



SUSTENTABILIDADE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VANESSA BORDIN VIERA
NATIÉLI PIOVESAN
(ORGANIZADORAS)

 **Atena**
Editora

Ano 2020



SUSTENTABILIDADE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VANESSA BORDIN VIERA
NATIÉLI PIOVESAN
(ORGANIZADORAS)

 **Atena**
Editora

Ano 2020

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação: Karine de Lima

Edição de Arte: Lorena Prestes

Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Prof^a Dr^a Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^a Dr^a Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof^a Dr^a Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^a Dr^a Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof^a Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Prof^a Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Prof^a Dr^a Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof^a Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Prof^a Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof^a Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof^a Dr^a Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Prof^a Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof^a Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
S964	<p>Sustentabilidade em ciência e tecnologia de alimentos [recurso eletrônico] / Organizadoras Vanessa Bordin Viera, Natiéli Piovesan. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia. ISBN 978-65-5706-084-1 DOI 10.22533/at.ed.841200306</p> <p>1. Alimentos – Indústria. 2. Sustentabilidade. 3. Tecnologia de alimentos. I. Viera, Vanessa Bordin. II. Piovesan, Natiéli.</p> <p style="text-align: right;">CDD 664.07</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
 Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Para que se tenha o alimento posto à mesa, é necessária uma série de etapas em que se inicia com a produção do mesmo no campo, beneficiamento na indústria, distribuição e comercialização. A ciência e tecnologia de alimentos se faz presente em todas as etapas, buscando cada vez mais a sustentabilidade na produção desses alimentos.

A sustentabilidade está em destaque devido a crescente conscientização da população por um mundo mais saudável, em que todos buscam qualidade de vida, preservando o meio ambiente. Com isso, a sustentabilidade está cada vez mais presente nas indústrias alimentícias, adaptando-se a novos processos de produção, utilizando recursos de modo racional, usando tecnologias limpas nos processos tecnológicos, produzindo alimentos visando o melhor aproveitamento da matéria-prima e a redução de resíduos, preservando dessa maneira o meio ambiente.

Com uma temática tão importante o *e-book* “Sustentabilidade em Ciência e Tecnologia de Alimentos” traz 16 artigos científicos com assuntos atuais na área, visando disseminar o conhecimento e promover reflexões sobre os temas. Por fim, desejamos a todos uma excelente leitura!

Vanessa Bordin Viera e Natiéli Piovesan

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS APLICADOS EM ALIMENTOS	
Pâmela Alves Castilho	
Heloisa Dias Barbosa	
Bruno Henrique Figueiredo Saqueti	
Tamires Barlati Vieira da Silva	
Carla Kelly Santos Fioroto	
Anderson Lazzari	
DOI 10.22533/at.ed.8412003061	
CAPÍTULO 2	12
AVALIAÇÃO NÃO CONFORMIDADES ENCONTRADAS NA COMERCIALIZAÇÃO DE ALIMENTOS NAS FEIRAS LIVRES DE BELÉM – PA	
Hugo Augusto Mendonça Canelas	
Caio Vitor Cavalcante de Carvalho	
Erica Flávia Silva Azevedo	
Reinaldo Matangrano Neto	
Alessandra Souza Negrão	
Pricia Martins Silva de Carvalho	
Raimundo Nelson Souza da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.8412003062	
CAPÍTULO 3	25
AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE BIOLÓGICA <i>IN VITRO</i> DE PEPTÍDEOS OBTIDOS A PARTIR DO LEITE FERMENTADO POR GRÃOS DE KEFIR	
Karoline Mirella Soares de Souza	
Ana Lúcia Figueiredo Porto	
Meire Dos Santos Falcão de Lima	
Maria Taciana Holanda Cavalcanti	
DOI 10.22533/at.ed.8412003063	
CAPÍTULO 4	32
AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS CULTURA-INDEPENDENTES PARA IDENTIFICAÇÃO DE <i>Staphylococcus aureus</i> CAUSADOR DE MASTITE SUBCLÍNICA POR MALDI-TOF MS	
Manoela Franke	
Carlos Eduardo Fidelis	
Letícia Cassano Rodrigues de Abreu	
Marcos Veiga dos Santos	
Juliano Leonel Gonçalves	
DOI 10.22533/at.ed.8412003064	
CAPÍTULO 5	41
CAPSAICINA: DESENVOLVIMENTO DE UMA GELEIA FUNCIONAL E SUSTENTÁVEL	
Angela Cristina Mello Dos Santos	
Rochele Cassanta Rossi	
Mariana Alves Berni	
Nathalia Dias Costa	
Mariane Verpp	
DOI 10.22533/at.ed.8412003065	

