



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ALINE DE SOUZA LOPES

**AÇÃO DE CONSERVADORES, EDULCORANTES, ÓLEOS
ESSENCIAIS E EXTRATOS DE CASCAS DE FRUTAS SOBRE
BACTÉRIAS PROBIÓTICAS**

**ACTION OF PRESERVATIVES, SWEETENERS, ESSENTIAL OILS,
AND EXTRACTS OF FRUIT PEELS ON PROBIOTIC BACTERIA**

Campinas, 2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ALINE DE SOUZA LOPES

**AÇÃO DE CONSERVADORES, EDULCORANTES, ÓLEOS ESSENCIAIS E
EXTRATOS DE CASCAS DE FRUTAS SOBRE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS**

**ACTION OF PRESERVATIVES, SWEETENERS, ESSENTIAL OILS, AND
EXTRACTS OF FRUIT PEELS ON PROBIOTIC BACTERIA**

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Ciência de Alimentos.

Thesis presented to the Faculty of Food Engineering of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Food Science.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida por Aline de Souza Lopes e orientada pela Profa. Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte.

Campinas, 2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

L881a Lopes, Aline de Souza, 1979-
Ação de conservadores, edulcorantes, óleos essenciais e extratos de cascas de frutas sobre bactérias probióticas / Aline de Souza Lopes. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Marta Cristina Teixeira Duarte.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Probióticos. 2. Ácidos graxos de cadeia curta. 3. Crescimento bacteriano. I. Duarte, Marta Cristina Teixeira. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Action of preservatives, sweeteners, essential oils, and fruit peels extracts on probiotic bacteria

Palavras-chave em inglês:

Probiotics

Short-chain fatty acids

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Doutora em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Marta Cristina Teixeira Duarte [Orientador]

Adriane Elisabete Antunes de Moraes

Adilson Sartoratto

Rodrigo de Oliveira Moraes

Patrícia Blumer Zacarchenco Rodrigues de Sá

Data de defesa: 29-06-2021

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-3920-6340>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/3441061441723853>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Profa. Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte (Orientadora)

Presidente da Comissão Julgadora
CPQBA/ UNICAMP

Profa. Dra. Adriane Elisabete Antunes de Moraes

FCA/ UNICAMP

Prof. Dr. Adilson Sartoratto

CPQBA/ UNICAMP

Profa. Dra. Patrícia Blumer Zacarchenco Rodrigues de Sá

ITAL

Prof. Dr. Rodrigo Oliveira Moraes

FAT/ Probiom/ UNIFAJ

A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertações/Teses e na Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos.

AGRADECIMENTOS

À Orientadora, Dra. Marta C.T. Duarte do CPQBA/Unicamp, pela oportunidade e paciência. A Dra. Marta me recebeu de braços abertos, mesmo eu tendo que conciliar a tese com meu trabalho. Agradeço a oportunidade de executar este projeto sob sua orientação.

À minha família e ao Junior, meu marido, pelo apoio e paciência.

À Profa. Dra. Caroline Steel (DETA/FEA), minha chefe no momento que ingressei no doutorado, pelo incentivo.

À Msc. Elisabete Dias, pela amizade e apoio.

Às pessoas da Fundação André Tosello, em especial à Curadora da Coleção de Culturas Tropical Profa. Dra. Iracema Moraes, ao Prof. Dr. Rodrigo Moraes, à Msc. Josiane Conti e à Amanda Castanha, pelo apoio, amizade e doação de culturas utilizadas neste trabalho.

À Dra. Beatriz Iamanaka, ITAL, pela amizade e apoio de sempre.

À Bianca Wopereis FEA/Unicamp, à Profa. Dra. Karla Machado do IFPI/PI, à Profa. Dra. Thaísa Moro USU/RJ, à Dra. Rachel Bertoldo e à Msc. Ana Valéria Braga DETA/Unicamp, pela amizade e apoio em metodologias.

Ao Dr. Adilson Sartoratto do CPQBA/Unicamp, à Profa. Dra. Adriane Moraes da FCA/UNICAMP e à Profa. Dra. Taícia Fill do IQ/Unicamp, pela grande colaboração neste trabalho.

Ao Msc. Fernando Simabuco, Msc. Vivian Rodrigues e Luciana Fino da FCA/UNICAMP pelo apoio técnico na análise de citometria de fluxo.

Ao Luís Oliveira do IQ/Unicamp, pelo apoio técnico na análise de composição química.

À Camila Julio, à Andrea Ferrari e à Maria Aparecida Osteti da Secretaria de Pós-Graduação da FEA/UNICAMP.

Às pessoas da Divisão de Microbiologia do CPQBA, pela doação dos óleos essenciais e apoio financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), Código de financiamento 001, pelo apoio financeiro.

RESUMO

As disfunções metabólicas causadas pelo desequilíbrio da microbiota intestinal estão sendo associadas ao consumo de alimentos industrializados. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar espécies de bactérias probióticas e a ação *in vitro* de aditivos alimentares usados como conservadores e edulcorantes, bem como possíveis substitutos destes aditivos, como cascas de frutas e óleos essenciais. A ação sobre o crescimento das bactérias foi investigada através de teste turbidimétrico e pelas determinações das concentrações mínima inibitória (MIC) e bactericida mínima (MBC). Em seguida, as culturas probióticas foram expostas aos compostos de maior ação antimicrobiana e submetidas a cultivo em meio com inulina para investigação da produção de ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato), que foram analisados por cromatografia líquida. Os resultados obtidos mostraram que os conservadores sorbato de potássio (25 mg/mL), benzoato de sódio (5 mg/mL), bissulfito de sódio (0,7 mg/mL) e 1,5 mg/mL dos óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeilanicum*), cravo (*Eugenia caryophyllata*), orégano (*Origanum vulgare*) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*) apresentaram maior ação antimicrobiana sobre as espécies estudadas. *Lacticaseibacillus rhamnosus* foi avaliada quanto à atividade metabólica por citometria de fluxo na presença de sorbato de potássio, sacarina e óleo essencial de canela, o que demonstrou que o sorbato de potássio causou injúria e morte em 35% da população e redução da produção de ácidos graxos de cadeia curta. A sacarina, um dos edulcorantes avaliados, apresentou ação antimicrobiana na concentração de 5 mg/mL, e reduziu a produção de ácidos graxos de cadeia curta pelas espécies *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lacticaseibacillus rhamnosus*. O óleo essencial de canela apresentou o menor valor de MIC, de 0,31 mg/mL, para *Bifidobacterium longum*. Este óleo essencial causou injúria em 27% das células e diminuição da produção de ácidos graxos de cadeia curta em *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactococcus lactis*. Em relação aos extratos, a casca de melancia (*Citrullus lanatus*) agiu sobre *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* e *Bifidobacterium longum* com inibições, avaliadas pelo teste turbidimétrico, de 13, 10 e 24%, e na produção de ácido acético de 62, 90 e 17%, respectivamente. Assim, este extrato foi selecionado para identificação de sua composição química. Por fim, o óleo essencial de cravo apresentou maior concentração de compostos fenólicos, com 902,6 mg EAG / g amostra. A análise química do extrato etanólico de casca de melancia mostrou a presença de 19 compostos fenólicos dentre 49 moléculas principais encontradas, com um valor de 11,7 mg EAG/g de amostra.

ABSTRACT

Metabolic dysfunctions caused by the imbalance of the gut microbiota have been associated with the consumption of processed foods. Thus, this study aimed to evaluate probiotic bacteria species and the *in vitro* effects of food additives used as preservatives and sweeteners, as well as their substitutes, such as fruit peels and essential oils. The inhibition of bacterial growth was evaluated by turbidimetric detection, minimal inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC). Then, the probiotic cultures were exposed to the compounds with greater antimicrobial properties and subjected to cultivation in an inulin-based medium for the production of short-chain fatty acids (acetate, propionate, and butyrate), which went analyzed by liquid chromatography. The results showed that potassium sorbate (25 mg/mL), sodium benzoate (5 mg/mL), sodium bisulfite (0,7 mg/mL), and 1,5 mg/mL of cinnamon (*Cinnamomum zeilanicum*), cloves (*Eugenia caryophyllata*), oregano (*Origanum vulgare*), and lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oils exhibited greater antimicrobial power on the species studied. The metabolic activity determined by flow cytometry with *Lacticaseibacillus rhamnosus*, in the presence of potassium sorbate, saccharin and cinnamon essential oil, demonstrated that potassium sorbate led to 35% of cell damage, and death, and lower production of short-chain fatty acids. An antimicrobial effect was observed for saccharin at 5 mg/mL, and lower production of short-chain fatty acids for the *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Lacticaseibacillus rhamnosus* species. Cinnamon essential oil had the lowest MIC (0,31 mg/mL) for *Bifidobacterium longum*, and caused damage in 27% of the *Lacticaseibacillus rhamnosus* cells, with lower production of short-chain fatty acids for the *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Lactococcus lactis* species. Concerning the extracts studied, the watermelon peel (*Citrullus lanatus*) ethanolic extract presented a higher inhibitory effect on *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, and *Bifidobacterium longum*, with 13, 10, and 24% inhibition, and 62, 90, and 17% reduction of acetic acid production, respectively. The clove essential oil showed a higher amount of phenolic compounds, with a 902,6 mg GAE/g sample. Finally, 49 compounds were identified in the chemical characterization of the watermelon peel ethanolic extract, of which 19 were phenolic compounds, with a value of 11,7 mg GAE/g of sample.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Efeito dos conservadores benzoato de sódio (5 mg/mL), sorbato de potássio (25 mg/mL), nitrito de sódio (0,06 mg/mL) e bissulfito de sódio (0,7 mg/mL) sobre o crescimento de: 1A - *E. faecium*; 1B - *L. rhamnosus*; 1C - *L. lactis*; 1D - *L. acidophilus*; 1E - *B. longum*. 57
- Figura 2.** Efeito de 1,5 mg/mL dos óleos essenciais de orégano, pitanga, gengibre, laranja doce, canela, cravo e capim-limão, sobre o crescimento de: 2A - *E. faecium*; 2B - *L. rhamnosus*; 2C - *L. lactis*; 2D - *L. acidophilus*; 2E - *B. longum*. 59
- Figura 3.** Efeito de 1,5 mg/mL dos extratos etanólicos de casca de maçã gala, manga Tommy, melancia e banana prata, sobre o crescimento de: 3A - *E. faecium*; 3B - *L. rhamnosus*; 3C - *L. lactis*; 3D - *L. acidophilus*; 3E - *B. longum*. 60
- Figura 4.** Efeito dos adoçantes sacarina (5 mg/mL), estévia (4 mg/mL), sucralose (15 mg/mL), aspartame (10 mg/mL) e ciclamato (11 mg/mL), sobre o crescimento de: 4A - *E. faecium*; 4B - *L. rhamnosus*; 4C - *L. lactis*; 4D - *L. acidophilus*; 4E - *B. longum*. 63
- Figura 5.** Promoção de crescimento das bactérias probióticas pela inulina 1,5%. Ensaio em meio de cultura MRS após 24 h de cultivo. 5A - *E. faecium*; 5B - *L. rhamnosus*; 5C - *L. lactis*; 5D - *L. acidophilus*; 5E - *B. longum*. 67
- Figura 6.** Produção de ácido acético por *E. faecium*, após exposição ao benzoato de sódio (25 mg/mL), sorbato de potássio (50 mg/mL), sacarina (50 mg/mL), óleo essencial de canela (1,25 mg/mL) e extrato etanólico de casca de melancia (20 mg/mL), e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, em meio contendo 1,5% de inulina. 68
- Figura 7.** Produção de ácido acético (7A), ácido propiônico (7B) e ácido butírico (7C) *L. acidophilus*, após a exposição ao benzoato de sódio (25 mg/mL), sorbato de potássio (12,5 mg/mL), sacarina (12,5 mg/mL), óleo essencial de canela (1,25 mg/mL) e extrato etanólico de casca de melancia (10 mg/mL), e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, de meio contendo 1,5% de inulina. 70
- Figura 8.** Produção de ácido acético (8A) e ácido propiônico (8B) *L. lactis*, após a exposição ao benzoato de sódio (25 mg/mL), sorbato de potássio (12,5 mg/mL), sacarina (25 mg/mL), óleo essencial de canela (0,63 mg/mL), e extrato etanólico de casca de melancia (10 mg/mL) e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, de meio contendo 1,5% de inulina. 71
- Figura 9.** Produção de ácido acético (9A) e ácido propiônico (9B) *B. longum*, após a exposição ao benzoato de sódio (12,5 mg/mL), sorbato de potássio (12,5 mg/mL), sacarina (3,1 mg/mL), óleo essencial de canela (0,16 mg/mL) e extrato etanólico de casca de melancia (5 mg/mL), e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, de meio contendo 1,5% de inulina. 72
- Figura 10.** Produção de ácido acético (10A) e ácido propiônico (10B) *L. rhamnosus*, após a exposição ao benzoato de sódio (25 mg/mL), sorbato de potássio (25 mg/mL), sacarina (12,5 mg/mL), óleo essencial de canela (5 mg/mL) e extrato de casca de melancia (10 mg/mL), e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, de meio contendo 1,5% de inulina. 74
- Figura 11.** Análise por citometria de fluxo com cultura de *L. rhamnosus* crescida na presença de 25 mg/mL de sorbato de potássio, acompanhado de controle (amostra sem exposição) e controle 80 °C (controle de células mortas - tratamento

térmico de 80 °C/ 10 min). Porcentagem de células vivas, injuriadas, mortas e artefatos.....	76
Figura 12. Análise por citometria de fluxo com cultura de <i>L. rhamnosus</i> crescida na presença de 12,5 mg/mL de sacarina, acompanhada de controle (amostra sem exposição) e controle 80 °C (controle de células mortas - tratamento térmico de 80 °C/ 10 min). Porcentagem de células vivas, injuriadas, mortas e artefatos....	77
Figura 13. Análise por citometria de fluxo com cultura de <i>L. rhamnosus</i> crescida na presença de 5 mg/mL de óleo essencial de canela, acompanhado de controle (amostra sem exposição) e controle 80 °C (controle de células mortas - tratamento térmico de 80 °C/ 10 min). Porcentagem de células vivas, injuriadas, mortas e artefatos.....	78
Figura 14. Contagem de células (log UFC/mL) das suspensões padronizadas em 0,5 ± 0,1 (Abs), analisadas por citometria de fluxo.....	78
Figura 15. Dot-plots observados durante a análise por citometria de fluxo com <i>L. rhamnosus</i> : 15A Controle positivo (sem ação dos conservadores), 15B Controle negativo (tratamento térmico), 15C óleo essencial de canela, 15D sacarina, 15E sorbato de potássio. UL “vivas”; UR “injuriadas”; LL “artefatos”; LR “mortas”....	79
Figura 16. Gráfico A, tempo de retenção da análise realizada por CLAE e gráfico B, espectros de massa dos compostos.	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Óleos essenciais utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana com bactérias probióticas.	48
Tabela 2. Frutas cujos extratos etanólicos foram utilizados quanto a ação sobre o crescimento das bactérias probióticas.	49
Tabela 3. Conservadores, adoçantes e as concentrações utilizadas para verificar a ação sobre o crescimento das bactérias probióticas.	50
Tabela 4. Concentração mínima inibitória e concentração bactericida mínima (MIC e MBC - mg/mL) dos conservadores, edulcorantes, óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas sobre as bactérias probióticas estudadas.	65
Tabela 5. Teor de compostos fenólicos dos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas estudados.	80
Tabela 6. Compostos encontrados no extrato de casca de melancia através de análise por CLAE, com detecção MS/MS (ESI+). Resultados comparados com o banco de dados GNPS.	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ATCC** - *American Type Culture Collection*
- CCT** – Coleção de Culturas Tropical
- cFDA** - Diacetato de Carboxifluoresceína (*Carboxyfluorescein Diacetate*)
- CLAE** - Cromatografia Líquido de Alta Eficiência
- CLSI** – *Clinical and Laboratory Standards Institute*
- EAG** - Equivalente Ácido Gálico
- EFSA** - *European Food Safety Authority*
- FAO** – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*
- FAT** – Fundação André Tosello
- FCA** - Faculdade de Ciências Aplicadas
- FDA** - *Food and Drug Administration*
- FSC** - Dispersão Direta (*Forward Scatter*)
- GNPS** - *Global Natural Product Social Molecular Networking*
- IDA** - Ingestão Diária Aceitável (mg/kg de peso corpóreo)
- IUPAC** - *International Union of Pure and Applied Chemistry*
- JECFA** – *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*
- LLPP** - Laboratório de Lácteos, Probióticos e Prebióticos
- MRS/MRSs** - Man Rogosa Sharpe/ “s”- suplementado
- MBC** - Concentração Bactericida Mínima (*Minimum Bactericidal Concentration*)
- MIC** - Concentração Mínima Inibitória (*Minimum Inhibitory Concentration*)
- MS (ESI)** – *Mass Spectrometry (Electrospray Ionization)*
- PCR** - *Polymerase Chain Reaction*
- PI** - Iodeto de propídio (*Propidium Iodide*)
- PBS** - Solução Salina Fosfato Tamponada
- SSC** - Dispersão lateral (*Side Scatter*)
- WHO** – *World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 Probióticos	17
3.1.1 <i>Firmicutes</i>	18
3.1.1.1 <i>Enterococcus faecium</i>	18
3.1.1.2 <i>Lactococcus lactis</i>	19
3.1.1.3 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	20
3.1.1.4 <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	20
3.1.2 <i>Actinobacteria</i>	21
3.1.2.1 <i>Bifidobacterium longum</i>	22
3.1.3 Mecanismos de atuação de micro-organismos probióticos.....	22
3.2 Aditivos em alimentos – Conservadores e Edulcorantes.....	23
3.2.1 Conservadores (conservantes)	24
3.2.1.1 Benzoato de sódio INS 211	24
3.2.1.2 Sorbato de potássio INS 202	25
3.2.1.3 Nitrito de sódio INS 250	25
3.2.1.4 Bissulfito de sódio INS 222	26
3.2.2 Edulcorantes	26
3.2.2.1 Estévia – Glicosídeo de esteviol INS 960.....	27
3.2.2.2 Sacarina INS 954	28
3.2.2.3 Ciclamato INS 952	28
3.2.2.4 Sucralose INS 955	29
3.2.2.5 Aspartame INS 951	29
3.3 Fitoquímicos	30
3.3.1 Compostos Fenólicos	30
3.3.2 Alcaloides	31
3.3.3 Terpenos	32
3.3.3.1 Esteróis.....	32
3.3.4 Saponinas	33
3.3.5 Glicosídeos.....	34
3.4 Óleos essenciais e Extratos etanólicos de cascas de frutas.....	34
3.4.1 Óleo Essencial de Canela - <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	35
3.4.2 Óleo Essencial de Orégano - <i>Origanum vulgare</i>	36
3.4.3 Óleo Essencial de Cravo - <i>Eugenia caryophyllata</i>	37
3.4.4 Óleo essencial de Capim-limão - <i>Cymbopogon citratus</i>	38
3.4.5 Óleo Essencial de Gengibre - <i>Zingiber officinale</i>	39
3.4.6 Óleo Essencial de Pitanga - <i>Eugenia uniflora</i>	41
3.4.7 Óleo Essencial de Laranja Doce - <i>Citrus sinensis</i>	42

3.4.8	Banana Prata - <i>Musa sapientum</i>	43
3.4.9	Maçã Gala - <i>Malus domestica</i>	44
3.4.10	Manga Tommy - <i>Mangifera indica</i>	45
3.4.11	Melancia - <i>Citrullus lanatus</i>	46
4.	MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1	Micro-organismos	47
4.2	Manutenção e cultivo das bactérias	47
4.3	Óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas - método de extração... ..	47
4.4	Conservadores, edulcorantes e inulina	49
4.5	Efeito dos conservadores, edulcorantes, extratos etanólicos de cascas de frutas, óleos essenciais e inulina sobre o crescimento das bactérias probióticas	50
4.6	Determinação da Concentração Mínima Inibitória (MIC) e Concentração Bactericida Mínima (MBC).....	51
4.7	Estimulação da produção de ácidos graxos de cadeia curta – acetato, butirato e propionato	52
4.8	Avaliação da atividade metabólica do <i>L. rhamnosus</i> através de citometria de fluxo.....	53
4.9	Estimativa do teor de compostos fenólicos dos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas	54
4.10	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e detecção por MS/MS (ESI +) do extrato de casca de fruta de maior ação antimicrobiana.....	54
4.11	Análise estatística.....	55
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1	Avaliação da atividade antimicrobiana dos conservadores, óleos essenciais, extratos etanólicos de cascas de frutas e adoçantes sobre o crescimento das bactérias probióticas	56
5.2	Estimulação da produção de ácidos graxos de cadeia curta – acetato, butirato e propionato	66
5.3	Avaliação da atividade metabólica do <i>L. rhamnosus</i> através de citometria de fluxo.....	75
5.4	Teor de compostos fenólicos nos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas estudados.....	80
5.5	Composição química do extrato etanólico de casca de melancia.	81
6.	CONCLUSÃO	95
7.	REFERÊNCIAS	97
8.	ANEXO	150
	Certidão SISGEN	150

1. INTRODUÇÃO GERAL

Estudos sobre a microbiota intestinal humana têm sido um dos desafios atuais, pois existe a necessidade de uma melhor compreensão de como os micro-organismos podem influenciar a vida das pessoas e de como a presença ou ausência de grupos microbianos específicos podem beneficiar a saúde (RAY, 2012). Assim, estudos relacionados a este tema aumentaram, principalmente para entendimento da composição da microbiota e dos mecanismos de simbiose entre os micro-organismos nela presentes (ORIACH *et al.*, 2016).

No intestino se encontram micro-organismos sacarolíticos e proteolíticos representados pelos *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacteria*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Clostridium*, *Bacillus* e espécies pertencentes aos 25 gêneros, subdivididos do antigo táxon, *Lactobacillus* (KASHTANOVA *et al.*, 2016; ZHENG *et al.*, 2020).

Culturas probióticas como *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactocaseibacillus*, *Enterococcus* e *Bifidobacterium* regulam muitos aspectos da fisiologia do hospedeiro, incluindo função imunológica, estimulação da multiplicação de bactérias benéficas, homeostase metabólica e metabolismo de carboidratos, incluindo fibras (WONG *et al.*, 2019, MARKOWIAK & ŚLIŻEWSKA, 2017). A hidrólise das fibras gera ácidos graxos de cadeia curta, que são produtos que regulam as células epiteliais do cólon (crescimento, proliferação e diferenciação), e atuam como substratos energéticos para o metabolismo da glicose, colesterol e lipídios (QUIGLEY 2010, HIRAYAMA & RAFTER, 2012). Por outro lado, os alimentos *in natura* estão sendo substituídos pelos industrializados, devido à maior durabilidade e praticidade (FERREIRA, 2015). O uso de aditivos nos alimentos industrializados causa preocupação à saúde do consumidor, como também se a presença destes ingredientes, quando ingeridos, podem causar desequilíbrio na microbiota intestinal, e com isso problemas como obesidade, diabetes, câncer, infecções, doenças cardiovasculares e psiquiátricas (FERREIRA, 2015; ORIACH *et al.*, 2016).

Os estudos sobre o aumento da vida de prateleira dos alimentos geraram dados da ação antimicrobiana dos conservadores sobre bactérias patogênicas e deteriorantes de alimentos, mas há poucos relatos sobre a ação destas substâncias

em culturas probióticas (MIRZA *et al.*, 2017). Vinderola *et al.* (2002) descreveram a ação de aditivos e suas principais dosagens utilizadas na formulação de produtos lácteos em bactérias probióticas, com o propósito de averiguarem se um produto para consumo, adicionado de micro-organismos, teria redução da população devido à presença destes ingredientes.

A busca por novos métodos de preservação, com o propósito de diminuir o uso de substâncias sintéticas, tóxicas e agressivas ao organismo, incentivou os estudos sobre a utilização de extratos de cascas de frutas e óleos essenciais como conservadores em alimentos (BERTINI *et al.*, 2005; SIRAJUDIN *et al.*, 2014). Dados sobre ação destes substitutos em bactérias probióticas são informações importantes, pois há relatos de ações modulatórias dos compostos fenólicos na microbiota intestinal, agindo em bactérias como *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* e *Escherichia coli*, favorecendo a competição de gêneros como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (LAPARRA & SANZ, 2010; SELMA *et al.*, 2009).

A preocupação com a alimentação e o uso de aditivos não se limita apenas aos conservadores. Suez *et al.* (2014), descreveram, através de testes *in vivo*, problemas na ingestão de adoçantes e sua ação sobre a composição da microbiota intestinal, causando problemas metabólicos no organismo, relacionados à absorção de glicose.

Diversos aditivos utilizados na indústria de alimentos podem agir em micro-organismos benéficos, sendo necessários estudos adicionais sobre a ação dos edulcorantes, conservadores, óleos essenciais e subprodutos de processos, como extratos etanólicos de cascas de frutas, no crescimento e injúria bacteriana (EVERIS, 2001), o que foi proposto no presente trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a ação de conservadores, adoçantes, óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas sobre bactérias probióticas, verificando, através de teste *in vitro*, o efeito sobre a população e sobre a produção de ácidos graxos de cadeia curta.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito de conservadores, adoçantes, óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas sobre o crescimento das bactérias probióticas, através da determinação da atividade antimicrobiana;

Avaliar a produção de ácidos graxos de cadeia curta pelas bactérias após exposição ao benzoato de sódio, sorbato de potássio, sacarina, óleo essencial de canela e extrato etanólico de casca de melancia;

Avaliar a atividade metabólica e danos celulares causados pelas amostras de maior atividade antimicrobiana, elencando, para isto, uma das bactérias;

Estimar a concentração de compostos fenólicos dos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas e verificar a composição química do extrato de maior efeito inibitório sobre as bactérias.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Probióticos

O sistema digestório contém diferentes espécies microbianas que, quando em equilíbrio, favorecem o bom funcionamento do organismo (BIELECKA *et al.*, 2002). Uma das formas de manter este equilíbrio é através da ingestão de probióticos, prebióticos e simbióticos (BIELECKA *et al.*, 2002; SAAD, 2006; SLAVIN, 2013).

Culturas probióticas são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde (WHO, 2002).

No Brasil, conforme Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estes micro-organismos, para serem selecionados e utilizados, precisam ter histórico de uso seguro, ausência de resistência aos antibióticos, adesão às células intestinais, sobreviver a sais biliares e ambiente gástrico (NUENO-PALOP & NARBAD, 2011; BRASIL, 2018). Em outros países e continentes, eles necessitam atender aos seus respectivos órgãos reguladores como, por exemplo o FDA (*Food and Drug Administration*) nos Estados Unidos e EFSA (*European Food Safety Authority*) na Europa (SIMON, 2005; ANADÓN, 2006; GAGGIA *et al.*, 2010; REID, 2016; MARKOWIAK & ŚLIŻEWSKA, 2017; WONG *et al.*, 2019).

Gêneros como *Bifidobacterium* (Filo *Actinobacteria*), *Lactobacillus*, *Lacticaseibacillus* (e outros dos novos gêneros provindos dos *Lactobacillus*), *Lactococcus* e *Enterococcus* (Filo *Firmicutes*), são os principais probióticos utilizados em alimentos por poderem ser isolados do sistema gastrointestinal de humanos saudáveis (SAAD, 2006; BONGAERTS & SEVERIJNEN, 2016; MARKOWIAK & ŚLIŻEWSKA, 2017; KERRY *et al.*, 2018).

Alguns exemplos de espécies utilizadas como probióticas foram citadas por Kerry *et al.* (2018), Markowiak & Śliżewska (2017) e Saad (2006), sendo estas *Bifidobacterium bifidum*, *B. breve*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. catenulatum*, assim como *Lactobacillus helveticus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *Lactococcus lactis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Ligilactobacillus salivarius* e *Enterococcus faecium*.

3.1.1 *Firmicutes*

O filo *Firmicutes* possui 3 classes, *Bacilli*, *Clostridia* e *Erysipelotrichia*, estas classes são constituídas de 26 famílias (VOS *et al.*, 2011) e 246 gêneros devido à nova classificação do antigo táxon dos *Lactobacillus*, dividindo este em 25 gêneros conforme seus clados (ZHENG *et al.*, 2020).

Bactérias deste filo podem ser esféricas, retas, curvas e helicoidais, com ou sem flagelos, aeróbias, anaeróbias e anaeróbias facultativas (VOS *et al.*, 2011; ZHENG *et al.*, 2020).

A parede celular das espécies deste filo é composta por ácido murâmico ou por ácido teicóico, conferindo rigidez. As bactérias, na sua maioria são Gram-positivas, mas famílias como *Veillonellaceae* e *Syntrophomonadaceae* coram como Gram-negativas (VOS *et al.*, 2011).

Alguns *Firmicutes* são termófilos e/ou halófilos. A maioria é quimiorganotrófico, existindo também os fotoheterotróficos e os anoxigênicos. As condições de multiplicação, para grande parte das espécies, são favorecidas em pH neutro, mas algumas bactérias são acidófilas ou se desenvolvem em pH alcalino (VOS *et al.*, 2011).

3.1.1.1 *Enterococcus faecium*

Gênero *Enterococcus* pertence à família *Enterococcaceae*, que possui também os gêneros *Atopobacter*, *Catelicoccus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* e *Vagococcus*, são cocos isolados, em pares ou em cadeias curtas (DEVRIESE *et al.*, 2006; VOS *et al.*, 2011).

Espécies desse gênero, tais como *E. faecalis* e *E. faecium* são isoladas de alimentos e também de amostras clínicas (DEVRIESE *et al.*, 2006).

A bactéria *E. faecium* não produz esporos e é oxidase negativa, anaeróbia facultativa e considerada do grupo ácido láctica, por possuir características como de ser Gram-positiva, catalase negativa e pela capacidade de converter glicose em ácido láctico como principal produto do metabolismo primário (FACKLAM *et al.*, 1995; HARDIE & WHILEY, 1997).

Culturas de *E. faecium* possuem o tempo de geração rápido em comparação as outras bactérias ácido lácticas e produzem compostos aromáticos

como diacetil, acetoína e 2,3 butanodiol em queijos através da fermentação do citrato (CENTENO *et al.*, 1999; AMARAL *et al.*, 2017), enzimas como lipase e proteases (GHRAIRI *et al.*, 2008; RAMAKRISHNAN *et al.*, 2016; CÁRDENAS *et al.*, 2016; KORDESEDEHI *et al.*, 2018), capacidade de produção de bacteriocinas (ACHEMCHAM *et al.*, 2005; BHARDWAJ *et al.*, 2010; REHAIEM *et al.*, 2010; AL-HASHEDI *et al.*, 2019; QIAO *et al.*, 2020), assimilam e reduzem os níveis de colesterol produzindo ácidos graxos de cadeia curta, como o propionato (HLIVAK *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2017; ALBANO *et al.*, 2018; MISHRA *et al.*, 2019).

3.1.1.2 *Lactococcus lactis*

Bactérias do gênero *Lactococcus* são Gram-positivas, microaerófilas, que crescem entre 10 °C a 45 °C, produzem ácido láctico a partir da glicose e são cocos que se arranjam na forma individual, pares ou em cadeia (VOS *et al.*, 2011).

Lactococcus lactis subsp. *lactis* consegue utilizar citrato na produção de diacetil, mas esta capacidade é mediada por plasmídeo por isso muito instável (SAMARŽIJA *et al.*, 2001). Bactérias desta espécie não são formadoras de esporos, não possuem flagelos e algumas cepas são capazes de excretarem polissacarídeos extracelulares (SAMARŽIJA *et al.*, 2001).

O metabolismo da lactose de *L. lactis* acontece com assimilação simultânea da glicose e galactose, outra etapa intermediada por plasmídeo (SONG, 2017; SAMARŽIJA *et al.*, 2001). Esta espécie tornou-se um dos modelos genéticos de bactérias ácido lácticas por possuir um genoma pequeno (SONG, 2017).

Como *Enterococcus*, bactérias da espécie *L. lactis*, possuem enzimas produtoras de compostos voláteis (diacetil, acetaldeído e acetato) conferindo sabor aos queijos (SONG 2017; CADIÑANOS *et al.*, 2019). São, também, produtoras de bacteriocinas (TODOROV *et al.*, 2007; TURGIS *et al.*, 2016; LOZO *et al.*, 2017; ACUÑA *et al.*, 2020) e peptídeos com atividades na redução da pressão arterial e antitumorais (AYYASH, 2018; BELTRÁN-BARRIENTOS *et al.*, 2018; TANHAEIAN *et al.*, 2019; JACOUTON *et al.*, 2019; JASKULSKI *et al.*, 2020).

3.1.1.3 *Lactobacillus acidophilus*

Gênero *Lactobacillus* detinha o maior número do grupo de bactérias ácido lácticas, mas em abril de 2020, ele foi dividido em 25 novos gêneros (ZHENG *et al.*, 2020).

Muitas espécies que pertenciam ao antigo gênero *Lactobacillus* possuem a capacidade de produzir ácidos graxos de cadeia curta através da fermentação de carboidratos (LEBLANC *et al.*, 2017; ZHENG *et al.*, 2020).

Lactobacillus acidophilus são bastonetes curtos, Gram-positivos, crescem em temperatura ótima de 37 °C a 42 °C (ALTERMANN *et al.*, 2005), são pouco tolerantes ao oxigênio (CLAESSON *et al.*, 2007; VOS *et al.*, 2011), incapazes de sintetizar riboflavina, piridoxina, nicotinamida, biotina e ácido fólico (ALTERMANN *et al.*, 2005) sendo por isso necessário o uso de meios como o MRS-Man, Rogosa e Sharpe (BULL *et al.*, 2013).

Culturas de *L. acidophilus*, isoladas da microbiota intestinal, inclusive a estirpe ATCC 4356 (BULL *et al.*, 2013), possuem como principais características, resistência à bile (PFEILER & KLAENHAMMER, 2009; KHALEGHI *et al.*, 2010) tolerância ao pH baixo, aderência a células do cólon (PAN *et al.*, 2009; BOTH *et al.*, 2010), produção de agentes antimicrobianos (TABASCO *et al.*, 2009; SAAD *et al.*, 2015) e enzimas como β -galactosidase (ISMAIL *et al.*, 2010; AHMAD *et al.*, 2014).

Há estudos, sobre a capacidade de *L. acidophilus* mediar a resposta imune (KLEIN *et al.*, 2008; BRON *et al.*, 2012; MAROOF *et al.*, 2012) e reduzir o colesterol sérico no organismo (SHAH, 2007; HUANG *et al.*, 2014; TOMARO-DUCHESNEAU *et al.*, 2014; SHAO *et al.*, 2017).

3.1.1.4 *Lacticaseibacillus rhamnosus*

Lacticaseibacillus rhamnosus (ZHENG *et al.*, 2020) é uma bactéria ácido láctica e possui formato de bastonete curto, sendo Gram-positiva, não esporulada, anaeróbia facultativa e com temperatura ótima de crescimento de 30 °C a 40 °C (VOS *et al.*, 2011).

A capacidade heterofermentativa facultativa possibilita à espécie utilizar pentoses para produzir ácido acético (OLIVEIRA *et al.*, 2012). *Lacticaseibacillus rhamnosus* é encontrada em derivados de leite, cavidade vaginal e no trato

gastrointestinal, com característica transitória neste local (REUTER, 2001, SUCCI *et al.*, 2005; LEÃO *et al.*, 2015).

Douillard *et al.* (2013), utilizaram como comparação a cultura de *L. rhamnosus* GG, principal espécie probiótica e analisaram geneticamente o comportamento de 100 variedades de *L. rhamnosus*, isolados de alimentos e seres humanos. As espécies isoladas de humanos foram as que se aproximaram das características do *L. rhamnosus* GG, concluindo que o local de origem pode influenciar nas características metabólicas, sistema de resistência a fagos, reações ao estresse e comportamento de colonização.

Lactocaseibacillus rhamnosus é produtor de enzimas como proteases e β -galactosidase (AZARNIA *et al.*, 2010; PITHVA *et al.*, 2014) e exopolissacarídeos (BLEAU *et al.*, 2010; SHAO *et al.*, 2014).

3.1.2 Actinobacteria

O filo *Actinobacteria* é dividido em 6 classes, denominadas de *Actinobacteria*, *Acidimicrobiidia*, *Coriobacteriia*, *Nitrospirae*, *Rubrobacteria* e *Thermoleophilia*, 21 ordens, 54 famílias e 246 gêneros (LUDWIG, 2012, GOODFELLOW, 2015).

Bactérias deste filo são Gram-positivas ou variáveis, aeróbias, anaeróbias facultativas ou anaeróbias. A composição da parede celular varia entre as espécies, apresentando ácido murâmico e ácido teicóico (LUDWIG, 2012). Os gêneros são quimiorganotróficos e crescem em pH neutro, mas também existem os grupos dos acidófilos e os que toleram pH alcalino (LUDWIG, 2012; GOODFELLOW, 2015). As células podem ser no formato de cocos ou bastonetes em filamentos parecidos com micélios (LUDWIG, 2012; GOODFELLOW, 2015).

Actinobacteria é saprófito e algumas espécies são patogênicas para plantas e animais. Este filo está presente em ambientes aquáticos, terrestres e organismos (GOODFELLOW, 2015).

3.1.2.1 *Bifidobacterium longum*

Bifidobacterium longum é encontrada em ambiente gastrointestinal de adultos e crianças, tem por característica possuir uma grande variedade de plasmídeos, formato de bastonete, Gram-positiva, anaeróbica, microerotolerante, catalase negativa (SGORBATI *et al.*, 1995; REUTER, 2001; BIAVATI & MATTARELLI, 2015; MATTARELLI *et al.*, 2017).

Gênero *Bifidobacterium* é fastidioso e sensível a algumas condições ambientais como umidade, temperatura, ácidos estomacais e sais biliares (KLEIN *et al.*, 1998; LIEVIN *et al.*, 2000).

Bifidobacterium longum é capaz de hidrolisar fruto-oligossacarídeos a ácidos graxos de cadeia curta, (LEAHY *et al.*, 2005; MATTARELLI *et al.*, 2008), e a síntese destes produtos é regulada pela quantidade de carboidratos presentes no meio (MACFARLANE & MACFARLANE, 2003; LEBLANC *et al.*, 2017).

Bactérias probióticas da espécie *B. longum* são importantes por serem capazes de colonizar o trato gastrointestinal humano, gerarem equilíbrio (WONG *et al.*, 2019), modular a resposta imunológica (LAPARRA *et al.*, 2012; AKATSU *et al.*, 2013), melhorarem o metabolismo dos lipídios (XIAO *et al.*, 2003; AN *et al.*, 2011) e auxiliarem na ação antioxidante (LIN & CHANG, 2000; YEUNG *et al.*, 2016; BIANCHI *et al.*, 2018).

3.1.3 Mecanismos de atuação de micro-organismos probióticos

As culturas probióticas agem no organismo interagindo com o sistema imunológico, aderindo e realizando a manutenção da integridade da barreira epitelial do intestino e produzindo importantes metabólitos, como vitaminas do complexo B, enzimas, coenzimas, agentes antimicrobianos e anticancerígenos (NG *et al.*, 2009; BERMUDEZ-BRITO *et al.*, 2012; BUTEL, 2014; ALMADA *et al.*, 2015; REID, 2016).

O trato gastrointestinal possui 70% das células envolvidas no sistema imunológico e bactérias probióticas podem estimular a imunidade, através do aumento dos linfócitos T e B e da atividade dos macrófagos (HIRAYAMA & RAFTER, 2012).

A barreira física contra agentes estranhos que existe no intestino é mantida por células que produzem muco, peptídeos antimicrobianos e lisozimas (ALMADA *et al.*, 2015). Os micro-organismos probióticos, ao aderirem nesta barreira, estimulam a

produção de muco e assim agem na manutenção e integridade da mesma (NG *et al.*, 2009; BERMUDEZ-BRITO *et al.*, 2012; ALMADA *et al.*, 2015).

A competição pelos nutrientes e espaço é outra característica importante da ação das culturas probióticas, assim como também a capacidade de produzir agentes antimicrobianos, criando um ambiente hostil para bactérias patogênicas e carcinogênicas, produtoras, por exemplo, de nitrosaminas (ELMUNZER *et al.*, 2012).

