botulínica) e aumenta a durabilidade dos alimentos (Azeredo, 2012). A IDA (Ingestão Diária Aceitável) para o nitrito é de 0-0,06 mg/kg de peso corpóreo, e para o nitrato, é de 0-3,7 mg/kg de peso corpóreo (Oliveira, 2014).

3.3 Filmes e revestimentos biopoliméricos

Filmes e revestimentos biopoliméricos são materiais feitos de polímeros naturais ou de fontes renováveis. Eles têm se destacado devido à maior procura por soluções sustentáveis, especialmente nas áreas de embalagens, alimentos e farmacêuticos. O filme é uma camada formada após a secagem de uma solução de biopolímero, criada separadamente do alimento e aplicada depois. O revestimento é o resultado da solução biopolimérica aplicada diretamente na superfície do alimento que, ao secar, forma uma camada aderida diretamente ao alimento (Kocira *et al.*, 2021).

De acordo com a *American Society Standard Testing and Materials* (ASTM), polímero degradável “é um plástico projetado a submeter-se a mudanças significativas em sua estrutura química sob circunstâncias ambientais específicas tendo por resultado perda de algumas propriedades”. Já plástico biodegradável “é um plástico degradável em que a degradação resulta da ação de microrganismos naturais”, tais como fungos, bactérias e algas (ASTM, 2000, p. 3-4).

Os principais elementos utilizados na fabricação de filmes e revestimentos biopoliméricos são os biopolímeros, que englobam os polissacarídeos (amido, quitosana, celulose, alginato e pectina); as proteínas (gelatina; caseína; glúten e zeína) e os lipídios (ceras; ácidos graxos e glicerídeos) (Domingos *et al.*, 2018). Outro elemento importante são os plastificantes. Substâncias como glicerol e sorbitol são acrescentadas para melhorar a flexibilidade e diminuir a fragilidade. Aditivos como antimicrobianos, antioxidantes e

pigmentos são incluídos para adicionar funções específicas aos filmes e revestimentos (Barboza *et al.*, 2022).

Os filmes e revestimentos possuem importantes características físico-químicas, como a permeabilidade, que define o controle da passagem de gases, vapor de água e lipídios, sendo fundamental para embalagens de alimentos. A biodegradabilidade é a capacidade de ser completamente degradável por microrganismos, o que diminui o impacto ambiental. E a barreira, uma característica muito significativa, pois os filmes e revestimentos podem ser alterados para fornecer resistência térmica, mecânica ou química (Barboza *et al.*, 2022).

Dentre suas aplicações na indústria alimentícia, destaca-se a preservação de alimentos, pois oferecem proteção contra oxidação, desidratação e crescimento microbiano. Outra categoria dos filmes e revestimentos são as embalagens comestíveis, que são filmes que podem ser consumidos junto com os alimentos, como os usados em frutas secas ou queijos. Existem também os revestimentos de frutas e vegetais, que prolongam a vida útil e mantêm a qualidade visual e sensorial (Barboza *et al.*, 2022).

3.4 Albumina

A albumina é uma das principais proteínas da clara do ovo e tem um papel importante em vários aspectos nutricionais, funcionais e industriais (Sousa, 2008). A albumina é uma proteína globular que dissolve em água, formada por cadeias de aminoácidos que oferecem alta funcionalidade (Coentrão, 2019). Ela representa cerca de 54% das proteínas totais da clara do ovo. Tem uma estrutura tridimensional que pode ser alterada pelo calor, pH extremo ou ação mecânica, mudando suas propriedades funcionais (Almeida, 2010).

A albumina é muito valorizada por suas características físico-químicas, que a tornam útil em várias aplicações, como por exemplo na criação de espumas, sendo perfeita para merengues, mousses e outros alimentos aerados (Coentrão, 2019). Na gelificação, ao ser aquecida, forma géis consistentes e elásticos, utilizados em produtos como coadjuvante de liga para alimentos, como carnes, suflês e sobremesas (Almeida, 2010). Na emulsificação funciona como um emulsificante natural, ajudando a misturar óleo e água em maioneses e molhos. Devido a sua solubilidade é facilmente incorporada em soluções líquidas (Alleoni, 1997).

A albumina tem sido bastante analisada como matéria-prima para a criação de filmes e revestimentos biopoliméricos devido às suas funções e propriedades estruturais (Wolter e Pinto, 2021; Barboza, 2022; Santos, 2024). Devido à sua estrutura proteica globular rica em ligações de enxofre, podem criar pontes de dissulfeto durante o aquecimento ou o tratamento químico, resultando em redes tridimensionais unidas (Almeida, 2010). Sua habilidade de formar filmes em condições específicas de pH e temperatura gera filmes contínuos, homogêneos e flexíveis. Devido ao fato de ser uma proteína natural, a albumina é biodegradável, e dessa forma seu descarte não se torna um problema ambiental. Os filmes de albumina têm boas características de barreira contra gases como oxigênio e dióxido de carbono (Barboza, 2022), além de resistência mecânica aceitável, que pode ser aperfeiçoada com aditivos ou combinações com outros polímeros (Barboza, 2022).

Wolter e Pinto (2021), avaliaram o uso da proteína do ovo, a albumina, em um revestimento biopolimérico para o armazenamento de ovos de galinhas, nesse estudo, os resultados encontrados nas amostras, indicaram que a albumina foi eficaz ao retardar a perda de qualidade do produto.

Ponce *et al.* (2003), produziram filmes comestíveis de proteínas e polissacarídeos, dentre as proteínas analisadas, usaram a albumina, avaliando a impermeabilização dos alimentos, com o objetivo de aumentar a resistência à umidade, ao aquecimento e ao congelamento. Os filmes foram caracterizados por sua sensibilidade à água, propriedades térmicas e mecânicas. De acordo com o resultado do trabalho, os filmes a base de albumina foram muito flexíveis e menos quebradiços junto ao plastificante, foram mais resistentes em água do que os filmes produzidos com polissacarídeos e foram mais resistentes termicamente.

3.5 Glicerol

O glicerol, também conhecido como glicerina, possui fórmula química $C_3H_8O_3$. É um álcool com três hidroxilas (-OH) em uma cadeia de três carbonos. Apresenta-se como um líquido espesso, transparente e sem cheiro, que se dissolve em água e mistura-se bem com vários solventes orgânicos, tendo um gosto levemente doce e baixa toxicidade. É higroscópico, tendo a capacidade de captar e reter umidade, o que o torna útil como umectante em várias formulações. Sua alta viscosidade ajuda a melhorar a textura e a estabilidade de soluções líquidas e semissólidas. A elevada solubilidade em água, facilita sua inclusão em

soluções aquosas e sua biodegradabilidade torna-o adequado ecologicamente (Beatriz *et al.*, 2011).

O glicerol tem várias utilizações na indústria alimentícia. Serve como umectante, para manter a umidade de alimentos como bolos, biscoitos e confeitados, como adoçante em produtos de baixa caloria, e como agente de textura, para melhorar a consistência de produtos como balas e gomas de mascar. Na indústria farmacêutica ele é empregado como excipiente em bases para xaropes, supositórios e cápsulas. Em altas concentrações funciona como agente osmótico, agindo como agente de hidratação em componentes de soluções injetáveis e oftálmicas. Na indústria química e biotecnológica é usado na fabricação de poliésteres e resinas, além de ser substrato para fermentação, utilizado em processos biotecnológicos para a produção de biocombustíveis e outros produtos químicos. Pode ser utilizado também como fluidos de corte, anticongelantes e como plastificante em filmes e revestimentos biopoliméricos (Beatriz *et al.*, 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 Compostos antimicrobianos

Os conservantes alimentares testados foram o sorbato de potássio (SP), benzoato de sódio (BS), nitrito de sódio (NS) e metabissulfito de sódio (MBS), todos fornecidos pela Neon® (Suzano, SP) e com pureza superior a 98%. A seleção destes aditivos foi baseada na reconhecida eficácia contra um grande espectro de microrganismos e pelo baixo custo, além de serem permitidos pela legislação brasileira para uso em alimentos.