CAPÍTULO 6	51
CARACTERIZAÇÃO DO “SAMBURÁ” DE ABELHAS SOCIAIS SEM FERRÃO (MELIPONINAE): REVISÃO Carla Miquez Souza Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva Andreia Santos do Nascimento Polyana Carneiro dos Santos Carlos Alfredo Lopes de Carvalho DOI 10.22533/at.ed.8412003066	
CAPÍTULO 7	63
CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL POR PERFIL LIVRE DO QUEIJO MINAS PADRÃO COM REDUZIDO TEOR DE SÓDIO Marly Sayuri Katsuda Valéria Barbosa Gomes de Santis Thaís Gentiluce dos Santos Jefferson Sussumu de Aguiar Hachiya Amanda Giazzi Jaqueline Marques Bonfim DOI 10.22533/at.ed.8412003067	
CAPÍTULO 8	74
DESENVOLVIMENTO DE QUIBE COM FIBRA DE CAJU (<i>ANACARDIUM OCCIDENTALE</i>) Renata Torres dos Santos e Santos Andressa de Oliveira Cerqueira Glaucia Pinto Bezerra Lamon Costa Oliveira Layne Alves Oliveira Guerra Lucimara Miranda Martins Milaine Ferreira da Silva Patricia da Silva Jesus Vinicius Souza Cordeiro Jean Márcia Oliveira Mascarenhas DOI 10.22533/at.ed.8412003068	
CAPÍTULO 9	87
EFEITO DA COADMINISTRAÇÃO DE TAMOXIFENO E QUERCETINA SOBRE A LIPOPEROXIDAÇÃO EM FIGADOS DE RATOS DA LINHAGEM WISTAR: ESTUDOS <i>IN VIVO</i> E <i>IN VITRO</i> Elouisa Bringhenti Fernanda Coleraus Silva Isabella Calvo Bramatti Carla Brugin Marek Ana Maria Itinose DOI 10.22533/at.ed.8412003069	
CAPÍTULO 10	99
ELABORAÇÃO DE <i>MUFFINS</i> UTILIZANDO FARINHA DE BAGAÇO DE UVA Luísa Oliveira Mendonça Antonio Manoel Maradini Filho Joel Camilo Souza Carneiro Raquel Vieira de Carvalho DOI 10.22533/at.ed.84120030610	

CAPÍTULO 11 117

GERAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS ALIMENTARES E SEUS IMPACTOS NA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE/PE

Maria do Rosário de Fátima Padilha
Vitória Brenda do Nascimento Souza
Nathália Santos Rocha
Neide Kazue Sakugawa Shinohara

DOI 10.22533/at.ed.84120030611

CAPÍTULO 12 133

INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO OSMÓTICO E DAS CONDIÇÕES DE SECAGEM SOBRE O TEOR DE COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO TOMATE

Rafaela da Silva Ladislau
Celso Martins Belisário
Geovana Rocha Plácido
Carlos Frederico de Souza Castro
Talles Gustavo Castro Rodrigues
Paulo César dos Santos

DOI 10.22533/at.ed.84120030612

CAPÍTULO 13 144

IRRADIAÇÃO NOS MORANGOS E OS BENEFÍCIOS DESTE PROCEDIMENTO USANDO EQUIPAMENTO DE RAIOS X

Gabriela Cabral Gaiofato
Emerson Canato Vieira

DOI 10.22533/at.ed.84120030613

CAPÍTULO 14 147

MANUAL DE BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO: AÇOUGUE

Iaquine Maria Castilho Bezerra

DOI 10.22533/at.ed.84120030614

CAPÍTULO 15 166

PREPARAÇÃO DA MASSA DE PÃO E SEUS PROCESSOS FERMENTATIVOS

Alessandra Vieira da Silva
Jamerson Fábio Silva Filho
Brendha Pires
Mara Lúcia Cruz de Souza
Amanda Rithieli Pereira dos Santos
Michelane Silva Santos Lima
Ana Paula Rodrigues da Silva
Maria Carolina Teixeira Silva
Jaberson Basílio de Melo
Renata de Oliveira Dourado