No ambiente de crescimento de culturas probióticas há formação de bacteriocinas (DRIDER *et al.*, 2016; HEGARTY *et al.*, 2016), espécies reativas de oxigênio (LIN *et al.*, 2009), conjugados de ácidos biliares (BERMUDEZ-BRITO *et al.*, 2012) e ácidos orgânicos, reduzindo o pH (BUTEL, 2014; ALMADA *et al.*, 2015; LEBLANC *et al.*, 2017).

Os principais ácidos graxos de cadeia curta envolvidos são ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico, produtos da quebra de fibras não digeríveis como celulose e oligossacarídeos. Os ácidos orgânicos promovem o crescimento das células epiteliais da mucosa do cólon controlando a diferenciação, inflamação e o estresse oxidativo (QUIGLEY, 2010).

O acetato é produzido a partir do piruvato via acetil-CoA e também pela via Wood-Ljungdahl. O butirato é sintetizado a partir de duas moléculas de acetil-CoA, produzindo acetoacetil-CoA, que é posteriormente convertido em butiril-CoA via β -hidroxibutiril-CoA e crotonil-CoA. O propionato pode ser formado a partir da fosfoenolpiruvato, através da via do succinato ou da via do acrilato, na qual o lactato é reduzido a propionato (KOH *et al.*, 2016).

3.2 Aditivos em alimentos – Conservadores e Edulcorantes

Aditivos alimentares são substâncias que podem ou não ter valor nutritivo e são adicionados intencionalmente para fins tecnológicos (incluindo os organolépticos) nas fases de preparação, tratamento, acondicionamento, transporte e armazenamento do alimento (FAO/WHO; POLÔNIO & PERES, 2009; GAVA *et al.*, 2009; NEELAM & MISHRA, 2018).

Os aditivos são controlados e avaliados através da IDA (Ingestão Diária Aceitável), parâmetro desenvolvido pelo JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) (FAO/WHO; GAVA *et al.*, 2009; BRASIL, 1997).

O aumento da ingestão de aditivos, principalmente conservadores e edulcorantes, está sendo discutida atualmente devido às associações com problemas de saúde relacionados a alergias, alterações comportamentais e surgimento de cânceres (POLÔNIO & PERES, 2009; RAPOSA *et al.*, 2016; SHARIATI *et al.*, 2016; XIE *et al.*, 2016).

Por estes motivos, produtos extraídos, por exemplo, de vegetais, com ações similares aos aditivos sintéticos estão sendo estudados (SEETARAMAIAH *et al.*, 2011; TAKWA *et al.*, 2018; SCHLÖSSER & PRANGE, 2019).

3.2.1 Conservadores (conservantes)

Os conservadores são substâncias que, quando adicionadas, agem evitando a deterioração microbiana e/ou enzimática do alimento, aumentando a estabilidade, vida de prateleira e obtenção de alimentos seguros (SHARIATI *et al.*, 2016; MIRZA *et al.*, 2017; NEELAM & MISHRA, 2018).

Existem mais de 3000 aditivos disponíveis no mercado e alguns deles são usados como antioxidantes e agentes antimicrobianos (MIRZA *et al.*, 2017).

Antimicrobianos como benzoatos, sulfitos, nitratos e sorbatos são muito utilizados em alimentos, agindo em bactérias e fungos, mas também no organismo humano (PEREIRA *et al.*, 2008; SHARIATI *et al.*, 2016).

3.2.1.1 Benzoato de sódio INS 211

O sal de benzoato de sódio é produzido pela neutralização do ácido benzoico e este conservador pode ser usado em dosagem de até 0,1% em alimentos ácidos, como suco de frutas, picles, conservas, geleias e refrigerantes (BRASIL, 2013; NOORAFSHAN *et al.*, 2014; MIRZA *et al.*, 2017; NEELAM & MISHRA, 2018).

A indústria vem usando o ácido benzoico e seus sais por aproximadamente um século para conservar alimentos e, mais recentemente, na fabricação de cosméticos (NOORAFSHAN *et al.*, 2014; MIRZA *et al.*, 2017).

O ácido benzoico é um ácido orgânico fraco que pode ser sintetizado a partir do tolueno, e que também existe em ameixas e amoras (WAWASE *et al.*, 2008).

A FAO/WHO (JECFA) determinou a IDA do benzoato de sódio e potássio em 5 mg/kg (ZENGIN *et al.*, 2011).

O benzoato de sódio é metabolizado nas mitocôndrias e eliminado na forma de hipurato pelos rins (LENNERZ *et al.*, 2015). Há relatos de efeito genotóxico em linfócitos, nas concentrações de 6,25 a 100 µg/mL (ZENGIN *et al.*, 2011), formação de benzenos através de reações com ácido ascórbico, catalisada por metal e reações alérgicas (BONACCORSI *et al.*, 2012; MIRZA *et al.*, 2017).

3.2.1.2 Sorbato de potássio INS 202

O sorbato de potássio é um dos sais do ácido sórbico utilizado como conservador, principalmente contra fungos, e permitido nas concentrações de 0,03% em bebidas lácteas, 0,02% em carnes e 0,1% em produtos vegetais, sendo também utilizado em medicamentos e cosméticos (BRASIL, 2005; MAMUR *et al.*, 2012; ANAND & SATI, 2013; BRASIL, 2013). Os níveis aceitáveis de ingestão diária, recomendados pela FAO/WHO (JECFA) são de 25 mg/kg. O sorbato, em soluções aquosas, se decompõem por oxidação e essa reação pode ser acelerada em condições de pH baixo, temperatura alta e luz (MIRZA *et al.*, 2017). Piper & Piper (2017) descreveram que o produto gerado da oxidação tem efeito genotóxico.

O sorbato de potássio é absorvido por difusão no estômago e se dissocia em potássio, ácido sórbico e sorbitol. Após a dissociação, o ácido sórbico é absorvido pelo intestino delgado, onde 85% é metabolizado em dióxido de carbono, 2% eliminado na urina, 0,4% nas fezes e a parte restante se mantém no organismo (DEHGHAN *et al.*, 2018).

3.2.1.3 Nitrito de sódio INS 250

Nitritos e nitratos, além da ação contra a bactéria *Clostridium botulinum*, são utilizados em alimentos, geralmente em embutidos cárneos, como fixadores de cor (ESKIN & SHAHIDI, 2015).

O nitrito pode agir sobre a hemoglobina, oxidando o ferro, produzindo a metamioglobina e impedindo a função normal do transporte de oxigênio, causando no organismo um aumento da pressão arterial e doenças cardíacas (BRUNING-FANN &

KANEENE, 1993; POLÔNIO & PERES, 2009). No intestino, através da fermentação por bactérias Gram-negativas, nitritos formam nitrosaminas, um composto cancerígeno, sendo bem mais tóxico que o nitrato, porém o nitrato se reduz a nitrito na corrente sanguínea (CAMMACK *et al.*, 1999; ESKIN & SHAHIDI, 2015; XIE *et al.*, 2016).

A FAO/WHO estabeleceu para nitrito a IDA máxima de 0,06 mg/kg e para o nitrato IDA, de 3,7 mg/kg, proibindo o uso de nitrito em alimentos infantis para menores de três meses. A legislação permite o limite máximo de 0,015% de nitrito de sódio em produtos cárneos (BRASIL, 2019).

3.2.1.4 Bissulfito de sódio INS 222

Os sulfitos, incluindo o dióxido de enxofre e seus sais de sódio, potássio e cálcio, são aditivos de ação antimicrobiana, agindo em bactérias e leveduras, como também são antioxidantes inibindo escurecimento em sucos, néctares, frutas secas, frutos do mar, compotas, bebidas gaseificadas e alcoólicas (MACHADO *et al.*, 2006; FERREIRA, 2015). O bissulfito de sódio apresenta IDA de 0,7 mg/kg (FAO/WHO) e pode ser adicionado em produtos de frutas e vegetais nas concentrações até 0,005% para a ação antioxidante, e 0,01% como conservador (BRASIL, 2013).

Pessoas com problemas pulmonares e respiratórios devem evitar este aditivo (FAVERO *et al.*, 2011; FERREIRA, 2015). Os sulfitos apresentam ação carcinogênica e provocam hiperatividade em crianças (MACHADO *et al.*, 2006; FAVERO *et al.*, 2011; FERREIRA, 2015).

Os sulfitos, grande parte, são absorvidos no intestino, transformados em sulfato no fígado e excretados na urina. Sulfitos ingeridos podem, por ação da microbiota intestinal, se transformar em sulfeto de hidrogênio (H₂S) (EFSA, 2016; GARCIA-FUENTES *et al.*, 2015).

3.2.2 Edulcorantes

Edulcorantes ou adoçantes como sacarina, aspartame, ciclamato e esteviosídeos são produtos que podem atribuir sabor doce aos alimentos em substituição à sacarose (GAVA *et al.*, 2009; SILVA, 2016).

O consumo de adoçantes vem aumentando por causa da redução de custos e demanda da população em ingerir menos calorias, e/ou normalizar o nível de açúcar no sangue (FITCH & KEIM, 2012; GARDNER *et al.*, 2012; SUEZ *et al.*, 2014).

Recentemente, estudos relatam que os edulcorantes estão sendo associados a alguns problemas de saúde pelo fato de desequilibrarem a microbiota intestinal, causando doenças como diabetes tipo 2 (ANTON *et al.*, 2010; SUEZ *et al.*, 2014; PEPINO, 2015; SILVA *et al.*, 2016).

A maioria dos edulcorantes passa pelo trato gastrointestinal humano intacto e entra em contato com a microbiota intestinal (ROBERTS *et al.*, 2000; CLAEISSON *et al.*, 2012; MUEGGE *et al.*, 2011; SUEZ *et al.*, 2014; PEPINO, 2015).

Os efeitos antimicrobianos e bacteriostáticos dos edulcorantes, sacarina, sucralose, aspartame e estévia, em micro-organismos orais, foram demonstrados por Prashant *et al.*, (2012). Esta ação não se limita somente às bactérias orais, podendo estender-se à microbiota intestinal (PALMNÄS *et al.*, 2014; SUEZ *et al.*, 2014; PEPINO, 2015; DALY *et al.*, 2016).

3.2.2.1 Estévia – Glicosídeo de esteviol INS 960

O adoçante estévia é originário de um arbusto (*Stevia rebaudiana*) encontrado na América Latina em países como o Paraguai, Brasil e Argentina (GOYAL *et al.*, 2010, YADAV *et al.*, 2011). Essa planta é conhecida e usada por muitas gerações de povos indígenas destas regiões, para fins terapêuticos e atribuição de sabor em bebidas (GOYAL *et al.*, 2010, YADAV *et al.*, 2011; SAMUEL *et al.*, 2018).

O esteviosídeo, composto em maior quantidade, é um tipo de glicosídeo esteviol primário, não calórico, responsável pelo sabor doce de 50 a 350 vezes a mais que a sacarose (GOYAL *et al.*, 2010, YADAV *et al.*, 2011; SAMUEL *et al.*, 2018). Existem atualmente mais de 40 glicosídeos de esteviol identificados (PURKAYASTHA *et al.*, 2016).

O metabolismo da estévia demonstra que o glicosídeo esteviol chega intacto até o intestino onde a parte da molécula referente ao açúcar é consumida pelos micro-organismos, enquanto a outra é absorvida, sendo metabolizada no fígado e excretada pelo rim (GEUNS *et al.*, 2007; PURKAYASTHA *et al.*, 2016; MAGNUSON *et al.*, 2016; SAMUEL *et al.*, 2018).

A FAO/WHO (JECFA) determinou a ingestão diária aceitável de glicosídeo esteviol de 4 mg/kg e a legislação brasileira permite a adição de até 0,06% em alimentos e bebidas (BRASIL, 2008).

3.2.2.2 Sacarina INS 954

A sacarina foi descoberta acidentalmente em 1878 por Remsen & Fahlberg e era utilizada como remédio para controlar doenças como diabetes (CHATTOPADHYAY *et al.*, 2014; MAGNUSON *et al.*, 2016).

A característica ácida da sacarina dificulta a solubilidade em água e a mesma necessita ser convertida em sal, com hidróxido de sódio ou cálcio. Este edulcorante aceita uma ampla faixa de pH, mas é menos estável em temperaturas acima de 125 °C. O poder adoçante da sacarina é 300 a 500 vezes maior que o da sacarose, sendo a IDA de 5 mg/kg (DUBOIS, 2012; CHATTOPADHYAY *et al.*, 2014; MAGNUSON *et al.*, 2016). Em alimentos e bebidas, o máximo permitido pela legislação é de 0,015% (BRASIL, 2008).

A sacarina é absorvida no intestino e eliminada em grande parte na urina. Quando absorvida liga-se reversivelmente às proteínas plasmáticas e é distribuída pelo sangue para os órgãos do corpo, inclusive placenta e tecidos fetais de ratos, macacos e seres humanos (MAGNUSON *et al.*, 2016; BIAN *et al.*, 2017). Há relatos de alteração da microbiota intestinal por causa de seu consumo (SUEZ *et al.*, 2014; MAGNUSON *et al.*, 2016; BIAN *et al.*, 2017).

3.2.2.3 Ciclamato INS 952

O ciclamato, sal de ácido N-ciclo-hexil-sulfâmico é solúvel em água, principalmente na presença de sais de cálcio, sendo 30 vezes mais doce que a sacarose, possui um sabor residual amargo e por causa das duas últimas características, é utilizado em conjunto com outro adoçante, geralmente a sacarina, aspartame e/ou acessulfame K (DUBOIS, 2012; CHATTOPADHYAY *et al.*, 2014).

No intestino, uma parte da molécula do ciclamato é absorvida e a outra parte pode ser metabolizada por bactérias a ciclohexilamina, composto cancerígeno.

Por isso, a IDA de 11 mg/kg foi determinada pela toxicidade deste produto da fermentação (CHATTOPADHYAY *et al.*, 2014; MEDINA *et al.*, 2019).

O ciclamato não se concentra nos tecidos, sendo eliminado pela urina (DUBOIS, 2012). Em formulações de alimentos e bebidas o limite máximo de adição é de 0,04% (BRASIL, 2008).

3.2.2.4 Sucralose INS 955

A sucralose é um edulcorante derivado da sacarose, com a diferença de possuir átomos de cloro no lugar de grupos hidroxilas na molécula. Esta alteração causa o aumento de 600 vezes no poder de doçura (MAGNUSON *et al.*, 2016).

Há relatos de que a sucralose pode produzir, em altas temperaturas, substâncias prejudiciais como cloropropanóis e dioxinas (RAHN & YAYLAYAN, 2010; DONG, *et al.*, 2013; SCHIFFMAN & ROTHER, 2013; EISENREICH *et al.*, 2020).

A sucralose é solúvel em água, tolera ampla faixa de pH e não é digerida em monossacarídeos, saindo praticamente intacta pelo intestino e urina. Sua IDA foi determinada pela JECFA em 15 mg/kg (MAGNUSON *et al.*, 2016). A legislação permite a adição máxima de 0,04% para alimentos e 0,025% para bebidas (BRASIL, 2008).

Estudos descrevem que, em altas concentrações, ocorre efeito inibitório em bactérias orais (BOWEN *et al.*, 1990; OMRAN *et al.*, 2013).

3.2.2.5 Aspartame INS 951

O aspartame é uma molécula cristalina branca, 200 vezes mais doce que a sacarose e pouco solúvel em água (3 g/100 mL em pH 3). Sua estrutura é composta por éster metílico, L-aspartico e L-fenilalanina (CHATTOPADHYAY *et al.*, 2014). O FAO/WHO (JECFA) estabeleceu IDA de 40 mg/kg e no Brasil o limite máximo para ser adicionado em alimentos e bebidas é de 0,075% (BRASIL, 2008).

O aspartame é metabolizado em metanol, ácido aspártico e fenilalanina. Estes compostos são absorvidos no intestino chegando à corrente sanguínea (BUTCHKO *et al.*, 2002; MAGNUSON *et al.*, 2016). Por causa da conversão no

organismo a fenilalanina, pessoas fenilcetonúricas não podem consumir alimentos com este edulcorante (CHATTOPADHYAY *et al.*, 2014).

3.3 Fitoquímicos

Fitoquímicos são classificados conforme o papel que exercem no metabolismo das plantas, podendo ser compostos primários e secundários (SAXENA *et al.*, 2013).

Os compostos primários são os polissacarídeos, açúcares, proteínas e gorduras, substâncias essenciais à sobrevivência e desenvolvimento das plantas (SAXENA *et al.*, 2013).

Os constituintes secundários, responsáveis por características de cor, aroma e proteção à planta, são os alcaloides, terpenos, esteroides, saponinas, compostos fenólicos e seus respectivos glicosídeos (HARITH *et al.*, 2018).

3.3.1 Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos possuem em suas estruturas, anéis aromáticos com grupos hidroxila, existindo mais de 8.000 estruturas conhecidas, variando de moléculas simples a polimerizadas (LATTANZIO *et al.*, 2008; DAI & MUMPER, 2010).

Os principais compostos fenólicos vegetais são os polifenóis, ácidos fenólicos e taninos. Os estilbenos e lignanas aparecem em algumas espécies, mas em menores concentrações (DAI & MUMPER, 2010; SAXENA *et al.*, 2013).

Os ácidos fenólicos se apresentam no vegetal, principalmente nas formas insolúveis ou ligadas na forma de glicosídeos ou ésteres ligados a compostos orgânicos (SAXENA *et al.*, 2013). Estes ácidos são classificados em derivados do ácido benzoico (ácido gálico como exemplo) e derivados do ácido cinâmico (ácido cafeico e ferúlico, por exemplo) (RODRÍGUEZ *et al.*, 2009; DAI & MUMPER, 2010).

Já os flavonoides se apresentam como glicosídeos com moléculas de açúcares ligadas por meio do grupo OH (O-glicosídeos) ou por ligações carbono-carbono (C-glicosídeos) (ACOSTA-ESTRADA *et al.*, 2014).

Os polifenóis mais importantes na área de alimentos são os flavonoides, que possuem como estrutura um núcleo com flavana, contendo 15 átomos de carbono

dispostos em três anéis (C6-C3-C6), denominados de A, B e C, divididos em seis subgrupos: flavonas, flavonóis (catequinas e proantocianidinas), flavanonas, isoflavonas e antocianinas, de acordo com a oxidação do anel C e ao grau de hidroxilação, metoxilação, prenilação ou glicosilação (ANDERSEN *et al.*, 2005; RODRÍGUEZ *et al.*, 2009; DAI & MUMPER, 2010), e os taninos que podem ser hidrolisáveis e condensados.

Os taninos hidrolisáveis são compostos contendo um núcleo central de glicose ou outro poliol esterificado com ácido gálico, chamado de galotaninos, ou com ácido hexa-hidroxidifênico, elagitaninos. Os tipos condensados, pro-antocianidinas, são oligômeros ou polímeros de flavan-3-ol (DAI & MUMPER, 2010; SAXENA *et al.*, 2013).

A diversidade estrutural dos taninos é resultado da variação na hidroxilação, padrão estereoquímico dos três centros quirais e na localização e tipo de ligação inter-flavana, bem como no grau de metoxilação, glicosilação e galoilação (DAI & MUMPER, 2010).

3.3.2 Alcaloides

Os alcaloides receberam esta denominação pelo fato de serem compostos de caráter básico, mas com o tempo esta definição foi alterada pela presença de nitrogênio em um sistema de anel heterocíclico (KUKULA-KOCH & WIDELSKI, 2017).

As plantas são as principais fontes de alcaloides com aproximadamente 27.000 compostos descritos, onde geralmente estão nas formas ligadas aos ácidos orgânicos, ésteres, taninos ou açúcares (KUKULA-KOCH & WIDELSKI, 2017).

A nomenclatura não foi sistematizada e a maioria dos nomes se originou das plantas das quais foram isolados, ou por suas características fisiológicas (SAXENA *et al.*, 2013).

Os parâmetros utilizados na classificação se baseiam na estrutura química (aminas primárias, secundárias, terciárias ou quaternárias), atividade biológica, via de biossíntese e ocorrência (KUKULA-KOCH & WIDELSKI, 2017).

Conforme Aniszewski (2007), baseado na estrutura existem 3 tipos de alcaloides, os verdadeiros, derivados de aminoácidos heterocíclicos, os

protoalcalóides aminoácidos, mas não heterocíclicos e os pseudoalcaloides, derivados de precursores de aminoácidos.

3.3.3 Terpenos

Os terpenos são hidrocarbonetos insaturados, lipídios derivados de unidades de isopreno, que possuem fórmula molecular C_5H_8 , voláteis e aromáticos (BREITMAIER, 2006; KANDI *et al.*, 2015). A quantidade conhecida, desta classe de compostos chega ao número de 55.000 (GUIMARÃES *et al.*, 2014).

As estruturas dos terpenos são muito diversificadas (GUIMARÃES *et al.*, 2014). A maioria das moléculas é diferenciada pelos grupos funcionais ligados aos anéis e pelo esqueleto de carbono, sendo chamadas de terpenoides, quando há diferentes grupos funcionais e pelo grupo metila que se locomove em várias posições (PERVEEN & AL-TAWEEL, 2018).

A classificação dos terpenos e terpenoides ocorre através da quantidade de unidades de isopreno: hemiterpeno (1), monoterpenos (2), sesquiterpenos (3), diterpenos (4), sesterterpenos/sesterpenos (5) triterpenos (6), tetraterpenos (8) e politerpenos (muitas unidades) (SAXENA *et al.*, 2013; KANDI *et al.*, 2015, SILVA *et al.*, 2020).

Entre os metabólitos secundários de plantas, os terpenoides apresentam funções diversificadas como sinalizadores de fito-hormônios e fitoalexinas (compostos voláteis que atraem polinizadores), como também podem dar o sabor amargo e/ou tóxicos, quando os compostos são menos voláteis (SAXENA *et al.*, 2013; PERVEEN & AL-TAWEEL, 2018).

3.3.3.1 Esteróis

Os esteróis são lipídios encontrados nos seres vivos, quando estão em animais são chamados de colesterol, e fitoesteróis quando estão presentes em vegetais terrestres (ITO *et al.*, 2017).

Os fitoesteróis pertencem à família de triterpenos e possuem as estruturas em anéis, de 27 a 30 carbonos, com grupos hidroxila (ISLAM *et al.*, 2017).

Os principais fitoesteróis são estigmasterol, β -sitosterol e campesterol (DUESTER, 2001; MARTINS *et al.*, 2004; ITO *et al.*, 2017).

Os esteróis podem ser encontrados como uma mistura (ITO *et al.*, 2017), livres, ligados com ésteres (ácidos graxos ou fenólicos) ou na forma de glicosídeo (ISLAM *et al.*, 2017). Uma dessas interações é com fosfolipídios, ajudando as células vegetais a manter a fluidez e a permeabilidade da membrana plasmática (ABOObUCKER & SUZA, 2019).

3.3.4 Saponinas

As saponinas são moléculas com um alto peso molecular, contendo 27 a 30 átomos de carbono nas porções denominadas de genina, sapogenina ou agliconas (SINGH *et al.*, 2017; AZIZ *et al.*, 2019). A classificação da saponina, ocorre a partir desta parte apolar, em três grupos: glicosídeos triterpenoides, esteroides glicosilados e alcaloide esteroidal glicosilado (HOSTETTMANN & MARSTON, 2005; SAXENA *et al.*, 2013).

A combinação de moléculas apolares com polares explica a formação de espuma em soluções aquosas (VINCKEN *et al.*, 2007; KHARKWAL *et al.*, 2012).

Os açúcares mais usuais que fazem ligação glicosídica, são glicose, galactose, xilose, arabinose, ramnose ou ácido glucurônico (SAXENA *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2017).

As saponinas são divididas também em relação à ligação glicosídica, em monodesmosídicas (uma cadeia de açúcar ligada ao carbono 3 da aglicona) e bidesmosídicas (duas cadeias de açúcares ligadas separadamente ao carbono 3 e 22 da aglicona) (SINGH *et al.*, 2017).

A estrutura química da aglicona segrega os grupos em A, B e E. O grupo A possui o grupo hidroxila no carbono 21, o grupo B possui hidrogênio e o grupo E é a oxidação do grupo B por possuir um grupo carboxila no carbono 22 (SALGADO, 2017).

3.3.5 Glicosídeos

Os glicosídeos são uma classe de derivados de carboidratos caracterizados pela substituição do grupo hidroxila anomérico por O-glicosídeos, N-glicosídeos, S-glicosídeos (CAREY, 2011).

Os compostos fenólicos, terpenos, alcaloides, saponinas entre outros fitoquímicos podem se apresentar na forma de glicosídeos (BIERNAT *et al.*, 2018).

Theilmann *et al.* (2017) e Biernat *et al.* (2018) discutiram em seus trabalhos que a biodisponibilidade e bioatividade de compostos glicosilados são modulados pela microbiota intestinal.

Bactérias ácido lácticas isoladas do intestino, sendo uma delas o *L. acidophilus*, possuem genes capazes de metabolizar glicosídeos vegetais, gerando agliconas bioativas, compostos energéticos para células epiteliais humana e bactérias (THEILMANN *et al.*, 2017).

3.4 Óleos essenciais e Extratos etanólicos de cascas de frutas

Os óleos essenciais são sintetizados durante o metabolismo secundário de plantas aromáticas e armazenados em células secretoras, epidérmicas, cavidades e canais, sendo compostos orgânicos, aromáticos, voláteis, complexos e com baixo peso molecular (BAKKALI *et al.*, 2008; BURT, 2004).

Óleos essenciais são líquidos à temperatura ambiente e com propriedades hidrofóbicas (HYLDGAARD *et al.*, 2012).

Os compostos que estão presentes em óleos essenciais e cascas de frutas apresentam as funções de proteção (ação bactericida e fungicida) e mensageiros químicos, atraindo, por exemplo, insetos polinizadores (BASER & BUCHBAUER, 2015; BAKKALI, *et al.*, 2008; LEE & PAIK 2016).

Quanto a ação na célula microbiana, os óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas são capazes de danificar a síntese de proteínas (incluindo enzimas, paredes e membranas celulares), interferem na produção de energia celular e na replicação e transcrição de DNA / RNA (LEE & PAIK 2016).

Os produtos de origem vegetal apresentam como compostos ativos hidrocarbonetos, álcoois, terpenos/terpenoides, aldeídos, cetonas, fenólicos

(flavonoides, quinonas, taninos e cumarinas), ésteres, óxidos, peróxidos e alcaloides em diferentes concentrações (BAKKALI *et al.*, 2008; HYLDGAARD *et al.*, 2012; BASER & BUCHBAUER, 2015; GYAWALI & IBRAHIM, 2014).

Selma *et al.* (2009) e Chacar *et al.* (2018) relataram que compostos fenólicos presentes em produtos de origem vegetal podem modular a microbiota existente no organismo, devido à ação sobre o crescimento microbiano. Lee *et al.* (2006) demonstraram que compostos fenólicos de *Camellia sinensis* (chá preto) favoreceram o crescimento de algumas bactérias do ambiente intestinal como *Lactobacillus* sp. e *Bifidobacterium* sp., e inibiram patógenos como *E. coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp., *Clostridium* sp. e *Bacteroides* sp.

Compostos antimicrobianos de várias origens, tais como plantas (polifenóis, óleos essenciais e peptídeos vegetais), animais (lisozimas, lactoperoxidase, lactoferrina, ovotransferrina, peptídeos de animais, quitosana e outros) e metabólitos microbianos (nisina, natamicina, pululano, ϵ -polilisina, ácidos orgânicos e outros) estão sendo estudados como substituto dos conservadores sintéticos (GYAWALI & IBRAHIM, 2014; HINTZ *et al.*, 2015; LEE & PAIK, 2016).

Resíduos de processamento de alimentos, como cascas de frutas são subprodutos que necessitam ser investigados para diversos fins em alimentos, pois são fontes de compostos fenólicos e muitos outros componentes bioativos (GYAWALI & IBRAHIM 2014; HINTZ *et al.*, 2015).

A FAO/WHO aprovou o óleo essencial de cúrcuma e a curcumina como corante em alimentos, estabelecendo IDA de 2,5 e 0,1 mg/kg, respectivamente. Os únicos preservantes de origem vegetal, animal ou microbiológico regulamentados são a natamicina e a nisina (LEE & PAIK, 2016).

3.4.1 Óleo Essencial de Canela - *Cinnamomum zeylanicum*

A canela é uma planta tropical comum. Partes da planta como folhas, cascas, frutos, raízes e flores são utilizadas não somente na culinária, mas também para fins farmacêuticos e medicinais (RANASINGHE *et al.*, 2013; KUMAR & KUMARI, 2019).

Cinnamomum zeylanicum é uma das espécies de canela que cresce nas regiões de Sri Lanka, Madagascar, Índia e Indochina (UNLU *et al.*, 2010, RANASINGHE *et al.*, 2013; KUMAR & KUMARI, 2019). Tepe & Ozaslan (2020)

analisaram o óleo essencial da casca de *C. zeylanicum* por cromatografia gasosa e foram detectados 81,3% de cinamaldeído, seguido de acetato de cinamila (4,2%). Unlu *et al.* (2010) constataram como principais constituintes o cinamaldeído (68,95%), benzaldeído (9,94%), acetato de cinamila (7,44%), limoneno (4,42%), eugenol (2,77%), α -pineno (1,64%), 1,8 cineol ou eucaliptol (1,55%), linalol (1,38%) e ácido cinamila (1,15%).

O cinamaldeído é o composto majoritário encontrado tanto no óleo essencial da folha como da casca da canela (ELUMALAI *et al.*, 2011).

Os compostos presentes na canela apresentam atividades antimicrobiana (PRABUSEENIVASAN *et al.*, 2006; AL-BAYATI & MOHAMMED, 2009; EL-BAROTY *et al.*, 2010; BARDAJÍ *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2016), inseticida (PRAJAPATI *et al.*, 2005; AL-BAYATI & MOHAMMED, 2009; JEON *et al.*, 2017) e antioxidante (JAYAPRAKASHA *et al.*, 2007; EL-BAROTY *et al.*, 2010; TEPE & OZASLAN, 2020).

A atividade antimicrobiana está sendo estudada para que o óleo essencial de canela possa ser utilizado como conservador na indústria de alimentos e farmacêutica (SALEEM *et al.*, 2015). Bactérias como *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* e *E. coli* foram inibidas a valores de MIC de 1,12 mg/mL; *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Enterobacter aerogenes* de 0,56 mg/mL; *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium perfringens*, *Proteus mirabilis* a 0,14 mg/mL (UNLU *et al.*, 2010).

Zainol *et al.* (2017) encontraram a concentração mínima de 1,3 mg/mL contra *E. faecalis* e *Streptococcus salivarius* e 0,63 mg/mL para *Streptococcus mutans*.

3.4.2 Óleo Essencial de Orégano - *Origanum vulgare*

O orégano, que ocorre comumente na Ásia, Europa e norte da África, é uma planta utilizada nas indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética por ser aromático (FIGIEL *et al.*, 2010, TEIXEIRA *et al.*, 2013). Seu óleo essencial possui propriedades antimicrobiana (TEIXEIRA *et al.*, 2013, PEZZANI *et al.*, 2017), antioxidante (SARIKURKCU *et al.*, 2015; AL-HIJAZEEN *et al.*, 2016; PEZZANI *et al.*, 2017; STANOJEVIC *et al.*, 2018) e inseticida (GOVINDARAJAN *et al.*, 2016).

Através de análises dos compostos químicos do orégano fresco foram constatados como grupos de constituintes voláteis os monoterpenos/terpenoides

(89,3%), álcoois (8,1%) e outros sesquiterpenos, aldeídos, cetonas e éteres (2,2%) (FIGIEL *et al.*, 2010).

O óleo essencial analisado por cromatografia gasosa no trabalho de Teixeira *et al.* (2013) apresentou a concentração de monoterpenos/terpenoides de 80,2%, sendo os principais o carvacrol, timol, álcool β -fenílico, γ -terpineno, δ -terpineol e α -o-terpineno.

O óleo essencial comercial analisado por Fratini *et al.* (2017) apresentou monoterpeno/terpenoides na concentração de 93,7%, com o carvacrol em maior concentração, seguido de p-cimeno e γ -terpineno.

O carvacrol e o timol são antimicrobianos e antioxidantes, como o γ -terpineno e o linalol (ENGEL *et al.*, 2017; MEMAR *et al.*, 2017; FLORES *et al.*, 2019).

Os valores da MIC para óleo essencial de orégano encontrados na literatura são variados como, por exemplo, Souza *et al.* (2006) determinaram 20 μ L/mL para as bactérias *Bacillus cereus*, *B. subtilis* e *S. aureus*, 40 μ L/mL para *E. coli* e 80 μ L/mL para *L. monocytogenes*. Moshayedi *et al.* (2013) analisaram a MIC para *E. faecalis* e o valor encontrado foi de 8 mg/mL. Teixeira *et al.* (2013) encontraram para *S. Typhimurium* e *L. monocytogenes* o valor de concentração mínima inibitória de 2,2 mg/mL.

Para *Pseudomonas aeruginosa* o resultado de MIC (mg/mL) obtido foi > 18,88, para *E. coli* 4,72 e para *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *E. faecalis* e *B. subtilis* o valor foi de 2,36 (FIKRY *et al.*, 2019). Souza *et al.* (2006) encontraram os valores de 40 μ L/mL para *Aeromonas hydrophila*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *S. enterica* e *Shigella flexneri* e 20 μ L/mL para *B. subtilis*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*.

3.4.3 Óleo Essencial de Cravo - *Eugenia caryophyllata*

Eugenia caryophyllata conhecida como cravo da Índia, pertence à família *Myrtaceae* e é uma planta aromática nativa da Indonésia. Por ser utilizada como tempero é cultivada em lugares como Tanzânia, Madagascar, Sri Lanka, Índia, China, Malásia, Brasil, Jamaica e Guiné (SINGH *et al.*, 2012).

O uso medicinal e farmacêutico do cravo abrange tratamentos para verminoses, dores, doenças do sistema digestivo e respiratório, assim como, esta

planta é também utilizada em cosméticos e perfumarias, por causa do aroma (SINGH *et al.*, 2012).

Quimicamente, o óleo essencial de cravo possui como maior constituinte o eugenol na concentração de 70 a 89%, seguido do acetato de eugenila (4 a 15%) e β -cariofileno (1 a 21%) (POLITEO *et al.*, 2010; CUNHA *et al.*; 2012; ATANASOVA-PANCEVSKA *et al.*, 2017). Chaieb *et al.* (2007), além do eugenol como principal fitoquímico, encontraram a vanilina como segundo maior composto, seguido de chavicol e álcool benzílico.

O óleo essencial de cravo possui atividades antioxidante (CHAIEB *et al.*, 2007, SILVESTRI *et al.*, 2010), antifúngica (VESALTALAB *et al.*, 2012, ESTRADACANO *et al.*, 2017), anti-inflamatória (HAN & PARKER, 2017), citotóxica (KOUIDHI *et al.*, 2010), inseticida (MAHAKITTIKUN *et al.*, 2014), analgésica (HOSSEINI *et al.*, 2011) e antibacteriana (CHAIEB *et al.*, 2007; NUÑEZ & D'AQUINO, 2012).

Silvestri *et al.* (2010) apresentaram os seguintes valores de MIC (mg/mL) para o óleo essencial de cravo para *S. mutans* (0,6), *S. aureus* (0,3), *P. aeruginosa* (0,8), *S. epidermidis* (0,2) e *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis, *Enterobacter cloacae* e *Serratia* sp. (0,5). Zainol *et al.* (2017) também estudaram este composto e os valores de MIC foram de 1,3 mg/mL para *S. mutans*, *E. faecalis*, *Streptococcus salivarius*. Mahboubi & Mahboubi (2015) obtiveram valores de MIC de 1 μ L/mL para *S. aureus*, *B. cereus* e *K. pneumoniae*, 2 μ L/mL para *E. faecalis* e *E. coli* e 4 μ L/mL para *P. aeruginosa*.

3.4.4 Óleo essencial de Capim-limão - *Cymbopogon citratus*

O capim-limão, também conhecido como erva cidreira, é uma planta perene, larga, caracterizada pelo sabor e odor de limão, devido à concentração de citral (NAIK *et al.*, 2010).

O gênero possui 120 espécies que se encontram em regiões tropicais e subtropicais, sendo *C. citratus* comumente usado na medicina popular para distúrbios nervosos, gastrointestinais, como também possui efeito antiespasmódico, analgésico, antipirético, diurético e sedativo (HANAA *et al.*, 2012).

O óleo essencial possui propriedades anti-inflamatória (GBENOU *et al.*, 2013; BOUKHATEM *et al.*, 2014) antifúngica (IRKIN & KORUKLUOGLU, 2009),

antibacteriana (NAIK *et al.*, 2010; BASSOLÉ *et al.*, 2011) antioxidante (VÁZQUEZ-BRIONES *et al.*, 2014) e aromática, sendo utilizado em cosméticos, indústria de alimentos e farmacêutica (GBENOU *et al.*, 2013; POONPAIBOONPIPAT *et al.*, 2013).

Os principais compostos encontrados no óleo essencial do capim-limão são monoterpenos citral, dividido em isômeros geranial (30 a 48%) e neral (20 a 36%), seguido do β -mirceno (10 a 27%) (BLANCO *et al.*, 2009, BASSOLÉ *et al.*, 2011, POONPAIBOONPIPAT *et al.*, 2013, GBENOU *et al.*, 2013).

Monoterpenos como citronelol, Z- β -ocimeno, limoneno, 1,8-cineol, α -terpineol, borneol, elemicina e acetato de geranila, assim como eugenol, fumesol, furfural, isopulegol, aldeído isovalérico, linalol, β -cariofileno e éster valérico também foram encontrados no óleo essencial do capim-limão (EKPENYONG & AKPAN, 2017).

O α -citral (geranial) e β -citral (neral) são os principais compostos com ação antibacteriana (HANAA *et al.*, 2012).

A ação antimicrobiana do óleo essencial do capim-limão pode ser comprovada através da MIC como, por exemplo para *S. aureus* que foram encontrados valores que variaram de 0,6 a 2,5 mg/mL, enquanto para *E. coli* foram de 1,2 a 10 mg/mL (NAIK *et al.*, 2010, BASSOLÉ *et al.*, 2011). Para *B. cereus* e *B. subtilis* os valores foram de 0,6 mg/mL e para *K. pneumoniae* de 5 mg/mL (NAIK *et al.*, 2010). Bassolé *et al.* (2011) analisaram também a MIC (mg/mL) para *E. aerogenes* (13,3), *E. faecalis* (1), *L. monocytogenes* (8,3), *P. aeruginosa* (> 80), *S. Typhimurium* (2,5) e *Shigella dysenteriae* (8,3).

3.4.5 Óleo Essencial de Gengibre - *Zingiber officinale*

O óleo essencial do gengibre é retirado do rizoma da planta, e tem por característica ser amarelo, pungente e aromático (BELLIK, 2014).

Gengibre é originário da China e é utilizado há anos para fins terapêuticos e temperos (ALI *et al.*, 2008; MALU *et al.*, 2009; SASIDHARAN *et al.*, 2012). O cultivo da planta abrange a Índia, sudeste Asiático, África Ocidental e Caribe (MALU *et al.*, 2009).

O gênero *Zingiber* pertence à família *Zingiberaceae* e possui cerca de 85 espécies de ervas aromáticas (SASIDHARAN *et al.*, 2012). *Zingiber officinale* é uma

planta perene, com caule aéreo e flores roxas (chegando a 1 m de altura) (MALU *et al.*, 2009).

Em 2017, o óleo essencial de gengibre, oleorresinas (sem solventes) e extratos naturais receberam o status de GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pela *Food and Drug Administration* (FDA).

Os compostos responsáveis pelas características sensoriais do gengibre são monoterpenoides, sesquiterpenoides, compostos fenólicos e seus álcoois, ésteres, aldeídos, lactonas e cetonas, destacando-se os voláteis sesquiterpenoides (α -zingibereno, β -sesqui felandandeno, β -bisaboleno, α -farneseno, α -curcumeno, zingiberol) e uma pequena quantidade de monoterpenoides (β -felandreno, canfeno, cineol, geraniol, curcumeno, citral, terpineol e borneol) (MALU *et al.*, 2009; BERISTAIN-BAUZA *et al.*, 2019).

Sharma *et al.* (2016) analisaram o óleo de gengibre e quantificaram 67% de sesquiterpenos, 17% de monoterpenos e 14% de compostos alifáticos. O sesquiterpeno predominante foi o zingibereno (47%), seguido pelo valenceno (8%). Os principais monoterpenos foram caracterizados como butirato de citronelila (19,34%) e β -felandreno (3,70%).