4.2 Cultura bacteriana e meios de cultura

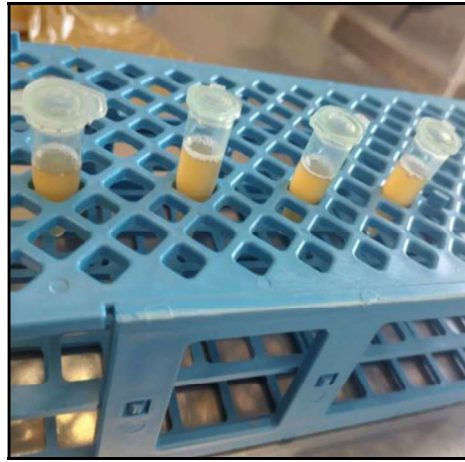
A cepa bacteriana utilizada foi a *Weissella viridescens*, gentilmente cedida pela Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli, professora do Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras - UFLA, MG.

Para as análises microbiológicas foram usados os seguintes meios de cultura e diluentes: Caldo Triptona de Soja (TSB), Água peptonada tamponada e Caldo Man, Rogosa e Sharpe (MRS), além de Man Rugosa e Sharpe (MRS), e Ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRSA).

4.3 Manutenção e Padronização da cultura bacteriana

A cepa de *W. viridescens* foi estocada a -18 °C, em microtubos contendo meio de congelamento [glicerol (150 mL), peptona (5 g), extrato de levedura (3 g), NaCl (5 g), H₂O (1.000 mL), pH (7,2 ± 0,2)], conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1 – Microtubos contendo meio de congelamento.



Fonte: Do Autor (2024).

Para padronizar a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), foi construída a curva de crescimento da cultura bacteriana utilizada. Aliquotas de *W. viridescens* foram transferidas para erlenmeyers com caldo MRS e incubadas a 37 °C. O crescimento foi monitorado a cada hora por espectrofotometria (600 nm) e plaqueamento em Ágar MRS, garantindo o controle do número de UFC no inóculo da cultura reveladora. A Figura 2 mostra uma placa de Ágar MRS com colônias de *W. viridescens*.

Figura 2 – Colônias da *Weissella viridescens*.



Fonte: Do Autor (2024).

4.4 Atividade antimicrobiana *in vitro* dos conservantes

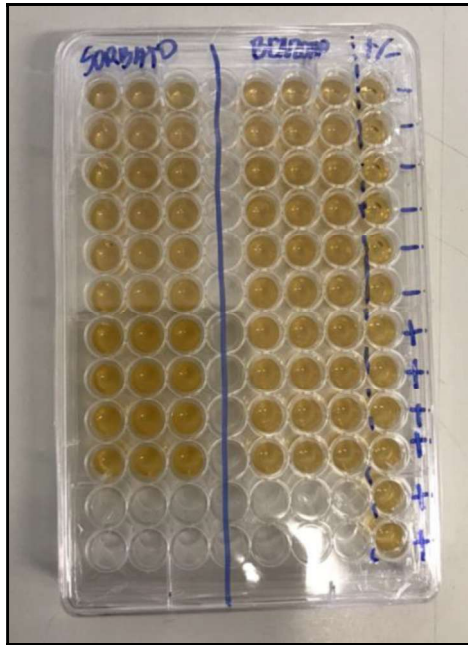
A atividade antimicrobiana dos conservantes foi avaliada pelo método de Concentração Inibitória Mínima (CIM), através da técnica de microdiluição em placas estéreis de microtitulação com 96 poços, conforme o protocolo NCCLS M7-A6 (NCCLS, 2003), com modificações. Nos microtubos, foram adicionados 200 µL de meio MRS contendo cada um dos quatro conservantes, nas concentrações especificadas na Tabela 1. Em seguida 10 µL do inóculo padronizado (10^{11} UFC/mL) foram acrescentados a cada poço. O controle negativo continha apenas meio MRS, sem conservantes e sem inóculo, enquanto o controle positivo recebia o inóculo padronizado. As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas, e a CIM foi determinada por leitura visual (FIGURA 3A). O teste foi realizado em triplicata.

Tabela 1 – Concentrações dos conservantes alimentares testados para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

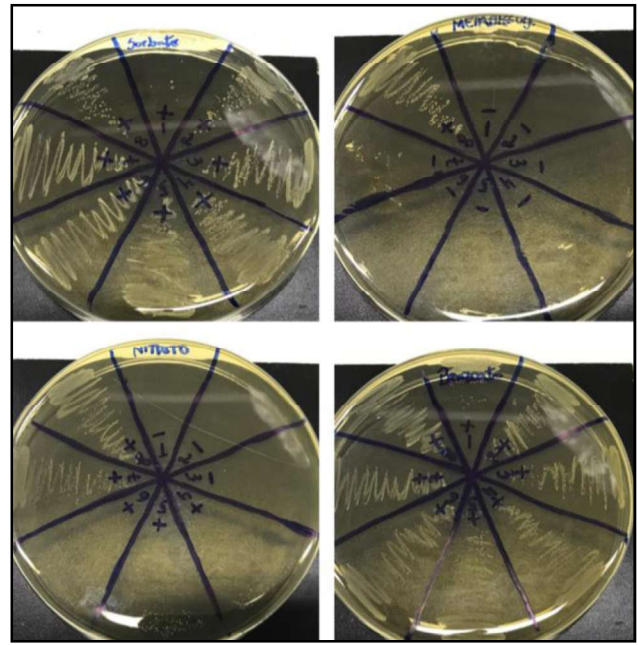
Conservantes alimentares	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)							
	50.000	25.000	12.500	7.500	5.000	4.000	2.000	1.000
Sorbato de potássio (SP)	50.000	25.000	12.500	7.500	5.000	4.000	2.000	1.000
Benzoato de sódio (BS)	50.000	25.000	12.500	7.500	5.000	4.000	2.000	1.000
Nitrito de sódio (NS)	20.000	10.000	5.000	2.500	1.250	625	313	156
Metabissulfito de sódio (MBS)	20.000	10.000	5.000	2.500	1.250	625	313	156

O micropoço com menor concentração do conservante que não apresentou turvação do meio, ou seja, sem crescimento visível, foi considerada a CIM. A fim de confirmar o resultado, uma alíquota das suspensões contidas nos micropoços foi semeada por meio de estrias em placas de Petri contendo MRSA (FIGURA 3B), seguida de incubação a 35 °C por 24 horas. A ausência de crescimento de colônias visíveis nas placas, confirmou a efetividade do conservante alimentar testado.

Figura 3 – Técnicas de avaliação antimicrobiana



A – Placa de microtitulação



B – Estriamento em placas de petri

Fonte: Do Autor (2024).

4.5 Elaboração dos filmes de albumina

Para a elaboração dos filmes foram utilizados albumina de ovo (83% de proteína, marca ASA[®]) e glicerol (Sigma Aldrich[®]), e a metodologia utilizada foi baseada no trabalho de Azevedo *et al.* (2015), com modificações. Para a elaboração dos filmes foi utilizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) com três repetições no ponto central (TABELA 2). As variáveis independentes foram as concentrações de albumina (X1) e glicerol (X2), e as variáveis respostas foram a Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) e o Diâmetro de Halo de Inibição (DHI).

Tabela 2 - Matriz do Delineamento Experimental (DCCR).

Ensaio (Filmes)	Variáveis independentes (Reais)		Variáveis respostas	
	Albumina (g) (X1)	Glicerol (%) (X2)	PVA $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$	DHI Mm
1	3,0	37		
2	3,0	41		
3	4,0	37		
4	4,0	41		
5	2,79	39		

6	4,20	39		
7	3,5	36		
8	3,5	42		
9 (C)*	3,5	39		
10 (C)*	3,5	39		
11 (C)*	3,5	39		

Nota: *Repetição no ponto central.