DOI 10.22533/at.ed.84120030615

CAPÍTULO 16 176

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE LEITE HUMANO PASTEURIZADO EM UM HOSPITAL DO OESTE DO PARANÁ

Fabiana André Falconi
Simone Pottemaier Philippi
Anelise Ludmila Vieckzorek

DOI 10.22533/at.ed.84120030616

SOBRE AS ORGANIZADORAS..... 183

ÍNDICE REMISSIVO 184

AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS CULTURA-INDEPENDENTES PARA IDENTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* CAUSADOR DE MASTITE SUBCLÍNICA POR MALDI-TOF MS

Data de submissão: 23/03/2020

Data de aceite: 28/05/2020

Manoela Franke

Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
Pirassununga – SP
<http://lattes.cnpq.br/3066673929300444>

Carlos Eduardo Fidelis

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Pirassununga – SP
<http://lattes.cnpq.br/0483631208012312>

Letícia Cassano Rodrigues de Abreu

Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
Pirassununga – SP
<http://lattes.cnpq.br/9023156023890501>

Marcos Veiga dos Santos

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Pirassununga – SP
<http://lattes.cnpq.br/8345833429933187>

Juliano Leonel Gonçalves

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Pirassununga – SP
<http://lattes.cnpq.br/6111258969235446>

RESUMO: A mastite subclínica é uma doença que ocasiona redução na produção do leite, devido à elevada contagem de células somáticas. Além disso, casos de MS estão associados com a deterioração da qualidade do leite, como por exemplo a diminuição da porcentagem de proteína verdadeira e lactose. A espectrometria de massas tem se mostrado uma boa alternativa para análises de identificação de bactérias mais rápidas nos laboratórios de diagnósticos de rotina. O estudo objetivou a avaliação de diferentes protocolos cultura-independentes (direto do leite) para identificação de *Staphylococcus aureus* causador de mastite subclínica por MALDI-TOF MS. Amostra composta de leite oriunda de caso de mastite subclínica (CCS > 200×10³cels/mL) e cultura positiva para *S. aureus* (CBT > 10 UFC/mL) foi selecionada para a avaliação dos protocolos de identificação por MALDI-TOF MS. Dez protocolos foram avaliados apresentando diferenças na etapa de disruptura celular. Brevemente, 400 µL de leite foram centrifugados por 1 min à 13000 rpm. O pellet foi ressuspendido em 200 µL de TE ou PBS e submetido a centrifugação, em seguida foi lavado e transferido para microtubo contendo beads de zircônia ou granada. O microtubo foi alocado em disruptor para extração das proteínas ribossomais bacterianas. Por fim, 1 µL do extrato foi aplicado no spot da placa MALDI-

TOF seguido da aplicação de 1 μL ácido fórmico 70% e 1 μL de matriz HCCA. A leitura da placa foi realizada de acordo com as especificações para identificação, e o processamento por meio do software MALDI Biotyper 4.1.70. A técnica possibilitou a identificação de *Staphylococcus aureus* direto de amostras de leite quando adotado protocolo de extração de proteínas ribossomais utilizando para lavagem da amostra solução de PBS, associado a disruptura celular. Portanto, comparado a metodologia convencional, é possível a obtenção de diagnóstico rápido (após 4 h) e confiável (escore >1.8), sem a necessidade de cultura microbiológica.

PALAVRAS-CHAVE: cultura-independente, qualidade, leite, espectrometria.

EVALUATION OF NON-CULTURE-BASED PROTOCOLS FOR IDENTIFICATION OF *Staphylococcus aureus* SUBCLINICAL MASTITIS-CAUSING BY MALDI-TOF MS

ABSTRACT: Mastitis is one of the most common diseases of dairy cattle. The majority of mastitis is of bacterial origin. Bacterial infections affect the yield of total milk and milk component causing severe economic losses. However, the identification of mastitis-causing bacteria by means of conventional microbiology can take from 2 to 7 days for the complete diagnosis at the species level. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) has been utilized as a rapid and precise identification. In this context, the current study aimed to compare ten non-culture-based protocols (direct from milk samples) for identification of *Staphylococcus aureus* by MALDI. A milk composite sample obtained from one subclinical mastitis case ($\text{CCS} > 200 \times 10^3 \text{ cels/mL}$) with culture-positive result for *Staphylococcus aureus* ($\text{CBT} > 10 \text{ UFC/mL}$) was selected. Briefly, 400 μL of milk were centrifuged. The pellet was resuspended and an extra centrifugation step was performed. After that, the pellet was washed and transferred to a microtube containing beads. Then, the microtube was allocated in a disruptor for extraction of bacterial ribosomal proteins and different aliquots (for the same sample) were subjected to different protocols. Lastly, 1 μL of the extract was applied to the MALDI plate, followed by the application of 1 μL of formic acid (70%) and 1 μL of HCCA matrix. The analysis was performed according to the standard specifications and the processing was done using the MALDI Biotyper 4.1.70 computer software adopting sepsityper mode with score > 1.8 for identification at the species level. It was possible to obtain identification of *Staphylococcus aureus* direct from milk samples when using the cell disruption protocol with 3 zirconium beads at 3,000 rpm for 2 cycles of 60s combined with MALDI-TOF MS. Besides, it is possible to obtain a reliable (score >1.8) and a rapid diagnose (after 4 h) in comparison with conventional microbiology.