O óleo essencial possui propriedades antitumoral, citotóxica (JEENA *et al.*, 2015), antioxidante e antimicrobiana (MALU *et al.*, 2009; BELLIK, 2014; HÖFERL *et al.*, 2015; NOORI *et al.*, 2018). A atividade antimicrobiana, de acordo com Beristain-Bauza *et al.* (2019) é devida aos compostos fenólicos (eugenol, shogaols, zingerone, gingerdiols, gingerols) e sua relação sinérgica com β -sesquifelandreno, cis-cariofileno, zingibereno, α -farneseno e α - e β -bisaboleno.

Os valores de MIC foram determinados frente ao óleo essencial de gengibre para *B. subtilis* (86,9 mg/mL), *S. aureus* (8,7 mg/mL) e *E. coli* (173, 8 mg/mL) (BELLIK, 2014). *Bacillus licheniformis* (0,16 mg/mL), *Bacillus spizizenii* (0,24 mg/mL), *K. pneumoniae* (0,47 mg/mL) e *Pseudomonas stutzeri* (0,63 mg/mL) (SIVASOTHY *et al.*, 2011). López *et al.* (2017) obtiveram concentrações mínimas inibitórias de 0,5 mg/mL para *S. epidermidis*, 0,75 mg/mL para *Serratia marcescens*, 2 mg/mL para *E. aerogenes* e 1 mg/mL para as demais bactérias testadas (*E. faecalis*, *Klebsiella oxytoca* e *K. pneumoniae*). Debbarma *et al.* (2013) encontraram valores de 31,3 μ L/mL para *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica*, *A. hydrophilla*, *P. aeruginosa*, 62,5 μ L/mL para *S. Typhimurium* e por fim 15,6 μ L/mL para *L. monocytogenes*.

3.4.6 Óleo Essencial de Pitanga - *Eugenia uniflora*

Pitanga é uma planta arbórea da família *Mirtaceae*, nativa do Suriname, Guiana Francesa, Brasil, Uruguai, Argentina, Venezuela, Colômbia e os Estados Unidos (LIM, 2012; SANTOS *et al.*, 2018).

O gênero *Eugenia* se destaca por apresentar cerca de 1.000 espécies e as folhas da *E. uniflora* são usadas no tratamento de dor de garganta, diarreia, reumatismo, cólica, dor de cabeça e no controle da hipertensão (MARQUES *et al.*, 2018; FIGUEIREDO *et al.*, 2019).

O óleo essencial extraído das folhas possui propriedades antioxidantes, citotóxica (VICTORIA *et al.*, 2012; FIGUEIREDO *et al.*, 2019) e antimicrobiana (VICTORIA *et al.*, 2012; THAMBI *et al.*, 2013; OBUOTOR *et al.*, 2017).

O aroma é outra propriedade importante na pitanga, sendo a planta utilizada em perfumes e cosméticos (LIM, 2012; VICTORIA *et al.*, 2012; MARQUES *et al.*, 2018).

Os sesquiterpenos são os principais compostos isolados do óleo essencial de suas folhas. Em dois estudos recentes o terpeno encontrado em maior quantidade foi a selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, aproximadamente 30% (SANTOS *et al.*, 2018; MARQUES *et al.*, 2018).

Ogunwande *et al.* (2005) analisaram o óleo essencial das folhas e encontraram curzereno (19,7%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (17,8%), atractilona (16,9%) e furanodieno (9,6%). Compostos como germacreno B (7,95%) e biciclogermacreno (4,76%) foram encontrados no estudo de Santos *et al.* (2018).

A ação antimicrobiana do óleo essencial de pitanga tem sido avaliada através da determinação da MIC em bactérias como *S. aureus* (25 mg/mL), *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* (50 mg/mL) (OBUOTOR *et al.*, 2017); *E. coli* (307,9 mg/mL) (SOUZA *et al.*, 2018); *L. monocytogenes* (1,04 mg/mL) (VICTORIA *et al.*, 2012); *B. cereus* (39 µg/mL) (OGUNWANDE *et al.*, 2005); *S. mutans* (0,05 mg/mL) (STEFANELLO *et al.*, 2008) e *S. epidermidis* (153,9 mg/mL) (SOUZA *et al.*, 2018).

3.4.7 Óleo Essencial de Laranja Doce - *Citrus sinensis*

Citrus sinensis, ou popularmente laranja doce, é um dos *Citrus* originário da Ásia (KASALI *et al.*, 2011; FERREIRA, 2019). O principal produtor mundial é o Brasil (NJOROGGE *et al.*, 2005; FERREIRA, 2019).

A casca (resíduo agroindustrial), assim como as folhas podem ser a fonte de extração do óleo essencial da laranja doce, sendo um produto aplicado comercialmente em alimentos, perfumes e cosméticos (KASALI *et al.*, 2011).

O óleo essencial possui atividades antimicrobiana (EKWENYE & EDEHA, 2010), inseticida (VERA *et al.*, 2014; EL-AKHAL *et al.*, 2015) e antioxidante (SINGH *et al.*, 2010; CHI *et al.*, 2019).

Njoroge *et al.* (2005) e Singh *et al.* (2010) afirmam que o limoneno é o principal composto presente no óleo essencial de *C. sinensis*. Outros estudos identificaram o sabineno na proporção de 16 a 49% e 4 a 21% de linalol (FLEISHER & FLEISHER 1990; KASALI *et al.*, 2011). Druzic *et al.* (2016) encontraram sabineno (30%), limoneno (5%), linalol (6%), terpineno-4-ol (3%), (*E*) -nerolidol (10%) e *cis*-farnesol (6,5%). Eldahshan & Halim (2016) segregaram os grupos de compostos nas proporções de monoterpenos (78%), álcoois (12%), aldeídos (5%), sesquiterpeno (1%), destacando o sabineno (aproximadamente 35%) como principal monoterpeno.

Chi *et al.* (2019) também encontraram sabineno, mas na proporção de 5%, sendo o composto majoritário o β -pineno (17%) seguido de limoneno (14%).

Em relação à atividade antimicrobiana, a concentração mínima inibitória do óleo de laranja doce foi avaliada por Debbarma *et al.* (2013) frente a *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella enterica* sorotipoTyphi, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *A. hydrophila*, com resultado de >1000 μ L/mL, *V. vulnificus* e *B. subtilis* com 125 μ L/mL e 500 μ L/mL, respectivamente.

Eldahshan & Halim (2016) encontraram sabineno como monoterpeno em maior quantidade e também investigaram a MIC do óleo essencial frente a *S. aureus* (62,5 μ L/mL), *E. coli* (125 μ L/mL), como em outras bactérias, *S. pyogenes* (31,25 μ L/mL), *E. faecalis* (125 μ L/mL), *K. pneumonia* (250 μ L/mL) e *S. Typhimurium* (31,25 μ L/mL). O limoneno foi encontrado em maior quantidade no trabalho de Chi *et al.*

(2019), onde o óleo essencial de laranja doce inibiu o crescimento de *S. aureus* a 5,25 mg/mL, *B. cereus* a 10,5 mg/mL e *S. Typhi* a 21 mg/mL.

3.4.8 Banana Prata - *Musa sapientum*

A banana é um fruto tropical pertencente à família *Musaceae* e partes da bananeira, como flores, polpa, caule e folhas possuem ações benéficas ao organismo (IMAM & AKTER, 2011; KAPADIA *et al.*, 2015; CHABUCK *et al.*, 2013).

Compostos bioativos como flavonoides, taninos, alcaloides, glicosídeos e terpenoides estão presentes na casca de banana, exercendo efeitos farmacológicos como antidiabético, anti-inflamatório (IMAM & AKTER, 2011; CHABUCK *et al.*, 2013; KAPADIA *et al.*, 2015; GUIL-GUERRERO *et al.*, 2016), antioxidante (GONZÁLEZ-MONTELONGO *et al.*, 2010) e antimicrobiano (CHABUCK *et al.*, 2013; KAPADIA *et al.*, 2015; ABOUL-ENEIN *et al.*, 2016).

Cerca de 300 variedades de bananas são encontradas nos países tropicais e subtropicais, tais como Índia, Filipinas, China, Equador, Brasil, Indonésia, México, Costa Rica, Colômbia e Tailândia (IMAM & AKTER, 2011).

A banana prata *Musa sapientum*, originária do Sudeste da Ásia, produto do cruzamento entre *Musa acuminata* e *Musa balbisiana* (VILAS BOAS *et al.*, 2001, SOUSA *et al.*, 2012) é um dos frutos mais consumidos pela população brasileira por causa da facilidade de produção e durabilidade (LICHTENBERG & LICHTENBERG, 2011; SOUSA *et al.*, 2012).

Os principais compostos responsáveis pela ação antimicrobiana da casca da banana são os fenólicos e o grau de maturação está relacionado à concentração destes componentes na casca, podendo haver uma redução de 45% em frutos maduros (VU *et al.*, 2018).

A análise da casca permitiu detectar compostos fenólicos como ácido gálico, catequina, epicatequina, taninos e antocianinas; amins biogênicas como serotonina, dopamina, noradrenalina e fitoesteróis como ciclo-eucalenona, cicloeucalenol, cicloartenol, estigmasterol, campesterol e β -sitosterol (SINGH *et al.*, 2016).

As concentrações mínimas inibitórias observadas para o extrato de casca da banana prata foram de 143,5 μ g/mL para *Staphylococcus* sp. e 183,1 μ g/mL para *Pseudomonas* sp. (ALISI *et al.*, 2008). Karadi *et al.* (2011) obtiveram os valores de

MIC de 65 µl/mL para *S. aureus*, 75 µl/mL para *E. coli*, 85 µl/mL para *P. aeruginosa* e 55 µl/mL para *B. subtilis*.

Saleem & Saeed (2020) analisaram a ação do extrato da casca de banana em diversas bactérias e relataram valores de inibição (µg/mL) de: 410 para *P. aeruginosa*, 370 para *K. pneumoniae*, 500 para *S. marcescens*, 520 para *E. coli*, 300 para *P. vulgaris*, 310 para *S. Typhi*, 790 para *S. aureus*, >1000 para *E. faecalis*, 670 para *A. hydrophila*, 720 para *Streptococcus pyogenes*, 670 para *L. monocytogenes* e 570 para *Lactobacillus casei*.

Sirajudin *et al.* (2014) escolheram bactérias contaminantes de alimentos para verificarem a ação antimicrobiana do extrato da casca da banana e obtiveram valores de MIC de 50 mg/mL para *B. cereus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, 100 mg/mL para *E. faecalis*, 25 mg/mL para *V. parahaemolyticus* e 12,5 mg/mL para *S. aureus*.

3.4.9 Maçã Gala - *Malus domestica*

A maçã é uma fruta de zona temperada pertencente à família *Rosaceae* e é um fruto consumido ao redor do mundo por causa das características de sabor, aroma, crocância e propriedades nutricionais (FENG *et al.*, 2014; RAPHAELLI *et al.*, 2019).

Os metabólitos primários e secundários da maçã incluem carboidratos, ácidos orgânicos, aminoácidos e compostos fenólicos (HYSON, 2011; FENG *et al.*, 2014).

Os compostos fenólicos presentes na casca incluem ácido clorogênico (composto do grupo dos ácidos, encontrado em maior quantidade), ácido cafeico, ácido p-coumarico, ácido protocatecúico, catequina, epicatequina, procianidinas, glicosídeos de quercetina, rutina, cloridzina, florizina e glicosídeos de cianidina (FRATIANNI *et al.*, 2007; LATA *et al.*, 2009; FENG *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2017; RAPHAELLI *et al.*, 2019).

Lee *et al.* (2017) detectaram pela primeira vez os compostos fenólicos galato de metila, galato de etila, ácido hidroxifenilacético, isômeros de ácido fenilacético, ácido 3- (4-hidroxifenil) propiônico e ácido homoverátrico na casca de maçã.

O extrato da casca e seus compostos fenólicos possuem ação antioxidante e antimicrobiana (LUO *et al.*, 2016; PIRES *et al.*, 2018; RAPHAELLI *et al.*, 2019), assim como alguns terpenos podem agir inibindo bactérias (SELIM & LITINAS, 2015).

Pires *et al.* (2018) avaliaram a maçã seca e obtiveram valores de MIC de 5 mg/mL para *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* e *E. faecalis*, e > 20 mg/mL para *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*. Luo *et al.* (2016) determinaram a MIC com os compostos fenólicos extraídos da casca de maçã e o subproduto após esta extração, e os valores para *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* foram de 5 mg/mL para a casca sem compostos fenólicos e 1,25 mg/mL para os compostos fenólicos extraídos da casca.

3.4.10 Manga Tommy - *Mangifera indica*

A *Mangifera indica* pertence à família *Anacardiaceae*, sendo a popularidade da manga no mundo maior, que a de outras frutas tropicais como banana, abacaxi, mamão e abacate. É cultivada principalmente nos países tropicais, chegando a ocupar 3,7 milhões de hectares (JAHURUL *et al.*, 2015).

A casca da manga compõe de 7 a 24% do peso total do fruto e possui compostos fitoquímicos, polifenóis, carotenoides, fibras, enzimas e vitaminas (AJILA *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2010).

Os compostos fenólicos presentes no extrato de casca de manga são o ácido sérico, quercetina, mangiferina pentosídeo, ácido elágico, ácido gálico glicosilado e carotenoides tais como β -caroteno, a luteína e a violaxantina (RIBEIRO *et al.*, 2008; AJILA *et al.*, 2010; ARAUJO *et al.*, 2014).

O extrato da casca da variedade Tommy foi analisado por Barreto *et al.* (2008), que detectaram o penta-O-galoil-glucosídeo, seguido de galato de metila e mangiferina, sendo que os dois primeiros compostos possuem propriedades antioxidantes (JAHURUL *et al.*, 2015).

Chun-Ping *et al.* (2014) obtiveram a concentração mínima inibitória do composto mangiferina, de 1,3 mg/mL para *E. coli* e *S. aureus*. Falusi *et al.* (2017) determinaram a atividade antimicrobiana pelo método do halo de inibição, utilizando 400 mg/mL de extrato etanólico de casca madura de manga Tommy, obtendo halos de 18 a 22 mm para *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* e *B. cereus*.

3.4.11 Melancia - *Citrullus lanatus*

A família *Cucurbitaceae* contém 120 gêneros e, aproximadamente, 825 espécies distribuídas em regiões tropicais e temperadas (DESHMUKH *et al.*, 2015).

Abóbora (*Cucurbita pepo*), melão (*Cucumis melo*), pepino (*Cucumis sativa*) e melancia (*C. lanatus*) são alguns exemplos de espécies utilizadas como alimentos (DESHMUKH *et al.*, 2015).

Melancia é uma fruta com grande quantidade de água, podendo chegar a 92% do peso (PATRA & BAEK, 2015). A produção é internacional, atingindo o número de 93.700 milhões de toneladas (ROMDHANE *et al.*, 2017).

A casca da melancia, que corresponde a 30% do resíduo gerado (ROMDHANE *et al.*, 2017), apresenta componentes como celulose, citrulina, pectina, proteínas e carotenoides (PATRA & BAEK, 2015).

Análises por cromatografia gasosa e detecção por espectrometria de massas do extrato etanólico da casca mostraram a presença de hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, compostos fenólicos, derivados de antocianina e ácidos graxos como ésteres saturados e insaturados (ASGHAR *et al.*, 2013).

Outros estudos detectaram compostos como terpenos, saponinas, flavonoides, carotenoides, antraquinonas, glicosídeos e alcaloides (EGBUONU, 2015; SULTAN *et al.*, 2017; NJOYA *et al.*, 2019).

A proporção de saponina foi de 6,2%, seguida de alcaloides (4,4%), fenol (2,1%) e flavonoides (2,6%), componentes que, de acordo com a equipe de pesquisa de Kumar *et al.* (2018), podem justificar os efeitos antioxidante, antimicrobiano e modulador imunológico do extrato.

O extrato de casca de melancia foi submetido a testes antimicrobianos e apresentou valores de mínima inibição de 50 µg/mL para *B. cereus* e *S. Typhimurium* (PATRA & BAEK, 2015) e 20 mg/mL para *S. epidermidis* (HARITH *et al.*, 2018).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Micro-organismos

Os seguintes micro-organismos probióticos foram adquiridos junto à Coleção de Culturas Tropical (CCT) da Fundação André Tosello, Campinas/SP/Brasil: *Bifidobacterium longum* CCT 1934 (ATCC 35183); *Lactobacillus acidophilus* CCT 3258 (ATCC 4356); *Lacticaseibacillus rhamnosus* (*Lactobacillus rhamnosus*) CCT 5838 (ATCC 7469); *Lactococcus lactis* CCT 0360 (ATCC 7962); *Enterococcus faecium* CCT 6646 (ATCC 6569).

4.2 Manutenção e cultivo das bactérias

As bactérias foram ativadas conforme instruções da coleção de culturas de origem. Os meios de cultura utilizados, tanto na forma líquida quanto sólida foram o Man Rogosa Sharpe - MRS, sendo que para o crescimento do gênero *Bifidobacterium*, o MRS foi suplementado (MRSS) com 0,5 g/L de Cloridrato L-Cisteína, 0,2 g/L de Tioglicolato de sódio e 0,1 g/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (LI *et al.*, 2008; MORO *et al.*, 2018).

As culturas foram armazenadas em 15% de glicerol em ultra freezer a - 70 °C. Antes dos testes, os micro-organismos foram adicionados ao meio de crescimento líquido, seguido de incubação a 37 °C/18 h sob anaerobiose, utilizando Kit Probac (LI *et al.*, 2008; MORO *et al.*, 2018). Para o teste de determinação da MIC houve padronização da suspensão de células em $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, através da leitura em espectrofotômetro DU 730 Beckman Coulter a 625 nm, ajustando-se a absorbância entre 0,08 e 0,10 (MORY *et al.*, 1998; CLSI, 2012).

4.3 Óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas - método de extração

Os óleos essenciais utilizados nas análises estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Óleos essenciais utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana com bactérias probióticas.

Nome científico	Nome popular	Parte do vegetal	Origem
<i>Eugenia uniflora</i>	Pitanga	Folha	Legee Óleos Essenciais e Compostos Eireli-ME
<i>Citrus sinensis</i>	Laranja doce	Casca	RHR Cosméticos
<i>Cymbopogon citratus</i>	Capim-limão	Folha	CPMA - 503
<i>Origanum Vulgare</i>	Orégano	Folha	CPMA - 2518
<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	Raiz	RHR Cosméticos
<i>Eugenia caryophyllata</i>	Cravo da Índia	Folha	RHR Cosméticos
<i>Cinnamomum zeilanicum</i>	Canela	Folha	RHR Cosméticos

A extração dos óleos essenciais obtidos das plantas da Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas – CPMA, do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas - CPQBA/UNICAMP foi realizada na Divisão de Microbiologia do CPQBA, através da técnica de hidrodestilação em sistema tipo Clevenger. Uma amostra de 100 g de folhas frescas foi pesada em balão de fundo redondo e 700 mL de água destilada foram adicionados. A solução foi submetida a destilação por 3 h. O óleo essencial recuperado da destilação foi submetido a secagem com sulfato de sódio anidro, filtrado sob algodão e armazenado em frasco âmbar em freezer a - 20 °C (MING *et al.*, 1995).

Os extratos etanólicos de cascas de frutas utilizados no presente estudo estão listados na Tabela 2. As frutas foram obtidas junto a supermercado local da cidade de Campinas, SP, Brasil.

Tabela 2. Frutas cujos extratos etanólicos foram utilizados quanto a ação sobre o crescimento das bactérias probióticas.

Nome científico	Nome popular	Parte da fruta
<i>Malus domestica</i>	Maçã Gala	Casca - madura
<i>Musa sapientum</i>	Banana Prata	Casca - verde
<i>Mangifera indica</i>	Manga Tommy	Casca - madura
<i>Citrullus lanatus</i>	Melancia	Casca - madura

Para a extração, as frutas foram higienizadas com água destilada, descascadas e despulpadas. As cascas foram fracionadas em tamanho menores e secas em estufa de circulação de ar a 40 °C por 3 dias, até atingir o aspecto quebradiço. Após esta etapa, o material foi submetido à trituração em liquidificador até a forma de pó. Para cada 20 g de material em pó foram adicionados 150 mL de etanol absoluto, homogeneizados em ultra-turrax T25 Ika por 10 min e filtrados em papel de filtro qualitativo. O resíduo da filtração foi novamente extraído em etanol, homogeneizado e filtrado. Por fim, o resíduo final foi lavado com 50 mL de etanol. O material recolhido das filtrações foi seco a vácuo em rotaevaporador T211 Tecnal, a temperatura de 30 °C (BREDA, 2015). Para os ensaios de determinação da atividade antimicrobiana, o extrato seco foi adicionado em solução etanólica de polivinilpirrolidona (PVP) com concentração de 0,016 g/mL, na proporção 1:4 (extrato: solução de PVP) m/v. Após homogeneização, o material foi submetido a evaporação a vácuo a 30 °C (BREDA, 2015). Os extratos foram acondicionados em freezer a - 20 °C até o momento do uso.

A concentração utilizada no teste de turbidimetria de óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas foi de 1,5 mg/mL, dosagem baseada na IDA dos óleos essenciais de cúrcuma e curcumina, com modificações.

4.4 Conservadores, edulcorantes e inulina

As concentrações dos conservadores e edulcorantes para o teste de turbidimetria estão descritos na Tabela 3. As dosagens utilizadas foram baseadas na IDA, com modificações, com exceção do aspartame, para o qual foi utilizada a solubilidade.

Tabela 3. Conservadores, adoçantes e as concentrações utilizadas para verificar a ação sobre o crescimento das bactérias probióticas.

Aditivo	Concentração (mg/mL)	Classe	Marca
Benzoato de Sódio	5	Conservador	Synth
Sorbato de Potássio	25	Conservador	Vetec
Nitrito de Sódio	0,06	Conservador	Ecibra
Bissulfito de Sódio	0,7	Conservador	Vetec
Sacarina	5	Edulcorante	PolyStar
Ciclamato de Sódio	11	Edulcorante	PolyStar
Estévia - Glicosídeo de esteviol	4	Edulcorante	Linea
Aspartame*	10*	Edulcorante	Synth
Sucralose	15	Edulcorante	Hela

*concentração baseada na solubilidade do composto

A inulina de raiz de chicória (ORAFIT GR/ Beneo - SweetMix) foi adicionada ao meio de cultura para verificação da atividade prebiótica e produção de ácidos graxos de cadeia curta, na concentração de 1,5% (PYLKAS *et al.*, 2005; BEARDS *et al.*, 2010; BHARDWAJ *et al.*, 2018).

4.5 Efeito dos conservadores, edulcorantes, extratos etanólicos de cascas de frutas, óleos essenciais e inulina sobre o crescimento das bactérias probióticas

A avaliação do crescimento bacteriano pelos conservadores, edulcorantes, extratos etanólicos de cascas de frutas, óleos essenciais e inulina foi realizada por método turbidimétrico, conforme Li *et al.* (2008) e Moro *et al.* (2018), com modificações. Em quatro tubos contendo 5 mL de meio de cultura com amostra e o controle (somente meio de cultura), foram inoculados 50 µL de suspensão bacteriana na concentração de 10^6 UFC/mL. Em seguida, o material foi incubado a 37 °C durante 24 h, sob anaerobiose, utilizando o Kit Probac. Após crescimento, as culturas foram centrifugadas (4000 g, 10 min, 4 °C), lavadas em solução salina, e o *pellet* foi

novamente suspenso com 25 mL da mesma solução de lavagem. Em seguida foi realizada leitura em espectrofotômetro a 625 nm para determinação da absorbância.

4.6 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (MIC) e Concentração Bactericida Mínima (MBC)

As concentrações iniciais dos compostos em estudo para o teste de MIC foram de 20 a 200 mg/mL. A metodologia utilizada foi a de Microdiluição em Caldo, segundo a Norma CLSI (2012), com modificações, em triplicata. A quantidade de 100 µL de caldo MRS ou MRSs foram adicionados em 96 poços ou compartimentos de uma microplaca com tampa e estéril. Na primeira linha, denominada linha A, foram adicionados mais 100 µL de meio contendo a substância em estudo, totalizando 200 µL de solução com concentração inicial do teste. Com o auxílio de uma micropipeta multicanal, 100 µL do conteúdo do orifício da linha A foram homogeneizados e transferidos para o orifício da linha seguinte, e assim sucessivamente, desprezando-se os 100 µL finais. O processo se repetiu para os demais poços. Em seguida, 5 µL da suspensão bacteriana (inóculo) foram adicionados (concentração final 10^5 a 10^6 UFC/mL). Foram incluídos controles para verificação da esterilidade do meio de cultura e de viabilidade dos micro-organismos. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 h, sob anaerobiose utilizando-se Kit Probac (CLSI, 2012, HASTEY *et al.*, 2017). Após o período de incubação, a MIC foi determinada através da leitura do crescimento bacteriano nos poços, sendo equivalente à concentração do primeiro poço onde houve inibição do crescimento.

Para determinação da MBC, 10 µL do material contido nos poços onde não houve crescimento microbiano visível foram inoculados em placas contendo meio de cultura MRS ou MRSs sólido, que foram incubadas a 37 °C durante 24 h, sob anaerobiose, utilizando Kit Probac. A concentração bactericida mínima - MBC correspondeu à concentração das amostras plaqueadas que não apresentaram crescimento microbiano após incubação (HAFIDH *et al.*, 2011).

4.7 Estimulação da produção de ácidos graxos de cadeia curta – acetato, butirato e propionato

A partir dos valores obtidos dos poços imediatamente anteriores aos da concentração mínima inibitória, foram preparados tubos com 5 mL da solução contendo meio de cultura e benzoato de sódio, sorbato de potássio, sacarina, óleo essencial de canela e extrato etanólico de casca de melancia. As culturas foram preparadas e inoculadas nos tubos conforme CLSI (2012), e incubadas a 37 °C por 24 h, sob anaerobiose utilizando Kit Probac. Após o crescimento, a população foi novamente inoculada (250 µL) em tubo contendo 5 mL de meio de cultura com a amostra, e incubada na mesma condição anterior, totalizando dois repiques. O controle foi feito com as bactérias utilizadas no teste, inoculadas em meio de cultura sem agente antimicrobiano. Após o segundo crescimento, 10 µL de células foram transferidas para meio de cultura enriquecido com 1,5% de inulina, visando estimular a produção dos ácidos graxos de cadeia curta, e incubadas novamente a 37 °C por 24 h. As amostras foram preparadas em triplicata e as coletas do caldo para determinação do perfil de ácidos graxos de cadeia curta (acetato, butirato e propionato) ocorreram no tempo inicial (0) e após 24 h de crescimento (PYLKAS *et al.*, 2005; BEARDS *et al.*, 2010).

A metodologia de análise dos ácidos orgânicos foi baseada em Mesquita *et al.* (2013). As amostras coletadas foram centrifugadas (4000 g, 10 min, 4 °C) e filtradas em membrana de acetato de celulose (porosidade de 0,45 µm), para remoção de sólidos suspensos. Uma alíquota de 10 µL foi injetada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE - Shimadzu), equipado com coluna de troca iônica Aminex HPX-87H (Bio-Rad, 300,0 x 7,8 mm), a 55 °C, fase móvel de solução de ácido sulfúrico 0,01 mol/L, modo isocrático com uma vazão de 0,6 mL/min. Os ácidos graxos de cadeia curta passaram em detector UV-Vis com arranjo de diodo com comprimento de onda de 210 nm. As curvas de seis pontos para quantificação, foram preparadas para cada bactéria e ácido do estudo.

A quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta foi realizada em colaboração com o Dr. Adilson Sartoratto, da Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica (DQOF), do CPQBA/UNICAMP.

4.8 Avaliação da atividade metabólica do *L. rhamnosus* através de citometria de fluxo

A análise de citometria de fluxo foi realizada em equipamento multiusuário da Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA) /UNICAMP, em colaboração com a Profa. Dra. Adriane Elisabete Antunes de Moraes, do Laboratório de Lácteos, Probióticos e Prebióticos (LLPP).

A partir dos valores obtidos dos poços imediatamente anteriores aos da concentração mínima inibitória, foram preparados tubos com 5 mL da solução contendo caldo MRS com sorbato de potássio, sacarina e óleo essencial de canela (WITKOWSKA *et al.*, 2013). A cultura foi preparada e inoculada, conforme CLSI (2012), e os tubos incubados a 37 °C por 24 h, sob anaerobiose utilizando Kit Probac. A população de *L. rhamnosus* foi ajustada em $0,5 \pm 0,1$ de absorbância (Abs) a 625 nm, conforme Herrero *et al.* (2006). As amostras foram colocadas (1 mL) em microtubo e centrifugadas (13.000 g, 5 min, 4 °C), seguida da etapa de lavagem com solução salina fosfato tamponada (PBS), repetindo a centrifugação conforme a metodologia de Rault *et al.* (2007) e Chen *et al.* (2012). O sobrenadante foi removido e diacetato de carboxifluoresceína (cFDA), na concentração de 50 µM foi adicionado (10 µL de cFDA e 990 µL PBS) seguido de incubação dos tubos a 37 °C por 10 min. O cFDA agiu na atividade da esterase intracelular (RAULT *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2012). As amostras foram centrifugadas, o sobrenadante removido, Iodeto de propídio (PI) 10 µg/mL foi adicionado em conjunto com PBS, seguido de uma nova incubação 37 °C por 15 min e do procedimento de centrifugação. As células com a membrana comprometida absorvem o iodeto e este liga-se ao DNA para formar um complexo vermelho (RAULT *et al.*, 2007).

As bactérias foram ressuspensas em PBS e analisadas em triplicata. O controle de células mortas foi feito submetendo a população bacteriana ao tratamento térmico a 80 °C por 10 min. A atividade metabólica foi determinada em Citômetro BD Accuri C6 (BD Bioscience, San Jose, CA, EUA), onde o equipamento foi ajustado, para 20.000 eventos. As medidas adquiridas para cada amostra incluíram os canais de dispersão direta (FSC), dispersão lateral (SSC) e os canais de fluorescência verde (FL1 – cFDA a 533 nm) e vermelha (FL3 – PI a 670 nm). Os gráficos de pontos de FL1 X FL3 foram divididos em quatro quadrantes definidos no sentido horário como Q1, Q2, Q3 e Q4, onde Q1 (cFDA + / PI-) população intacta (viva), Q2 (cFDA + / PI

+) população injuriada/estressada, Q3 (cFDA- / PI +) população danificada (morta) e Q4 (cFDA - / PI-) artefatos. A contagem em placas do *L. rhamnosus*, após padronização da população, foi feita em triplicata em ágar MRS e incubadas 37 °C por 48 h sob anaerobiose.

4.9 Estimativa do teor de compostos fenólicos dos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas

O teste foi realizado conforme Singleton *et al.* (1999), onde em tubos, com 5 mL de água destilada foram adicionados 0,1 mL de amostra na concentração de 40 mg/mL e 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu, em triplicata. Após 3 min, 1,5 mL de carbonato de sódio (15%) e 2,9 mL de água destilada foram acrescentados à mistura, seguido de repouso por 2 h. Após repouso, as amostras foram submetidas a leitura em espectrofotômetro a 765 nm e o resultado expresso em mg EAG/g Amostra (EAG - Equivalente Ácido Gálico). Uma curva de ácido gálico com 7 pontos (150 até 750 µL/mL) e um branco com água destilada foram incluídos no teste.

4.10 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e detecção por MS/MS (ESI +) do extrato de casca de fruta de maior ação antimicrobiana

A metodologia utilizada, com modificações para amostra vegetal, foi baseada nos trabalhos de Belinato *et al.* (2019) e Costa *et al.* (2019).

O extrato etanólico de casca de melancia foi diluído em metanol e 3 µL foram injetados em CLAE com espectrômetro de massas Thermo Scientific QExactive® Hybrid Quadrupole-Orbitrap no modo positivo, com faixa m/z de 133 a 2000, tensão capilar de 3,5 kV, temperatura capilar de entrada de 250 °C, lente S 50 V. Foram utilizados no CLAE a coluna Thermo Scientific Accucore, C18, 2,6 µm (2,1 mm × 100 mm) e a fase móvel com os solventes de ácido fórmico a 0,1% (A) e acetonitrila (B), com gradiente de eluição nas proporções A/B em 95/5 até 2/98 em 15 min, espera de 5 min e 2/98 até 95/5 em 1,2 min e espera de 7,8 min, totalizando 29 min, com vazão 0,2 mL/min. A detecção em MS/MS foi através de dissociação induzida por colisão (CID) com faixa de m/z de 100 a 1950 e a energia de colisão de 30 V, com as amostras sendo infundidas diretamente por eletro-pulverização. Os

dados foram processados em *software* Xcalibur (versão 3.0.63) - Thermo Fisher Scientific. Após a geração do gráfico este foi adicionado ao banco de compostos químicos *online* GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>). Os dados foram filtrados removendo todos os picos de MS/MS dentro da faixa de +/- 17 Da do precursor m/z, escolhendo apenas 6 picos superiores no parâmetro +/- 50 Da em todo o espectro e então agrupados utilizando tolerância de massa original de 0,2 Da e fragmentos de íons 0,1 Da para criar espectros de consenso (espectros de consenso com menos de 2 espectros foram descartados). Uma rede foi criada onde as arestas filtradas obtivessem pontuação de cosseno acima de 0,7 em mais de 6 picos correspondentes. Os espectros na rede foram então pesquisados nas bibliotecas espectrais do GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>), gerando a tabela com os compostos químicos encontrados no extrato etanólico de casca de melancia. Informações como IUPAC, sinônimo, fórmula, massa e estrutura, foram retiradas do site <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

A análise da composição química do extrato etanólico de casca de melancia foi realizada no laboratório da Profa. Dra. Taícia Pacheco Fill, Laboratório de Biologia Química Microbiana do Instituto de Química (IQ) / UNICAMP.

4.11 Análise estatística

Os dados do teste turbidimétrico, ácidos graxos de cadeia curta e avaliação metabólica foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão, submetidos à ANOVA monovariada e testados por Tukey post-hoc pelo programa *Statistical Package for the Social Science* (SPSS, EUA), versão 17.0. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$ e os resultados com diferenças significativas foram simbolizados com as letras do alfabeto, na forma minúscula, obedecendo a ordem. As representações gráficas foram feitas com o *software* GraphPad Prism (GraphPad *software*, EUA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da atividade antimicrobiana dos conservadores, óleos essenciais, extratos etanólicos de cascas de frutas e adoçantes sobre o crescimento das bactérias probióticas

As cinco bactérias estudadas foram submetidas ao teste de ação antimicrobiana comparando-se, por turbidez, o crescimento em meio de cultura contendo as amostras de conservadores, óleos essenciais, extratos de cascas de frutas e adoçantes. Os resultados estão apresentados nas Figuras 1 a 4, respectivamente.

Os resultados apresentados na Figura 1 (1A e 1C) mostram que o nitrito de sódio não inibiu o crescimento das espécies *L. lactis* e *E. faecium* na concentração de 0,06 mg/mL, ocorrendo promoção de crescimento (Abs. 0,55) na população de *E. faecium*. Neste caso, o crescimento foi estatisticamente significativo em relação ao controle (Abs. 0,52; $p < 0,05$).

Já o sorbato de potássio foi o conservador que apresentou o maior efeito inibitório sobre o crescimento de *L. lactis* e *L. rhamnosus* na concentração de 25 mg/mL. O bissulfito de sódio e o sorbato de potássio obtiveram efeito similar sobre *E. faecium* e *B. longum*. *Lactobacillus acidophilus* sofreu maior inibição pelo bissulfito de sódio na concentração de 0,7 mg/mL (Figura 1D).

O sorbato de potássio é utilizado na indústria de alimentos principalmente para inibir leveduras (MAMUR *et al.*, 2012; ANAND & SATI, 2013), mas foi observado através dos resultados que o mesmo foi capaz de inibir o crescimento de *E. faecium*, *L. lactis*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *B. longum* (Figura 1). De acordo com trabalhos anteriores, diferentes autores relataram que esta inibição bacteriana causada pelo sorbato de potássio pode ser resultado de alterações ocorridas na membrana celular, ou pela inibição dos sistemas de transporte enzimático, mudanças no efluxo de prótons da célula, ou ainda por combinação desses diferentes mecanismos de ação (BRUL & COOTE, 1999).

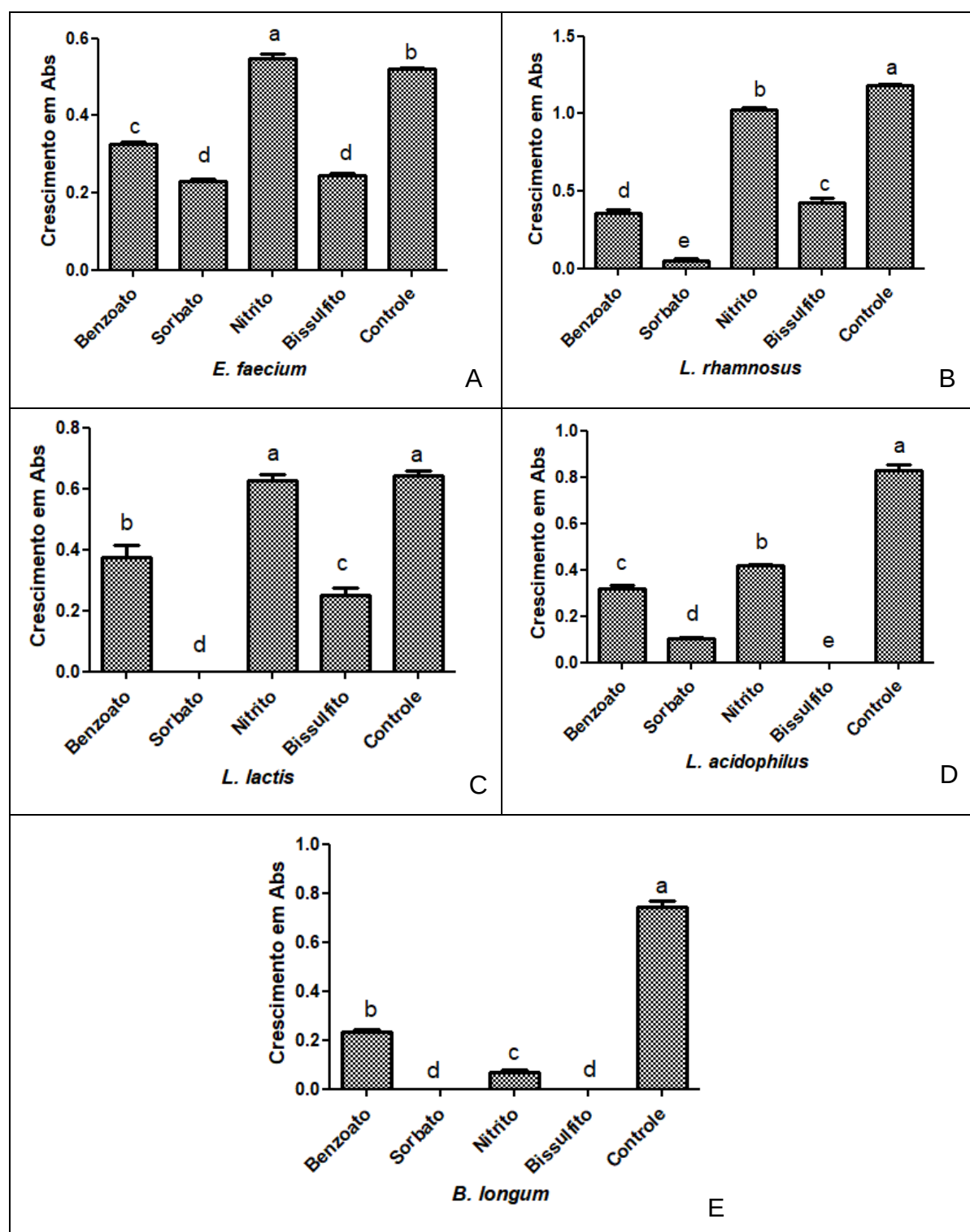


Figura 1. Efeito dos conservadores benzoato de sódio (5 mg/mL), sorbato de potássio (25 mg/mL), nitrito de sódio (0,06 mg/mL) e bissulfito de sódio (0,7 mg/mL) sobre o crescimento de: 1A - *E. faecium*; 1B - *L. rhamnosus*; 1C - *L. lactis*; 1D - *L. acidophilus*; 1E - *B. longum*.