Dessa forma, X1 gramas de albumina foi diluída em 60 mL de água destilada e homogeneizada com o auxílio de um agitador magnético (FIGURA 4A) a 500 rpm por 20 minutos. Em outro recipiente, 15 mL de água destilada foi homogeneizada com X2 gramas de glicerol durante 15 minutos em homogeneizador magnético a 500 rpm. Em seguida, as duas soluções foram misturadas e homogeneizadas a 750 rpm por 10 minutos.

A solução resultante foi submetida à homogeneização ultrassônica (YAXUN®, modelo YX-3560) por 25 °C por 10 minutos a potência de 50 W (FIGURA 4B), e subsequente aquecimento em banho maria a 75 °C/30 minutos. Este procedimento é necessário para a formação de ligações intermoleculares, que auxiliam no estabelecimento de uma estrutura de rede polimérica reticulada. Após o aquecimento, a solução foi resfriada em banho de gelo até atingir a temperatura de 25 °C, quando foi adicionado 25 mL de água destilada contendo 9.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de metabissulfito de sódio, que foi o conservante selecionado após obter o resultado na etapa de CIM. A solução foi novamente sonificada por 10 minutos à 50 W.

Figura 4 – Preparação da solução filmogênica



A – Homogeneização magnética



B – Homogeneização ultrassônica

Fonte: Do Autor (2024).

Os filmes foram elaborados pelo método de *casting*, à temperatura ambiente. O controle da espessura dos filmes foi realizado pelo volume aplicado a um suporte circular de 11 cm de diâmetro (FIGURA 5), correspondente a 25 mL. As soluções filmogênicas foram secadas a temperatura ambiente por 48 horas para garantir a evaporação lenta do solvente e a formação do filme.

Figura 5 - Suporte circular contendo a solução filmogênica.



Fonte: Do Autor (2024).

4.6 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada de acordo com a *American Society Standard Testing and Materials* - ASTM (2000b), método de E96. A espessura média dos filmes foi mensurada pela leitura de 3 pontos distintos, escolhidos aleatoriamente em cada corpo de prova, usando um micrômetro digital. As amostras foram lidas em triplicata e o experimento foi repetido por três vezes.

A taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) dos filmes foi determinada de acordo com Guimarães Jr. *et al.* (2015), com modificações. Corpos de prova com raio de 7,75 mm (FIGURA 6A) foram aplicados a orifícios de raio de 5,25 mm, em vidro âmbar, com $\frac{3}{4}$ de seu volume contendo sílica (dessecante) previamente seca por 24 horas a 150 °C (FIGURA 6B e C, respectivamente). Os recipientes de vidro âmbar foram colocados em dessecador hermético a 25 ± 2 °C (FIGURA 6D), em que um volume de solução saturada de NaCl fixa a atividade da água, gerando uma atmosfera com umidade relativa de 75%.

As medições de ganho de peso foram realizadas pesando-se o vidro de teste com

precisão de 0,001 g com balança eletrônica a cada duas horas, de modo que a captação de água de vidro âmbar seja medida por 20 horas. Um gráfico de peso ganho *versus* tempo, foi utilizado para determinar o WVTR.

Figura 6 – Preparação das amostras para determinação da Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)



A – Corpo de prova



B – Visão superior do recipiente contendo o corpo de prova



C – Recipiente de vidro contendo sílica e o corpo de prova



D – Dessecador com solução saturada de NaCl contendo os recipientes de vidro

Fonte: Do Autor (2024)

O cálculo da PVA foi feito de acordo com a equação 1, na qual δ é a espessura do filme; WVTR é a taxa de transmissão de vapor de água; ΔP representa a diferença de pressão

de vapor entre as duas faces do filme: $\Delta P = S.(R1 - R2)$; S é a pressão do vapor saturado à temperatura do teste (2.1297 KPa à 18,5 °C), R1 é a umidade relativa gerada pela água pura (100%) (lado úmido), R2 é a umidade relativa gerada pela sílica (0%) (lado seco).

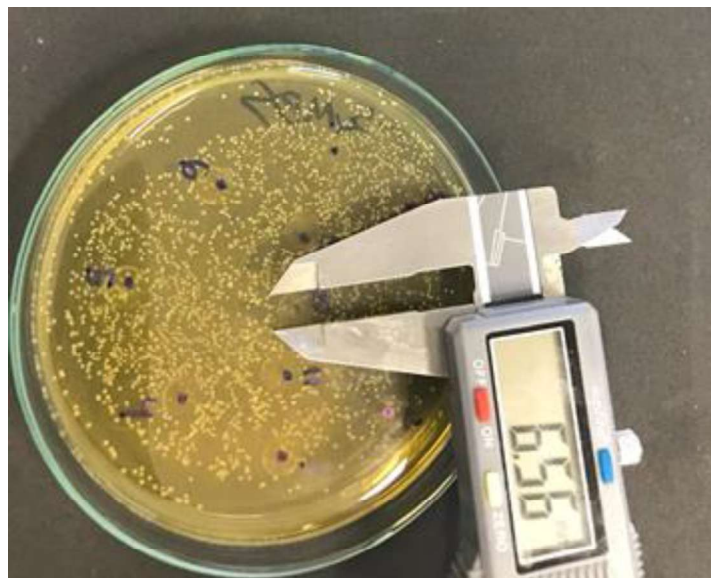
$$PVA = WVTR . \delta / \Delta P$$

Equação 1

4.7 Determinação do Diâmetro do Halo Inibitório (DHI) para avaliação da atividade antimicrobiana do filme

A atividade antimicrobiana dos filmes foi avaliada cortando-se discos de 6,5 mm de diâmetro os quais foram fixados na superfície do Ágar MRS inoculado com uma quantidade padrão (10^{11} UFC.mL⁻¹) de *W. viridescens*, seguido de incubação a 37 °C por 24 horas. Após esse período, as zonas de inibição em torno de cada disco foram mensuradas com paquímetro King Tools® (FIGURA 7), assim como a inibição no ponto de contato do disco com o meio (NCCLS, 2003b). O experimento foi realizado com três repetições, sendo as amostras lidas em triplicata. A Figura 7 apresenta a medição do halo inibitório.

Figura 7 – Medição do halo inibitório



Fonte: Do Autor (2024)

4.8 Análise estatística

As médias dos valores encontrados para a Permeabilidade ao vapor de água e Diâmetro de halo inibitório foram submetidos ao teste de comparação de médias empregando o teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software estatístico SISVAR (Ferreira, 2004).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade antimicrobiana *in vitro* dos conservantes

Observou-se que, dos quatro conservantes analisados, apenas o nitrito de sódio e o metabissulfito de sódio inibiram a bactéria *W. viridescens*, nas concentrações 5.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 313 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. O sorbato de potássio e o benzoato de sódio não inibiram a bactéria em nenhuma das concentrações testadas.

Favero *et al.* (2011) relata a ação antimicrobiana do metabissulfito de sódio, que ele pode causar danos à membrana celular dos microrganismos devido à penetração do SO_2 na parede celular, com a inativação da replicação do DNA, além de causar rupturas nas enzimas relacionadas com a membrana citoplasmática.

Jay (2005) expõe que os microrganismos sofrem ação bactericida dos sulfitos, quando a concentração está acima de 0,2 mg/mL, isso explica os resultados obtidos nesse trabalho. Alguns estudos apontam que a ação antimicrobiana do metabissulfito de sódio também se deve a capacidade redutora deste aditivo, que é alta, ele causa um decréscimo no grau de oxigênio, tornando o crescimento da maioria dos microrganismos inatingível. E acontece também a ação sobre as ligações bissulfeto, atingindo algumas enzimas, deixando-as inativas e ele também pode bloquear os carboidratos, quando reage com aldeídos no metabolismo (Franco; Landgraf, 2002; Jay, 2005).