KEYWORDS: non-culture-based, quality, milk, spectrometry.

1 | INTRODUÇÃO

A mastite subclínica (MS) é a doença em que não há alteração visível do leite e sinais clínicos da vaca. Entretanto, a MS ocasiona redução na produção de leite, devido à quebra das junções celulares do tecido epitelial onde o leite é produzido, como consequência da resposta imune (elevada contagem de células somáticas, CCS) frente ao patógeno causador da infecção (Halasa, 2007). A MS pode ser caracterizada como crônica quando apresenta persistência, em outras palavras, as vacas infectadas, por esta forma da doença, podem se comportar como fonte de infecção para o rebanho (cultura positiva e alta CCS mensais).

De acordo com Fagundes e Oliveira (2004), as perdas na produção leiteira no Brasil variam de 12 a 15%, além disso, rebanhos sem medidas preventivas apresentam de 38 a 71% das vacas infectadas. Por ser um patógeno de difícil tratamento, com resistência aos antibióticos, conseqüentemente o mais frequente em leite cru, estudos sobre métodos de prevenção e diagnóstico de *Staphylococcus aureus* são muito importantes. Vale ressaltar, que além das altas taxas de contaminação, as infecções intramamárias causadas por *S. aureus* tem impactos negativos, não apenas nos rebanhos, mas também devem ser consideradas problemas de saúde pública, quando algumas cepas do patógeno produzem toxinas, mesmo que a simples existência não implique na produção de toxinas, quando produzidas podem permanecer estáveis no leite e derivados oferecidos aos consumidores.

Sendo assim, análises microbiológicas são indispensáveis por possibilitarem a adoção de medidas específicas de controle e tratamento, como exemplo a implementação de programas de monitoramento da mastite no rebanho (Bueno, 2003). Alguns estudos sugerem a coleta de amostras de leite de vacas com MS, utilizando o ponto de corte de CCS > 200.000 células/mL (Bueno, 2003, Ceballos-Marquez et al., 2013). Isto tem sido recomendado, uma vez que vacas com CCS menor que o ponto de corte supracitado apresentam menor chance de estarem infectadas (Martins et al., 2017). A cultura microbiológica associada aos dados de CCS, por meio do ponto de corte previamente citado, possibilita diagnosticar 80% dos casos de mastite corretamente (Ceballos-Marquez et al., 2013).

A espectrometria de massas de ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDITOF-MS) tem sido considerada uma tecnologia de sucesso devido ao uso simples, confiável e com consumíveis de baixo custo (Goulart; Resende, 2013). A técnica consiste na mistura da matriz (HCCA) com proteínas ribossomais oriundas de amostras alvo, sendo esta aplicada sobre uma placa de metal condutora. Após, no espectro de massas, recebe breves pulsos de laser. Assim, as substâncias da amostra formam espectros de massa, de acordo com a razão massa/carga. Para a identificação, os espectros bacterianos são comparados com um banco de dados que contém as “impressões digitais” de diversas bactérias (Croxatto; Prodhom; Greub, 2012).

Atualmente, o acompanhamento mensal da CCS é algo que tem sido aplicado na rotina dos rebanhos brasileiros, o que possibilitaria, em associação com resultados da cultura bacteriana, o diagnóstico de casos de MS crônica. A demora no diagnóstico dos patógenos causadores de infecção intramamária pela cultura impacta negativamente a tomada de

decisão do produtor, o que pode levar ao uso de antibióticos não específicos. Diante disso, o presente estudo tem como proposta a avaliação de protocolos cultura-independentes para identificação de patógenos causadores de mastite subclínica crônica, por MALDI-TOF MS.