Avaliando o comportamento da *B. longum* quando exposta aos conservadores, esta espécie foi totalmente inibida na presença do bissulfito de sódio e do sorbato de potássio.

As bactérias anaeróbias *L. acidophilus* e *B. longum* foram as espécies que apresentaram menor crescimento na presença de 0,7 mg/mL de bissulfito. De acordo com Maia *et al.* (2006), um dos mecanismos de inibição do bissulfito na célula é a interferência na cadeia respiratória, fato que não explicaria a ação entre as espécies anaeróbias estudadas. Os autores destacaram mais dois mecanismos de ação deste conservador, que seriam a redução de ligações dissulfídicas em enzimas e a formação de compostos de adição que interferem em reações com aminoácidos, pirimidinas e nucleosídeos.

Os efeitos dos conservadores sobre o crescimento de micro-organismos dependem do tipo de molécula, das espécies e dosagem (STANOJEVIC *et al.*, 2009). Os aditivos são empregados em dosagens variadas devido à toxicidade e aspectos tecnológicos, por isso é importante verificar se a presença deles, em concentrações acima do limite máximo poderia interferir no crescimento das bactérias probióticas (LENNERZ *et al.*, 2015; XIE *et al.*, 2016; DEGHAN *et al.*, 2018; GARCIA-FUENTES *et al.*, 2019).

Na literatura pertinente, os dados sobre os conservadores estão determinados principalmente frente a micro-organismos que demonstram risco ao consumidor, como por exemplo *Salmonella* sp., *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Candida albicans* e *Aspergillus flavus* (STANOJEVIC *et al.*, 2009; QUOC, 2018). A tendência mundial é a elaboração de alimentos com ingredientes menos nocivos, com uma certa especificidade e garantindo a segurança. Estudos demonstraram que extratos derivados de plantas possuem ação seletiva frente a micro-organismos, devido à presença de diversos compostos químicos que lhes são peculiares (LEE *et al.*, 2006; SELMA *et al.*, 2009; CHACAR *et al.*, 2018). Assim, no presente trabalho foram avaliados óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas como possíveis candidatos a substituição de aditivos antimicrobianos em alimentos.

Os resultados dos efeitos dos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas sobre o crescimento das bactérias estudadas estão apresentados nas Figuras 2 e 3. Os óleos e extratos foram adicionados ao meio de crescimento na

concentração de 1,5 mg/mL, valor baseado na IDA recomendada pela FAO/JEFCA para o óleo essencial de cúrcuma e para a curcumina, com modificações.

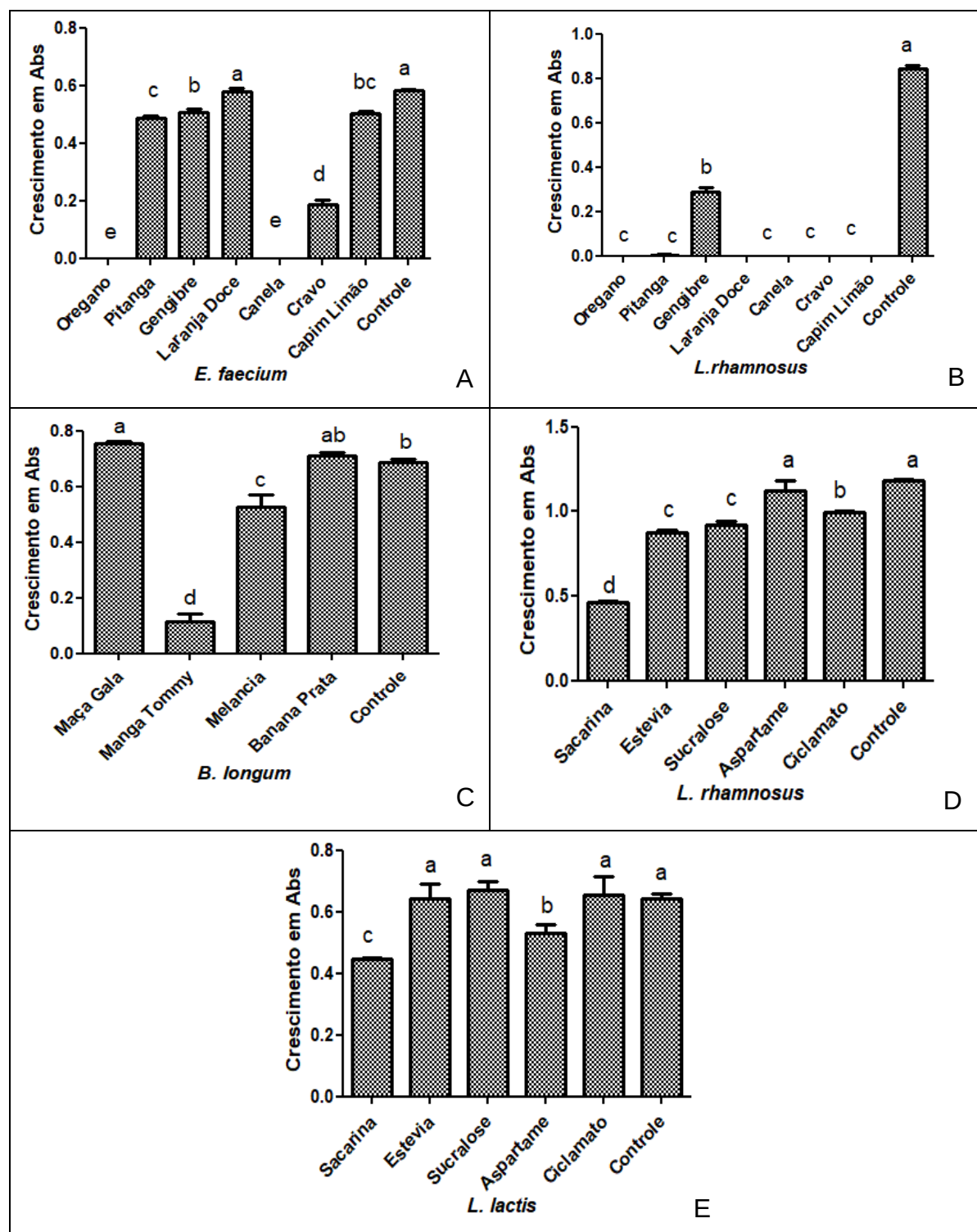


Figura 2. Efeito de 1,5 mg/mL dos óleos essenciais de orégano, pitanga, gengibre, laranja doce, canela, cravo e capim-limão, sobre o crescimento de: 2A - *E. faecium*; 2B - *L. rhamnosus*; 2C - *L. lactis*; 2D - *L. acidophilus*; 2E - *B. longum*.

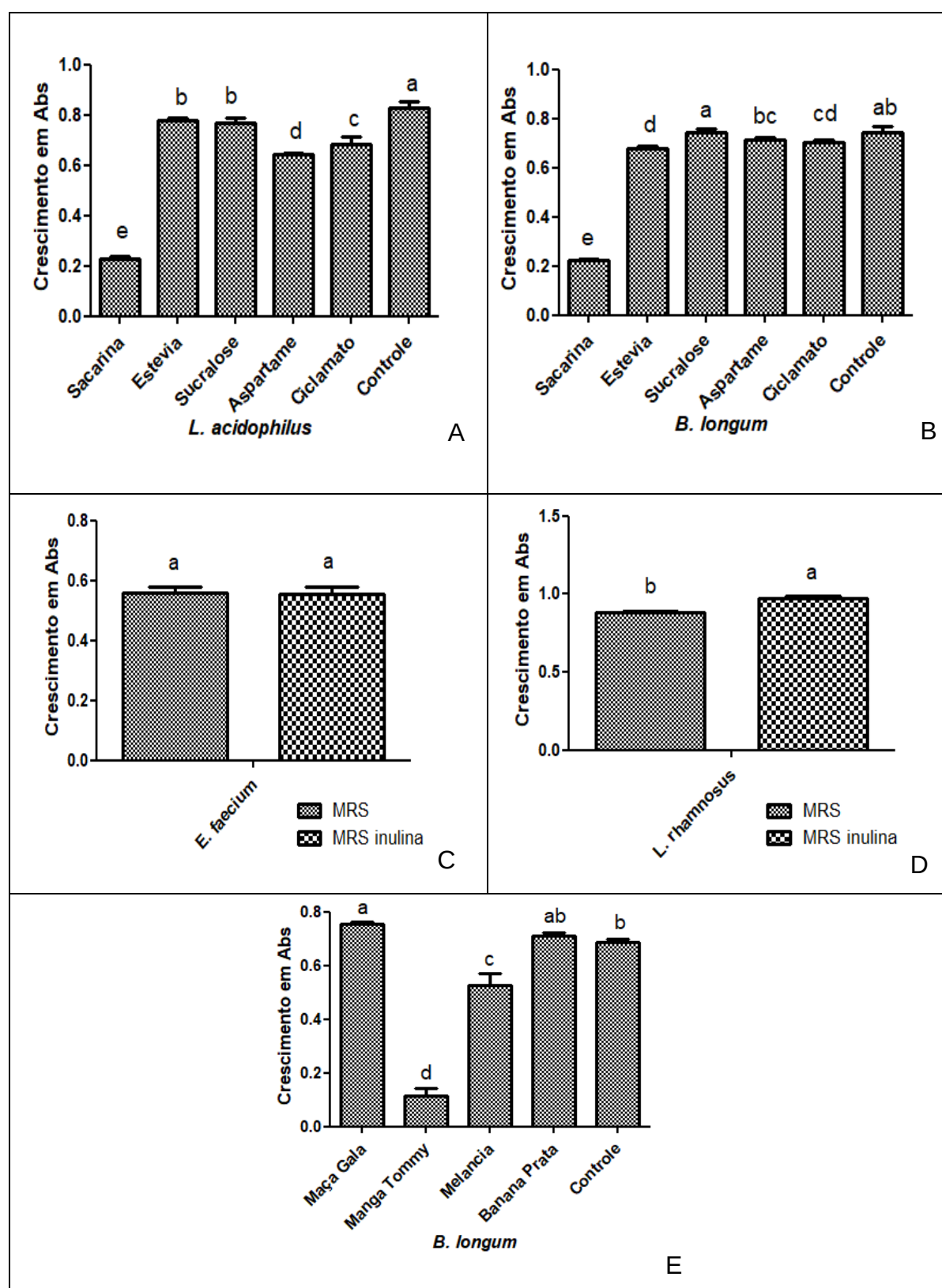


Figura 3. Efeito de 1,5 mg/mL dos extratos etanólicos de casca de maçã gala, manga Tommy, melancia e banana prata, sobre o crescimento de: 3A - *E. faecium*; 3B - *L. rhamnosus*; 3C - *L. lactis*; 3D - *L. acidophilus*; 3E - *B. longum*.

De acordo com os resultados das Figuras 2 e 3, a presença dos óleos essenciais ou extratos etanólicos de cascas de frutas no meio de crescimento inibiu, foi indiferente ou promoveu o crescimento das bactérias probióticas.

Os óleos essenciais de canela, inibiu totalmente o crescimento das bactérias avaliadas, enquanto o óleo de laranja doce inibiu por completo o crescimento de *L. rhamnosus* e *B. longum*. Ao contrário, o óleo de orégano só não teve este efeito inibitório total sobre o crescimento de *B. longum*. *E. faecium* foi a única bactéria que obteve crescimento na presença dos óleos essenciais de capim-limão e cravo, as demais espécies foram inibidas totalmente por estas amostras.

Ainda em relação ao efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento da *B. longum*, esta sofreu algum tipo de inibição por quase todos os óleos, exceto pelo óleo de gengibre, que aumentou significativamente seu crescimento (Abs. 0,78; $p < 0,05$) em relação ao controle (Abs. 0,69), mostrando um efeito estimulante sobre esta bactéria. *Lactocaseibacillus rhamnosus* também foi inibida pela maioria dos óleos essenciais e apenas parcialmente pelo óleo de gengibre.

Os resultados demonstram que a ação dos óleos essenciais variou de acordo com a espécie de bactéria probiótica estudada. Este fato pode estar relacionado tanto às diferenças nas composições químicas dos óleos empregados, como também às características morfológicas e fisiológicas das bactérias, o que as tornam mais ou menos suscetíveis aos compostos presentes nos óleos. Os óleos essenciais são ricos em diferentes classes de substâncias químicas, sendo os terpenos/terpenoides os principais compostos antimicrobianos encontrados neste metabólito secundário (ATANASOVA-PANCEVSKA *et al.*, 2017; EKPENYONG & AKPAN, 2017; FRATINI *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018; MARQUES *et al.*, 2018; BERISTAIN-BAUZA *et al.*, 2019; TEPE & OZASLAN, 2020).

Considerando os extratos etanólicos avaliados, nenhum dos extratos de cascas de frutas inibiu totalmente o crescimento das bactérias probióticas na concentração de 1,5 mg/mL (Figura 3). Ainda, os extratos de cascas de maçã, manga, melancia e banana promoveram o crescimento de *L. lactis* ($p < 0,05$), enquanto nenhum efeito foi observado para *E. faecium*, quando comparado ao controle.

Os efeitos inibitórios dos extratos etanólicos de cascas de frutas foram mais pronunciados em *B. longum*, que foi inibida principalmente pelo extrato de casca de

manga (Abs. 0,12), seguido do extrato de casca de melancia (Abs. 0,52). Porém, houve um aumento no crescimento desta bactéria na presença do extrato de casca de maçã (Abs. 0,76), em relação ao controle (Abs. 0,69 – $p < 0,05$).

O extrato de casca de melancia causou diminuição na população de três das bactérias probióticas, ou seja, *B. longum*, *L. acidophilus* e *L. rhamnosus*, sendo então selecionado para a análise de determinação da composição química por CLAE (Cromatografia Líquido de Alta Eficiência).

Os resultados referentes ao crescimento das bactérias probióticas cultivadas na presença dos adoçantes estão ilustrados na Figura 4. O edulcorante não tem a função de preservar alimento, mas existem relatos de que este tipo de ingrediente causa desequilíbrio na microbiota intestinal por apresentar efeito antimicrobiano (ANTON *et al.*, 2010; SUEZ *et al.*, 2014; PEPINO, 2015; SILVA *et al.*, 2016).

Neste trabalho foram testados cinco adoçantes. A estévia, um edulcorante derivado da planta *Stevia rebaudiana* agiu inibindo as populações das espécies *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *B. longum*, mas não teve efeito inibitório no crescimento das bactérias *E. faecium* e *L. lactis*.

Por outro lado, a sacarina apresentou efeito inibitório pronunciado sobre o crescimento de todas as bactérias avaliadas, que se refletiu em diferenças significativas nas absorvâncias das culturas em relação ao controle, sendo (Abs): *E. faecium* 0,34 - controle 0,52; *L. lactis* 0,45 - controle 0,64; *L. rhamnosus* 0,46 - controle 1,18; *L. acidophilus* 0,23 - controle 0,83 e *B. longum* 0,22 - controle 0,74 ($p < 0,05$).

Estudos da ação de adoçantes como a sacarina, sobre a microbiota intestinal, foram realizados *in vivo* e por análise metabolômica de fezes (SUEZ *et al.*, 2014; PALMNÄS *et al.*, 2014; CLAUS *et al.*, 2016; BIAN *et al.*, 2017), diferentemente deste trabalho, cujo efeito sobre o crescimento bacteriano foi avaliado *in vitro*. Assim, podemos inferir que *in vitro*, *L. lactis* e *E. faecium* foram as bactérias que sofreram menores efeitos inibitórios dos adoçantes, sendo mais inibidas pela sacarina e aspartame. Adicionalmente, *L. acidophilus* sofreu ação de todos os edulcorantes, enquanto o aspartame não inibiu o *L. rhamnosus* e a sucralose e o aspartame não inibiram *B. longum*.

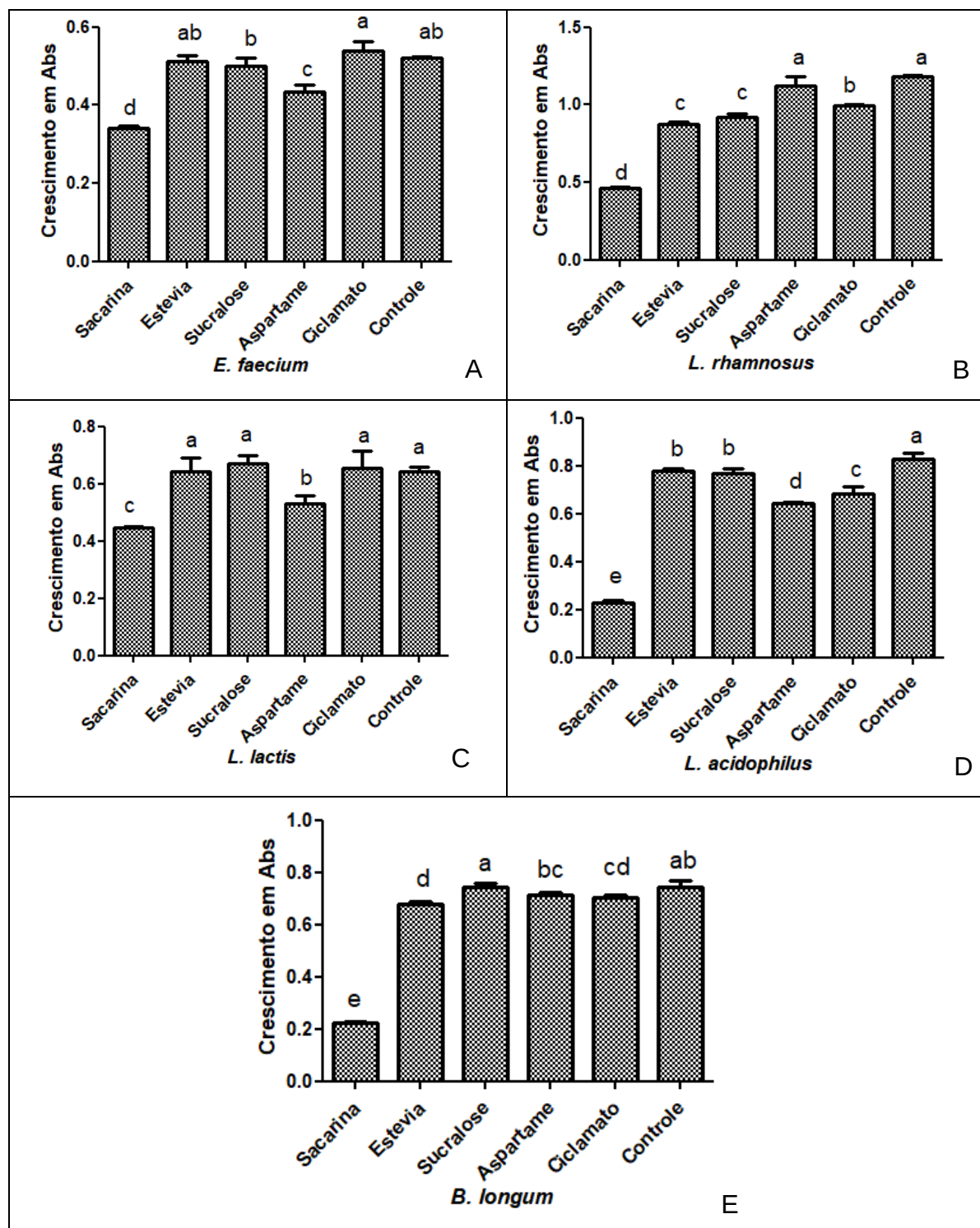


Figura 4. Efeito dos adoçantes sacarina (5 mg/mL), estevia (4 mg/mL), sucralose (15 mg/mL), aspartame (10 mg/mL) e ciclamarato (11 mg/mL), sobre o crescimento de: 4A - *E. faecium*; 4B - *L. rhamnosus*; 4C - *L. lactis*; 4D - *L. acidophilus*; 4E - *B. longum*.

Resultados similares aos encontrados no presente trabalho foram relatados por Vinderola et al. (2002), que testaram a ação de diversos aditivos comumente utilizados em produtos lácteos sobre bactérias probióticas. Um destes ingredientes foi o aspartame na concentração de 0,12%, que reduziu a população de culturas comerciais de *L. acidophilus* (A3, A9, 08, 53, 5, CSL) , mas não agiu sobre *B. longum* (A1, A7, BL) e *L. rhamnosus* (A15, A16, LS).

Abou-Donia et al. (2008) inseriram sucralose na alimentação de ratos, baseados na IDA. Após avaliarem as contagens de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* nas fezes dos animais, as populações destes grupos de bactérias foram reduzidas em 40%, 39% e 68%, respectivamente. Também no presente trabalho, *E. faecium*, *L. rhamnosus* e *L. acidophilus* foram inibidas por este edulcorante.

Os conservadores, adoçantes, óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas que incorreram em menor crescimento das bactérias no teste turbidimétrico (Figura 1, 2, 3 e 4) foram selecionados para determinação da MIC e MBC. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4.

A sacarina, adoçante sem finalidade antibacteriana, apresentou MIC e MBC similares ou menores que às observadas para conservadores como benzoato de sódio e sorbato de potássio para algumas das espécies avaliadas.

O bissulfito de sódio inibiu as bactérias probióticas a valores de MIC que variaram de 2,5 mg/mL (*E. faecium*, *L. rhamnosus* e *L. lactis*), 1,25 mg/mL (*L. acidophilus*) e 0,63 mg/mL (*B. longum*) (Tabela 4). Para exemplificar o quanto micro-organismos reagem a este conservador, Quoc (2018) determinou a MIC do bissulfito de sódio para bactérias Gram-positivas, como *B. subtilis* e *S. aureus*, e obteve valores de 3,13 mg/mL e 6,25 mg/mL, respectivamente.

O benzoato de sódio e o sorbato de potássio atuaram de forma semelhante sobre *B. longum*, inibindo o crescimento a MIC de 25 mg/mL, ou seja, valores superiores aos observados para esta espécie. Ainda, o sorbato de potássio precisou de uma menor concentração (MIC 25 mg/mL) em comparação ao benzoato de sódio (MIC 50 mg/mL), para inibir *L. acidophilus* e *L. lactis*.

Enterococcus faecium foi inibido a MIC de 50 mg/mL de benzoato de sódio e 100 mg/mL de sorbato de potássio.

Tabela 4. Concentração mínima inibitória e concentração bactericida mínima (MIC e MBC - mg/mL) dos conservadores, edulcorantes, óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas sobre as bactérias probióticas estudadas.

Amostra	<i>E. faecium</i>		<i>L. lactis</i>		<i>L. rhamnosus</i>		<i>L. acidophilus</i>		<i>B. longum</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Benzoato	50	>100	50	>100	50	100	50	100	25	50
Bissulfito	2,50	5	2,50	2,50	2,50	5	1,25	2,50	0,63	1,25
Sorbato	100	100	25	50	50	100	25	100	25	50
Sacarina	100	100	50	>100	25	100	25	100	6,25	12,50
Pitanga	50	>100	50	>100	50	100	12,50	50	50	100
Orégano	2,50	5	2,50	5	2,50	5	0,63	1,25	1,25	2,50
Canela	2,50	5	1,25	5	10	10	2,50	2,50	0,31	0,63
Cravo	5	5	2,50	2,50	5	5	1,25	1,25	1,25	2,50
Capim- limão	12,50	12,50	3,13	6,25	6,25	12,5	3,13	3,13	1,56	3,13
Melancia	>20	>20	20	>20	20	>20	20	>20	10	>20

Em um estudo anterior, bactérias como *S. aureus* e *B. subtilis* foram menos resistentes que as bactérias probióticas utilizadas no presente trabalho, com valores de MIC de 10 mg/mL para o sorbato de potássio e benzoato de sódio (STANOJEVIC *et al.*, 2009).

A comparação da ação dos óleos essenciais, extratos etanólicos de cascas de frutas, edulcorantes e dos conservadores sobre as bactérias probióticas indica que a *B. longum* foi a bactéria mais sensível aos óleos e ao extrato etanólico de casca de melancia (Tabela 4), com destaque para o óleo essencial de canela, cuja concentração mínima de inibição foi de 0,31 mg/mL, menor que a do bissulfito de sódio (0,63 mg/mL). Esses resultados demonstram que foi possível encontrar um produto natural com ação superior à de um conservante empregado em alimentos.

O óleo essencial de pitanga apresentou efeito inibitório semelhante ao do benzoato de sódio com as bactérias *E. faecium*, *L. lactis*, *L. rhamnosus*, com valores da MIC em 50 mg/mL.

Para a maioria das bactérias e amostras testadas, os valores das concentrações bactericidas mínimas (MBC) observadas foram cerca do dobro dos valores da MIC determinados nos testes. Um exemplo, são os resultados encontrados para o óleo essencial de cravo, que apresentou a MIC de 1,25 mg/mL contra *B. longum* e MBC de 2,5 mg/mL (Tabela 4).

A sacarina, para ter a ação bactericida em *L. rhamnosus*, precisou de duas concentrações acima (100 mg/mL) da MIC encontrada de 25 mg/mL. Esse resultado também foi obtido para a bactéria *L. acidophilus*, para a sacarina e o sorbato de potássio.

5.2 Estimulação da produção de ácidos graxos de cadeia curta – acetato, butirato e propionato

Algumas culturas probióticas possuem a capacidade de utilizar fibras, como a inulina, quebrando-a em açúcares menores que favorecem o crescimento microbiano e a produção de ácidos graxos de cadeia curta, compostos importantes para o organismo, por regularem as células epiteliais do cólon e serem substratos energéticos (QUIGLEY, 2010, HIRAYAMA & RAFTER, 2012; PEKMEZ *et al.*, 2019). Os produtos da fermentação, por exemplo, lactato e acetato, podem ser usados como

substratos pelas bactérias para produção de mais tipos de ácidos graxos de cadeia curta (QUIGLEY, 2010; MOENS *et al.*, 2017, PEKMEZ *et al.*, 2019).

Assim, foi realizado cultivo das bactérias na presença de inulina, sendo que os resultados ilustrados na Figura 5 demonstram esta característica probiótica das cepas utilizadas, uma vez que algumas linhagens podem ter a capacidade de fermentar a inulina e outras não.

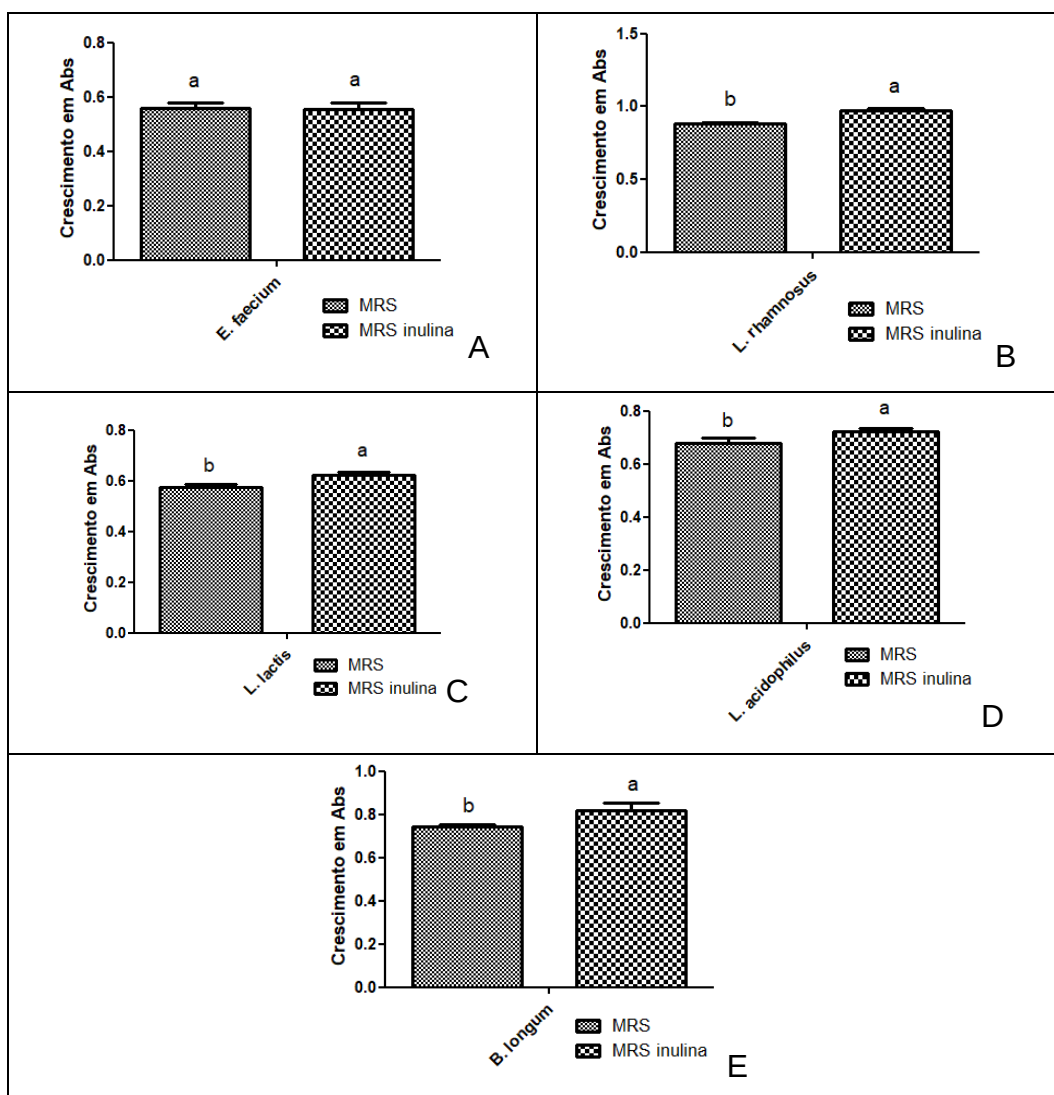


Figura 5. Promoção de crescimento das bactérias probióticas pela inulina 1,5%. Ensaios em meio de cultura MRS após 24 h de cultivo. 5A - *E. faecium*; 5B - *L. rhamnosus*; 5C - *L. lactis*; 5D - *L. acidophilus*; 5E - *B. longum*.

Com base nos valores de concentração dos poços imediatamente anteriores aos de MIC (Tabela 4), as bactérias probióticas foram submetidas a

crescimento em meio contendo benzoato de sódio, sorbato de potássio, sacarina, óleo essencial de canela e extrato etanólico de casca de melancia, a fim de causar “injúria” celular. Após crescimento, uma amostra da cultura de células “injuriadas” foi transferida para novo meio de cultura, desta vez contendo inulina. Após o tempo de incubação, o caldo fermentado foi analisado quanto ao teor dos ácidos acético, propiônico e butírico.

A Figura 5A demonstra que, das cinco bactérias estudadas, somente *E. faecium* não utilizou a inulina, pois apresentou o mesmo crescimento no caldo de cultura sem a fibra (Abs 0,56 sem inulina e 0,56 com inulina; $p < 0,05$).

Os resultados da Figura 6 mostram que quando *E. faecium* foi cultivado somente no meio de cultura original (controle), não foram detectados os ácidos acético, propiônico e butírico. Porém, quando crescido na presença do benzoato, sorbato, sacarina e óleo essencial de canela, ácido acético foi detectado, respectivamente, nas concentrações de 522 $\mu\text{g/mL}$, 289 $\mu\text{g/mL}$, 227 $\mu\text{g/mL}$ e 120 $\mu\text{g/mL}$.

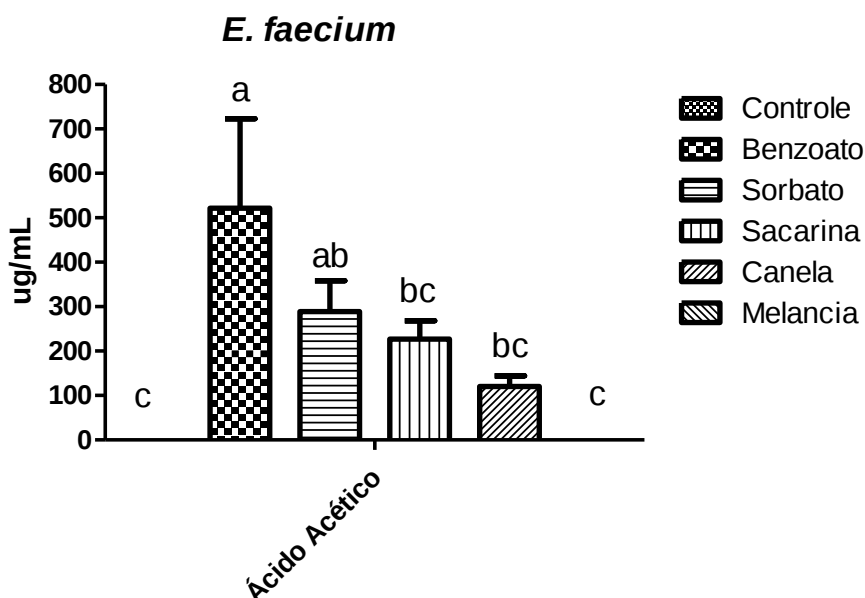


Figura 6. Produção de ácido acético por *E. faecium*, após exposição ao benzoato de sódio (25 mg/mL), sorbato de potássio (50 mg/mL), sacarina (50 mg/mL), óleo essencial de canela (1,25 mg/mL) e extrato etanólico de casca de melancia (20 mg/mL), e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, em meio contendo 1,5% de inulina.

A cultura controle de *L. acidophilus*, ou seja, não cultivada na presença dos conservadores e demais amostras avaliadas (Figura 7) produziu 5789 µg/mL de ácido acético, 77 µg/mL de ácido propiônico e 69 µg/mL de ácido butírico. Porém, o ácido butírico não foi mais detectado no meio de cultivo após exposição ao benzoato, sorbato, sacarina, óleo essencial de canela e extrato etanólico de casca de melancia. Houve também uma diminuição da produção dos demais ácidos graxos quantificados (Figura 7).

Soldavini & Kaunitz (2013) e Puertollano *et al.* (2014) observaram que a microbiota intestinal, principalmente o gênero *Bifidobacterium*, quando na presença de fruto-oligossacarídeos e galacto-oligossacarídeos é estimulada a produzir ácido acético, o que corrobora com os resultados, pois este foi o ácido mais produzido pelas bactérias avaliadas na condição controle. Por outro lado, *L. acidophilus* teve a produção de ácido acético diminuída em comparação ao controle (5789 µg/mL; $p < 0,05$), quando as células foram expostas ao extrato etanólico de casca da melancia (2414 µg/mL), óleo essencial de canela (3368 µg/mL), sacarina (3846 µg/mL), sorbato de potássio (4045 µg/mL) e benzoato de sódio (4556 µg/mL).

A produção de ácido propiônico pela bactéria de *L. acidophilus* (77 µg/mL na amostra controle; $p < 0,05$) também foi reduzida na presença dos conservadores sorbato (16 µg/mL), benzoato (22 µg/mL), sacarina (12 µg/mL) e do óleo essencial de canela (21 µg/mL), não sendo detectado após a exposição ao extrato etanólico de casca de melancia (Figura 7B).

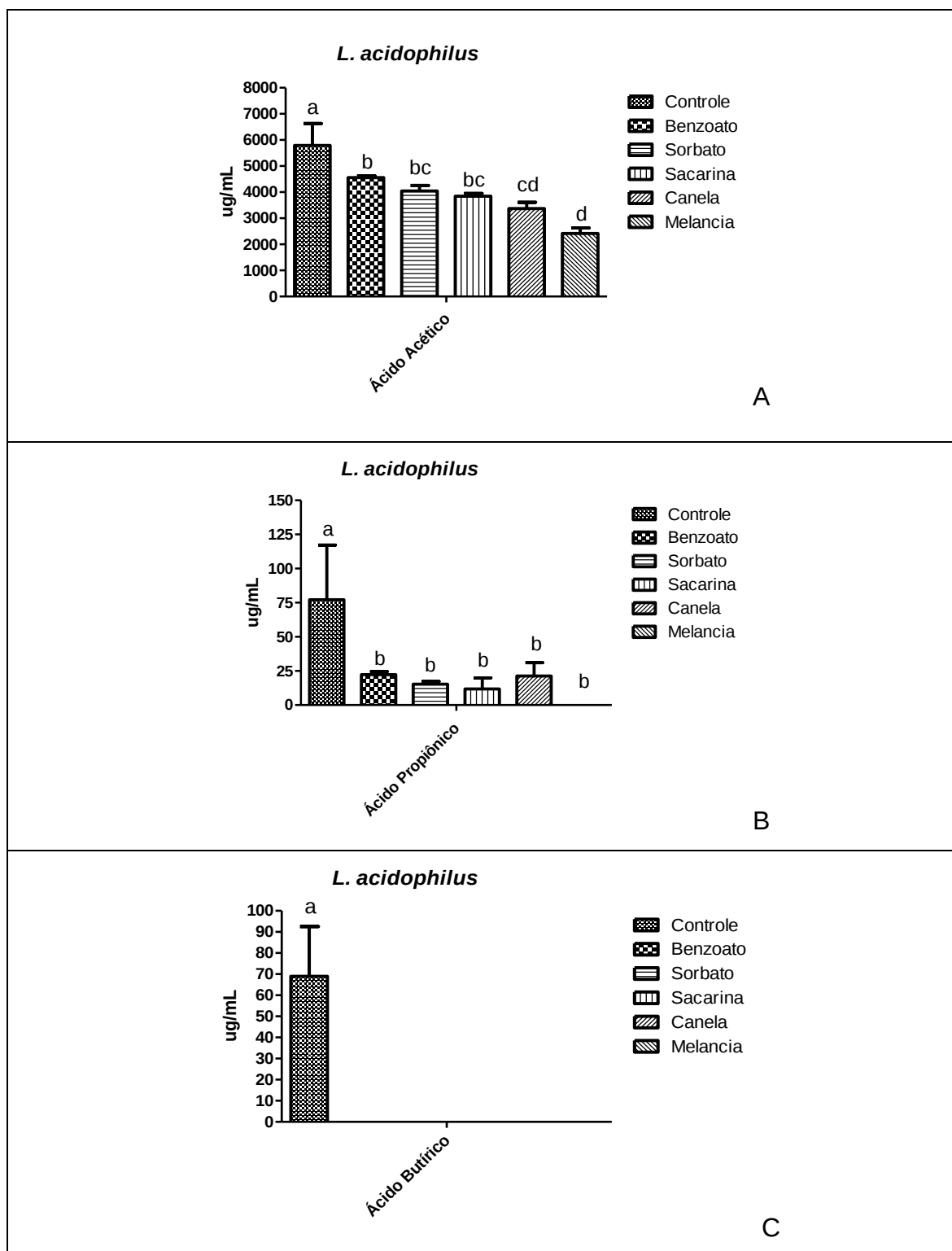


Figura 7. Produção de ácido acético (7A), ácido propiônico (7B) e ácido butírico (7C) *L. acidophilus*, após a exposição ao benzoato de sódio (25 mg/mL), sorbato de potássio (12,5 mg/mL), sacarina (12,5 mg/mL), óleo essencial de canela (1,25 mg/mL) e extrato etanólico de casca de melancia (10 mg/mL), e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, de meio contendo 1,5% de inulina.

A bactéria *L. lactis* produziu ácido acético e propiônico, mas não ácido butírico após o crescimento em inulina, 1,5% por 24 h. Já o extrato de casca de melancia e o benzoato de sódio não alteraram a produção de ácido propiônico por *L. lactis*. Porém, o sorbato de potássio, a sacarina e o óleo essencial de canela alteraram a produção dos ácidos acético e propiônico pela bactéria (Figura 8 - 8A e 8B).