O nitrito de sódio também apresentou efetividade, porém em concentração superior ao do metabissulfito de sódio. De acordo com Amin e Oliveira (2006), baixas concentrações de nitrito de sódio fixam a cor dos produtos cárneos curados, porém não produzem um efeito antibacteriano significativo, sendo necessárias concentrações maiores. Foi observado que o nitrito de sódio precisa de uma alta concentração para inibir microrganismos, o que pode explicar os resultados encontrados. Concentrações superiores a 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de nitrito de sódio exercem ação bacteriostática, especialmente sobre os anaeróbios (Amin; Oliveira, 2006), como é o caso da *W. viridescens*. Embora os nitritos sejam usados há vários anos, a formação de nitrosaminas potencialmente cancerígenas a partir de nitritos é uma das principais causas de preocupação (Subramanian; Kagliwal; Singhal, 2014).

Os conservantes sorbato de potássio e benzoato de sódio, nas concentrações testadas,

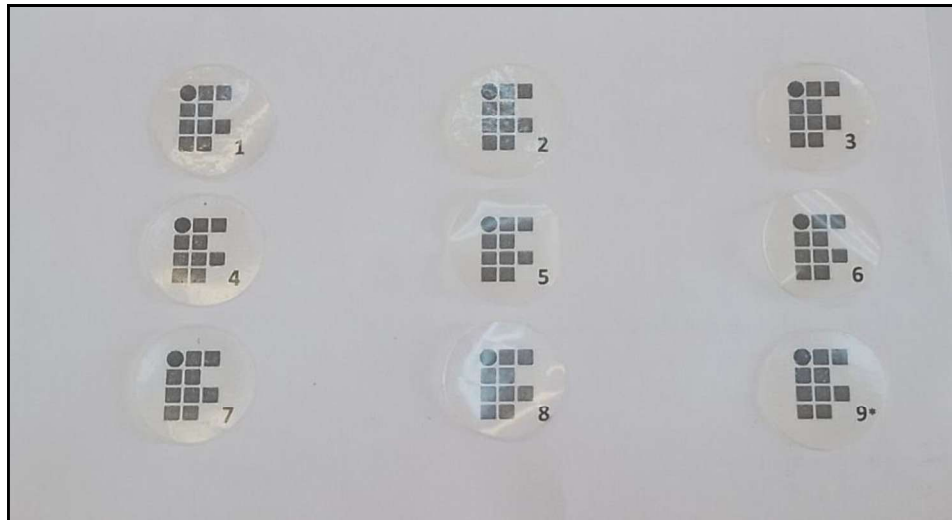
não foram eficazes na inibição dessa bactéria. Uma possível explicação pode ser o pH do meio. O pH do meio MRS, sem adição de conservantes, é aproximadamente 5,84; entretanto este elevou-se para próximo da neutralidade (pH 6,23) quando adicionado sorbato de potássio na maior concentração testada ($50.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$). É sabido que os sorbatos apresentam maior eficiência em pH mais ácidos (Hwang *et al.*, 2015) e, portanto, a atividade antimicrobiana do sorbato de potássio diminui com o aumento do pH extracelular (Wang *et al.*, 2018).

A atividade antimicrobiana do benzoato de sódio ocorre quando ele está na forma não dissociada, passando através da membrana e liberando prótons no citoplasma bacteriano (Souza, 2019). O pH é decisivo para a ação antimicrobiana do benzoato de sódio pois ele é mais efetivo em meio ácido devido à prevalência do ácido benzoico, sua forma não dissociada. Ao adicionar o benzoato de sódio na maior concentração ($50.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$), o pH do meio elevou-se para 5,87, o que pode explicar a baixa efetividade do conservante. De acordo com Oliveira e Reis (2017), pH acima de 5 pode reduzir a atividade do benzoato.

O metabissulfito de sódio foi escolhido para integrar a formulação do revestimento polimérico, pois além de seu custo ser baixo, entre os 4 conservantes testados, sua efetividade se deu em baixa concentração, se comparado com o nitrito de sódio, que também obteve efetividade, só que em uma concentração maior. O ideal é que se obtenha a ação antimicrobiana com uma concentração baixa, respeitando as legislações e a IDA (Ingestão Diária Aceitável), que não deve ultrapassar $0,7 \text{ mg.Kg}^{-1}$ de peso corpóreo/dia, expressa em SO_2 (Who, 2005; Machado; Toledo, 2006).

5.2 Elaboração dos filmes de albumina

A Figura 8 mostra o aspecto visual dos filmes biopoliméricos desenvolvidos. Observa-se que os filmes a base de albumina e glicerol incorporados com o conservante metabissulfito de sódio mostraram-se levemente amarelados, quase transparentes, não apresentaram bolhas ou rachaduras na superfície, independentemente das 11 formulações utilizadas. Uma embalagem transparente influencia na escolha do consumidor. Esse tipo de embalagem permite que o consumidor visualize diretamente o produto e isso gera confiança, autenticidade e comprovação da qualidade através de um estímulo sensorial.

Figura 8 – Aspecto visual dos filmes biopoliméricos

Os números de 1 a 9 representam as formulações desenvolvidas (vide Tabela 3). O nº 9 representa a formulação com repetição no ponto central.

Fonte: Do Autor (2024).

A Tabela 3, apresenta os valores das variáveis independentes (Albumina e glicerol) e das variáveis respostas (Permeabilidade ao vapor de água – PVA e Diâmetro de halo inibitório – DHI).

Tabela 3. Valores médios de Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e Diâmetro de halo inibitório(DHI)

Filmes	Variáveis independentes (Reais)		Variáveis respostas	
	Albumina (g)	Glicerol (%)	PVA ($\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$)	DHI (mm)
1	3,0	37	1,4466 ^A	0 ^A
2	3,0	41	1,4363 ^A	0 ^A
3	4,0	37	1,8816 ^B	0 ^A
4	4,0	41	1,5721 ^A	0 ^A
5	2,79	39	1,5727 ^A	0 ^A
6	4,20	39	1,7703 ^B	0 ^A
7	3,5	36	1,4592 ^A	0 ^A
8	3,5	42	1,7380 ^B	0 ^A
9 (C)*	3,5	39	1,5732 ^A	6,56 ^B
10 (C)*	3,5	39	1,5940 ^A	6,54 ^B
11 (C)*	3,5	39	1,5769 ^A	6,56 ^B

Nota 1: Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Nota 2: *Repetição no ponto central.

Dentre os filmes avaliados, apenas 9, 10 e 11 apresentaram atividade antimicrobiana contra a bactéria *Weissella viridescens*, com um DHI médio de 6,55 mm e PVA médio de 1,59 g.m⁻¹.s⁻¹.Pa⁻¹. Vale ressaltar que os filmes 9, 10 e 11 possuem a mesma composição pois estes constituem a repetição no ponto central.

A concentração de metabissulfito de sódio foi a mesma em todos os 11 ensaios, correspondendo a 9.000 µg.ml⁻¹. Como as únicas variações foram a albumina e o glicerol, possivelmente essas combinações alteraram a propriedade de barreira, modificando a dinâmica de liberação do conservante contido no filme quando em contato com o meio de cultura MRS. Assim, com pouca liberação do aditivo, a pequena quantidade não foi suficiente para se obter a ação antimicrobiana, possivelmente a barreira impediu a liberação do conservante, impedindo a ação da penetração do SO₂ na parede celular, assim como relatou Favero et al. (2011).

A análise de variância apresentou valor $p > 0,05$, indicando que a variação da concentração do glicerol não afetou significativamente o DHI, enquanto a albumina afetou significativamente, conforme Tabela 4.