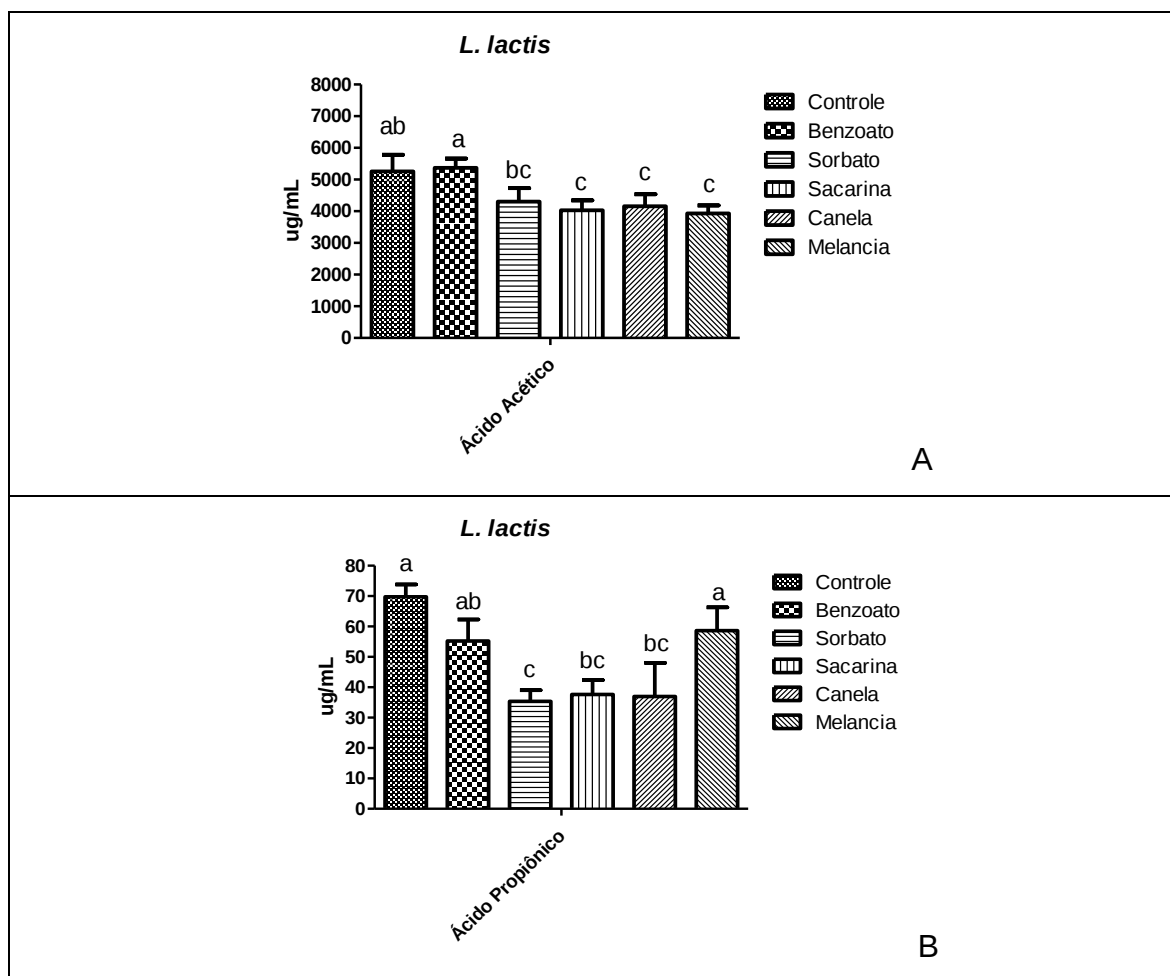


Figura 8. Produção de ácido acético (8A) e ácido propiônico (8B) *L. lactis*, após a exposição ao benzoato de sódio (25 mg/mL), sorbato de potássio (12,5 mg/mL), sacarina (25 mg/mL), óleo essencial de canela (0,63 mg/mL), e extrato etanólico de casca de melancia (10 mg/mL) e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, de meio contendo 1,5% de inulina.

Ácidos graxos de cadeia curta, observados na presença de inulina, em testes *in vitro*, são pouco estudados para *L. lactis*. No trabalho de De Marco *et al.* (2015), os autores demonstraram a produção *in vitro* de ácido acético na presença de 1% de inulina, após 24 h de fermentação, para as bactérias *L. lactis* e *L. acidophilus* e encontraram, respectivamente, 500 ppm e 100 ppm.

Bifidobacterium longum foi a maior produtora de ácido acético, entre as cinco bactérias avaliadas, apresentando 7051 $\mu\text{g/mL}$ na amostra controle (Figura 9A). Ácido propiônico também foi observado no controle (62 $\mu\text{g/mL}$). Após exposição ao sorbato de potássio e ao extrato etanólico de casca de melancia houve redução da produção de ácido acético por *B. longum* (5664 $\mu\text{g/mL}$ e 5534 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) e ácido propiônico, (39 $\mu\text{g/mL}$ e 38 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente; $p < 0,05$).

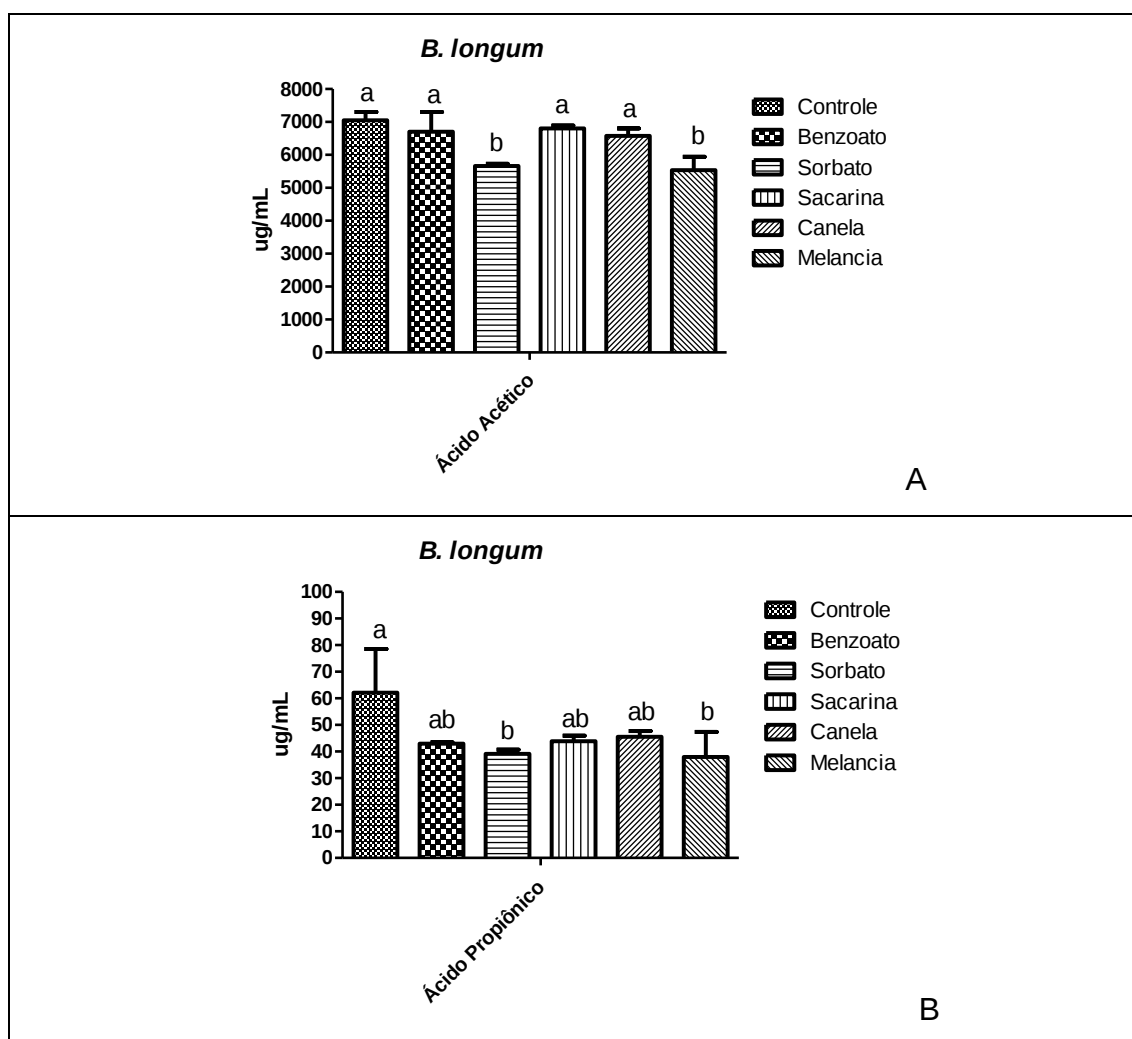


Figura 9. Produção de ácido acético (9A) e ácido propiônico (9B) *B. longum*, após a exposição ao benzoato de sódio (12,5 mg/mL), sorbato de potássio (12,5 mg/mL), sacarina (3,1 mg/mL), óleo essencial de canela (0,16 mg/mL) e extrato etanólico de casca de melancia (5 mg/mL), e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, de meio contendo 1,5% de inulina.

O extrato etanólico da casca de melancia foi uma das amostras que alterou a produção de ácidos graxos de cadeia curta nas bactérias *L. acidophilus*, *B. longum* e *L. rhamnosus*. Sultan *et al.* (2017) avaliaram a atividade anti-plasmídeo do extrato etanólico de casca de melancia sobre as bactérias como *E. coli* e *S. mutans*, e identificaram a presença de compostos fenólicos no extrato (flavonoides e taninos), terpenoides, saponinas, glicosídeos e alcaloides. Alguns destes constituintes também foram encontrados no extrato etanólico de casca de melancia utilizado neste trabalho.

Os resultados obtidos para *L. rhamnosus* estão apresentados na Figura 10. Esta bactéria deixou de produzir ácido propiônico após cultivo na presença de benzoato de sódio, sorbato de potássio, sacarina e extrato etanólico de casca de melancia. Houve redução de aproximadamente 50% (13 µg/mL) de ácido propiônico, após a exposição em óleo essencial de canela, em relação ao controle (24 µg/mL; $p < 0,05$). Em relação ao ácido acético, houve aumento de sua produção após exposição ao óleo essencial de canela (396 µg/mL) quando comparada ao controle (221 µg/mL; $p < 0,05$). Houve também redução na presença dos demais compostos (benzoato, 18 µg/mL; sorbato, 88 µg/mL; sacarina, 113 µg/mL e melancia, 21 µg/mL; $p < 0,05$).

Lactobacillus rhamnosus (Figura 10A) foi a bactéria que menos produziu ácido acético na presença de inulina (221 µg/mL). Oliveira *et al.* (2012) realizaram teste com *L. rhamnosus* em leite enriquecido com 4% de inulina e encontraram 1500 µg/mL de ácido acético, após o processo fermentativo atingir o pH 4,5. Os resultados encontrados neste trabalho mostram que, nas condições estudadas, *L. rhamnosus* não foi um grande produtor de ácido acético quando comparado a *B. longum*, *L. acidophilus* e *L. lactis*.

O acetato age como subproduto para a formação do butirato pelos gêneros presentes na microbiota intestinal, como *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia spp.*, *Anaerostipes caccae*, *Eubacterium hallii* e *Eubacterium rectale* (sinônimo *B. longum*) (RIVIÈRE *et al.*, 2015; FERNÁNDEZ *et al.*, 2016; BAXTER *et al.*, 2019). No entanto, não houve detecção deste ácido graxo de cadeia curta para a cepa de *B. longum* analisada neste experimento. Puertollano *et al.* (2014) descreveram que o prebiótico influencia a formação do ácido graxo de cadeia curta e que a inulina ajuda a formação de acetato, mas não estimula a produção de propionato e butirato em *Bifidobacterium*.

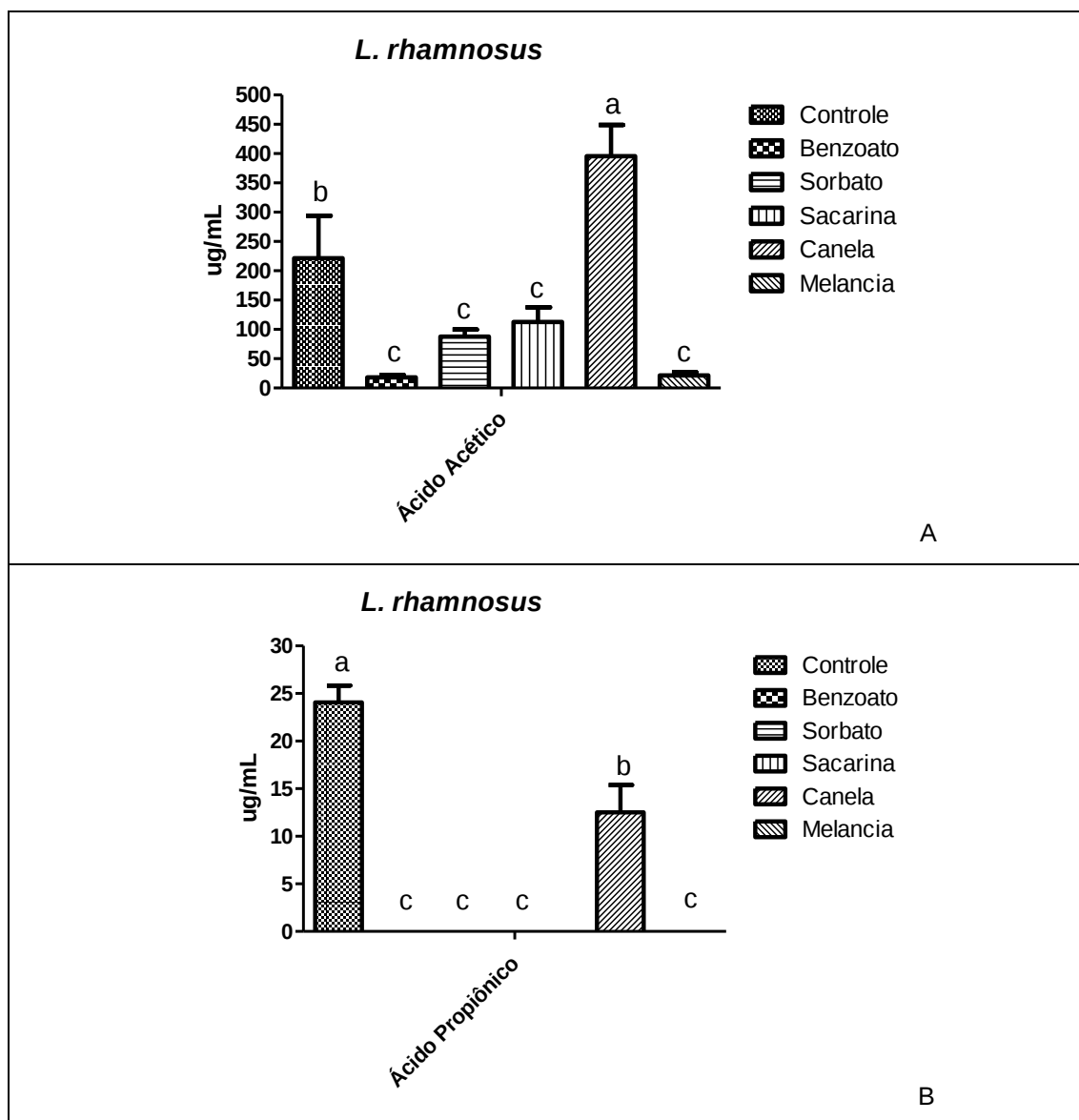


Figura 10. Produção de ácido acético (10A) e ácido propiônico (10B) *L. rhamnosus*, após a exposição ao benzoato de sódio (25 mg/mL), sorbato de potássio (25 mg/mL), sacarina (12,5 mg/mL), óleo essencial de canela (5 mg/mL) e extrato de casca de melancia (10 mg/mL), e as células serem recuperadas, após 24 h de cultivo, de meio contendo 1,5% de inulina.

Frente aos resultados apresentados, é possível inferir que a *B. longum* poderia produzir butirato utilizando o acetato derivado da inulina, e a não detecção de ácido butírico pode ter sido causada pelo fato de o tempo de fermentação de 24 h ter sido insuficiente. No momento da retirada da alíquota para a análise por cromatografia, o ácido acético encontrava-se em alta concentração na amostra (7051 µg/mL), sugerindo que o mesmo ainda não estava sendo utilizado para a formação de outros ácidos.

Moens *et al.* (2017) submeteram bactérias *B. longum* e *L. acidophilus* a fermentação em meio com aproximadamente 1% de inulina, durante 24 h. A produção de ácido acético para *B. longum* foi de 1830 µg/mL, não havendo detecção deste composto para *L. acidophilus*. Também Kajiwara *et al.* (2002) pesquisaram a produção de ácido acético por *B. longum* na presença de 5% de inulina e encontraram 4260 µg/mL, após 48 h. A linhagem de *L. acidophilus* utilizada neste trabalho foi capaz de produzir todos os ácidos pesquisados e *B. longum* produziu ácido acético e propiônico na presença de 1,5% de inulina.

5.3 Avaliação da atividade metabólica do *L. rhamnosus* através de citometria de fluxo

Baseado nos resultados obtidos nos ensaios anteriores de produção de ácidos graxos de cadeia curta e atividade antimicrobiana por turbidimetria, onde *L. rhamnosus* foi mais susceptível aos conservadores, edulcorantes, óleos essenciais e extratos etanólicos de frutas, esta bactéria foi selecionada para investigação dos efeitos do sorbato de potássio, sacarina sódica e óleo essencial de canela sobre a atividade da esterase (cFDA) e a integridade da membrana (PI), após crescimento na presença dessas substâncias.

As análises foram realizadas por citometria de fluxo que utiliza luz e fluorescência, detectando células conforme o estado estrutural, fisiológico e genético (MÜLLER & NEBE-VON-CARON, 2010; WILKINSON, 2018). O resultado, em porcentagem, foi calculado a partir dos 20 mil eventos detectados pelo equipamento.

Este tipo análise está sendo atualmente utilizada para bactérias probióticas, pelo fato destes micro-organismos serem fastidiosos e estruturalmente estarem vivos, mas por razões adversas não conseguem, se multiplicar em meio de cultura

(LAHTINEN *et al.*, 2008; SAID *et al.*, 2010; KERRY *et al.*, 2018; BODOR *et al.*, 2020; KIESER & BUDOWLE, 2020).

Através de análise por citometria de fluxo foi possível observar que na presença de 25 mg/mL de sorbato ocorreu 15% de injúria celular (Figura 11), e a maior porcentagem de células mortas (20%), em comparação a sacarina (1%) e canela (12%). Este valor de células mortas foi metade do valor encontrado por Kennedy *et al.* (2011), que realizaram um estudo similar, expondo as bactérias Gram-positivas *S. aureus* e *L. monocytogenes* à presença de 0,1% de sorbato, por 30 min.

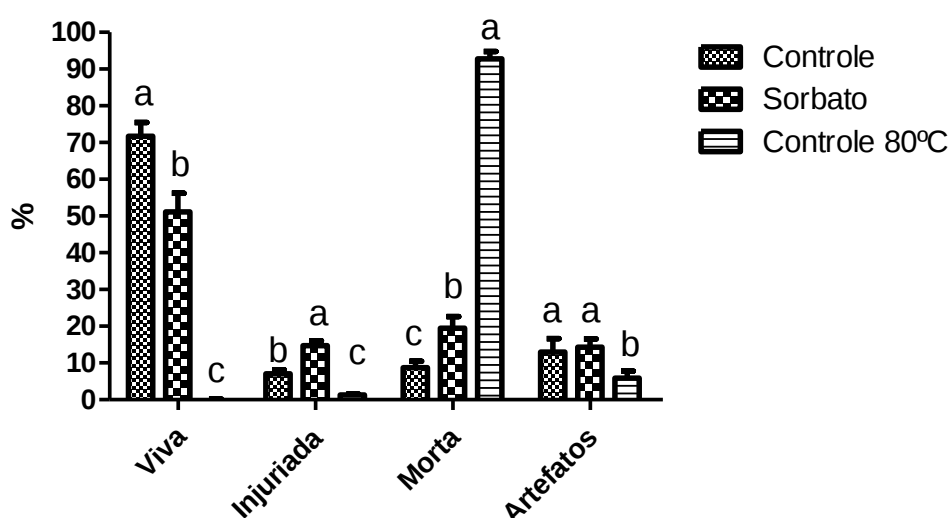


Figura 11. Análise por citometria de fluxo com cultura de *L. rhamnosus* crescida na presença de 25 mg/mL de sorbato de potássio, acompanhado de controle (amostra sem exposição) e controle 80°C (controle de células mortas - tratamento térmico de 80°C/ 10 min). Porcentagem de células vivas, injuriadas, mortas e artefatos.

Células crescidas na presença de sacarina apresentaram um comportamento demonstrando variações entre os controles e os valores de células mortas (controle de 9% e sacarina 1%; $p < 0,05$), injuriadas (controle obtendo 7% e sacarina 1%; $p < 0,05$), e principalmente artefatos (controle 13% e sacarina 36%; $p < 0,05$) (Figura 12).

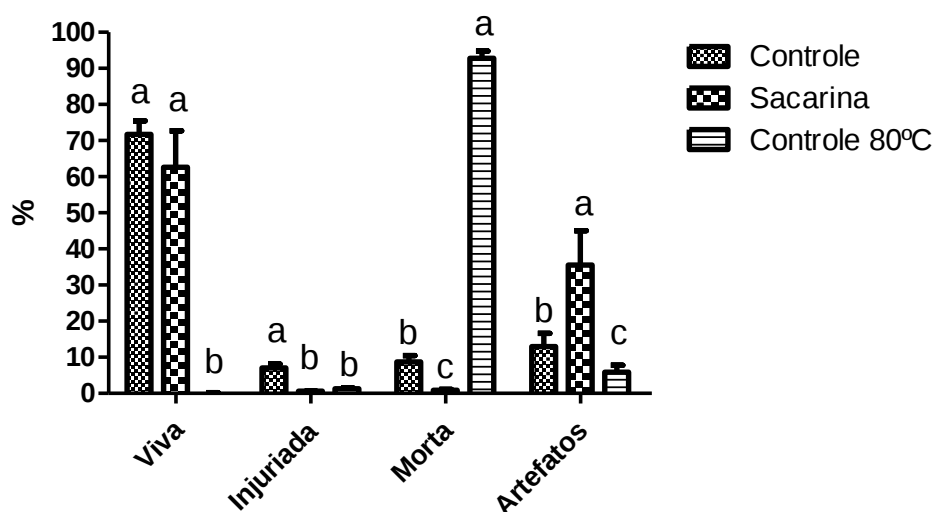


Figura 12. Análise por citometria de fluxo com cultura de *L. rhamnosus* crescida na presença de 12,5 mg/mL de sacarina, acompanhada de controle (amostra sem exposição) e controle 80°C (controle de células mortas - tratamento térmico de 80°C/ 10 min). Porcentagem de células vivas, injuriadas, mortas e artefatos.

O PI age se a membrana sofreu algum dano, mas este rompimento não pode permitir que o corante extravase e impeça a interação com o DNA da célula (ZHANG *et al.*, 2019). As células tratadas com a sacarina apresentaram menos bactérias injuriadas e mortas que o controle, mas apresentaram maior porcentagem de artefatos, o que pode sugerir, conforme Sunny-Roberts & Knorr (2008) e Ananta *et al.* (2004), serem um grupo de células com a membrana intacta e sem atividade de esterase ou, de acordo com Amor *et al.* (2002) e Paparella *et al.* (2008), lise completa da membrana, impedindo o PI de ficar retido.

Sacarina e sorbato de potássio apresentaram as porcentagens de células vivas de 63% e 51%, respectivamente, com o controle em 72%. O óleo essencial de canela obteve as porcentagens de células injuriadas de 27% e células vivas em 38% para *L. rhamnosus* (Figura 13), a contagem da população (Figura 14), para esta amostra, apresentou uma queda em relação ao controle (controle, 7,6 log UFC/mL; canela 6,8 log UFC/mL; $p < 0,05$). Este resultado pode explicar a menor concentração de células vivas como também, que uma parte destas células injuriadas poderia ter perdido a capacidade de se multiplicar. Células não lesadas são mais facilmente detectadas e enumeradas pelo método microbiológico tradicional (EVERIS, 2001). Paparella *et al.* (2008) analisaram a ação do óleo essencial de canela em *L.*

monocytogenes, na dosagem de 0,20%, e verificaram que a metade população das bactérias apresentaram injúria e a contagem em placas houve uma redução de 5 ciclos logarítmicos.

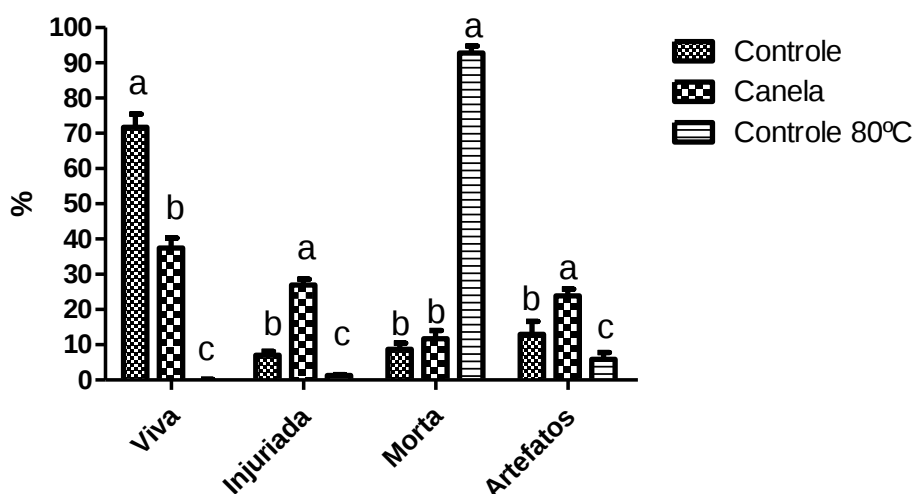


Figura 13. Análise por citometria de fluxo com cultura de *L. rhamnosus* crescida na presença de 5 mg/mL de óleo essencial de canela, acompanhado de controle (amostra sem exposição) e controle 80°C (controle de células mortas - tratamento térmico de 80°C/ 10 min). Porcentagem de células vivas, injuriadas, mortas e artefatos.

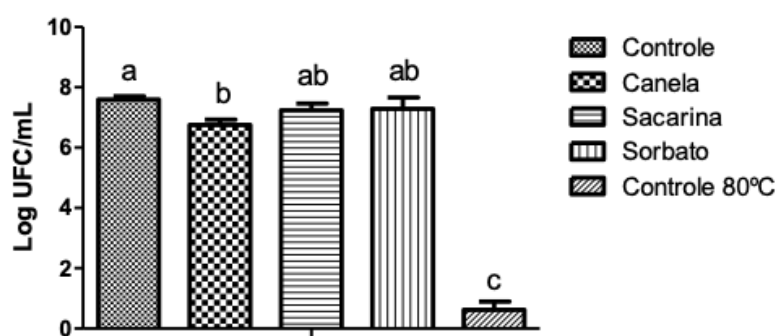


Figura 14. Contagem de células (log UFC/mL) das suspensões padronizadas em $0,5 \pm 0,1$ (Abs), analisadas por citometria de fluxo.

A Figura 15, ilustra os *dot plots* (gráficos biparamétricos - quatro quadrantes) que foram observados durante a análise por citometria de fluxo

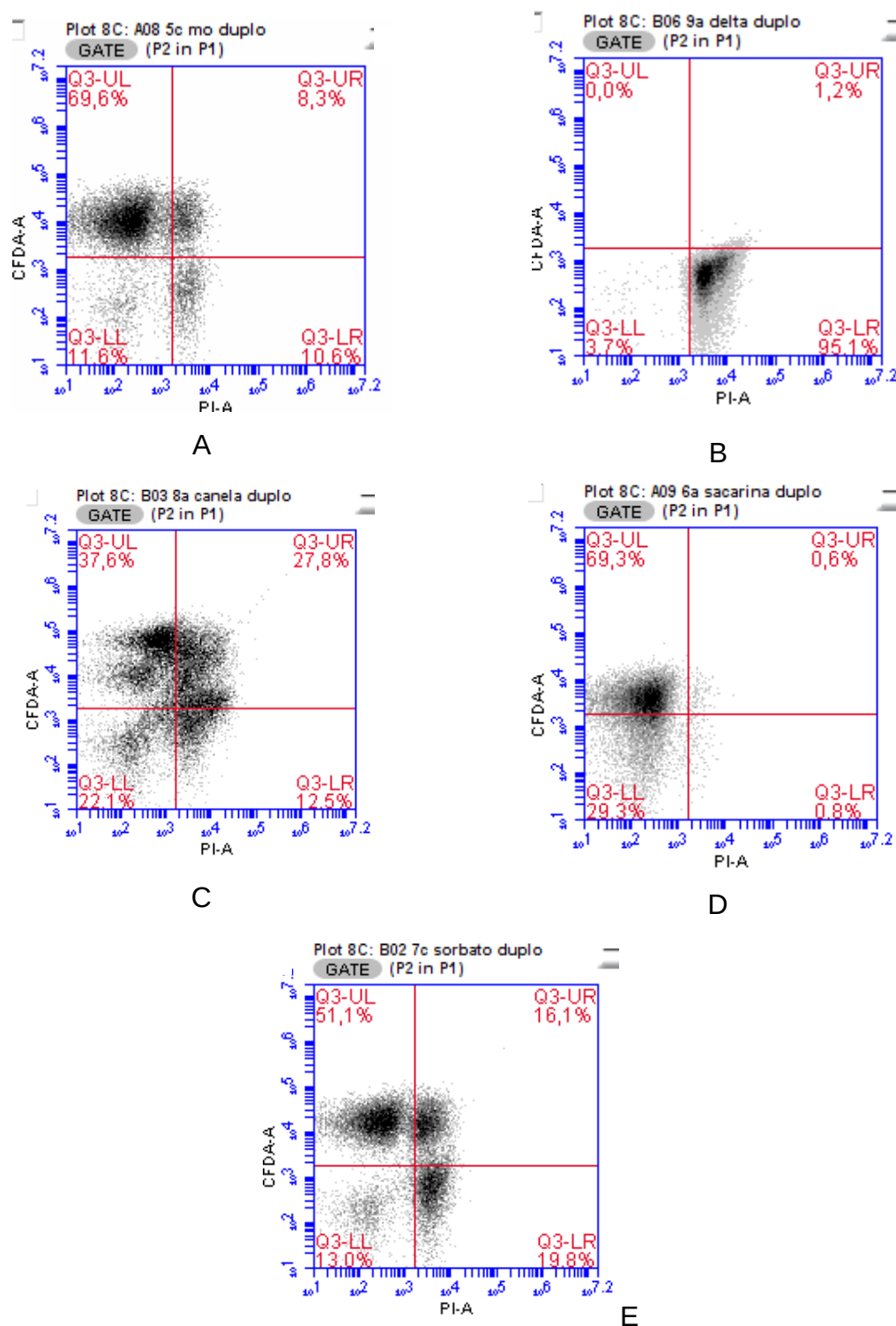


Figura 15. Dot-plots observados durante a análise por citometria de fluxo com *L. rhamnosus*: 15A Controle positivo (sem ação dos conservadores), 15B Controle negativo (tratamento térmico), 15C óleo essencial de canela, 15D sacarina, 15E sorbato de potássio. UL “vivas”; UR “injurizadas”; LL “artefatos”; LR “mortas”.

5.4 Teor de compostos fenólicos nos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas estudados

Os extratos de cascas de frutas e óleos essenciais estudados foram avaliados quanto ao teor de compostos fenólicos. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Teor de compostos fenólicos dos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas estudados.

Amostra	EC (extrato de casca) / OE (óleo essencial)	Mg EAG/g Amostra
Maçã Gala	EC	10,5
Manga Tommy	EC	21,0
Melancia	EC	11,7
Banana Prata	EC	20,4
Laranja Doce	OE	5,5
Capim-limão	OE	7,4
Canela	OE	5,5
Gengibre	OE	7,4
Pitanga	OE	28,0
Orégano	OE	239,9
Cravo	OE	902,6

De acordo com os resultados da Tabela 5, o óleo essencial de cravo apresentou a maior quantidade de compostos fenólicos (902,6 mg EAG/g amostra). O eugenol é um dos principais constituintes deste óleo essencial, conforme Cunha *et al.* (2012).

O segundo produto com maior concentração de fenólicos foi o óleo essencial de orégano (239,9 mg EAG/g amostra), sendo que a *B. longum* foi a única bactéria capaz de crescer na presença deste óleo (Figura 2).

Bernstein *et al.* (2009) analisaram compostos fenólicos em óleo essencial de orégano e encontraram 60 mg EAG/g. Conforme a análise cromatográfica de Martins *et al.* (2014), o óleo essencial de orégano obtido por hidrodestilação continha, aproximadamente, 23 mg/g de ácidos fenólicos e 70 mg/g de flavonoides, destacando-se como principais o ácido rosmarínico e o flavonoide O-glucurônico de luteolina.

Parkar *et al.* (2013), após fermentarem fezes humanas com polifenóis, analisaram por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) a presença dos grupos de bactérias nas amostras e constataram que houve aumento da população de *Bifidobacterium*, mostrando que este gênero possui afinidade com compostos fenólicos.

O óleo essencial das folhas de pitanga pode ser destacado em seguida, com teor de compostos fenólicos de 28,0 mg EAG/g amostra. Costa *et al.* (2009) atribuíram taninos e flavonoides como os principais compostos fenólicos encontrados em óleo essencial de folhas de pitanga.

Os óleos essenciais de canela e laranja doce foram os óleos com menores concentrações de fenólicos, 5,5 mg EAG/g amostra. Eldahshan & Halim (2016) e Chi *et al.* (2019) analisaram os componentes do óleo essencial de laranja doce e encontraram como maiores constituintes os monoterpenos, enquanto o principal composto do óleo essencial de canela é o cinamaldeído (Unlu *et al.*, (2010).

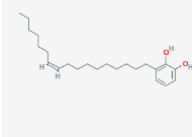
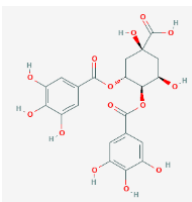
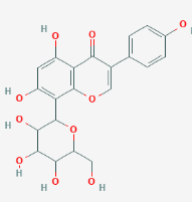
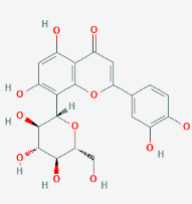
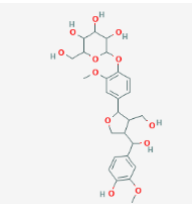
Os teores de compostos fenólicos encontrados nas cascas de frutos variaram de 11 a 21 mg EAG/g amostra, sendo que as cascas com maiores concentrações foram as de manga (21 mg EAG/g amostra) e banana prata (20,4 mg EAG/g amostra). De acordo com a literatura disponível, a casca de banana pode conter compostos como ácido gálico, catequina, epicatequina, taninos e antocianinas (SINGH *et al.*, 2016), enquanto a casca de manga apresenta geralmente em sua constituição ácido sérico, quercetina, mangiferina pentosídeo, ácido elágico, ácido gálico glicosilado e dos grupos dos carotenoides, β -caroteno, luteína e violaxantina (RIBEIRO *et al.*, 2008; AJILA *et al.*, 2010; ARAUJO *et al.*, 2014). Kim *et al.* (2010) encontraram para a casca da manga Tommy 70 mg EAG/g amostra, valor maior do que o encontrado neste trabalho. Esta diferença pode ser atribuída ao método de extração utilizado pelos autores, que incluíram a liofilização da casca seca antes da extração por etanol, além de diferenças de cultivo e maturação dos frutos (VU *et al.*, 2018).

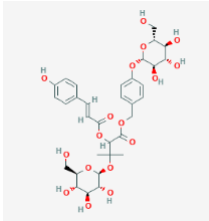
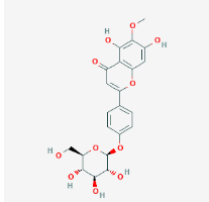
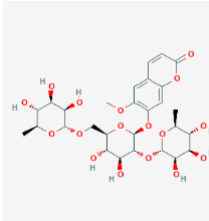
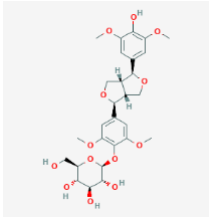
5.5 Composição química do extrato etanólico de casca de melancia

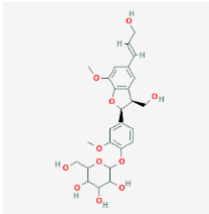
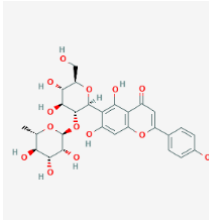
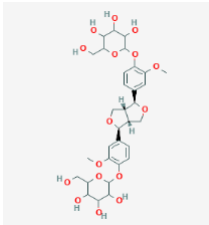
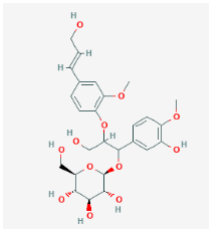
O extrato etanólico de casca de melancia foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por MS/MS (ESI +). Os principais compostos encontrados neste extrato estão apresentados na Tabela 6 e foram comparados com o banco de dados no site GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>), complementando as

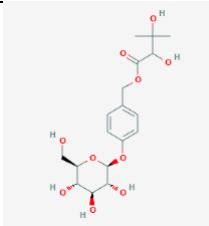
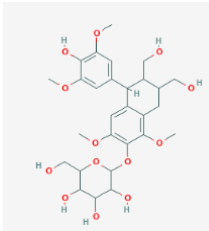
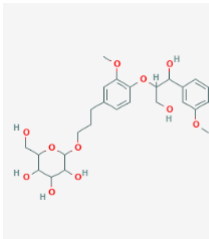
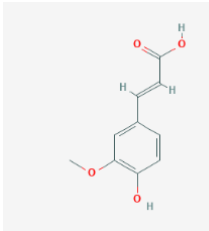
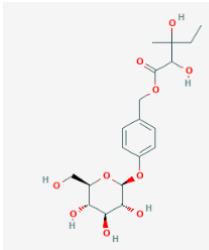
informações como IUPAC, sinônimo, massa, fórmula e estrutura, utilizando o site <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

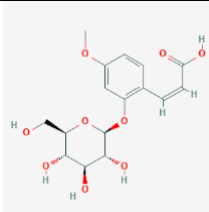
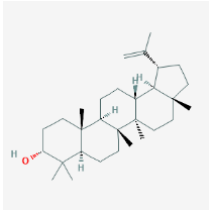
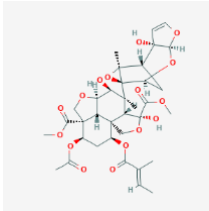
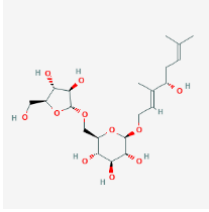
Tabela 6. Compostos encontrados no extrato de casca de melancia através de análise por CLAE, com detecção MS/MS (ESI+). Resultados comparados com o banco de dados GNPS.