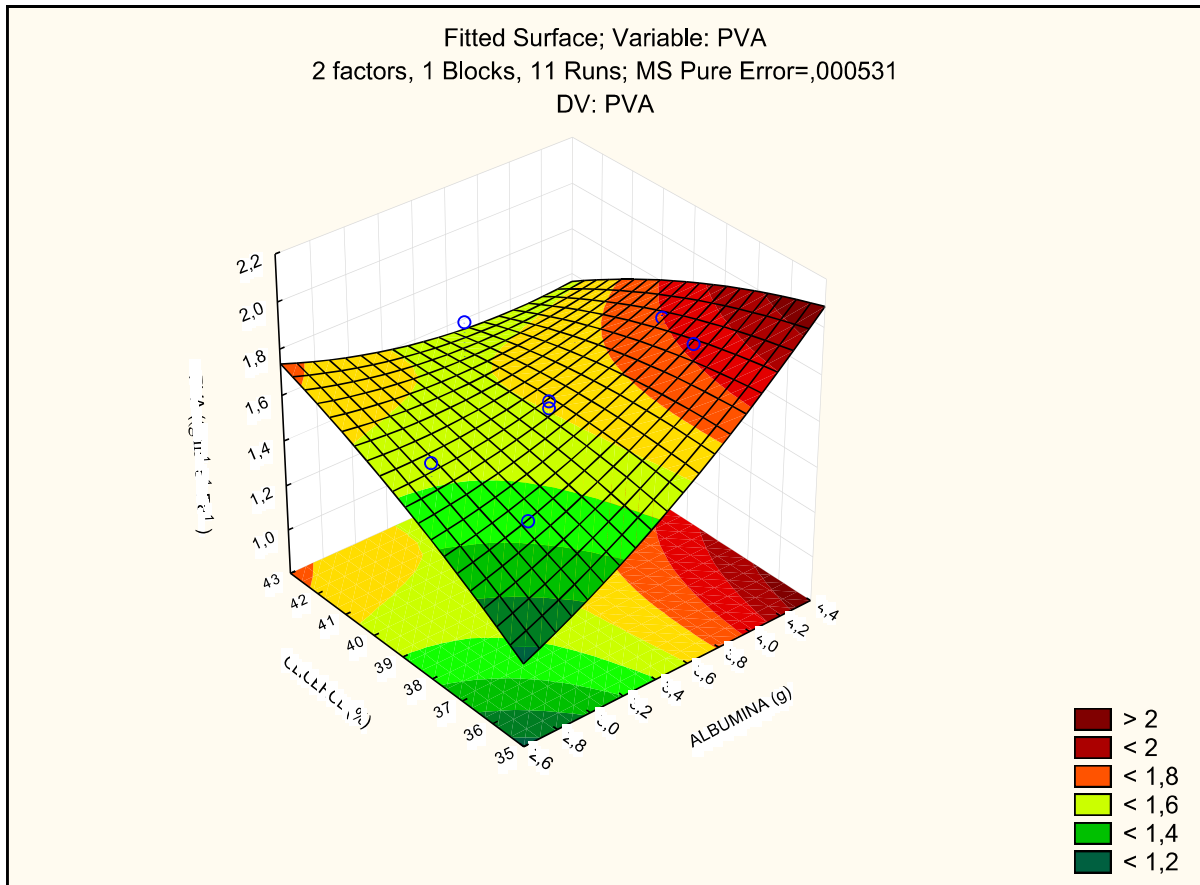
Tabela 4. Análise de Variância

Fonte de Variação	SS	df	MS	F	p	Conclusão
(1)Albumina (g)(L)	0.087061	1	0.087061	163.9472	0.006044	Significativo
Albumina (g)(Q)	0.003489	1	0.003489	6.5701	0.124425	Não significativo
(2)Glicerol (%) (L)	0.000307	1	0.000307	0.5790	0.526181	Não significativo
Glicerol (%) (Q)	0.000799	1	0.000799	1.5043	0.344808	Não significativo
1L by 2L	0.023089	1	0.023089	43.4793	0.022235	Significativo
Lack of Fit	0.077142	3	0.025714	48.4232	0.020301	Significativo
Pure error	0.001062	2	0.000531			
Total SS	0.194431	10				

A Figura 9 mostra o resultado da PVA como uma variável dependente da albumina e do glicerol, em superfície de resposta 3D. Nela é possível observar os pontos críticos mínimos

e máximos e como a combinação das duas variáveis independentes afeta a permeabilidade ao vapor de água.

Figura 9 – Superfície de resposta para a influência das concentrações de glicerol e albumina na PVA dos filmes



Fonte: Do Autor (2024)

A superfície é colorida em um gradiente de cores que vai do verde ao vermelho, proporcionando diferentes níveis de resposta. Os pontos azuis representam os dados experimentais. Na área vermelha, onde o gráfico está mais elevado, os valores de PVA são mais altos. Já área verde apresenta valores de PVA menores, indicando que as combinações de albumina e glicerol nessa região resultam em menor valor da permeabilidade. A albumina e o glicerol combinados influenciam a PVA, porém a albumina tem um efeito diretamente proporcional, ou seja, quanto maior a quantidade de albumina, maior será a permeabilidade ao vapor de água, e vice-versa.

Também é possível observar na Figura 9 que quanto menor o valor de glicerol, menor é o valor da permeabilidade, e que o aumento da concentração do plastificante tem pouco efeito sobre a PVA. A partir desses resultados, pode-se observar os valores crítico, máximo e

mínimo das variáveis, permitindo, a depender do objetivo do experimento, otimizar os níveis de albumina e glicerol para obter melhores resultados e produzir excelentes filmes.

6 CONCLUSÃO

O teste *in vitro* mostrou que, dos quatro conservantes analisados, apenas o nitrito de sódio e o metabissulfito de sódio foram capazes de inibir a bactéria *W. viridescens* nas concentrações $5.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $313 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Entretanto, ao ser adicionado junto ao filme a base de albumina e glicerol, a CIM do metabissulfito de sódio elevou-se para $9.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, indicando que a interação entre o conservante e a matriz do filme reduz sua ação bactericida. Sorbato de potássio e o benzoato de sódio não inibiram a bactéria em nenhuma das concentrações testadas.

Dos 11 filmes biopoliméricos produzidos, apenas a formulação contendo 39% de glicerol e 3,5g de albumina conseguiu ter ação antimicrobiana contra a bactéria *W.viridescens*, apresentando um DHI médio de 6,55 mm e PVA médio de $1,59 \text{ g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$. A combinação de albumina e o glicerol influenciou a PVA dos filmes, tendo albumina uma correlação diretamente proporcional e o glicerol tendo efeito negativo neste parâmetro. O DHI não foi afetado pela concentração do plastificante, mas a albumina apresentou um efeito significativo.

Assim, conclui-se que a formulação desenvolvida apresenta resultado promissor para futura aplicação em carnes, visando a redução da população da bactéria *W. viridescens*.