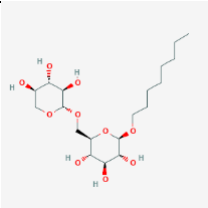
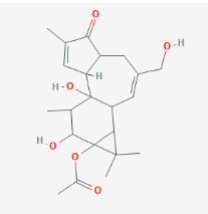
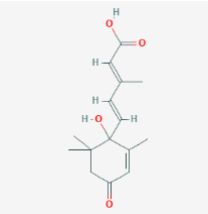
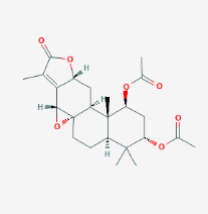
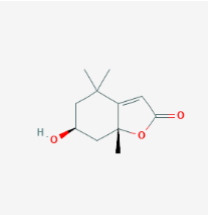
IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
3-[(Z)-heptadec-10-enyl]benzene-1,2-diol	3-[(Z)-10-Heptadecenyl]catechol	Fenólicos	C ₂₃ H ₃₈ O ₂	346.5 / 369.3	
(1S,3R,4R,5R)-1,3-dihydroxy-4,5-bis[(3,4,5-trihydroxybenzoyl)oxy]cyclohexane-1-carboxylic acid	3,4-di-O-galloylquinic acid	Fenólicos	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₄	496.4/ 519.1	
5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-8-[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]chromen-4-one	3-Genistein-8-C-glucoside	Fenólicos	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.4/ 433.1	
2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-[[2S,3R,4R,5S,6R]-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]chromen-4-one	Orientin	Fenólicos	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.4 / 449.1	
2-[4-[4-[hydroxy-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]-3-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]-2-methoxyphenoxy]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol	NA	Fenólicos	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₂	538.5 / 556.2	

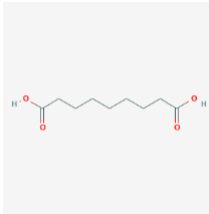
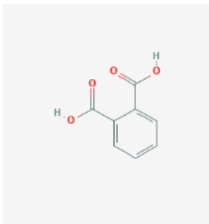
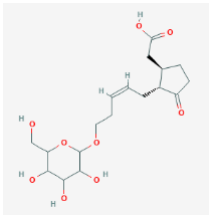
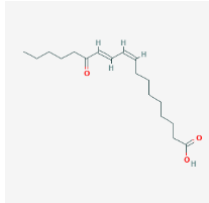
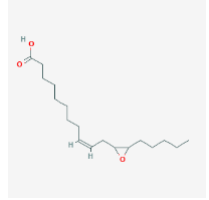
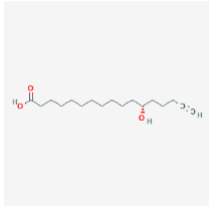
IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
[4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]methyl 2-[(E)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy-3-methyl-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxybutanoate	NA	Fenólicos	C ₃₃ H ₄₂ O ₁₇	710.7 / 728.3	
5,7-dihydroxy-6-methoxy-2-[4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]chromen-4-one	Hispidulin 4'-glucoside	Fenólicos	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	462.4 / 463.1	
7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-3-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-6-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-6-methoxychromen-2-one	NA	Fenólicos	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₇	646.6 / 685.2	
(2S,3R,4S,5S,6R)-2-[4-[(3S,3aR,6S,6aR)-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[3,4-c]furan-6-yl]-2,6-dimethoxyphenoxy]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol	Acanthoside B	Fenólicos	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	580.6 / 598.3	

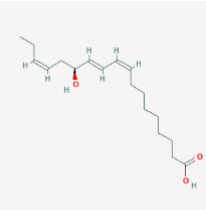
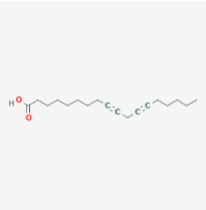
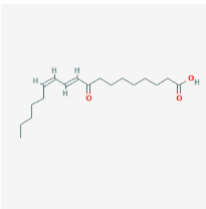
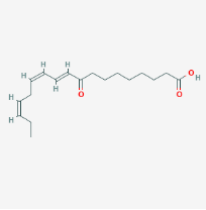
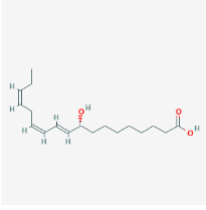
IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
2-(hydroxymethyl)-6-[4- [(2S,3S)-3-(hydroxymethyl)-5- [(E)-3-hydroxyprop-1-enyl]-7- methoxy-2,3-dihydro-1- benzofuran-2-yl]-2- methoxyphenoxy]oxane-3,4,5- triol	NA	Fenólicos	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	520.5 / 503.2	
6-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5- dihydroxy-6-(hydroxymethyl)- 3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5- trihydroxy-6-methyloxan-2- yl]oxyoxan-2-yl]-5,7- dihydroxy-2-(4- hydroxyphenyl)chromen-4- one	Isovitexin 2''-O- rhamnoside	Fenólicos	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	578.5 / 579.8	
2-[4-[(3S,3aR,6S,6aR)-6-[3- methoxy-4-[3,4,5-trihydroxy-6- (hydroxymethyl)oxan-2- yl]oxyphenyl]-1,3,3a,4,6,6a- hexahydrofuro[3,4-c]furan-3- yl]-2-methoxyphenoxy]-6- (hydroxymethyl)oxane-3,4,5- triol	NA	Fenólicos	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₆	682.7 / 700.3	
(2R,3R,4S,5S,6R)-2-[3- hydroxy-1-(3-hydroxy-4- methoxyphenyl)- methoxyphenyl]-2-[4-[(E)-3- hydroxyprop-1-enyl]-2- methoxyphenoxy]propoxy]-6- (hydroxymethyl)oxane-3,4,5- triol	3-Hydroxy-1-(3- hydroxy-4- methoxyphenyl)- 2-[4-[(1E)-3- hydroxy-1- propen-1-yl]-2- methoxyphenoxy }propyl beta-D- glucopyranoside	Fenólicos	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₂	538.5 / 521.2	

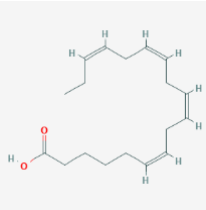
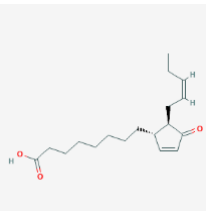
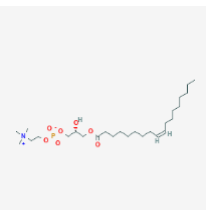
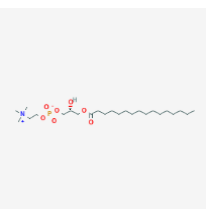
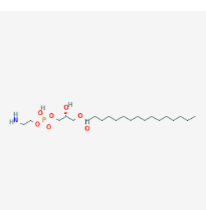
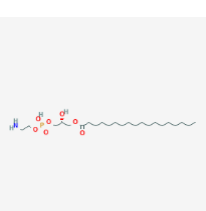
IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
[4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-Trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]methyl 2,3-dihydroxy-3-methylbutanoate	4-(beta-D-Glucopyranosyloxy)benzyl 2,3-dihydroxy-3-methylbutanoate	Fenólicos	C ₁₈ H ₂₆ O ₁₀	402.4 / 425.1	
2-[[5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-6,7-bis(hydroxymethyl)-1,3-dimethoxy-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl]oxy]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol	NA	Fenólicos	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₃	582.6 / 600.3	
2-[3-[4-[1,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propan-2-yl]oxy-3-methoxyphenyl]propoxy]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol	NA	Fenólicos	C ₂₆ H ₃₆ O ₁₂	540.6 / 558.3	
(E)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enoic acid	Ferulic acid	Fenólicos	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.2 / 177.1	
[4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]methyl 2,3-dihydroxy-3-methylpentanoate	Pentonic acid, 4,5-dideoxy-3-C-methyl-, [4-(beta-D-glucopyranosyloxy)phenyl]methyl ester	Fenólicos	C ₁₉ H ₂₈ O ₁₀	416.4 / 439.2	

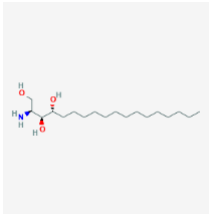
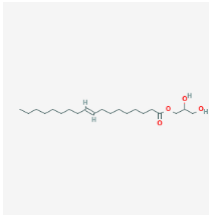
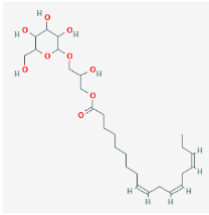
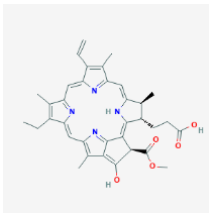
IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
(Z)-3-[4-methoxy-2- [(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5- trihydroxy-6- (hydroxymethyl)oxan-2- yl]oxyphenyl]prop-2-enoic acid	2-beta-D- Glucopyranosylo xy-4-methoxy- cis-cinnamic acid	Fenólicos	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	356.3 / 374.1	
(1R,3aR,5aR,5bR,7aR,9R,11 aR,11bR,13aR,13bR)- 3a,5a,5b,8,8,11a-hexamethyl- 1-prop-1-en-2-yl- 1,2,3,4,5,6,7,7a,9,10,11,11b,1 2,13,13a,13b- hexadecahydrocyclopenta[a]c hrysen-9-ol dimethyl	3-Epilupeol	Terpeno	C ₃₀ H ₅₀ O	426.7 / 427.4	
(1S,4S,5R,6S,7S,8R,11S,12R ,14S,15R)-12-acetyloxy-4,7- dihydroxy-6- [(1S,2S,6S,8S,9R,11S)-2- hydroxy-11-methyl-5,7,10- trioxatetracyclo[6.3.1.02,6.09, 11]dodec-3-en-9-yl]-6-methyl- 14-[(E)-2-methylbut-2- enyl]oxy-3,9- dioxatetracyclo[6.6.1.01,5.011 ,15]pentadecane-4,11- dicarboxylate (2R,3S,4S,5R,6R)-2- [[[(2R,3R,4R,5S)-3,4- dihydroxy-5- (hydroxymethyl)oxolan-2- yl]oxymethyl]-6-[(2E)-3,7- dimethylocta-2,6- dienoxy]oxane-3,4,5-triol	Azadirachtin	Terpeno	C ₃₅ H ₄₄ O ₁₆	720.7 / 759.2	
	Rosiridoside B	Terpeno	C ₂₁ H ₃₆ O ₁₁	464.5 / 466.3	

IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-2-octoxy-6- [[<i>(</i> 2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-3,4,5- trihydroxyoxan-2- yl]oxymethyl]oxane-3,4,5-triol	NA	Terpeno	C ₁₉ H ₃₆ O ₁₀	424.5 / 442.3	
[1,14-dihydroxy-8- (hydroxymethyl)-4,12,12,15- tetramethyl-5-oxo-13- tetracyclo[8.5.0.02,6.011,13]p entadeca-3,8-dienyl] acetate	7 <i>b</i> ,9-Dihydroxy- 3- (hydroxymethyl)- 1,1,6,8- tetramethyl-5- oxo- 1,1 <i>a</i> ,1 <i>b</i> ,4,4 <i>a</i> ,5,7 <i>a</i> ,7 <i>b</i> ,8,9- decahydro-9 <i>a</i> H- cyclopropa[3,4] <i>b</i> enzo[1,2- e]azulen-9 <i>a</i> -yl acetate	Terpeno	C ₂₂ H ₃₀ O ₆	390.5 / 432.2	
(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-5-(1-hydroxy-2,6,6- trimethyl-4-oxocyclohex-2-en- 1-yl)-3-methylpenta-2,4- dienoic acid	Abscisic acid	Terpeno	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	264.3 / 247.1	
(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,10 <i>S</i> ,11 <i>R</i> ,12 <i>S</i> ,14 <i>S</i> , 16 <i>R</i>)-12-acetyloxy- 5,11,15,15-tetramethyl-6-oxo- 2,7- dioxapentacyclo[8.8.0.01,3.04 ,8.011,16]octadec-4-en-14-yl] acetate	Gelomulide N	Terpeno	C ₂₄ H ₃₂ O ₇	432.4 / 415.2	
(6 <i>S</i> ,7 <i>a</i> <i>R</i>)-6-hydroxy-4,4,7 <i>a</i> - trimethyl-6,7-dihydro-5 <i>H</i> -1- benzofuran-2-one	Lolilide	Terpeno	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	196.2 / 197.1	

IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
<i>Nonanedioic acid</i>	<i>Azelaic acid</i>	Ácido carboxílico	$C_9H_{16}O_4$	188.2 / 227.1	
<i>Phthalic acid</i>	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid</i>	Ácido carboxílico	$C_8H_6O_4$	166.1 / 149.0	
<i>2-[(1R,2R)-3-oxo-2-[(Z)-5-[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxypent-2-enyl]cyclopentyl]acetic acid</i>	<i>Cyclopentaneacic acid, 2-[(2Z)-5-(hexopyranosyloxy)-2-penten-1-yl]-3-oxo-, (1R,2R)</i>	Ácido carboxílico	$C_{18}H_{28}O_9$	388.4 / 406.2	
<i>(9Z,11E)-13-oxooctadeca-9,11-dienoic acid</i>	<i>13-Keto-9Z,11E-octadecadienoic acid</i>	Ácido graxo	$C_{18}H_{30}O_3$	294.4 / 277.2	
<i>(Z)-11-(3-pentyloxiran-2-yl)undec-9-enoic acid</i>	<i>12(13)-Epoxy-9Z-octadecenoic acid</i>	Ácido graxo	$C_{18}H_{32}O_3$	296.4 / 297.2	
<i>(12S)-12-hydroxyheptadec-16-ynoic acid</i>	<i>12(S)-Hydroxy-16-heptadecynoic acid</i>	Ácido graxo	$C_{17}H_{30}O_3$	282.4 / 265.2	

IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
(Z)-docos-13-enamide	Erucamide, 13-Docosenamide	Ácido graxo	C ₂₂ H ₄₃ NO	337.6 / 338.3	
9Z,11E,13S,15Z)-13-hydroxyoctadeca-9,11,15-trienoic acid	13S-Hydroxy-9Z,11E,15Z-octadecatrienoic acid	Ácido graxo	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	294.4 / 277.2	
octadeca-9,12-diynoic acid	9,12-Octadecadiynoic Acid	Ácido graxo	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	276.4 / 277.2	
(10E,12Z)-9-oxooctadeca-10,12-dienoic acid	9-OxoODE	Ácido graxo	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	294.4 / 263.2	
(10E,12Z,15Z)-9-oxooctadeca-10,12,15-trienoic acid	9-OxoOTrE	Ácido graxo	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	292.4 / 275.2	
(9S,10E,12Z,15Z)-9-hydroxyoctadeca-10,12,15-trienoic acid	9(S)-HOTrE	Ácido graxo	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	294.4 / 293.2	

IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
(6Z,9Z,12Z,15Z)-octadeca-6,9,12,15-tetraenoic acid	Stearidonic acid	Ácido graxo	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	276.4/ 277.2	
8-[(1S,5R)-4-oxo-5-[(Z)-pent-2-enyl]cyclopent-2-en-1-yl]octanoic acid	9s,13r-12-Oxophytodienoic Acid	Ácido graxo	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	292.4/ 293.2	
[(2R)-2-hydroxy-3-[(Z)-octadec-9-enoyl]oxypropyl] 2-(trimethylazaniumyl)ethyl phosphate	1-(9Z-Octadecenoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine	Glicerofosfato	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	521.7/ 522.4	
[(2R)-3-hexadecanoyloxy-2-hydroxypropyl] 2-(trimethylazaniumyl)ethyl phosphate	1-Palmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	Glicerofosfato	C ₂₄ H ₅₀ NO ₇ P	495.6/ 518.3	
[(2R)-3-[2-aminoethoxy(hydroxy)phosphoryl]oxy-2-hydroxypropyl] hexadecanoate	1-hexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, 1-hexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine	Fosfolipídio	C ₂₁ H ₄₄ NO ₇ P	453.5/ 454.3	
[(2R)-3-[2-aminoethoxy(hydroxy)phosphoryl]oxy-2-hydroxypropyl] octadecanoate	1-octadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine	Fosfolipídio	C ₂₃ H ₄₈ NO ₇ P	481.6/ 482.3	

IUPAC	Sinônimo	Tipo	Fórmula	Massa g/mol E/D*	Estrutura
(2S,3S,4R)-2-aminooctadecane-1,3,4-triol	Phytosphingosine	Fosfolípídio	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	317.5/ 300.3	
2,3-dihydroxypropyl (E)-octadec-9-enoate	Monoelaidin	Glicerídeo	C ₄₂ H ₈₀ O ₈	356.5/ 357.3	
[2-hydroxy-3-[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxypropyl] (9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trienoate	NA	Glicolípídio	C ₂₇ H ₄₆ O ₉	514.6/ 532.4	
3-[(3R,21S,22S)-16-ethenyl-11-ethyl-4-hydroxy-3-methoxycarbonyl-12,17,21,26-tetramethyl-7,23,24,25-tetrazahexacyclo[18.2.1.15,8.110,13.115,18.02,6]hexacosa-1,4,6,8(26),9,11,13(25),14,16,18(24),19-undecaen-22-yl]propanoic acid	Pheophorbide a	Porfirina	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	592.7/ 593.3	

Observação: os nomes foram colocados em inglês conforme o banco de dados pesquisado.

*E/D – Estimada/Detectada

No presente trabalho, o extrato etanólico de casca de melancia apresentou 136 compostos. Após uma seleção baseada em espectros com padrão ouro, prata e porcentagem de semelhança acima 94%, a Tabela 6 mostra que o mesmo apresenta

como principais constituintes 19 compostos fenólicos, 11 ácidos graxos, 8 terpenos e 11 outros tipos de constituintes, sendo difícil concluir quais foram os compostos que agiram inibindo o crescimento das bactérias ou na produção de ácidos graxos pelas bactérias probióticas testadas.

De acordo com dados da literatura, os efeitos inibitórios conferidos pelos extratos etanólicos de cascas de frutas sobre o crescimento das bactérias estão relacionados à presença de compostos fenólicos, sendo que cada espécie de fruta possui um conjunto diferenciado destes e de outros compostos (LUO *et al.*, 2016; PIRES *et al.*, 2018; RAPHAELLI *et al.*, 2019).

O teor de compostos fenólicos encontrado no extrato etanólico de casca de melancia foi de 11,7 mg EAG/g de amostra (Tabela 5) e a identificação dos compostos (Tabela 6) acusou a presença de flavonas e isoflavonas (*3,4-di-O-galloylquinic acid*, *3-Genistein-8-C-glucoside*; *Hispidulin 4'-glucoside*; *Isovitexin 2-O-rhamnoside*, *Orientin*), lignina (*Acanthoside B*) e ácido fenólico (*ferulic acid* - ácido ferúlico).

Asghar *et al.* (2013) analisaram quimicamente quatro tipos de extratos de casca de melancia e encontraram uma grande diversidade de compostos, como fenólicos, ácidos graxos, carboidratos, ésteres, alcanos, entre outros. A análise foi realizada por cromatografia gasosa e a quantificação de compostos fenólicos mostrou, que estes, se encontravam entre 1 a 1,5 mg EAG/g de amostra. Cabe salientar que os pesquisadores não utilizaram etanol como solvente extrativo.

Alguns dos principais compostos encontrados no extrato de casca de melancia utilizado neste trabalho, também foram isolados a partir de outros produtos vegetais e microbianos. Diversos autores relataram suas ações sobre micro-organismos, como Kondo *et al.* (2006), que isolaram quatro compostos de ácidos quinolínicos de uma espécie de vagem, um destes o ácido 3,4-di-O-galoilquinico (*3,4-di-O-galloylquinic*) apresentou ação sinérgica com o antibiótico oxacilina frente a *S. aureus*. Também a orientina (*orientin*), pertencente ao grupo das flavonas, isolada de folhas de bambus e maracujá, foi descrita como um composto de ação antimicrobiana e antiviral (LAM *et al.*, 2016).

Acanthoside B foi relatado, pelos autores Mishra *et al.* (2014), como um composto imunossupressor e imunoestimulador. Ainda, Zhao *et al.* (2020) e Yu *et al.* (2020) descreveram que *Herba pogostemonis*, com porcentagens altas de

acanthoside B em sua composição, obteve efeito contra o vírus e a pneumonia causada pela COVID-19.

O ácido ferúlico possui ação antimicrobiana, causando alterações na membrana (carga, permeabilidade intra e extracelular e propriedades físico-químicas), ruptura ou formação de poros com vazamento de conteúdo intracelular em *L. monocytogenes* e *E. coli* (BORGES *et al.*, 2013).

O tetranortriterpenóide azadiractina (*azadirachtin*), extraído das folhas de neem, e o monoterpene loliolide (metabólito de carotenoides), apresentaram atividade antimicrobiana nos estudos de Vaideki *et al.* (2008), Grabarczyk *et al.* (2015); Sarawaneeyaruk *et al.* (2015) e Kankariya *et al.* (2016).

O ácido azelaico e a fitosfingosina (*phytosphingosine*) são compostos utilizados na indústria de cosméticos contra bactérias relacionadas a acne (HAN *et al.*, 2005; DEL ROSSO, 2008; GAMBLE *et al.*, 2012). Já o ácido ftálico (*phthalic acid*) tem funções antitumorais, anti-inflamatórias e antibacterianas em patógenos como *V. cholerae*, *M. luteus* e *S. aureus* (JOEL & BHIMBA, 2013; GE *et al.*, 2015).

Saravanakumar *et al.* (2018) extraíram metabólitos do fungo *Trichoderma* e descreveram que a ação antimicrobiana em *E. coli*, *P. mirabilis* e *E. aerogenes* é devido à presença de ácidos graxos como *13-Docosenamide*.

A mostarda, de acordo com Yun *et al.* (2007), possui ácido estearidônico e ácidos graxos do grupo do linolênico como o ácido 3,6,9,12-octadecatetrienóico. De acordo com o estudo, estes seriam os principais compostos com ação antimicrobiana em *S. mutans*.

Finalmente, o feoforbídeo (*Pheophorbide*), produto da degradação da clorofila, tem ação nos agentes modificadores da resistência microbiana, principalmente o mecanismo de bomba de efluxo (movimento de expulsão do agente antimicrobiano pela célula) em bactérias (KRAATZ *et al.*, 2014).

A Figura 16 ilustra os gráficos referentes ao tempo de retenção e os espectros de massa encontrados durante a análise do extrato etanólico de casca de melancia.

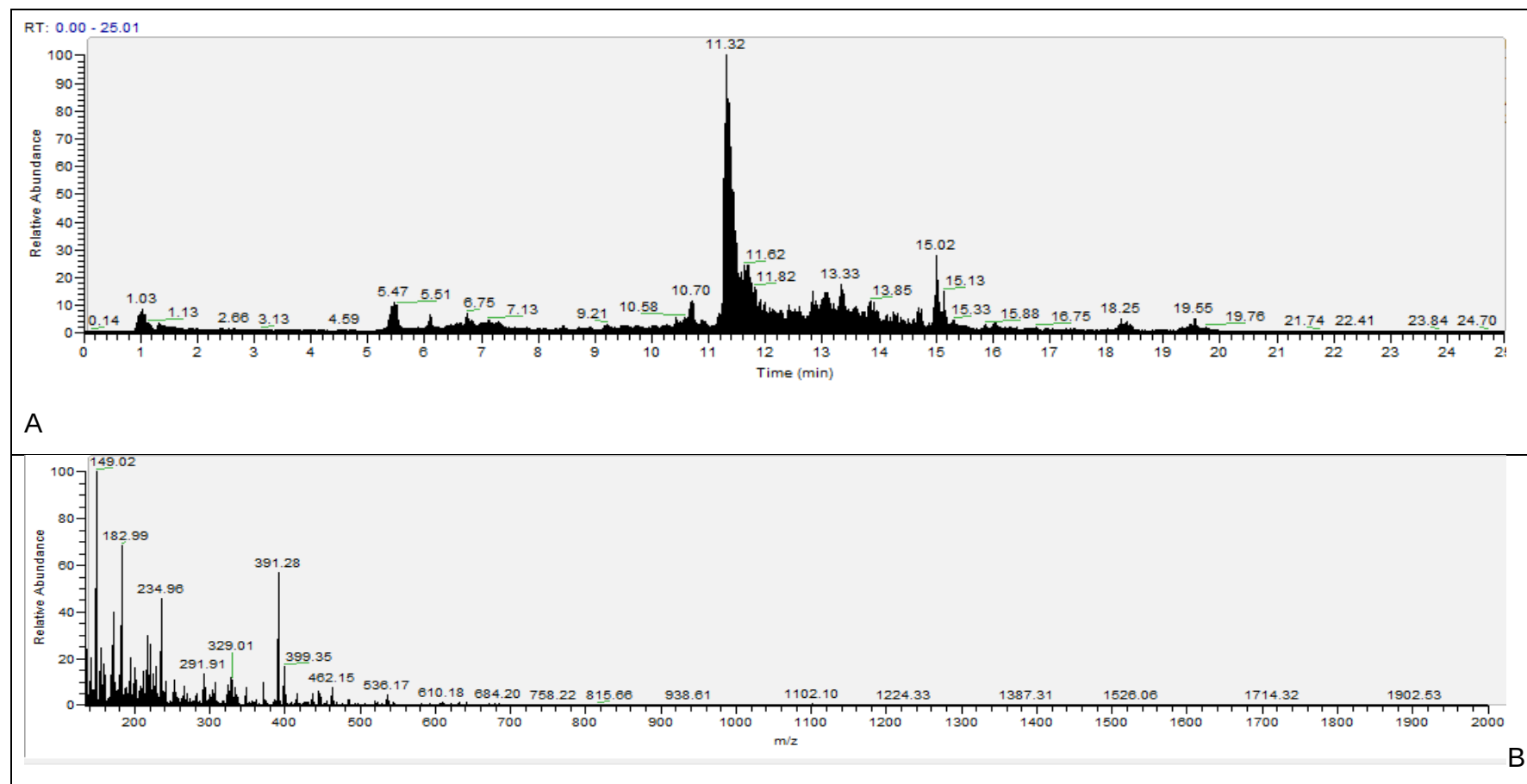


Figura 16. Gráfico A, tempo de retenção da análise realizada por CLAE e gráfico B, espectros de massa dos composto

6. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste trabalho permitiram concluir que:

- A inibição do crescimento e da produção de ácidos graxos de cadeia curta pelas bactérias probióticas estudadas variaram conforme a espécie e amostra de conservador, edulcorante, óleo essencial ou extrato de casca de fruta aos quais foram expostas.
- Apesar do efeito inibidor observado para a maioria das amostras sobre as espécies de bactérias probióticas estudadas, ocorreu de uma mesma amostra exercer efeito inibidor sobre uma bactéria e estimular o crescimento de outra. Isto foi observado para o nitrito de sódio, que inibiu *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *B. longum*, mas promoveu o crescimento de *E. faecium*, bem como para o óleo essencial de gengibre que promoveu *B. longum* e inibiu as demais espécies do estudo e o extrato etanólico da casca de melancia que promoveu *L. lactis* e inibiu *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *B. longum*.
- Edulcorantes e conservadores como sacarina, sorbato de potássio, benzoato e bissulfito de sódio nas concentrações de 0,7 a 25 mg/mL agiram sobre todas as bactérias probióticas, inibindo o crescimento.
- Pode ser inferido que os óleos essenciais de canela, cravo, capim-limão, pitanga e orégano foram os principais óleos que inibiram o crescimento de *E. faecium*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *B. longum*. O óleo essencial de canela pode ser destacado, pois inibiu *B. longum* a baixas concentrações (inibitória e bactericida), apesar de ter apresentado o menor teor de compostos fenólicos, demonstrando que a ação antimicrobiana pode ter sido exercida por outras moléculas presentes neste óleo.
- Em relação à suscetibilidade das bactérias probióticas às diferentes amostras, *B. longum* e *L. acidophilus* foram inibidas e mortas com as mais baixas concentrações

de sorbato, benzoato, bissulfito, sacarina, óleos essenciais de orégano, canela, cravo, capim-limão e extrato etanólico de casca de melancia.

- As amostras de sorbato, benzoato, sacarina, óleo essencial de canela e extrato etanólico de casca de melancia foram capazes de reduzir a produção de ácidos graxos de cadeia curta pelas bactérias probióticas, sendo as mais afetadas a *L. acidophilus* e a *L. rhamnosus*.
- A presença do sorbato de potássio ocasionou a maior porcentagem de células mortas, e o óleo essencial de canela de células injuriadas em *L. rhamnosus*.
- Em relação aos extratos, a análise da composição química do extrato etanólico de casca de melancia demonstrou a presença de compostos como ácido azelaico, fitosfingosina, ácido ferúlico, orientina, entre outros que, de acordo com a literatura, possuem ação antimicrobiana.
- Os dados levantados neste trabalho demonstram o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais e extratos etanólicos de cascas de frutas estudados, sendo ainda necessárias maiores investigações no sentido da substituição dos conservadores sintéticos por naturais.

7. REFERÊNCIAS

ABOObUCKER, S. I. & SUZA, W. P. Why Do Plants Convert Sitosterol to Stigmasterol?. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 354-354, 2019.

ABOU-DONIA, M. B., EL-MASRY, E. M., ABDEL-RAHMAN, A. A., MCLENDON, R. E. & SCHIFFMAN, S. S. Splenda alters gut microflora and increases intestinal p-glycoprotein and cytochrome p-450 in male rats. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 71, n. 21, p. 1415-1429, 2008.

ABOUL-ENEIN, A. M. SALAMA, Z. A., GAAFAR, A. A. & ALY, H. F. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradaisica* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 4, p. 46-55, 2016.

ACHEMCHAM, F., MARTÍNEZ-BUENO, M., ABRINI, J., VALDIVIA, E. & MAQUEDA, M. *Enterococcus faecium* F58, a bacteriocinogenic strain naturally occurring in Jben, a soft, farmhouse goat's cheese made in Morocco. **Journal of applied microbiology**, v. 99, n. 1, p. 141-150, 2005.

ACOSTA-ESTRADA, B. A., GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. & SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46-55, 2013.

ACUÑA, L., CORBALÁN, N., QUINTELA-BALUJA, M., BARROS-VELÁZQUEZ, J. & BELLOMIO, A. Expression of the hybrid bacteriocin Ent35-MccV in *Lactococcus lactis* and its use for controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* in milk. **International Dairy Journal**, v. 104, p. 104650, 2020.

AJILA, C. M., NAIDU, K. A., BHAT, S. G. & RAO, U. P. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food chemistry**, v. 105, n. 3, p. 982-988, 2007.

AJILA, C. M., RAO, L. J. & RAO, U. P. Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. peel extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 12, p. 3406-3411, 2010.

AHMAD, R., JEBOR, M. A., ABDULLA, A. & MAHDI, R. K. Extraction and purification of β -galactosidase from a local isolate of *Lactobacillus acidophilus*. **Intl J Med Pharmaceut Sci**, v. 4, n. 4, p. 47-54, 2014.

AKATSU, H., IWABUCHI, N., XIAO, J. Z., MATSUYAMA, Z., KURIHARA, R., OKUDA, K., YAMAMOTO, T. & MARUYAMA, M. Clinical effects of probiotic *Bifidobacterium longum* BB536 on immune function and intestinal microbiota in elderly patients receiving enteral tube feeding. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 37, n. 5, p. 631-640, 2013.

ALBANO, C., MORANDI, S., SILVETTI, T., CASIRAGHI, M. C., MANINI, F. & BRASCA, M. Lactic acid bacteria with cholesterol-lowering properties for dairy applications: *In vitro* and in situ activity. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 12, p. 10807-10818, 2018.

AL-BAYATI, F. A. & MOHAMMED, M. J. Isolation, identification, and purification of cinnamaldehyde from *Cinnamomum zeylanicum* bark oil. An antibacterial study. **Pharmaceutical biology**, v. 47, n. 1, p. 61-66, 2009.

AL-HASHEDI, S. A., AL-HELALI, M. F., AL-ZOREKY, N. S., AL-DALALI, S. S., AL-HAJJ, N. Q., ALGABRI, N. A., EL-HACK, M.E.A, FARAG, R. M. & ALAGAWANY, M. Antibacterial Activity of *Enterococcus faecium* and *Propionibacterium* sp. against food-borne and pathogenic bacteria. **Adv. Anim. Vet. Sci**, v. 7, n. 12, p. 1093-1100, 2019.

AL-HIJAZEEN, M., LEE, E. J., MENDONCA, A. & AHN, D. U. Effect of oregano essential oil (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) on the storage stability and quality parameters of ground chicken breast meat. **Antioxidants**, v. 5, n. 2, p. 18, 2016

ALI, B. H., BLUNDEN, G., TANIRA, M. O. & NEMMAR, A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. **Food and chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 409-420, 2008.

ALISI, C. S., NWANYANWU, C. E., AKUJOBI, C. O. & IBEGBULEM, C. O. Inhibition of dehydrogenase activity in pathogenic bacteria isolates by aqueous extracts of *Musa paradisiaca* (Var *Sapientum*). **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, 2008

ALMADA, C. N., MARTINEZ, R. C. R. & SANT'ANA, A. S. Characterization of the intestinal microbiota and its interaction with probiotics and health impacts. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 10, p. 4175-4199, 2015.

ALTERMANN, E., RUSSELL, W. M., AZCARATE-PERIL, M. A., BARRANGOU, R., BUCK, B. L., MCAULIFFE, O., SOUTHER, N., DOBSON, A., DUONG, T., CALLANAN, M., LICK, S., ALICE HAMRICK, A., CANO, R. & LICK, S. Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 11, p. 3906-3912, 2005.

AMARAL, D. M., SILVA, L. F., CASAROTTI, S. N., NASCIMENTO, L. C. S. & PENNA, A. L. B. *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* isolated from cheese: Survival in the presence of medications under simulated gastrointestinal conditions and adhesion properties. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 2, p. 933-949, 2017.

AMOR, K. B., BREEUWER, P., VERBAARSCHOT, P., ROMBOUTS, F. M., AKKERMANS, A. D., DE VOS, W. M. & ABEE, T. Multiparametric flow cytometry and cell sorting for the assessment of viable, injured, and dead *Bifidobacterium* cells during bile salt stress. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 11, p. 5209-5216, 2002.

AN, H. M., KIM, M. J., MOON, J. S., KANG, J. Y., LEE, D. K., LEE, K. H., LIM, H.T., KIM, K.J. & HA, N. J. Antiobesity and lipid-lowering effects of *Bifidobacterium* spp. in high fat diet-induced obese rats. **Lipids in health and disease**, v. 10, n. 1, p. 116, 2011.

ANADÓN, A., MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R. & MARTÍNEZ, M. A. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. **Regulatory toxicology and pharmacology**, v. 45, n. 1, p. 91-95, 2006.

ANAND, S. P. & SATI, N. Artificial preservatives and their harmful effects: looking toward nature for safer alternatives. **International journal of pharmaceutical sciences and research**, v. 4, n. 7, p. 2496, 2013.

ANANTA, E., HEINZ, V. & KNORR, D. Assessment of high pressure induced damage on *Lactobacillus rhamnosus* GG by flow cytometry. **Food Microbiology**, v. 21, n. 5, p. 567-577, 2004.

ANDERSEN, O. M. & MARKHAM, K. R. (Ed.). **Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications**. CRC press, 1256 p., 2005.

ANISZEWSKI, T. **Alkaloids-Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role**. Elsevier, 334 p., 2007.

ANTON, S. D., MARTIN, C. K., HAN, H., COULON, S., CEFALU, W. T., GEISELMAN, P. & WILLIAMSON, D. A. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. **Appetite**, v. 55, n. 1, p. 37-43, 2010.

ARAUJO, C.R., BOTELHO, P. S., SILVA, T.M.S., MACIEL, I. S., MELO, E. A., RYAN, S. & SMITH, R.E. Phenolic compounds and metals in Tommy Atkins mango (*Mangifera indica* L) peels. **The Natural Products Journal**, v. 4, n. 1, p. 2-7, 2014.

ASGHAR, M. N., SHAHZAD, M. T., NADEEM, I. & ASHRAF, C. M. Phytochemical and *in vitro* total antioxidant capacity analyses of peel extracts of different cultivars of *Cucumis melo* and *Citrullus lanatus*. **Pharmaceutical biology**, v. 51, n. 2, p. 226-232, 2013.

ATANASOVA-PANCEVSKA, N., BOGDANOV, J. & KUNGULOVSKI, D. *In Vitro* Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Two Essential Oils and Eugenol from Flower Buds of *Eugenia caryophyllata*. **Open Biological Sciences Journal**, v. 3, n. 1, 2017.

AYYASH, M., AL-DHAHERI, A. S., AL MAHADIN, S., KIZHAKKAYIL, J. & ABUSHELAIBI, A. In vitro investigation of anticancer, antihypertensive, antidiabetic, and antioxidant activities of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 2, p. 900-911, 2018.

AZARNIA, S., LEE, B. H., YAYLAYAN, V. & KILCAWLEY, K. N. Proteolysis development in enzyme-modified Cheddar cheese using natural and recombinant enzymes of *Lactobacillus rhamnosus* S93. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 174-178, 2010.

AZIZ, M. M. A., ASHOUR, A. S. & MELAD, A. S. G. A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. **J Nanomed Res**, v. 8, n. 1, p. 6-12, 2019.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D. & IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chemical and Toxicology*, 46: 446- 475, 2008.

BARDAJÍ, D. K. R., REIS, E. B., MEDEIROS, T. C. T., LUCARINI, R., CROTTI, A. E. M. & MARTINS, C. H. G. Antibacterial activity of commercially available plant-derived essential oils against oral pathogenic bacteria. **Natural product research**, v. 30, n. 10, p. 1178-1181, 2016.

BARRETO, J. C., TREVISAN, M. T., HULL, W. E., ERBEN, G., DE BRITO, E. S., PFUNDSTEIN, B., WORTELE, G., SPIEGELHALDER, B. & OWEN, R. W. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5599-5610, 2008.

BASSOLÉ, I. H. N., LAMIEN-MEDA, A., BAYALA, B. O. L. C., OBAME, L. C., ILBOUDO, A. J., FRANZ, C., NOVAK, J., NIBIE, R. C. & DICKO, M. H. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. **Phytomedicine**, v. 18, n. 12, p. 1070-1074, 2011.

BASER, K. H. C. & BUCHBAUER, G. (Ed.). **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. CRC press, 1128 p., 2015.

BAXTER, N. T., SCHMIDT, A. W., VENKATARAMAN, A., KIM, K. S., WALDRON, C. & SCHMIDT, T. M. Dynamics of human gut microbiota and short-chain fatty acids in response to dietary interventions with three fermentable fibers. **MBio**, v. 10, n. 1, p. e02566-18, 2019.

BEARDS, E., TUOHY, K. & GIBSON, G. Bacterial, SCFA and gas profiles of a range of food ingredients following in vitro fermentation by human colonic microbiota. **Anaerobe**, v. 16, n. 4, p. 420-425, 2010.

BELINATO, J. R., BAZIOLI, J. M., SUSSULINI, A., AUGUSTO, F. & FILL, T. P. Metabolômica microbiana: inovações e aplicações. **Química nova**, v. 42, n. 5, p. 546 – 559, 2019.

BELLIK, Y. Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 1, p. 40-44, 2014.

BELTRÁN-BARRIENTOS, L. M., HERNÁNDEZ-MENDOZA, A., GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F., ASTIAZARÁN-GARCÍA, H., ESPARZA-ROMERO, J. & VALLEJO-CÓRDOBA, B. Mechanistic pathways underlying the antihypertensive effect of fermented milk with *Lactococcus lactis* NRRL B-50571 in spontaneously hypertensive rats. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 262, 2018.

BERMUDEZ-BRITO, M., PLAZA-DÍAZ, J., MUÑOZ-QUEZADA, S., GÓMEZ-LLORENTE, C. & GIL, A. Probiotic mechanisms of action. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 61, n. 2, p. 160-174, 2012.

BERNSTEIN, N.; CHAIMOVITCH, D. & DUDAI, N. Effect of irrigation with secondary treated effluent on essential oil, antioxidant activity, and phenolic compounds in oregano and rosemary. **Agronomy journal**, v. 101, n. 1, p. 1-10, 2009.

BERISTAIN-BAUZA, S. D. C., HERNÁNDEZ-CARRANZA, P., CID-PÉREZ, T. S., ÁVILA-SOSA, R., RUIZ-LÓPEZ, I. I. & OCHOA-VELASCO, C. E. Antimicrobial activity of ginger (*Zingiber Officinale*) and its application in food products. **Food Reviews International**, v. 35, n. 5, p. 407-426, 2019.

BERTINI, L. M., PEREIRA, A. F., OLIVEIRA, C. D., MENEZES, E. A., MORAIS, S. D., CUNHA, F. A. & CAVALCANTI, E. S. B. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Infarma**, v. 17, n. 3-4, p. 80-83, 2005.

BHARDWAJ, A., GUPTA, H., KAPILA, S., KAUR, G., VIJ, S. & MALIK, R. K. Safety assessment and evaluation of probiotic potential of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* KH 24 strain under *in vitro* and *in vivo* conditions. **International journal of food microbiology**, v. 141, n. 3, p. 156-164, 2010.

BHARDWAJ, A., PUNIYA, M., SANGU, K. P. S., KUMAR, S., & DHEWA, T. Effect of prebiotics on growth of the selected lactobacilli culture isolated from dairy products. **Research & Reviews: Journal of Dairy Science and Technology**, v. 2, n. 2, p. 1-8, 2018.

BIAN, X., TU, P., CHI, L., GAO, B., RU, H. & LU, K. Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. **Food and Chemical Toxicology**, v. 107, p. 530-539, 2017.

BIANCHI, F., LARSEN, N., DE MELLO TIEGHI, T., ADORNO, M. A. T., KOT, W., SAAD, S. M. I. & SIVIERI, K. Modulation of gut microbiota from obese individuals by in vitro fermentation of citrus pectin in combination with *Bifidobacterium longum* BB-46. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 20, p. 8827-8840, 2018.

BIAVATI, B. & MATTARELLI, P. *Bifidobacterium*. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1-57, 2015.