REFERÊNCIAS

- AHMADI, F.; LEE, Y. H.; Won Hee Lee, OH, Y-K.; PARK, K.; KWAK, W. S. Long-term anaerobic conservation of fruit and vegetable discards without or with moisture adjustment after aerobic preservation with sodium metabisulfite. **Waste Management**, v. 87, p. 258-267, Fev, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.02.010>. Acesso em: 20 nov. 2024.
- ALLEONI, Ana Cláudia Carraro. **Efeito da temperatura e do período de armazenamento na qualidade do ovo, nos teores s-ovalbulmina e nas propriedades funcionais das proteínas da clara do ovo**. 1997. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, São Paulo, 1997.
- ALMEIDA, Márcio Aurélio de. **Transglutaminase E Albumina De Ovo Em Reestruturados Cozidos Congelados De Frango**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, 2010.
- AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard terminology relating to plastics**. ASTM D883-00. Philadelphia, EUA. 2000a. Disponível em: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/2986/a58aebb4d0a74ba7aafc388053d63d2e/ASTM-D883-00.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2024
- AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard practice for conditioning plastics for testing**. ASTM D618-00. Philadelphia, EUA. 2000b. Disponível em: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/2849/0c93ca6ac8ff4a2999ef1620f10e9b3c/ASTM-D618-00.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2024.
- AMIN, M.; OLIVEIRA, J. V. Efeito do uso do nitrato e nitrito na inibição de Clostridium perfringens tipo A em linguiça bovina curada. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 13-24, 2006. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-457564>. Acesso em: 10 nov. 2024.
- ARAGÃO, J. S.; DE CASTRO, C. B.; COSTA-LOTUFO, L. V. Toxicidade do metabissulfito de sódio em Mysisidopsis juniae. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 41, n. 1, p 24 – 29. 2008. Disponível em: <https://labomar.ufc.br/wp-content/uploads/2017/01/acm-2008-41-1-03.pdf>. Acesso em: 2 nov. 2024.
- ASSIS, R. C. De.; PACHECO, T. V.; FERREIRA, A. C. M.; CRUZ, T. C.; ARAÚJO, A. B. M.; MAIA, C. S. C. Ácido Sórbico e Câncer Gastrointestinal: uma Revisão Integrativa. **Ensaio e Ciência**, v. 24, n. 5 esp, p. 640-644, 2021. Disponível em: <https://ensaioseciencia.pgsscogna.com.br/ensaioseciencia/article/view/7903>. Acesso em: 10 out. 2024.
- AZEREDO, H.M.C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Editora técnica. – 2 ed. rev. e ampl. – Brasília, DF : Embrapa, 2012. Disponível em: <https://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00052480.pdf>. Acesso em: 25 set. 2024.

AZEVEDO, V. M.; DIAS, M. V.; BORGES, S. V.; COSTA, A. L. R.; SILVA, E. K.; MEDEIROS, E. A. A.; SOARES, N. F. F. Development of whey protein isolate bio-nanocomposites: Effect of montmorillonite and citric acid on structural, thermal, morphological and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p.179-188, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X15000752>. Acesso em: 15 set. 2024.

BARBOZA, H. T. G.; SOARES, A. G.; FERREIRA, J. C. S.; SILVA, O. F. Filmes e revestimentos comestíveis: conceito, aplicação e uso na pós-colheita de frutas, legumes e vegetais. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/361786383_Filmes_e_revestimentos_comestiveis_conceito_aplicacao_e_uso_na_pos-colheita_de_frutas_legumes_e_vegetais. Acesso em: 12 set. 2024.

BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Quim. Nova**, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, v. 34, n. 2, p. 306-319, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/766>. Acesso em: 12 set. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria nº 540, 27 de out. de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares – definição, classificação e emprego. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 28 out. 1997, Seção 1. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/inspecao/produtosvegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/portaria-no-540-de-27-deoutubro-de-1997.pdf/view>>. Acesso em: 09 out. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 397, de 25 de junho de 2020. Publicada norma sobre uso de aditivos alimentares. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 25 de junho de 2020. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2020/RDC_397_2020_.pdf. Acesso em: 10 out. 2024.

CHERUBIN, Rudimar Antonio. **Efeitos da adição de benzoato de sódio na fermentação alcoólica para produção de aguardente de cana-de-açúcar (Saccharum spp)**. 1998. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 1998.

COENTRÃO, Claudia de Abreu Marques. **Iogurtes desnatados elaborados com farinha de jabuticaba, proteínas do soro de leite e albumina: caracterização físicoquímica, avaliação dos compostos fenólicos e análise sensorial**. 2019. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2019.

COSTA, B. L.; OLIVEIRA, M. C.; SILVA, J. B. Prospecção Científica e Tecnológica Sobre Revestimentos Comestíveis de Polissacarídeos para Conservação de Alimentos. **Cadernos De Prospecção**, v. 15, n. 4, p. 1212–1227, 2022. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/nit/article/view/49093>. Acesso em: 14 set. 2024.

COSTA, M. C. C.; AZEVEDO, C. R.; SOUSA, R. M. L.; SANTOS, A. F.; BARROQUEIRO, Â. T. S. Embalagens de alimentos à base de biofilmes comestíveis: Uma revisão de literatura. **Revista Ceuma Perspectivas**, Edição Especial, V Congresso de Saúde e Bem Estar Ceuma, v. 30, n. 2, p. 2525-5576, 2017. DOI: <https://doi.org/10.24863/rccp.v30i2.154>.

Disponível em:

<http://www.ceuma.br/portalderevistas/index.php/RCCP/search/authors/view?firstName=Alexandro&middleName=Ferreira%20dos&lastName=Santos&affiliation=&country=BR>. Acesso em: 14 jun. 2024.

DEGHANI, S.; HOSSEINI, S. V.; REGENSTEIN, J. M. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. **Food Chemistry**, v. 240, p. 505–513, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034>

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814617311780>.

Acesso em: 11 jun. 2024.

DOMINGOS, A. L. M.; PEREIRA, A. C. M.; NOLETO, A. P. R.; REIS, A. B. Caracterização de Revestimento Biopolimerico Visando Aplicação em Embalagens Celulósicas. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 4, n. 2, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.18540/jcecv14iss2pp0196-0201>

Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/326309619_CHARACTERIZACAO_DE_REVESTIMENTO_BIOPOLIMERICO_VISANDO_APLICACAO_EM_EMBALAGENS_CELULOSICAS. Acesso em: 14 jun. 2024.

FAVERO, D. M.; RIBEIRO, C. S. G.; AQUINO, A. D. Sulfitos: Importância na indústria alimentícia e seus possíveis malefícios à população. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 1, p. 11-20, 2011. DOI: <https://doi.org/10.20396/san.v18i1.8634684>

Disponível em:

<https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8634684/2603>. Acesso em: 12 jun. 2024.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons.

Ciência e Agrotecnologia, v. 38, n. 2, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>

Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/yyWQQVwqNcH6kzf9qT9Jdhv/?lang=en>.

Acesso em: 15 dez. 2024.

FERREIRA, R. D.; SOARES, R. A.; CARVALHO, L. A.; SILVA, G. A.; OLIVEIRA, C. A.; ALVES E SILVA, G. Determinação da concentração inibitória de conservantes alimentares para o controle de Salmonella Typhimurium. **Holos**, v. 4, e10069, p. 1-14, 2020. DOI:

<https://doi.org/10.15628/holos.2020.10069>

Disponível em: <https://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/10069>. Acesso em: 15 set. 2024.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Conservação de Alimentos por Aditivos Químicos**.

Edição 22, 2012. Disponível em:

https://revistafi.com/upload_arquivos/201606/2016060331891001467132636.pdf Acesso em: 14 nov. 2024.

FRANCO, B.D. de M., LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1º Ed. Editora Atheneu, 182 p. 2002. Disponível em: https://www.academia.edu/39568615/Franco_Landgraf_Microbiologia_dos_Alimentos. Acesso em: 21 nov. 2024.

GALINDO, M. V.; PAGLIONE, I. S.; BALAN, G. C.; SAKANAKA, L. S.; SHIRAI, M. A. Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. 1-9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.20396/san.v26i0.8653865> Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8653865>. Acesso em: 14 set. 2024.

GÓES, L. M. N. de B.; MENDES, P. de P.; MENDES, S. E.; RIBEIRO, C. M. de F.; SILVA, P. P. R. Uso do metabissulfito de sódio no controle de microorganismos em camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. Maringá, v. 28, n. 2, p. 153-157. 2006. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/1871/187115767010.pdf>. Acesso em: 29 set. 2024.

GUERIN-DUBIARD, C.; AUDIC, J.-L. **Egg-Protein-Based Films and Coatings**. In: **Bioactive Egg Compounds**. Chapter 31. 2007. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-37885-3_31. Acesso em: 28 nov. 2024.

GUIMARÃES JR., M.; BOTARO, V. R.; NOVACK, K. M.; TEIXEIRA, F. G.; TONOLI, G. H. D. High moisture strength of cassava starch/polyvinyl alcohol-compatible blends for the packaging and agricultural sectors. **Journal of Polymer Research**, 22, p. 192, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10965-015-0834-z>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10965-015-0834-z>. Acesso em: 10 jun. 2024.

HWANG, C. A.; HUANG, L.; JUNEJA, V. Effect of acidified sorbate solutions on the lag phase durations and growth rates of *Listeria monocytogenes* on meat surfaces. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 6, p. 1154–1160, 2015. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-408>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X23062233>. Acesso em: 5 nov. 2024.

IAMARINO, L. Z.; OLIVEIRA, M. da C. De.; ANTUNES, M. M.; OLIVEIRA, M. De.; RODRIGUES, R. O.; ZANIN, C. I. de C. B.; SCHIMILE, M.; LIMA, A. A. De. Nitritos e Nitratos em Produtos Cárneos Enlatados e/ou Embutidos. **Gestão em Foco**, Ed. 7, 2015. Disponível em: <https://portal.unisepe.com.br/unifia/wpcontent/uploads/sites/10001/2018/06/22nitritosnitratos.pdf>. Acesso em: 6 nov. 2024.

ILIE-MIHAI, R.-M.; ION, B.C.; VAN STADEN, J.F. Sodium Metabisulfite in Food and Biological Samples: A Rapid and Ultra-Sensitive Electrochemical Detection Method. **Micromachines**, v. 13, n. 10, p. 1707, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/mi13101707> Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-666X/13/10/1707>. Acesso em: 6 nov. 2024.

JAY, J, M. **Microbiologia de Alimentos**, Porto Alegre: Artmed. 2005. p. 711.

JUNIOR, H. DA S.; FREITAS, G. R. S. DE; PEREIRA, F. R. DA S.; FARIAS, R. F. DE; PEREIRA, F. C. Determinação Colorimétrica de Metabissulfito. **Eclética Químima**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 133 - 139, 2010. DOI: [10.1590/S0100-46702010000300013](https://doi.org/10.1590/S0100-46702010000300013). Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/262438024_Determinacao_colorimetrica_de_metabi_sulfito. Acesso em: 2 dez. 2024.

KAMENÍK, J.; DUŠKOVÁ, M.; ŠEDO, O.; SALÁKOVÁ, A.; PAVLÍK, Z.; ZDRÁHAL, Z.; KARPÍŠKOVÁ, R. Lactic acid bacteria in hot smoked dry sausage (non-fermented salami): Thermal resistance of *Weissella viridescens* strains isolated from hot smoked dry sausages. **Food Science and Technology**, v. 61, n. 2, p. 492-495, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.012>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643814007889>. Acesso em: 11 jun. 2024.

KOCIRA, A.; KOZŁOWICZ, K.; PANASIEWICZ, K.; STANIAK, M.; SZPUNAR-KROK, E.; HORTYŃSKA, P. Polysaccharides as Edible Films and Coatings: Characteristics and Influence on Fruit and Vegetable Quality – A Review. **Agronomy**, v. 11, n. 813, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050813>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/11/5/813>. Acesso em: 27 nov. 2024.

KUMAR, L.; RAMAKANTH, D.; AKHILA, K.; GAIKWAD, K. K. Edible films and coatings for food packaging applications: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 20, p. 875–900, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01339-z>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10311-021-01339-z>. Acesso em: 28 nov. 2024.

LIMA, D. C. S.; COSTA, P. M. R.; PAULINO, C.; TONHOLO, J.; UCHOA, S. B. B.; NASCIMENTO, T. G.; RIBEIRO, A. Estudo de Prospecção Tecnológica sobre Embalagens Ativas para Vegetais. **Cadernos de Prospecção**, v. 11, n. 4, p. 1150-1165, 2018. DOI: <https://doi.org/10.9771/cp.v11i4.27191>. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/123456789/9227/1/Estudo%20de%20Prospec%C3%A7%C3%A3o%20Tecnol%C3%B3gica%20sobre%20Embalagens%20Ativas%20para%20Vegetais.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2024.

MA, P.; DUAN, N; YE, H.; XIA, Y.; DING, Z.; WANG, Z. Selection, truncation and fluorescence polarization based aptasensor for *Weissella viridescens* detection. **Talanta**, v. 246, e.123499, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123499>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914022002958>. Acesso em: 15 nov. 2024.

MACHADO, R. M. D.; TOLEDO, M. C. F.; VICENTE, E. Sulfitos em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 4, p. 265-275, 2006. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/43825201/Sulfitos-Em-Alimentos>. Acesso em: 17 set. 2024.

MARQUES, Fernanda Cunha. **Aplicação do método da Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa (qPCR) na identificação de *Weissella viridescens***. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2017.

MARTINS, W. F.; LONGHI, D. A.; ARAGÃO, G. M. F.; MELERO, B.; ROVIRA, J.; DIEZ, A. M. A mathematical modeling approach to the quantification of lactic acid bacteria in vacuum-packaged samples of cooked meat: Combining the TaqMan-based quantitative PCR method with the plate-count method. **International Journal of Food Microbiology**, v. 318, ed.108466, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108466>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160519303976>. Acesso em: 19 nov. 2024.

MARTINS, Wiaslan Figueiredo. **Predição do crescimento de *Weissella viridescens* sob condições não isotérmicas**. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/159019?show=full>. Acesso em: 19 nov. 2024.

MARTINS, Wiaslan Figueiredo. **Estabelecimento e comparação de modelos preditivos convencionais e moleculares para descrever o crescimento de bactérias deteriorantes de produtos cárneos**. 2019. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/214861>. Acesso em: 20 nov. 2024.

NABOA, R. P.; SOARES, R. A.; OLIVEIRA, C. A. O.; SILVA, J. J. De A.; TEBALDI, V. M. R.; SILVA, G. A. Atividade antimicrobiana de conservantes alimentares sobre a bactéria *Weissella viridescens*. **E&S Engineering and Science**, v. 12, n.1, 2023. DOI: <https://doi.org/10.18607/ES20231214790>. Disponível em: <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/eng/article/view/14790>. Acesso em: 21 set. 2024.

NASCIMENTO, Revenli Fernanda Do. **Redução De Metabissulfito De Sódio No Processamento Industrial De Batatas**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Paraná, 2017. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2889>. Acesso em: 28 set. 2024.

NCCLS - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARD. **Methods for Dilution and Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**, [USA], Approved Standard - M7-A6, v. 23, n. 2, ed. 6, 2003a. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/metodo_ref_testes_diluicao_modulo3.pdf. Acesso em: 9 nov. 2024.

NCCLS - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARD. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. [USA], Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, M2-A8, v. 23, n. 1, p. 31, ed. 8, 2003b. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/metodo_ref_testes_diluicao_modulo5.pdf. Acesso em: 9 nov. 2024.

OLIVEIRA, Estela Mesquita Diegues de. **Nitrato, nitrito e sorbato em produtos cárneos consumidos no Brasil**, 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia-Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/c666e23c-e411-4228->

9622-

[72c383a4af8b/content#:~:text=A%20IDA%20\(Ingest%C3%A3o%20Di%C3%A1ria%20Aceit%C3%A1vel,mg%2Fkg%20de%20peso%20corp%C3%B3reo. Acesso em: 15 fev. 2025.](#)

OLIVEIRA, P. H. R.; REIS, R. R. Ácido Benzoico (CAS 65-85-0). **Revista virtual de química**, v. 9, n. 6, p. 2673-2687, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20160156>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/322248184_Benzoic_acid_CAS_65-85-0. Acesso em: 29 nov. 2024.