BIELECKA, M., BIEDRZYCKA, E. & MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for symbiotic and confirmation of their *in vivo* effectiveness. **Food Research International**, v. 35, n. 2-3, p. 125-131, 2002.

BIERNAT, K. A., LI, B. & REDINBO, M. R. Microbial unmasking of plant glycosides. **MBio**, v. 9, n. 1, p. e02433-17, 2018.

BLANCO, M. M., COSTA, C. A. R. A., FREIRE, A. O., SANTOS JR, J. G. & COSTA, M. Neurobehavioral effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in mice. **Phytomedicine**, v. 16, n. 2-3, p. 265-270, 2009.

BLEAU, C., MONGES, A., RASHIDAN, K., LAVERDURE, J. P., LACROIX, M., VAN CALSTEREN, M. R. & LAMONTAGNE, L. Intermediate chains of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M increase IL-10 production by macrophages. **Journal of applied microbiology**, v. 108, n. 2, p. 666-675, 2010.

BODOR, A., BOUNEDJOUM, N., VINCZE, G. E., KIS, Á. E., LACZI, K., BENDE, G. & RÁKHELY, G. Challenges of unculturable bacteria: environmental perspectives. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, p. 1-22, 2020.

BONACCORSI, G., PERICO, A., COLZI, A., BAVAZZANO, P., DI GIUSTO, M., LAMBERTI, I. & LORINI, C. Benzene in soft drinks: a study in Florence (Italy). **Igiene e sanita pubblica**, v. 68, n. 4, p. 523-532, 2012.

BONGAERTS, G. P. & SEVERIJNEN, R. S. A reassessment of the PROPATRIA study and its implications for probiotic therapy. **Nature biotechnology**, v. 34, n. 1, p. 55, 2016.

BORGES, A., FERREIRA, C., SAAVEDRA, M. J. & SIMOES, M. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. **Microbial drug resistance**, v. 19, n. 4, p. 256-265, 2013.

BOTH, E., GYORGY, E., KIBEDI-SZABO, C. Z., TAMAS, E., ABRAHAM, B., MIKLOSSY, I. & LANYI, S. Acid and bile tolerance, adhesion to epithelial cells of probiotic microorganisms. **UPB Buletin Scientific, Series B: Chemistry and Materials Science**, v. 72, n. 2, p. 37-44, 2010.

BOUKHATEM, M. N., FERHAT, M. A., KAMELI, A., SAIDI, F. & KEBIR, H. T. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. **Libyan Journal of Medicine**, v. 9, n. 1, p. 25431, 2014.

BOWEN, W. H.; YOUNG, D. A. & PEARSON, S. K. The effects of sucralose on coronal and root-surface caries. **Journal of Dental Research**, v. 69, n. 8, p. 1485-1487, 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA Portaria nº 540. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. Diário Oficial da União; Brasília, DF, 28/10/1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA Resolução RDC nº 18. Dispõe sobre o Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos. Diário Oficial da União; Brasília, DF, 24/03/2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA Resolução RDC nº 08. Dispõe sobre a aprovação de uso de aditivos alimentares para produtos de frutas e de vegetais e geleia de mocotó. Diário Oficial da União; Brasília, DF, 06/03/2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA. RDC nº 272. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14/03/2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº 16. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. Diário Oficial da União; Brasília, DF, 23/08/2005.

BREDA, C.A. Emprego de extratos de folhas e resíduos de espécies frutíferas do cerrado como fungicidas naturais em filmes e revestimentos comestíveis, Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 202 p., 2015.

BREITMAIER, E. **Terpenes: flavors, fragrances, pharmacal, pheromones**. John Wiley & Sons, 2006.

BRON, P. A., VAN BAARLEN, P. & KLEEREBEZEM, M. Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 66-78, 2012.

BRUL, S. & COOTE, P. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. **International journal of food microbiology**, v. 50, n. 1-2, p. 1-17, 1999.

BRUNING-FANN, C.S. & KANEENE, J. B. The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on human health: a review. **Veterinary and human toxicology**, v. 35, n. 6, p. 521-538, 1993.

BULL, M., PLUMMER, S., MARCHESI, J. & MAHENTHIRALINGAM, E. The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. **FEMS microbiology letters**, v. 349, n. 2, p. 77-87, 2013.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BUTCHKO, H. H., STARGEL, W. W., COMER, C. P., MAYHEW, D. A., BENNINGER, C., BLACKBURN, G. L. & LEON, A. S. Aspartame: review of safety. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 35, n. 2, p. S1-S93, 2002.

BUTEL, M. J. Probiotics, gut microbiota and health. **Médecine et maladies infectieuses**, v. 44, n. 1, p. 1-8, 2014.

CADIÑANOS, L. P. G., GARCÍA-CAYUELA, T., MARTÍNEZ-CUESTA, M. C., PELÁEZ, C. & REQUENA, T. Expression of amino acid converting enzymes and production of volatile compounds by *Lactococcus lactis* IFPL953. **International dairy journal**, v. 96, p. 29-35, 2019.

CAMMACK, R., JOANNOU, C. L., CUI, X. Y., MARTINEZ, C. T., MARAJ, S. R. & HUGHES, M. N. Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. **Biochemical et Biophysical Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1411, n. 2-3, p. 475-488, 1999.

CÁRDENAS, N., ARROYO, R., CALZADA, J., PEIROTÉN, Á., MEDINA, M., RODRÍGUEZ, J. M. & FERNÁNDEZ, L. Evaluation of technological properties of *Enterococcus faecium* CECT 8849, a strain isolated from human milk, for the dairy industry. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, n. 17, p. 7665-7677, 2016.

CAREY, F. A. **Química Orgânica-Vol. 1**. AMGH Editora, 764p., 2011.

CENTENO, J. A., MENENDEZ, S., HERMIDA, M. A. & RODRIGUEZ-OTERO, J. L. Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture. **International journal of food microbiology**, v. 48, n. 2, p. 97-111, 1999.

CHABUCK, Z. A. G., AL-CHARRAKH, A. H., HINDI, N. K. K., & HINDI, S. K. K. Antimicrobial effect of aqueous banana peel extract, Iraq. **Res Gate Pharm Sci**, v. 1, p. 73-75, 2013.

CHACAR, S., TARIGHI, M., FARES, N., FAIVRE, J. F., LOUKA, N. & MAROUN, R. G. Identification of Phenolic Compounds-Rich Grape Pomace Extracts Urine Metabolites and Correlation with Gut Microbiota Modulation. **Antioxidants**, v. 7, n. 6, p. 75, 2018.

CHAIEB, K., HAJLAOUI, H., ZMANTAR, T., KAHLA-NAKBI, A. B., ROUABHIA, M., MAHDOUANI, K. & BAKHROUF, A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzgium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 6, p. 501-506, 2007.

CHATTOPADHYAY, S., RAYCHAUDHURI, U. & CHAKRABORTY, Runu. Artificial sweeteners—a review. **Journal of food science and technology**, v. 51, n. 4, p. 611-621, 2014.

CHEN, S., CAO, Y., FERGUSON, L. R., SHU, Q. & GARG, S. Flow cytometric assessment of the protectants for enhanced in vitro survival of probiotic lactic acid bacteria through simulated human gastro-intestinal stresses. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 95, n. 2, p. 345-356, 2012.

CHI, P. T. L., VAN HUNG, P., LE THANH, H. & PHI, N. T. L. Valorization of Citrus Leaves: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oils. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-9, 2019.

CHUN-PING, H., QUN, L. & JIE, L. Optimizing mangiferin extraction from *Mangifera indica* L. peel and analyzing its antibacterial activity. **Journal of Southern Agriculture**, v. 45, n. 8, 2014.

CLAESSON, M. J., VAN SINDEREN, D. & O'TOOLE, P. W. The genus *Lactobacillus*—a genomic basis for understanding its diversity. **FEMS microbiology letters**, v. 269, n. 1, p. 22-28, 2007.

CLAESSON, M. J., JEFFERY, I. B., CONDE, S., POWER, S. E., O'CONNOR, E. M., CUSACK, S. & FITZGERALD, G. F. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. **Nature**, v. 488, n. 7410, p. 178-184, 2012.

CLAUS, S. P., GUILLOU, H. & ELLERO-SIMATOS, S. The gut microbiota: a major player in the toxicity of environmental pollutants?. **Npj biofilms and microbiomes**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2016.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute, Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; M11 – A8 Approved Standard-Eighth Edition, Wayne, CLSI document M11-A8, 2012.

COSTA, D. P., SANTOS, S. C., SHERAFIN, J.C & FERRI, P. H. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 7, p. 1287-1293, 2009.

COSTA, J. H., WASSANO, C. I., ANGOLINI, C. F. F., SCHERLACH, K., HERTWECK, C. & FILL, T. P. Antifungal potential of secondary metabolites involved in the interaction between citrus pathogens. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2019.

CUNHA, S., LUSTOSA, D. M., CONCEIÇÃO, N. D., FASCIO, M. & MAGALHÃES, Biomassa em aula prática de química orgânica verde: cravo-da-índia como fonte simultânea de óleo essencial e de furfural. **Química Nova**, 35.3: 638-641, 2012.

DAI, J. & MUMPER, R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313-7352, 2010.

DALY, K., DARBY, A. C. & SHIRAZI-BEECHEY, S.P. Low calorie sweeteners and gut microbiota. **Physiology & behavior**, v. 164, p. 494-500, 2016.

DE MARCO STEFANIA, P. M., CLAUDIA, Z. & DONATELLA, P. *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis* and *Saccharomyces boulardii*. **422nd OMICS International**, Italy. 2015.

DEBBARMA, J., KISHORE, P., NAYAK, B. B., KANNUCHAMY, N. & GUDIPATI, V. Antibacterial activity of ginger, eucalyptus and sweet orange peel essential oils on fish-borne bacteria. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 37, n. 5, p. 1022-1030, 2013.

DEHGHAN, P., MOHAMMADI, A., MOHAMMADZADEH-AGHDASH, H. & DOLATABADI, J. E. N. Pharmacokinetic and toxicological aspects of potassium sorbate food additive and its constituents. **Trends in Food Science & Technology**, v. 80, p. 123-130, 2018.

DEL ROSSO, J. Emerging topical antimicrobial options for mild-to-moderate acne: a review of the clinical evidence. **Journal of drugs in dermatology: JDD**, v. 7, n. 2 Suppl, p. s2-7, 2008.

DESHMUKH, C. D., JAIN, A. & TAMBE, M. S. Phytochemical and pharmacological profile of *Citrullus lanatus* (THUNB). **Biolife**, v. 3, n. 2, p. 483-488, 2015.

DEVRIESE L, BAELE M & BUTAYE P. **The genus *Enterococcus*: Taxonomy. In: The Prokaryotes: a Handbook on the Biology of Bacteria**. 3rd edn. New York: Springer. vol. 4, p. 163-174, 2006.

DONG, S., LIU, G., HU, J. & ZHENG, M. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans formed from sucralose at high temperatures. **Scientific reports**, v. 3, n. 1, p. 1-4, 2013.

DOUILLARD, F. P., RIBBERA, A., KANT, R., PIETILÄ, T. E., JÄRVINEN, H. M., MESSING, M. & CAGGIA, C. Comparative genomic and functional analysis of 100 *Lactobacillus rhamnosus* strains and their comparison with strain GG. **PLoS genetics**, v. 9, n. 8, 2013.

DRIDER, D., BENDALI, F., NAGHMOUCHI, K. & CHIKINDAS, M. L. Bacteriocins: not only antibacterial agents. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 8, n. 4, p. 177-182, 2016.

DUBOIS, G. E. Saccharin and cyclamate. **Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology, Wiley-Blackwell**, p. 137-166, 2012.

DUESTER, K. C. Avocado fruit is a rich source of beta-sitosterol. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 101, n. 4, p. 404, 2001.

EFSA - European Food Safety Authority. Scientific opinion on the re-evaluation of sulfur dioxide (E 220), sodium sulfite (E 221), sodium bisulfite (E 222), sodium metabisulfite (E 223), potassium metabisulfite (E 224), calcium sulfite (E 226), calcium bisulfite (E 227) and potassium bisulfite (E 228) as food additives. **EFSA Journal**, v. 14, n. 4, p. 4438, 2016.

DRUZIC, J., JERKOVIC, I., MARIJANOVIC, Z. & ROJE, M. Chemical biodiversity of the leaf and flower essential oils of *Citrus aurantium* L. from Dubrovnik area (Croatia) in comparison with *Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Washington navel, *Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Tarocco and *Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Doppio Sanguigno. **Journal of EssEntial oil rEsEarch**, v. 28, n. 4, p. 283-291, 2016.

EGBUONU, A. C. C. Assessment of some antinutrient properties of the watermelon (*Citrullus lanatus*) rind and seed. **Research Journal of Environmental Sciences**, v. 9, n. 5, p. 225, 2015.

EISENREICH, A., GÜRTLER, R. & SCHÄFER, B. Heating of food containing sucralose might result in the generation of potentially toxic chlorinated compounds. **Food Chemistry**, p. 126700, 2020.

EKPENYONG, C.E. & AKPAN, E. E. Use of *Cymbopogon citratus* essential oil in food preservation: Recent advances and future perspectives. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 12, p. 2541-2559, 2017.

EKWENYE, U. N. & EDEHA, O. V. The antibacterial activity of crude leaf extract of *Citrus sinensis* (sweet orange). **Int J Pharm Bio Sci**, v. 1, n. 4, p. 742-750, 2010.

EL-AKHAL, F., LALAMI, A.E.O. & GUEMMOUH, R. Larvicidal activity of essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* (Rutaceae) cultivated in Morocco against the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 5, n. 6, p. 458-462, 2015.

EL-BAROTY, G. S., ABD EL-BAKY, H. H., FARAG, R. S. & SALEH, M. A. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. **African Journal of Biochemistry Research**, v. 4, n. 6, p. 167-174, 2010.

ELDAHSHAN, O. A. & HALIM, A. F. Comparison of the composition and antimicrobial activities of the essential oils of green branches and leaves of Egyptian navel orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. Malesy). **Chemistry & biodiversity**, v. 13, n. 6, p. 681-685, 2016.

ELMUNZER, B. J., HAYWARD, R. A., SCHOENFELD, P. S., SAINI, S. D., DESHPANDE, A. & WALJEE, A. K. Effect of flexible sigmoidoscopy-based screening on incidence and mortality of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **PLoS Med**, v. 9, n. 12, p. e1001352, 2012.

ELUMALAI, S., KESAVAN, R., RAMGANESH, S. & MURUGESAN, R. Isolation, purification and identification of the anti-diabetic components from *Cinnamomum zeylanicum* and *Cinnamomum cassia* bark oil extracts. **Current Botany**, 2011.

ENGEL, J. B., HECKLER, C., TONDO, E. C., DAROIT, D. J. & DA SILVA MALHEIROS, P. Antimicrobial activity of free and liposome-encapsulated thymol and carvacrol against *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* adhered to stainless steel. **International journal of food microbiology**, v. 252, p. 18-23, 2017.

ESKIN, M. & SHAHIDI, F. **Bioquímica de alimentos**, 3a edição. Elsevier Brasil, 536 p., 2015.

ESTRADA-CANO, C., CASTRO, M. A. A., MUÑOZ-CASTELLANOS, L. N. A. O. A., GARCÍA-TRIANA, N. A. O. A. & HERNÁNDEZ-OCHOA, L. Antifungal activity of microcapsulated clove (*Eugenia caryophyllata*) and Mexican oregano (*Lippia berlandieri*) essential oils against *Fusarium oxysporum*. **J. Microb. Biochem. Technol**, v. 9, n. 1, 2017.

EVERIS, L. Injured bacteria in foods. **Nutrition & Food Science**, v. 31, n. 1, 2001.

FACKLAM, R. & ELLIOTT, J. A. Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. **Clinical microbiology reviews**, v. 8, n. 4, p. 479-495, 1995.

FALUSI, V. O., ADESINA, I. A., ALADEJIMOKUN, A. O. & ELEHINAFE, T. R. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Methanolic Extracts of Ripe and Unripe Peels of Mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of Applied Life Sciences International**, p. 1-7, 2017.

FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. JECFA - Expert Committee on Food Additives. Disponível em: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/en/>, Acesso em: 04/09/20.

FAVERO, D. M., RIBEIRO, C.S.G. & DE 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.

FENG, F., LI, M., MA, F. & CHENG, L. Effects of location within the tree canopy on carbohydrates, organic acids, amino acids and phenolic compounds in the fruit peel and flesh from three apple (*Malus domestica*) cultivars. **Horticulture research**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2014.

FERNÁNDEZ, J., REDONDO-BLANCO, S., GUTIERREZ-DEL-RIO, I., MIGUÉLEZ, E. M., VILLAR, C. J. & LOMBO, F. Colon microbiota fermentation of dietary prebiotics towards short-chain fatty acids and their roles as anti-inflammatory and antitumour agents: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 25, p. 511-522, 2016.

FERREIRA, F.S. Aditivos alimentares e suas reações adversas no consumo infantil. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 13, n. 1, p. 397-407, 2015.

FERREIRA, I. V. L. Análise do Mercado da Laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) no Estado do Pará. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) , Campus Belém, PA, p.50, 2019.

FIGIEL, A., SZUMNY, A., GUTIÉRREZ-ORTÍZ, A. & CARBONELL-BARRACHINA, Á. A. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 2, p. 240-247, 2010.

FIGUEIREDO, P. L. B., PINTO, L. C., DA COSTA, J. S., DA SILVA, A. R. C., MOURÃO, R. H. V., MONTENEGRO, R. C. & MAIA, J. G. S. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of ethnopharmacology**, v. 232, p. 30-38, 2019.

FIKRY, S., KHALIL, N. & SALAMA, O. Chemical profiling, biostatic and biocidal dynamics of *Origanum vulgare* L. essential oil. **AMB Express**, v. 9, n. 1, p. 41, 2019.

FITCH, C. & KEIM, K. S. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 5, p. 739-758, 2012.

FLEISHER, Z. & FLEISHER, A. Sweet orange leaf oil (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Aromatic plants of the Holy Land and the Sinai. Part I. **Journal of Essential Oil Research**, v. 2, n. 4, p. 203-205, 1990.

FLORES, P. I. G., VALENZUELA, R. B., RUIZ, L. D., LÓPEZ, C. M. & CHÁIREZ, F. E. Antibacterial Activity of Five Terpenoid Compounds: Carvacrol, Limonene, Linalool, α -Terpinene and Thymol. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 22, n. 2, 2019.

FRATINI, F., MANCINI, S., TURCHI, B., FRISCIA, E., PISTELLI, L., GIUSTI, G. & CERRI, D. A novel interpretation of the fractional inhibitory concentration index: the case *Origanum vulgare* L. and *Leptospermum scoparium* JR et G. Forst essential oils against *Staphylococcus aureus* strains. **Microbiological research**, v. 195, p. 11-17, 2017.

FRATIANNI, F., SADA, A., CIPRIANO, L., MASUCCI, A. & NAZZARO, F. Biochemical characteristics, antimicrobial and mutagenic activity in organically and conventionally produced *Malus domestica*, Annurca. **The Open Food Science Journal**, v. 1, n. 1, 2007.

GAGGIA, F., MATTARELLI, P. & BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International journal of food microbiology**, v. 141, p. S15-S28, 2010.

GAMBLE, R., DUNN, J., DAWSON, A., PETERSEN, B., MCLAUGHLIN, L., SMALL, A. & DELLAVALLE, R. P. Topical antimicrobial treatment of acne vulgaris. **American journal of clinical dermatology**, v. 13, n. 3, p. 141-152, 2012.

GARCIA-FUENTES, A. R., WIRTZ, S., VOS, E. & VERHAGEN, H. Short review of sulphites as food additives. **European Journal of Nutrition & Food Safety**, p. 113-120, 2015.

GARDNER, C., WYLIE-ROSETT, J., GIDDING, S. S., STEFFEN, L. M., JOHNSON, R. K., READER, D. & LICHTENSTEIN, A. H. Nonnutritive sweeteners: current use and health perspectives: a scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. **Circulation**, v. 126, n. 4, p. 509-519, 2012.

GAVA, A. J., DA SILVA, C. A. B. & FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos**. NBL Editora, 511 p., 2009.

GBENOU, J. D., AHOUNOU, J. F., AKAKPO, H. B., LALEYE, A., YAYI, E., GBAGUIDI, F. & KOTCHONI, S. O. Phytochemical composition of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils and their anti-inflammatory and analgesic properties on Wistar rats. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 2, p. 1127-1134, 2013.

GE, S., PENG, W., LI, D., MO, B., ZHANG, M. & QIN, D. Study on antibacterial molecular drugs in *Eucalyptus granlla* wood extractives by GC-MS. **Pakistan J Pharmacol Sci**, v. 28, p. 1445-48, 2015.

GEUNS, J. M., BUYSE, J., VANKEIRSBILCK, A. & TEMME, E. H. Metabolism of stevioside by healthy subjects. **Experimental biology and medicine**, v. 232, n. 1, p. 164-173, 2007.

GHRAIRI, T. FRERE, J., BERJEAUD, J. M., & MANAI, M. Purification and characterization of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* from Tunisian rigouta cheese. **Food Control**, v. 19, n. 2, p. 162-169, 2008.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R., LOBO, M. G. & GONZÁLEZ, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1030-1039, 2010.

GOODFELLOW, M. **Actinobacteria**. In: **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1-2, 2015.

GOVINDARAJAN, M., RAJESWARY, M., HOTI, S. L. & BENELLI, G. Larvicidal potential of carvacrol and terpinen-4-ol from the essential oil of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). **Research in veterinary science**, v. 104, p. 77-82, 2016.

GOYAL, S. K.; SAMSHER, G. R. & GOYAL, R. K. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. **Int J Food Sci Nutr**, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2010.

GRABARCZYK, M., WINSKA, K., MACZKA, W., POTANIEC, B. & ANIOL. Loliolide—the most ubiquitous lactone. **Folia Biologica et Oecologica**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2015.

GUIL-GUERRERO, J. L., RAMOS, L., MORENO, C., ZÚÑIGA-PAREDES, J. C., CARLOSAMA-YEPEZ, M. & RUALES, P. Antimicrobial activity of plant-food by-products: A review focusing on the tropics. **Livestock Science**, v. 189, p. 32-49, 2016.

GUIMARÃES, A.G., SERAFINI, M.R. & QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Terpenes and derivatives as a new perspective for pain treatment: a patent review. **Expert opinion on therapeutic patents**, v. 24, n. 3, p. 243-265, 2014.

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

HAFIDH, R. R., ABDULAMIR, A. S., VERN, L. S., BAKAR, F. A., ABAS, F., JAHANSHIRI, F. & SEKAWI, Z. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **The open microbiology journal**, v. 5, p. 96, 2011.

HAN, S. H., LEEM, M. H., LEE, Y. H., CHOI, Y. S. & CHOE, T. B. Antimicrobial effect of Phytosphingosine containing liposome against *P. acne* and *S. aureus*. **Kor J Aesthet Cosmetol**, v. 3, n. 1, p. 125-130, 2005.

HAN, X. & PARKER, T. L. Anti-inflammatory activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil in human dermal fibroblasts. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 1619-1622, 2017.

HANAA, A. M., SALLAM, Y. I., EL-LEITHY, A. S. & ALY, S. E. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as affected by drying methods. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 57, n. 2, p. 113-116, 2012.

HARDIE, J. M. & WHILEY, R. A. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. **Journal of applied microbiology**, v. 83, n. S1, p. 1S-11S, 1997.

HARITH, S. S., MAZLUN, M. H., MYDIN, M. M., NAWI, L. & SAAT, R. Studies on phytochemical constituents and antimicrobial properties of *Citrullus lanatus* peels. **Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v. 22, n. 1, p. 151-156, 2018.

HASTEY, C. J., DALE, S. E., NARY, J., CITRON, D., LAW, J. H., ROE-CARPENTER, D. E. & CHESNEL, L. Comparison of *Clostridium difficile* minimum inhibitory concentrations obtained using agar dilution vs broth microdilution methods. **Anaerobe**, v. 44, p. 73-77, 2017.

HEGARTY, J. W., GUINANE, C. M., ROSS, R. P., HILL, C. & COTTER, P. D. Bacteriocin production: a relatively unharnessed probiotic trait?. **F1000Research**, v. 5, 2016.

HERRERO, M., QUIRÓS, C., GARCÍA, L. A. & DÍAZ, M. (2006). Use of flow cytometry to follow the physiological states of microorganisms in cider fermentation processes. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 72, n. 10, p. 6725-6733, 2006.

HINTZ, T., MATTHEWS, K.K. & DI, R. The use of plant antimicrobial compounds for food preservation. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

HIRAYAMA, K. & RAFTER, J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. **Microbes and infection**, v. 2, n. 6, p. 681-686, 2000.

HLIVAK, P., ODRASKA, J., FERENCIK, M., EBRINGER, L., JAHNOVA, E. & MIKES, Z. One-year application of probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 decreases serum cholesterol levels. **Bratisl Lek Listy**, v. 106, n. 2, p. 67-72, 2005.

HÖFERL, M., STOILOVA, I., WANNER, J., SCHMIDT, E., JIROVETZ, L., TRIFONOVA, D. & KRASTANOV, A. Composition and comprehensive antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) essential oil from Ecuador. **Natural product communications**, v. 10, n. 6, p. 1934578X1501000672, 2015.

HOSSEINI, M., MINA, K.A. & RAKHSHANDEH, H. Analgesic effect of clove essential oil in mice. **Journal of Structural Engineering**, v. 1, n. 1, p. 1-5, 2011.

HOSTETTMANN, K. & MARSTON, A. **Saponins**. Cambridge University Press, 564 p., 2005.

HUANG, Y., WANG, J., QUAN, G., WANG, X., YANG, L. & ZHONG, L. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 prevents atherosclerosis via inhibition of intestinal cholesterol absorption in apolipoprotein E-knockout mice. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 80, n. 24, p. 7496-7504, 2014.

HYLDGAARD, M., MYGIND, T. & MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 12, 2012.

HYSON, D. A. A comprehensive review of apples and apple components and their relationship to human health. **Advances in nutrition**, v. 2, n. 5, p. 408-420, 2011.

IMAM, M. Z. & AKTER, S. *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L.: A phytochemical and pharmacological review. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 5, p. 14-20, 2011.

IRKIN, R. & KORUKLUOGLU, M. Effectiveness of *Cymbopogon citratus* L. essential oil to inhibit the growth of some filamentous fungi and yeasts. **Journal of medicinal food**, v. 12, n. 1, p. 193-197, 2009.

ISMAIL, S. A. A., EL-MOHAMADY, Y., HELMY, W. A., ABOU-ROMIA, R. & HASHEM, A. M. Cultural condition affecting the growth and production of β -galactosidase by *Lactobacillus acidophilus* NRRL 4495. **Aust J Basic Appl Sci**, v. 4, n. 10, p. 5051-5058, 2010.

ISLAM, M. A., JEONG, B. G., JUNG, J., SHIN, E. C., CHOI, S. G. & CHUN, J. Phytosterol determination and method validation for selected nuts and seeds. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 10, p. 3225-3234, 2017.

ITO, M., ISHIMARU, M., SHIBATA, T., HATATE, H. & TANAKA, R. High-performance liquid chromatography with fluorescence detection for simultaneous analysis of phytosterols (stigmasterol, β -sitosterol, campesterol, ergosterol, and fucosterol) and cholesterol in plant foods. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 8, p. 2692-2699, 2017.

JACOUTON, E., TORRES MARAVILLA, E., BOUCARD, A. S., POUDEROUS, N., PESSOA VILELA, A. P., NAAS, I. & BERMÚDEZ-HUMARÁN, L. G. Anti-tumoral effects of recombinant *Lactococcus lactis* strain secreting IL-17A cytokine. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 3355, 2019.

JAHURUL, M. H. A., ZAIDUL, I. S. M., GHAFOR, K., AL-JUHAIMI, F. Y., NYAM, K. L., NORULAINI, N. A. N. & OMAR, A. M. Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. **Food chemistry**, v. 183, p. 173-180, 2015.

JASKULSKI, I. B., UECKER, J., BORDINI, F., MOURA, F., GONÇALVES, T., CHAVES, N. G. & ANDREAZZA, R. *In vivo* action of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolate (R7) with probiotic potential in the stabilization of cancer cells in the colorectal epithelium. **Process Biochemistry**, v. 91, p. 165-171, 2020.

JAYAPRAKASHA, G. K., NEGI, P. S., JENA, B. S. & RAO, L. J. M. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. **Journal of food composition and analysis**, v. 20, n. 3-4, p. 330-336, 2007.

JEENA, K., LIJU, V. B. & KUTTAN, R. Antitumor and cytotoxic activity of ginger essential oil (*Zingiber officinale* Roscoe). **Int J Pharm pharm sci**, v. 7, n. 8, p. 341-44, 2015.

JEON, Y., LEE, S. & LEE, H. Acaricidal and insecticidal activities of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* barks cultivated from France and India against *Dermatophagoides* spp., *Tyrophagus putrescentiae* and *Ricania* sp. **Applied Biological Chemistry**, v. 60, n. 3, p. 259-264, 2017.

JOEL, E. L. & BHIMBA, B. V. A secondary metabolite with antibacterial activity produced by mangrove foliar fungus *Schizophyllum commune*. **International J of Chem, Environ & Biol Scn**, v. 1, n. 1, p. 2320-4087, 2013.

KAJIWARA, S.; GANDHI, H. & USTUNOL, Z. Effect of honey on the growth of and acid production by human intestinal *Bifidobacterium* spp.: an in vitro comparison with commercial oligosaccharides and inulin. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 1, p. 214-218, 2002.

KANDI, S., GODISHALA, V., RAO, P. & RAMANA, K. V. Biomedical significance of terpenes: an insight. **Biomedicine**, v. 3, n. 1, p. 8-10, 2015.

KANKARIYA, A. R., PATEL, A. R. & KUNTE, S. S. The effect of different concentrations of water soluble azadirachtin (neem metabolite) on *Streptococcus mutans* compared with chlorhexidine. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, v. 34, n. 2, p. 105, 2016.

KAPADIA, S. P., PUDAKALKATTI, P. S. & SHIVANAİKAR, S. Detection of antimicrobial activity of banana peel (*Musa paradisiaca* L.) on *Porphyromonas*

gingivalis and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An in vitro study. **Contemporary clinical dentistry**, v. 6, n. 4, p. 496, 2015.

KARADI, R. V. R. V., Shah, A., Parekh, P., & Azmi, P. Antimicrobial activities of *Musa paradisiaca* and *Cocos nucifera*. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 2, n. 1, p. 264-267, 2011.

KASALI, A. A., LAWAL, O. A., ESHILOKUN, A. O., OLANIYAN, A. A., OPOKU, A. R. & SETZER, W. N. Citrus essential oil of Nigeria part V: Volatile constituents of sweet orange leaf oil (*Citrus sinensis*). **Natural product communications**, v. 6, n. 6, p. 1934578X1100600629, 2011.

KASHTANOVA, D. A., POPENKO, A. S., TKACHEVA, O. N., TYAKHT, A. B., ALEXEEV, D. G. & BOYTSOV, S. A. Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life. **Nutrition**, v. 32, n. 6, p. 620-627, 2016.

KENNEDY, D., CRONIN, U. P. & WILKINSON, M.G. Responses of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* to simulated food processing treatments, determined using fluorescence-activated cell sorting and plate counting. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 77, n. 13, p. 4657-4668, 2011.

KERRY, R. G., PATRA, J. K., GOUDA, S., PARK, Y., SHIN, H. S. & DAS, G. Benefaction of probiotics for human health: A review. **Journal of food and drug analysis**, v. 26, n. 3, p. 927-939, 2018.

KHALEGHI, M., KERMANSHAHI, R. K., YAGHOUBI, M. M., ZARKESH-ESFAHANI, S. H. & BAGHIZADEH, A. Assessment of bile salt effects on s-layer production, slp gene expression and some physicochemical properties of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. **J Microbiol Biotechnol**, v. 20, n. 4, p. 749-756, 2010.

KHARKWAL, H., PANTHARI, P., PANT, M. K., KHARKWAL, H., KHARKWAL, A. C. & JOSHI, D. D. Foaming glycosides: A review. **IOSR Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 5, p. 23-28, 2012.

KIESER, R. E. & BUDOWLE, B. Select methods for microbial forensic nucleic acid analysis of trace and uncultivable specimens. **Microbial Forensics**. Academic Press, p. 195-205, 2020.

KIM, H., MOON, J. Y., KIM, H., LEE, D. S., CHO, M., CHOI, H. K. & CHO, S. K. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 429-436, 2010.

KLEIN, A., FRIEDRICH, U., VOGELSANG, H. & JAHREIS, G. *Lactobacillus acidophilus* 74-2 and *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* DGCC 420 modulate unspecific cellular immune response in healthy adults. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 5, p. 584-593, 2008.

KLEIN, G., PACK, A., BONAPARTE, C. & REUTER, G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. **International journal of food microbiology**, v. 41, n. 2, p. 103-125, 1998.

KOH, A., DE VADDER, F., KOVATCHEVA-DATCHARY, P. & BACKHED, F. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. **Cell**, v. 165, n. 6, p. 1332-1345, 2016.

KONDO, K., TAKAISHI, Y., SHIBATA, H. & HIGUTI, T. ILSMRs (intensifier of β -lactam-susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara [*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze]. **Phytomedicine**, v. 13, n. 3, p. 209-212, 2006.

KORDESEDEHI, R., TAHERI-KAFRANI, A., RABBANI-KHORASGANI, M., KAZEMI, R., MUTANGADURA, D. & HAERTLE, T. Modification of IgE binding to α S1-casein by proteolytic activity of *Enterococcus faecium* isolated from Iranian camel milk samples. **Journal of biotechnology**, v. 276, p. 10-14, 2018.

KOUIDHI, B., ZMANTAR, T. & BAKHROUF, A. Anticariogenic and cytotoxic activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*) against a large number of oral pathogens. **Annals of microbiology**, v. 60, n. 4, p. 599-604, 2010.

KRAATZ, M., WHITEHEAD, T. R., COTTA, M. A., BERHOW, M. A. & RASMUSSEN, M. A.. Effects of chlorophyll-derived efflux pump inhibitor pheophorbide a and pyropheophorbide a on growth and macrolide antibiotic resistance of indicator and anaerobic swine manure bacteria. **International Journal of Antibiotics**, v. 2014, 2014.

KUKULA-KOCH, W. A. & WIDELSKI, J. **Alkaloids. In: Pharmacognosy**. Academic Press, p. 163-198. 2017.

KUMAR, P., MEHTA, N., MALAV, O. P., KUMAR CHATLI, M., RATHOUR, M. & KUMAR VERMA, A. Antioxidant and antimicrobial efficacy of watermelon rind extract (WMRE) in aerobically packaged pork patties stored under refrigeration temperature ($4\pm 1^\circ\text{C}$). **Journal of food processing and preservation**, v. 42, n. 10, 2018.

KUMAR, S. & KUMARI, R. *Cinnamomum*: Review article of essential oil compounds, ethnobotany, antifungal and antibacterial effects. **Open Access J. Sci**, v. 3, p. 13-16, 2019.

LAHTINEN, S. J., AHOKOSKI, H., REINIKAINEN, J. P., GUEIMONDE, M., NURMI, J., OUWEHAND, A. C. & SALMINEN, S. J. Degradation of 16S rRNA and attributes of viability of viable but nonculturable probiotic bacteria. **Letters in applied microbiology**, v. 46, n. 6, p. 693-698, 2008.

LAM, K. Y., LING, A. P. K., KOH, R. Y., WONG, Y. P. & SAY, Y. H. A review on medicinal properties of orientin. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2016, 2016.

LAPARRA, J. M. & SANZ, Y. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. **Pharmacological research**, v. 61, n. 3, p. 219-225, 2010.

LAPARRA, J. M., OLIVARES, M., GALLINA, O. & SANZ, Y. *Bifidobacterium longum* CECT 7347 modulates immune responses in a gliadin-induced enteropathy animal model. **PLoS One**, v. 7, n. 2, 2012.

LATA, B., TRAMPCZYNSKA, A. & PACZESNA, J. Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. **Scientia Horticulturae**, v. 121, n. 2, p. 176-181, 2009.

LATTANZIO, V., KROON, P. A., QUIDEAU, S. & TREUTTER, D. Plant phenolics—secondary metabolites with diverse functions. **Recent advances in polyphenol research**, v. 1, p. 1-35, 2008.

LEAHY, S. C., HIGGINS, D. G., FITZGERALD, G. F. & VAN SINDEREN, D. Getting better with Bifidobacteria. **Journal of applied microbiology**, v. 98, n. 6, p. 1303-1315, 2005.

LEÃO, M. V. P., SILVA, C. R. G., SANTOS, S. S. F. D. & LEITE, P. G. C. *Lactobacillus rhamnosus* pode alterar a virulência de *Candida albicans*. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 37, n. 9, p. 417-420, 2015.

LEBLANC, J. G., CHAIN, F., MARTÍN, R., BERMÚDEZ-HUMARÁN, L. G., COURAU, S. & LANGELLA, P. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. **Microbial cell factories**, v. 16, n. 1, p. 79, 2017.

LEE, H. C., JENNER, A. M., LOW, C. S. & LEE, Y. K. Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. **Research in microbiology**, v. 157, n. 9, p. 876-884, 2006.

LEE, J., CHAN, B.L. S. & MITCHELL, A. E. Identification/quantification of free and bound phenolic acids in peel and pulp of apples (*Malus domestica*) using high resolution mass spectrometry (HRMS). **Food chemistry**, v. 215, p. 301-310, 2017.

LEE, N.K & PAIK, H.D. Status, antimicrobial mechanism, and regulation of natural preservatives in livestock food systems. **Korean journal for food science of animal resources**, v. 36, n. 4, p. 547, 2016.

LENNERZ, B. S., VAFAI, S. B., DELANEY, N. F., CLISH, C. B., DEIK, A. A., PIERCE, K. A., LUDWIG, D. S. & MOOTHA, V. K. Effects of sodium benzoate, a widely used food preservative, on glucose homeostasis and metabolic profiles in humans. **Molecular genetics and metabolism**, v. 114, n. 1, p. 73-79, 2015.

LI, D., KIM, J. M., JIN, Z. & ZHOU, J. Prebiotic effectiveness of inulin extracted from edible burdock. **Anaerobe**, v. 14, n. 1, p. 29-34, 2008.

LICHTENBERG, L. A. & LICHTENBERG, P. S. F. Avanços na bananicultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. SPE1, p. 29-36, 2011.

LIEVIN, V., PEIFFER, I., HUDAULT, S., ROCHAT, F., BRASSART, D., NEESER, J. R. & SERVIN, A. L. *Bifidobacterium* strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. **Gut**, v. 47, n. 5, p. 646-652, 2000.

LIM, T. K. **Eugenia uniflora**. In: **Edible Medicinal and non Medicinal Plants**. Springer, Dordrecht, p. 620-630, 2012.

LIN, M.Y. & CHANG, F.J. Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. **Digestive diseases and sciences**, v. 45, n. 8, p. 1617-1622, 2000.

LIN, P. W., MYERS, L. E., RAY, L., SONG, S. C., NASR, T. R., BERARDINELLI, A. J. & NEISH, A. S. *Lactobacillus rhamnosus* blocks inflammatory signaling *in vivo* via

reactive oxygen species generation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, n. 8, p. 1205-1211, 2009.

LÓPEZ, E. I. C., BALCÁZAR, M. F. H., MENDOZA, J. M. R., ORTIZ, A. D. R., MELO, M. T. O., PARRALES, R. S., & DELGADO, T. H. Antimicrobial activity of essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe (*Zingiberaceae*). **American Journal of Plant Sciences**, v. 8, n. 7, p. 1511-1524, 2017.

LOZO, J., MIRKOVIC, N., O'CONNOR, P. M., MALESEVIC, M., MILJKOVIC, M., POLOVIC, N. & KOJIC, M. Lactolisterin BU, a novel class II broad-spectrum bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. diacetylactis BGBU1-4. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 83, n. 21, p. e01519-17, 2017.

LUDWIG, W. **Road map of the phylum Actinobacteria**. In: **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, vol. 5. New York: Springer, 2083 p., 2012.

LUO, J., ZHANG, P., LI, S. & SHAH, N. P. Antioxidant, antibacterial, and antiproliferative activities of free and bound phenolics from peel and flesh of fuji apple. **Journal of food science**, v. 81, n. 7, p. M1735-M1742, 2016.