ONGARATTO, G. C.; VITAL, A. C. P.; PRADO, I. N. Embalagens ativas e inteligentes para proteção da carne e seus derivados: Revisão. **Pubvet: Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.4, p.1-11, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.31533/pubvet.v16n04a1091.1-11>. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/52>. Acesso em: 29 set. 2024.

PESSOA, L. G. A.; BOHM, P. A. F.; BOHM, F. M. L. Z. **Avaliação do potencial citotóxico do glutamato monossódico e benzoato de sódio**. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. V SEMINÁRIO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO, 5., 2015, Paraná. Universidade Estadual do Paraná, Campo Mourão. 2015. Disponível em: <https://iniciacaocientifica.unespar.edu.br/index.php/eaic/Eaic/paper/viewFile/3126/575>. Acesso em: 19 set. 2024.

PIRES, P. G. S; ANDRETTA, I. Uso de Revestimentos Proteicos: Um Novo Método de Preservação de Ovos. **Zootecnia: Nutrição e Proteção Animal**, v. 1, p. 322-334, 2020. DOI: <https://doi.org/10.37885/200801141>. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/200801141.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2024.

PONCE, Patrícia.; PARRA, Duclerc. F.; LUGÃO, Ademar. B. **Filmes biodegradáveis de proteínas e polissacarídeos**. Anais do 7º Congresso Brasileiro de Polímeros, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2003. Disponível em: <https://repositorio-api.ipen.br/server/api/core/bitstreams/77109cc7-1c75-48bd-ad42-ba7186cf9b31/content>. Acesso em: 2 dez. 2024.

RAMOS, Larissa ventura. **Inativação de Weissella viridescens in vitro por radiação ultravioleta**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2017.

RODRIGUES, Amanda Fernandes dos Santos. *et al.* PEREIRA, Boscolli Barbosa (org.). **Aditivos Alimentares: Conceitos, Aplicações e Toxicidade**. Minas Gerais: FUCAMP, 2013. *E-book*. Disponível em: <https://www.unifucamp.edu.br/wp-content/uploads/2019/06/editora-fucamp-livro-boscolli-3-2019.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2024.

SANTOS, Amanda Alice Lapa. **Revestimento a base de albumina sobre as características microbiológicas e de qualidade de ovos brancos de poedeiras comerciais**. 2024. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Mato Grosso do Sul, 2024.

SANTOS, V. S.; SANTOS, V. S.; FERNANDES, R. S.; JUNIOR, C. R. F.; AOUADA, F. A.; PINHEIRO, J. H. P. A.; MOURA, M. R. Avaliação e caracterização de biofilme comestível de

carboximetilcelulose contendo nanopartículas de quitosana e *Cúrcuma longa*. **Revista Matéria**, v.26, n.1, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-707620210001.1226>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rmat/a/k7TBfTJGBWfyXSWxKnWSLqw/>. Acesso em: 29 nov. 2024.

SILVA, A. S.; SOUZA, B. W. S.; BISPO, A. S. R.; FERREIRA, M. A.; BARRETO, N. S. E. Inativação de patógenos em carne bovina fresca revestida com monocamada comestível de quitosana. **Magistra**, v. 31, p.460-464, 2020. Disponível em: <https://www3.ufrb.edu.br/index.php/magistra/article/view/4295>. Acesso em: 27 nov. 2024.

SILVA, E. DE S.; SOARES, F. M.; BARROS, J. R. DE.; CONSTANT, P. B. L. Conservação de alimentos pelo uso de aditivos: uma revisão. **B.CEPPA**. Curitiba, v. 37, n. 2, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5380/bceppa.v37i2.55962>. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/55962>. Acesso em: 14 jun. 2024.

SOUSA, Rita de Cássia Superbi de. **Separação da lisozima, conalbumina e ovalbumina presentes na clara do ovo : aspectos tecnológicos e termodinâmicos**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008. Disponível em: <https://locus.ufv.br/items/3c984664-c384-4780-9066-1893f0965422>. Acesso em: 30 nov. 2024.

SOUZA, B. A.; PIAS, K. K. S.; BRAZ, N. G.; BEZERRA, A. S. Aditivos Alimentares: Aspectos Tecnológicos e Impactos na Saúde Humana. **Revista Contexto e Saúde**, v. 19, n. 36, p. 5-13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.21527/2176-7114.2019.36.5-13>. Disponível em: <https://www.revistas.unijui.edu.br/index.php/contextoesaude/article/view/7736>. Acesso em: 22 out. 2024.

SOUZA, Melany Simões De. **Como a aplicação de Benzoato de Sódio, a realocação e o tempo de armazenamento afetam a fermentação, a composição química e a Estabilidade aeróbia da silagem de Cana-de-Açúcar?**. 2019. Dissertação (Mestrado em saúde e produção animal) – Universidade Federal Rural da Amazônia. Pará, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/1676>. Acesso em: 28 out. 2024.

SUBRAMANIAN, J. H; KAGLIWAL, L. D.; SINGHAL, R. S. Permitted Preservatives – Nitrites and Nitrates. **Encyclopedia of Food Microbiology**, v. 3, ed. 2, p. 92-98, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/314311105_Preservatives_Permitted_Preservatives. Acesso em: 28 out. 2024.

TEIXEIRA, Camila Gonçalves. **Antimicrobial properties of Weissella cibaria strains isolated from Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brazil and its potential use as probiotics and bacteriocins producers**. 2022. 154 p. Tese (Doutorado). Biotechnology. Université de Lille; Universidade Federal de Viçosa (Brésil), 2022. English. ffnNT : 2022ULILR067ff. fftel-04404494

TEIXEIRA, C. G.; SILVA, R. R.; FUSIEGER, A.; MARTINS, E.; FREITAS, R.; CARVALHO, A. F. The Weissella genus in the food industry: A review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14557>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14557>. Acesso em: 13 out. 2024.

VINCENZI, D.; MENDES, L. de J.; MOTA, V. M. Aditivos Como Conservantes Químicos. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, [S. l.], v. 7, n. 9, p. 821–849, 2021. DOI: <https://doi.org/10.51891/rease.v7i9.2283>. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/2283>. Acesso em: 21 out. 2024.

WANG, J.; MA, M.; YANG, J.; CHEN, L.; YU, P.; WANG, J.; GONG, D.; DENG, S.; WEN, X.; ZENG, Z. In vitro antibacterial activity and mechanism of monocaprylin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Protection**, [S. l.], v. 81, n. 12, p. 1988–1996, 2018. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-18-248>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22088391>. Acesso em: 11 nov. 2024.

WHO – World Health Organization. **Evaluation of certain food additives**. Geneva: WHO Technical Report Series, 2005. Disponível em: https://www.naturalingredient.org/wp/wp-content/uploads/WHO_TRS_928.pdf. Acesso em: 22 set. 2024.

WOLTER, Alessandra Teresinha; PINTO, Andrea Troller. Avaliação da vida de prateleira de ovos de galinha com revestimento à base de proteína. In: CORDEIRO, C. A. M.; SILVA, E. M. da.; BARRETO, N. S. E. (org.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Pesquisa e Práticas Contemporâneas**. [S. l.]: Editora Científica Digital, 2021. v. 2, c. 9, p. 140-152. Disponível em: <https://www.editoracientifica.com.br/books/chapter/avaliacao-da-vida-de-prateleira-de-ovos-de-galinha-com-revestimento-a-base-de-proteina>. Acesso em: 24 nov. 2024.

XAVIER, T. D. N.; OLIVEIRA, V. R. L.; SANTOS, F. K. G.; LEITE, R. H. De LIMA.; AROUCHA, E. M. M. Filmes biopoliméricos baseados em fécula, quitosana e cera de carnaúba e suas propriedades. **Revista Matéria**, [Rio de Janeiro], v. 25, n. 4, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-707620200004.1166>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rmat/a/7dP7kgBZwgHVJG6XppbKxNt/>. Acesso em: 29 nov. 2024.