MACFARLANE, S. & MACFARLANE, G. T. Regulation of short-chain fatty acid production. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, n. 1, p. 67-72, 2003.

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.

MAGNUSON, B. A., CARAKOSTAS, M. C., MOORE, N. H., POULOS, S. P. & RENWICK, A. G. Biological fate of low-calorie sweeteners. **Nutrition reviews**, v. 74, n. 11, p. 670-689, 2016.

MAHAKITTIKUN, V., SOONTHORNCHAREONNON, N., FOONGLADDA, S., BOITANO, J. J., WANGAPAI, T. & NINSANIT, P. A preliminary study of the acaricidal

activity of clove oil, *Eugenia caryophyllus*. **Asian pacific journal of allergy and immunology**, v. 32, n. 1, p. 46, 2014.

MAHBOUBI, M. & MAHBOUBI, M. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Eugenia caryophyllata* Essential Oil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 18, n. 4, p. 967-975, 2015.

MAIA, G.A., LIMA, A.S. & FREITAS, C.A.S. Aplicações do dióxido de enxofre na manutenção da qualidade de sucos de frutas tropicais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 65, n. 1, p. 1-6, 2006.

MALU, S. P., OBOCHI, G. O., TAWO, E. N. & NYONG, B. E. Antibacterial activity and medicinal properties of ginger (*Zingiber officinale*). **Global Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 15, n. 3-4, 2009.

MAMUR, S., YÜZBAŞIOĞLU, D., ÜNAL, F. & AKSOY, H. Genotoxicity of food preservative sodium sorbate in human lymphocytes *in vitro*. **Cytotechnology**, v. 64, n. 5, p. 553-562, 2012.

MARKOWIAK, P. & ŚLIŻEWSKA, K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 1021, 2017.

MAROOF, H., HASSAN, Z. M., MOBAREZ, A. M. & MOHAMADABADI, M. A. *Lactobacillus acidophilus* could modulate the immune response against breast cancer in murine model. **Journal of clinical immunology**, v. 32, n. 6, p. 1353-1359, 2012.

MARQUES, A. M., DE AQUINO, V. H. C., CORREIA, V. G., SIANI, A. C., TAPPIN, M. R. R., KAPLAN, M. A. C. & FIGUEIREDO, M. R. Isolation of two major sesquiterpenes from the leaf essential oil of *Eugenia uniflora* by preparative-scale high-speed countercurrent chromatography. **Separation Science Plus**, v. 1, n. 12, p. 785-792, 2018.

MARTINS, N., BARROS, L., SANTOS-BUELGA, C., HENRIQUES, M., SILVA, S. & FERREIRA, I. C. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. **Food chemistry**, v. 158, p. 73-80, 2014.

MARTINS, S. L., SILVA, H. F., CARVALHO GARBI NOVAES, M. R. & KIYOMI ITO, M. Efeitos terapêuticos dos fitosteróis e fitostanóis na colesterolemia. **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 54, n. 3, p. 257-263, 2004.

MATTARELLI, P., BONAPARTE, C., POT, B. & BIAVATI, B. Proposal to reclassify the three biotypes of *Bifidobacterium longum* as three subspecies: *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* subsp. nov., *Bifidobacterium longum* subsp. *Infantis* comb. nov. and *Bifidobacterium longum* subsp. *suis* comb. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 58, n. 4, p. 767-772, 2008.

MATTARELLI, P., BIAVATI, B., HOLZAPFEL, W. H. & WOOD, B. J. **The Bifidobacteria and related organisms: biology, taxonomy, applications**. Academic Press, 2017.

MEDINA, D.A.V., FERREIRA, A. P. G. & CAVALHEIRO, E. T. G. Polymorphism and thermal behavior of sodium cyclamate. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 137, n. 4, p. 1307-1313, 2019.

MEMAR, M. Y., RAEI, P., ALIZADEH, N., AGHDAM, M. A. & KAFIL, H. S. Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. **Reviews in Medical Microbiology**, v. 28, n. 2, p. 63-68, 2017.

MESQUITA, P. D. L., AFONSO, R. J. D. C. F., AQUINO, S. F. D. & LEITE, G. D. Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis intermediários da digestão anaeróbia. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 18, n. 4, p. 295-302, 2013.

MING, L. C., FIGUEIREDO, R. O., MACHADO, S. R. & ANDRADE, R. M. C. Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (dc) stape) poaceae. **International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants** **426**. p. 555-559.1995.

MIRZA, S. K., ASEMA, U. K. & KASIM, S. S. To study the harmful effects of food preservatives on human health. **J. Med. Chem. Drug Discovery**, v. 2, p. 610-616, 2017.

MISHRA, A. K., KUMAR, S. S. & GHOSH, A. R. Probiotic *Enterococcus faecalis* AG5 effectively assimilates cholesterol and produces fatty acids including propionate. **FEMS microbiology letters**, v. 366, n. 4, p. fnz039, 2019.

MISHRA, S., AERI, V., GAUR, P. K. & JACHAK, S. M. Phytochemical, therapeutic, and ethnopharmacological overview for a traditionally important herb: *Boerhavia diffusa* Linn. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

MOENS, F., VERCE, M. & DE VUYST, L. Lactate-and acetate-based cross-feeding interactions between selected strains of lactobacilli, bifidobacteria and colon bacteria in the presence of inulin-type fructans. **International journal of food microbiology**, v. 241, p. 225-236, 2017.

MORO, T. M. A., CELEGATTI, C. M., PEREIRA, A. P. A., LOPES, A. S., BARBIN, D. F., PASTORE, G. M. & CLERICI, M. T. P. S. Use of burdock root flour as a prebiotic ingredient in cookies. **LWT**, v. 90, p. 540-546, 2018.

MORY, F., LOZNIEWSKI, A., BLAND, S., SEDALLIAN, A., GROLLIER, G., GIRARD-PIPAU, F. & DUBREUIL, L. Survey of anaerobic susceptibility patterns: a French multicentre study. **International journal of antimicrobial agents**, v. 10, n. 3, p. 229-236, 1998.

MOSHAYEDI, S., SHAHRAZ, F., SCHAFFNER, D. W., KHANLARKHANI, A., SHOJAEE-ALIABADI, S., SHAHNIA, M. & KHAKSAR, R. *In Vitro* Control of

Enterococcus faecalis by *Zataria multiflora* B oiss, *Origanum vulgare* L and *Mentha pulegium* Essential Oils. **Journal of Food Safety**, v. 33, n. 3, p. 327-332, 2013.

MUEGGE, B. D., KUCZYNSKI, J., KNIGHTS, D., CLEMENTE, J. C., GONZÁLEZ, A., FONTANA, L. & GORDON, J. I. Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. **Science**, v. 332, n. 6032, p. 970-974, 2011.

MÜLLER, S. & NEBE-VON-CARON, G. Functional single-cell analyses: flow cytometry and cell sorting of microbial populations and communities. **FEMS microbiology reviews**, v. 34, n. 4, p. 554-587, 2010.

NAIK, M. I., FOMDA, B. A., JAYKUMAR, E. & BHAT, J. Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, n. 7, p. 535-538, 2010.

NEELAM, M. & MISHRA, S. Effects of food additives and preservatives and shelf life of the processed foods. **Asian Journal of Science and Technology**, v. 9, n. 10, p. 8910-8912, 2018.

NG, S. C., HART, A. L., KAMM, M. A., STAGG, A. J. & KNIGHT, S. C. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. **Inflammatory bowel diseases**, v. 15, n. 2, p. 300-310, 2009.

NJOROGE, S. M., KOAZE, H., KARANJA, P. N. & SAWAMURA, M. Essential oil constituents of three varieties of Kenyan sweet oranges (*Citrus sinensis*). **Flavour and fragrance journal**, v. 20, n. 1, p. 80-85, 2005.

NJOYA, H. K., ERIFETA, G. O. & OKWUONU, C. U. Estimation of some phytoconstituents in the aqueous extract of the endocarp, seeds and exocarp of watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 3, p. 4750-4757, 2019.

NOORAFSHAN, A., ERFANIZADEH, M. & KARBALAY-DOUST, S. Stereological studies of the effects of sodium benzoate or ascorbic acid on rats' cerebellum. **Saudi medical journal**, v. 35, n. 12, p. 1494, 2014.

NOORI, S., ZEYNALI, F. & ALMASI, H. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. **Food control**, v. 84, p. 312-320, 2018.

NUENO-PALOP, C. & NARBAD, A. Probiotic assessment of *Enterococcus faecalis* CP58 isolated from human gut. **International journal of food microbiology**, v. 145, n. 2-3, p. 390-394, 2011.

NUÑEZ, L. & D'AQUINO, M. Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*). **Brazilian journal of microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1255-1260, 2012.

OBUOTOR, T. M., OMANKHANLEN, A. & LASISI, A. A. Antimicrobial efficacy of the extract, fractions and essential oils from the leaves of *Eugenia uniflora* Linn (Myrtaceae). **Ife Journal of Science**, v. 19, n. 1, p. 159-168, 2017.

OGUNWANDE, I. A., OLAWORE, N. O., EKUNDAYO, O., WALKER, T. M., SCHMIDT, J. M. & SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **International journal of Aromatherapy**, v. 15, n. 3, p. 147-152, 2005.

OLIVEIRA, R. P. S., PEREGO, P., DE OLIVEIRA, M. N. & CONVERTI, A. Effect of inulin on the growth and metabolism of a probiotic strain of *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **LWT**, v. 47, n. 2, p. 358-363, 2012.

OMRAN, A., AHEARN, G., BOWERS, D., SWENSON, J. & COUGHLIN, C. Metabolic effects of sucralose on environmental bacteria. **Journal of toxicology**, v. 2013, 2013.

ORIACH, C. S., ROBERTSON, R. C., STANTON, C., CRYAN, J. F. & DINAN, T. G. Food for thought: The role of nutrition in the microbiota-gut–brain axis. **Clinical Nutrition Experimental**, v. 6, p. 25-38, 2016.

PALMNÄS, M. S., COWAN, T. E., BOMHOF, M. R., SU, J., REIMER, R. A., VOGEL, H. J. & SHEARER, J. Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. **PloS one**, v. 9, n. 10, p. e109841, 2014.

PAN, X., CHEN, F., WU, T., TANG, H., & ZHAO, Z. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. **Food Control**, v. 20, n. 6, p. 598-602, 2009.

PAPARELLA, A., TACCOGNA, L., AGUZZI, I., CHAVES-LOPEZ, C., SERIO, A., MARSILIO, F. & SUZZI, G. Flow cytometric assessment of the antimicrobial activity of essential oils against *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 19, n. 12, p. 1174-1182, 2008.

PARKAR, S.G., TROWER, T.M. & STEVENSON, D. E. Fecal microbial metabolism of polyphenols and its effects on human gut microbiota. **Anaerobe**, v. 23, p. 12-19, 2013.

PATRA, J. K. & BAEK, K. H. Novel green synthesis of gold nanoparticles using *Citrullus lanatus* rind and investigation of proteasome inhibitory activity, antibacterial, and antioxidant potential. **International journal of nanomedicine**, v. 10, p. 7253, 2015.

PEKMEZ, C. T., DRAGSTED, L. O. & BRAHE, L. K. Gut microbiota alterations and dietary modulation in childhood malnutrition—the role of short chain fatty acids. **Clinical Nutrition**, v. 38, n. 2, p. 615-630, 2019.

PEPINO, M. Y. Metabolic effects of non-nutritive sweeteners. **Physiology & behavior**, v. 152, p. 450-455, 2015.

PEREIRA, A. C. S., MOURA, S. M. & CONSTANT, P. B. L. Alergia alimentar: sistema imunológico e principais alimentos envolvidos. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 29, n. 2, p. 189-200, 2008.

PERVEEN, S. & AL-TAWHEEL, A. **Terpenes and Terpenoids**. BoD—Books on Demand, 2018.

PEZZANI, R., VITALINI, S. & IRITI, M. Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: an update. **Phytochemistry reviews**, v. 16, n. 6, p. 1253-1268, 2017.

PFEILER, E. A. & KLAENHAMMER, T. R. Role of transporter proteins in bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 18, p. 6013-6016, 2009.

PIPER, J. D. & PIPER, P. W. Benzoate and sorbate salts: a systematic review of the potential hazards of these invaluable preservatives and the expanding spectrum of clinical uses for sodium benzoate. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 5, p. 868-880, 2017.

PIRES, T. C., DIAS, M. I., BARROS, L., ALVES, M. J., OLIVEIRA, M. B. P., SANTOS-BUELGA, C. & FERREIRA, I. C. Antioxidant and antimicrobial properties of dried Portuguese apple variety (*Malus domestica* Borkh. cv Bravo de Esmolfe). **Food chemistry**, v. 240, p. 701-706, 2018.

PITHVA, S., SHEKH, S., DAVE, J. & VYAS, B. R. M. Probiotic attributes of autochthonous *Lactobacillus rhamnosus* strains of human origin. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 173, n. 1, p. 259-277, 2014.

POLITEO, O., JUKIC, M. & MILOS, M. Comparison of chemical composition and antioxidant activity of glycosidically bound and free volatiles from clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Journal of food biochemistry**, v. 34, n. 1, p. 129-141, 2010.

POLÔNIO, M. L. T. & PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de saúde pública**, v. 25, n. 8, p. 1653-1666, 2009.

POONPAIBOONPIPAT, T., PANGNAKORN, U., SUVUNNAMEK, U., TEERARAK, M., CHAROENYING, P. & LAOSINWATTANA, C. Phytotoxic effects of essential oil from *Cymbopogon citratus* and its physiological mechanisms on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 403-407, 2013.

PRABUSEENIVASAN, S., JAYAKUMAR, M. & IGNACIMUTHU, S. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 6, n. 1, p. 39, 2006.

PRAJAPATI, V., TRIPATHI, A. K., AGGARWAL, K. K. & KHANUJA, S. P. S. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Bioresource technology**, v. 96, n. 16, p. 1749-1757, 2005.

PRASHANT, G. M., PATIL, R. B., NAGARAJ, T. & PATEL, V. B. The antimicrobial activity of the three commercially available intense sweeteners against common periodontal pathogens: an *in vitro* study. **J Contemp Dent Pract**, v. 13, n. 6, p. 749-52, 2012.

PUERTOLLANO, E., KOLIDA, S. & YAQOOB, P. Biological significance of short-chain fatty acid metabolism by the intestinal microbiome. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 17, n. 2, p. 139-144, 2014.

PURKAYASTHA, S., MARKOSYAN, A., PRAKASH, I., BHUSARI, S., PUGH JR, G., LYNCH, B. & ROBERTS, A. Steviol glycosides in purified stevia leaf extract sharing the same metabolic fate. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 77, p. 125-133, 2016.

PYLKAS, A. M., JUNEJA, L. R. & SLAVIN, J. L. Comparison of different fibers for *in vitro* production of short chain fatty acids by intestinal microflora. **Journal of medicinal food**, v. 8, n. 1, p. 113-116, 2005.

QIAO, X., DU, R., WANG, Y., HAN, Y. & ZHOU, Z. Purification, characterization and mode of action of enterocin, a novel bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* TJUQ1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 144, p. 151-159, 2020.

QUIGLEY, E. M. M. Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota. **Pharmacological research**, v. 61, n. 3, p. 213-218, 2010.

QUOC, L. P. T. Antimicrobial activity of preservatives in food technology. **Bulletin of the Transilvania University of Brasov, Series II. Forestry, Wood Industry, Agricultural Food Engineering**, v. 11, n. 2, 2018.

RAHN, A. & YAYLAYAN, V. A. Thermal degradation of sucralose and its potential in generating chloropropanols in the presence of glycerol. **Food Chemistry**, v. 118, n. 1, p. 56-61, 2010.

RAMAKRISHNAN, V., GOVEAS, L. C., SURALIKERIMATH, N., JAMPANI, C., HALAMI, P. M. & NARAYAN, B. Extraction and purification of lipase from *Enterococcus faecium* MTCC5695 by PEG/phosphate aqueous-two phase system (ATPS) and its biochemical characterization. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 6, p. 19-27, 2016.

RANASINGHE, P., PIGERA, S., PREMAKUMARA, G. S., GALAPPATHTHY, P., CONSTANTINE, G. R. & KATULANDA, P. Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, n. 1, p. 275, 2013.

RAPHAELLI, C. O., DANNENBERG, G., DALMAZO, G. O., PEREIRA, E. S., RADÜNZ, M., VIZZOTTO, M. & NORA, L. Antibacterial and antioxidant properties of

phenolic-rich extracts from apple (*Malus domestica* cv. Gala). **International Food Research Journal**, v. 26, n. 4, 2019.

RAPOSA, B., PÓNUSZ, R., GERENCSÉR, G., BUDÁN, F., GYÖNGYI, Z., TIBOLD, A. & VARJAS, T. Food additives: Sodium benzoate, potassium sorbate, azorubine, and tartrazine modify the expression of NFκB, GADD45α, and MAPK8 genes. **Physiology International (Acta Physiologica Hungarica)**, v. 103, n. 3, p. 334-343, 2016.

RAULT, A., BÉAL, C., GHORBAL, S., OGIER, J. C., & BOUIX, M. Multiparametric flow cytometry allows rapid assessment and comparison of lactic acid bacteria viability after freezing and during frozen storage. **Cryobiology**, v. 55, n. 1, p. 35-43, 2007.

RAY, K. Married to our gut microbiota. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 9, n. 10, p. 555-555, 2012.

REHALEM, A., MARTINEZ, B., MANAI, M. & RODRIGUEZ, A. Production of enterocin A by *Enterococcus faecium* MMRA isolated from 'Rayeb', a traditional Tunisian dairy beverage. **Journal of applied microbiology**, v. 108, n. 5, p. 1685-1693, 2010.

REID, G. Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. **Best practice & research Clinical gastroenterology**, v. 30, n. 1, p. 17-25, 2016.

REUTER, G. The *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* microflora of the human intestine: composition and succession. **Current issues in intestinal microbiology**, v. 2, n. 2, p. 43-53, 2001.

RIBEIRO, S. M. R., BARBOSA, L. C. A., QUEIROZ, J. H., KNÖDLER, M. & SCHIEBER, A. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. **Food chemistry**, v. 110, n. 3, p. 620-626, 2008.

RIVIÈRE, A., GAGNON, M., WECKX, S., ROY, D. & DE VUYST, L. Mutual cross-feeding interactions between *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* NCC2705 and

Eubacterium rectale ATCC 33656 explain the bifidogenic and butyrogenic effects of arabinoxylan oligosaccharides. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 81, n. 22, p. 7767-7781, 2015.

ROBERTS, A., RENWICK, A. G., SIMS, J., & SNODIN, D. J. Sucralose metabolism and pharmacokinetics in man. **Food and chemical toxicology**, v. 38, p. 31-41, 2000.

RODRÍGUEZ, H., CUIEL, J. A., LANDETE, J. M., DE LAS RIVAS, B., DE FELIPE, F. L., GÓMEZ-COROVÉS, C. & MUÑOZ, R. Food phenolics and lactic acid bacteria. **International journal of food microbiology**, v. 132, n. 2-3, p. 79-90, 2009.

ROMDHANE, M. B., HADDAR, A., GHAZALA, I., JEDDOU, K. B., HELBERT, C. B. & ELLOUZ-CHAABOUNI, S. Optimization of polysaccharides extraction from watermelon rinds: Structure, functional and biological activities. **Food Chemistry**, v. 216, p. 355-364, 2017.

ROY, C. C., KIEN, C. L., BOUTHILLIER, L. & LEVY, E. Short-chain fatty acids: ready for prime time?. **Nutrition in clinical practice**, v. 21, n. 4, p. 351-366, 2006.

SAAD, M. A., ABDELSAMEI, H. M., IBRAHIM, E., ABDOL, A. M. & EL SOHAIMY, S. A. Effect of pH, heat treatments and proteinase K enzyme on the activity of *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin. **Benha Veterinary Medical Journal**, v. 28, n. 1, p. 210-215, 2015.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SAID, M. B., MASAHIRO, O. & HASSEN, A. Detection of viable but non cultivable *Escherichia coli* after UV irradiation using a lytic Q β phage. **Annals of microbiology**, v. 60, n. 1, p. 121-127, 2010.

SALEEM, M., BHATTI, H. N., JILANI, M. I. & HANIF, M. A. Bioanalytical evaluation of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil. **Natural product research**, v. 29, n. 19, p. 1857-1859, 2015.

SALEEM, M. & SAEED, M. T. Potential application of waste fruit peels (orange, yellow lemon and banana) as wide range natural antimicrobial agent. **Journal of King Saud University-Science**, v. 32, n. 1, p. 805-810, 2020.

SALGADO, J. **Alimentos funcionais**. Oficina de Textos, 256 p., 2017.

SAMARŽIJA, D., ANTUNAC, N. & LUKAČ, H. J. Taxonomy, physiology and growth of *Lactococcus lactis*: a review. **Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka**, v. 51, n. 1, p. 35-48, 2001.

SAMUEL, P., AYOGB, K. T., MAGNUSON, B. A., WÖLWER-RIECK, U., JEPPESEN, P. B., ROGERS, P. J. & MATHEWS, R. Stevia leaf to stevia sweetener: exploring its science, benefits, and future potential. **The Journal of nutrition**, v. 148, n. 7, p. 1186S-1205S, 2018.

SANTOS, J. F. S., ROCHA, J. E., BEZERRA, C. F., DO NASCIMENTO SILVA, M. K., DE MATOS, Y. M. L. S., DE FREITAS, T. S. & DE BRITO, E. S. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food chemistry**, v. 261, p. 233-239, 2018.

SARAVANAKUMAR, K., CHELLIAH, R., RAMAKRISHNAN, S. R., KATHIRESAN, K., OH, D. H. & WANG, M. H. Antibacterial, and antioxidant potentials of non-cytotoxic extract of *Trichoderma atroviride*. **Microbial pathogenesis**, v. 115, p. 338-342, 2018.

SARAWANEEYARUK, S., KRAJANGSANG, S. & PRINGSULAKA, O. The effects of neem extract and azadirachtin on soil microorganisms. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 15, n. 4, p. 1071-1083, 2015.

SARIKURKCU, C., ZENGİN, G., OSKAY, M., UYSAL, S., CEYLAN, R. & AKTUMSEK, A. Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 178-184, 2015.

SASIDHARAN, I., VENUGOPAL, V. V. & MENON, A. N. Essential oil composition of two unique ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) cultivars from Sikkim. **Natural product research**, v. 26, n. 19, p. 1759-1764, 2012.

SAXENA, M., SAXENA, J., NEMA, R., SINGH, D. & GUPTA, A. Phytochemistry of medicinal plants. **Journal of pharmacognosy and phytochemistry**, v. 1, n. 6, 2013.

SCHIFFMAN, S. S. & ROTHER, K. I. Sucralose, a synthetic organochlorine sweetener: overview of biological issues. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 16, n. 7, p. 399-451, 2013.

SCHLÖSSER, I. N. G. A. & PRANGE, A. Antifungal Activity of Selected Natural Preservatives against *Aspergillus westerdijkiae* and *Penicillium verrucosum* and the Interactions of These Preservatives with Food Components. **Journal of food protection**, v. 82, n. 10, p. 1751-1760, 2019.

SEETARAMAIAH, K., SMITH, A. A., MURALI, R. & MANAVALAN, R. Preservatives in food products-review. **Int J Pharm Biol Arch**, v. 2, n. 2, p. 583-99, 2011.

SELIM, Y. & LITINAS, K. Cytotoxic and antibacterial activities of two new triterpenoids from the peels of local Egyptian *Malus domestica* L. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, n. 12, p. 4016-4022, 2015.

SELMA, M. V., ESPIN, J. C. & TOMAS-BARBERAN, F. A. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6485-6501, 2009.

SGORBATI, B., BIAVATI, B. & PALENZONA, D. **The genus *Bifidobacterium*. In: The genera of lactic acid bacteria.** Springer, Boston, MA, p. 279-306, 1995.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International dairy journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, 2007.

SHAO, D., YAO, L., ZHU, J., SHI, J., JIN, M., HUANG, Q. & YANG, H. Simulated microgravity affects some biological characteristics of *Lactobacillus acidophilus*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 101, n. 8, p. 3439-3449, 2017.

SHAO, L. I., WU, Z., ZHANG, H., CHEN, W., AI, L. & GUO, B. Partial characterization and immunostimulatory activity of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* KF5. **Carbohydrate polymers**, v. 107, p. 51-56, 2014.

SHARIATI, M., MATIN, S., GHANEI, M. & KALANI, N. Nitrate, Sorbate and Benzoate a justification for the conflicting results of epidemiological studies of cancer in nutrition. **Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 8, p. 2273-U2147, 2016.

SHARMA, P. K., SINGH, V. & ALI, M. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Fresh Rhizome Essential Oil of *Zingiber Officinale* Roscoe. **Pharmacognosy Journal**, v. 8, n. 3, 2016.

SILVA, A. E. D., SOUZA, M. A., GOMES, M. S. C., SOUZA, E. C. M., FRAZÃO, M. F., D'ASSUNÇÃO, C. G. & SOARES, J. K. B. Avaliação dos efeitos do aspartame sobre a ingestão alimentar, os parâmetros físicos, bioquímicos e histopatológicos em ratos Wistar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 6, p. 1516-1522, 2016.

SILVA, F. C. O., FERREIRA, M. K. A., SILVA, A. W., MATOS, M. G. C., MAGALHÃES, F., SILVA, P. T., BANDEIRA, P.N., DE MENEZES, J.E.S & SANTOS, H. S. Bioatividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 1, 2020.

SILVESTRI, J. D. F., PAROUL, N., CZYEWski, E., LERIN, L., ROTAVA, I., CANSIAN, R. L. & TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e

antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

SIMON, O., VAHJEN, W. & SCHAREK, L. Micro-organisms as feed additives-probiotics. **Advances in pork Production**, v. 16, n. 2, p. 161-167, 2005.

SINGH, B., SINGH, J. P., KAUR, A. & SINGH, N. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits—A review. **Food Chemistry**, v. 206, p. 1-11, 2016.

SINGH, B., SINGH, J. P., SINGH, N. & KAUR, A. Saponins in pulses and their health promoting activities: A review. **Food chemistry**, v. 233, p. 540-549, 2017.

SINGH, J., BAGHOTIA, A. & GOEL, S. P. *Eugenia caryophyllata* Thunberg (family myrtaceae): a review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1469-1475, 2012.

SINGH, P., SHUKLA, R., PRAKASH, B., KUMAR, A., SINGH, S., MISHRA, P. K. & DUBEY, N. K. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 6, p. 1734-1740, 2010.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R. & LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in enzymology**, v.299, p.152-178, 1999.

SIRAJUDIN, Z. N. M., AHMED, Q. U., CHOWDHURY, A. J. K., KAMARUDIN, E. Z., KHAN, A. V. & UDDIN, A. B. M. H. Antimicrobial activity of banana (*Musa paradisiaca* L.) peels against food borne pathogenic microbes. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 8, n. 5, p. 3627-39, 2014.

SIVASOTHY, Y., CHONG, W. K., HAMID, A., ELDEEN, I. M., SULAIMAN, S. F. & AWANG, K. Essential oils of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and their antibacterial activities. **Food chemistry**, v. 124, n. 2, p. 514-517, 2011.

SLAVIN, J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1417-1435, 2013.

SOLDAVINI, J. & KAUNITZ, J. D. Pathobiology and potential therapeutic value of intestinal short-chain fatty acids in gut inflammation and obesity. **Digestive diseases and sciences**, v. 58, n. 10, p. 2756-2766, 2013.

SONG, A. A. L., IN, L. L., LIM, S. H. E. & RAHIM, R. A. A review on *Lactococcus lactis*: from food to factory. **Microbial cell factories**, v. 16, n. 1, p. 55, 2017.

SOUSA, É. B., CARVALHO, F. W. A. D., WANDERLEY, R. D. O. S., SILVA, É. R. D., ANDRADE, J. A. M. D. & WANDERLEY, P. A. Caracterização físico-química da Banana Prata (*Musa sapientum*) comercializada em quatro cidades do Sertão da Paraíba. In: **VII CONNEPI-Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**. 2012.

SOUZA, E. L., STAMFORD, T. L. M. & LIMA, E. O. Sensitivity of spoiling and pathogen food-related bacteria to *Origanum vulgare* L.(Lamiaceae) essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 4, p. 527-532, 2006.

SOUZA, J. M., RODRIGUES, M. V. P., CIRQUEIRA, R. T., DE FREITAS ALVES, M. J. Q., LORDELO, E. P., DE OLIVEIRA, C. F. & PIETRO, R. C. L. R. Evaluation of antimicrobial, hypotensive and diuretic effect of *Eugenia uniflora* extracts. **Mundo saúde (Impr.)**, v. 42, p. 269-282, 2018.

STANOJEVIC, D., COMIC, L., STEFANOVIC, O. & SOLUJIC-SUKDOLAK, S. Antimicrobial effects of sodium benzoate, sodium nitrite and potassium sorbate and their synergistic action *in vitro*. **Bulg J Agric Sci J**, v. 15, n. 4, p. 307-11, 2009.

STANOJEVIC, L. P., STANOJEVIC, J. S., CVETKOVIC, D. J. & ILIC, D. P. Antioxidant activity of oregano essential oil (*Origanum vulgare* L.). **Biologica Nyssana**, v. 7, n. 2, 2018.

STEFANELLO, M. É. A., CERVI, A. C., ITO, I. Y., SALVADOR, M. J., WISNIEWSKI JR, A. & SIMIONATTO, E. L. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Eugenia chlorophylla* (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 1, p. 75-78, 2008.

SUCCI, M., TREMONTE, P., REALE, A., SORRENTINO, E., GRAZIA, L., PACIFICO, S. & COPPOLA, R. Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. **FEMS microbiology letters**, v. 244, n. 1, p. 129-137, 2005.

SUEZ, J., KOREM, T., ZEEVI, D., ZILBERMAN-SCHAPIRA, G., THAISS, C. A., MAZA, O. & KUPERMAN, Y. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. **Nature**, v. 514, n. 7521, p. 181-186, 2014.

SULTAN, R. S., SHAWKAT, M. S. & HADI, S. M. Antimicrobial, antibiofilm and antiplasmid activity of fruit peel extracts on bacterial dental caries. **Current Research in Microbiology and Biotechnology**, v. 5, n. 5, p. 1266-1272, 2017.

SUNNY-ROBERTS, E. O. & KNORR, D. Evaluation of the response of *Lactobacillus rhamnosus* VTT E-97800 to sucrose-induced osmotic stress. **Food microbiology**, v. 25, n. 1, p. 183-189, 2008.

TABASCO, R., GARCÍA-CAYUELA, T., PELÁEZ, C. & REQUENA, T. *Lactobacillus acidophilus* La-5 increases lactacin B production when it senses live target bacteria. **International journal of food microbiology**, v. 132, n. 2-3, p. 109-116, 2009.

TAKWA, S., CALEJA, C., BARREIRA, J. C., SOKOVIĆ, M., ACHOUR, L., BARROS, L. & FERREIRA, I. C. *Arbutus unedo* L. and *Ocimum basilicum* L. as sources of natural

preservatives for food industry: A case study using loaf bread. **LWT**, v. 88, p. 47-55, 2018.

TANHAEIAN, A., JAAFARI, M. R., AHMADI, F. S., VAKILI-GHARTAVOL, R. & SEKHAVATI, M. H. Secretory expression of a chimeric peptide in *Lactococcus lactis*: assessment of its cytotoxic activity and a deep view on its interaction with cell-surface glycosaminoglycans by molecular modeling. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 11, n. 3, p. 1034-1041, 2019.

TEIXEIRA, B., MARQUES, A., RAMOS, C., SERRANO, C., MATOS, O., NENG, N. R., NOGUEIRA, J. M. F., SARAIVA, J. A. & NUNES, M. L. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 11, p. 2707-2714, 2013.

TEPE, A. S. & OZASLAN, M. Anti-Alzheimer, anti-diabetic, skin-whitening, and antioxidant activities of the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum*. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112069, 2020.

THAMBI, M., TAVA, A., MOHANAKRISHNAN, M., SUBBURAJ, M., PRADEEPKUMAR, K. M. & SHAFI, P. M. Composition and antimicrobial activities of the essential oil from *Eugenia uniflora* L. leaves growing in India. **J Pharm Biomed Sci**, v. 4, p. 46-49, 2013.

THEILMANN, M. C., GOH, Y. J., NIELSEN, K. F., KLAENHAMMER, T. R., BARRANGOU, R. & ABOU HACHEM, M. *Lactobacillus acidophilus* metabolizes dietary plant glucosides and externalizes their bioactive phytochemicals. **MBio**, v. 8, n. 6, 2017.

TODOROV, S. D., BOTES, M., DANOVA, S. T. & DICKS, L. M. T. Probiotic properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* HV219, isolated from human vaginal secretions. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 3, p. 629-639, 2007.

TOMARO-DUCHESNEAU, C., JONES, M. L., SHAH, D., JAIN, P., SAHA, S. & PRAKASH, S. Cholesterol assimilation by *Lactobacillus* probiotic bacteria: an *in vitro* investigation. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

TURGIS, M., VU, K. D., MILLETTE, M., DUPONT, C. & LACROIX, M. Influence of environmental factors on bacteriocin production by human isolates of *Lactococcus lactis* MM19 and *Pediococcus acidilactici* MM33. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 8, n. 1, p. 53-59, 2016.

UNLU, M., ERGENE, E., UNLU, G. V., ZEYTINOGLU, H. S. & VURAL, N. Composition, antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). **Food and chemical toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3274-3280, 2010.

VAIDEKI, K., JAYAKUMAR, S., RAJENDRAN, R. & THILAGAVATHI, G. Investigation on the effect of RF air plasma and neem leaf extract treatment on the surface modification and antimicrobial activity of cotton fabric. **Applied surface science**, v. 254, n. 8, p. 2472-2478, 2008.

VÁZQUEZ-BRIONES, M. D. C., HERNÁNDEZ, L. R. & GUERRERO-BELTRÁN, J. Á. Physicochemical and antioxidant properties of *Cymbopogon citratus* essential oil. **Journal of food research**, v. 4, n. 3, p. 36, 2015.

VERA, S. S., ZAMBRANO, D. F., MÉNDEZ-SANCHEZ, S. C., RODRÍGUEZ-SANABRIA, F., STASHENKO, E. E. & LUNA, J. E. D. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology research**, v. 113, n. 7, p. 2647-2654, 2014.

VESALTALAB, Z., GHOLAMI, M. & ZAFARI, D. Clove buds (*Eugenia caryophyllata*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils effects on control of grapes graymold *in vitro*. **Annals of Biological Research**, v. 3, n. 5, p. 2447-2453, 2012.

VICTORIA, F. N., LENARDÃO, E. J., SAVEGNAGO, L., PERIN, G., JACOB, R. G., ALVES, D. & DA SILVA NASCENTE, P. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2668-2674, 2012.

VINDEROLA, C. G., COSTA, G. A., REGENHARDT, S. & REINHEIMER, J. A. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 7, p. 579-589, 2002.

VILAS BOAS, E. D. B., ALVES, R. E., FILGUEIRAS, H. A. C. & MENEZES, J. B. Características da fruta In: MATSUURA, F.C.A.U.; FOLEGATTI, I.S. **Banana: pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.71. 2001.

VINCKEN, J. P., HENG, L., DE GROOT, A. & GRUPPEN, H. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. **Phytochemistry**, v. 68, n. 3, p. 275-297, 2007.

VOS, P., GARRITY, G., JONES, D., KRIEG, N. R., LUDWIG, W., RAINEY, F. A. & WHITMAN, W. B. **The Firmicutes In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, vol. 3. Baltimore: Williams and Wilkins, 1450 p., 2009.

VU, H.T., SCARLETT, C.J. & VUONG, Q. V. Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 40, p. 238-248, 2018.

XIAO, J. Z., KONDO, S., TAKAHASHI, N., MIYAJI, K., OSHIDA, K., HIRAMATSU, A. & HOSONO, A. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 7, p. 2452-2461, 2003.

XIE, L., MO, M., JIA, H. X., LIANG, F., YUAN, J. & ZHU, J. Association between dietary nitrate and nitrite intake and site-specific cancer risk: evidence from observational studies. **Oncotarget**, v. 7, n. 35, p. 56915, 2016.

WAWASE, K. Y. F.; COELHO, G. L. V. & LUCHESE, R. H. Uso de conservadores ácido benzóico e benzoato de sódio no controle de *Alicyclobacillus acidoterrestris* em suco de laranja. **Rev Ciên Vida**, v. 28, n. 2, p. 53-62, 2008.

WILKINSON, M.G. Flow cytometry as a potential method of measuring bacterial viability in probiotic products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 100, n. 78, p. 1-10, 2018.

WITKOWSKA, A. M., HICKEY, D. K., ALONSO-GOMEZ, M. & WILKINSON, M. Evaluation of antimicrobial activities of commercial herb and spice extracts against selected food-borne bacteria. **Journal of Food Research**, v. 2, n. 4, p. 37, 2013.

WONG, C. B., ODAMAKI, T. & XIAO, J. Beneficial effects of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536 on human health: Modulation of gut microbiome as the principal action. **Journal of functional foods**, v. 54, p. 506-519, 2019.

YADAV, A. K., SINGH, S., DHYANI, D. & AHUJA, P. S. A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 91, n. 1, p. 1-27, 2011.

YEUNG, T. W., ÜÇÖK, E. F., TIANI, K. A., MCCLEMENTS, D. J. & SELA, D. A. Microencapsulation in alginate and chitosan microgels to enhance viability of *Bifidobacterium longum* for oral delivery. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 494, 2016.

YU, J., WANG, L. & BAO, L. Exploring the Active Compounds of Traditional Mongolian Medicine in Intervention of Novel Coronavirus (COVID-19) Based on Molecular Docking Method. **Journal of Functional Foods**, p. 104016, 2020.

YUN, S. M., JANG, J. H. & LEE, J. S. Isolation and identification of an antibacterial substance from sea mustard, *Undaria pinnatifida*, for *Streptococcus mutans*. **Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition**, v. 36, n. 2, p. 149-154, 2007.

ZAINOL, S. N., SAID, S. M., ABIDIN, Z. Z., AZIZAN, N., MAJID, F. A. A. & JANTAN, I. Synergistic benefit of *Eugenia caryophyllata* L. and *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oils against oral pathogenic bacteria. **Chemical Engineering Transactions**, v. 56, p. 1429-1434, 2017.

ZHENG, J., WITTOUCK, S., SALVETTI, E., FRANZ, C. M., HARRIS, H. M., MATTARELLI, P. & WATANABE, K. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2782-2858, 2020.

ZENGİN, N., YUZBASIOĞLU, D., UNAL, F., YILMAZ, S. & AKSOY, H. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 4, p. 763-769, 2011.

ZHANG, F., QIU, L., XU, X., LIU, Z., ZHAN, H., TAO, X. & WEI, H. Beneficial effects of probiotic cholesterol-lowering strain of *Enterococcus faecium* WEFA23 from infants on diet-induced metabolic syndrome in rats. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 3, p. 1618-1628, 2017.

ZHANG, S., XIONG, J., LOU, W., NING, Z., ZHANG, D. & YANG, J. Antimicrobial activity and action mechanism of triglycerol monolaurate on common foodborne pathogens. **Food control**, v. 98, p. 113-119, 2019.

ZHANG, Y., LIU, X., WANG, Y., JIANG, P. & QUEK, S. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Food Control**, v. 59, p. 282-289, 2016.

ZHAO, X. Z., JIN, Z. Q., YANG, Y., & ZHANG, G. W. Mechanism prediction analysis of an epidemic prevention sachet in preventing new coronavirus pneumonia. **Asian Toxicology Research**, v. 2, n. 2, p. 50-60, 2020.

8. ANEXO

Certidão SISGEN



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão
Cadastro nº A88615D

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **A88615D**
 Usuário: **UNICAMP**
 CPF/CNPJ: **46.068.425/0001-33**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Eugenia uniflora

Título da Atividade: **Efeito inibitório de conservantes, edulcorantes, óleos essenciais e extratos vegetais sobre bactérias probióticas.**

Equipe

Marta Cristina Teixeira Duarte	UNICAMP
Aline de Souza Lopes	CPQBA/UNICAMP
Adilson Sartoratto	CPQBA/UNICAMP

Data do Cadastro: **07/08/2018 11:12:52**
 Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **17:01** de **11/10/2018**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**