2 | METODOLOGIA

Foram utilizadas amostras de leite do Laboratório de pesquisa em qualidade do leite (QualiLeite), Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VNP-FMVZ/USP). Para padronização dos resultados, foram selecionadas apenas amostras compostas de leite oriunda de caso de mastite subclínica ($CCS > 200 \times 10^3 \text{cels/mL}$), que apresentaram cultura positiva para *Staphylococcus aureus* com contagem bacteriana total CBT $> 10 \text{ UFC/mL}$.

Para o procedimento de isolamento e identificação de patógenos causadores de mastite, realizou-se a metodologia recomendada pelo Conselho de Mastite dos Estados Unidos (National Mastitis Council, 2017). As amostras de leite foram degeladas em temperatura ambiente. De cada amostra de leite, foram estriados 0,1 mL em $\frac{1}{2}$ de placa de ágar sangue com 5% de sangue bovino desfibrinado. As placas foram incubadas em estufa à 37°C por 24h, e após incubação foram feitas leituras das unidades formadoras de colônias. Foram feitas análises de espectrometria de massas por MALDI-TOF das colônias isoladas, com o intuito de garantir que as amostras de leite utilizadas apresentassem apenas um microrganismo (colônia pura) (Oliver et al., 2004).

Foram testados 10 protocolos de extração de proteínas ribossomais direto de amostras de leite. O protocolo inicial teve como base as recomendações de Barreiro et al. (2004). Brevemente, alíquotas de 1 mL de leite com 200 μL de solução tampão salino fosfato foram centrifugadas por 2 minutos a 13000 rpm. Após a centrifugação descartou-se o sobrenadante e adicionou-se 1 mL de água mili-Q e 200 μL de solução tampão salino fosfato. Centrifugou-se a amostra novamente por 2 min a 13000 rpm. O sobrenadante foi descartado por inversão de tudo e o excesso retirado com auxílio de micropipeta. O *pellet* formado foi ressuspendido em 1 mL de solução tampão salino fosfato, uma terceira etapa de centrifugação por 2 minutos a 13000 rpm foi realizada, sendo o sobrenadante descartado e apenas o pellet mantido no tubo. Deixou-se secar por 5 minutos a temperatura ambiente. Após o período de secagem, foi adicionado uma solução de 30 μL contendo ácido fórmico a 70% de modo com que cobrisse totalmente o pellet. Em seguida, foi adicionado 30 μL de acetonitrila 100%. Ao final, foi feita uma centrifugação para separação dos sedimentos bacterianos do sobrenadante, contendo as proteínas ribossomais. Após as etapas de extração de proteínas, 1 μL do extrato bacteriano (sobrenadante) foi aplicado em uma placa contendo 96 poços. Após a secagem a temperatura ambiente, foi acrescido 1 μL de solução matriz composta de ácido alfa-ciano-4-hidroxi-cinâmico (HCCA).

Para os protocolos P2 a P10, foi adicionada uma etapa de disruptura celular para extração de proteínas ribossomais. Quando comparado ao protocolo P1, foi alterado o volume

da alíquota de leite utilizada de 1 mL para 400 μ L, as etapas de centrifugação foram 1 min a 13000 rpm e o ácido fórmico (70%) foi adicionado após a aplicação do extrato bacteriano na placa. Nos protocolos P2 a P5 a etapa de disrupção foi realizada por 10 ciclos de 60s à 4000 rpm, foram avaliadas alterações entre as soluções de lavagem e as beads utilizadas, sendo elas: (P2) solução de Tris-EDTA (TE) e beads de granada; (P3) solução de TE e beads de zircônia; (P4) solução fosfato salina (PBS) e beads de granada; (P5) solução de PBS e beads de zircônia. Nos protocolos P6 a P10, com base em análises prévias, foi padronizada a lavagem com solução de PBS e foram realizadas alterações nas condições de disrupção celular, de acordo: (P6) 2 beads de zircônia por 4 ciclos de 60s a 4000 rpm para disrupção celular; (P7) 2 beads de zircônia por 3 ciclos de 60s a 4000 rpm; (P8) 3 beads de zircônia por 3 ciclos de 60 s a 4000 rpm; (P9) 3 beads de zircônia por 3 ciclos de 60s a 3000 rpm; (P10) 3 beads de zircônia por 2 ciclos de 60s a 3000 rpm. As diferenças entre os protocolos foram organizadas na Figura 1.

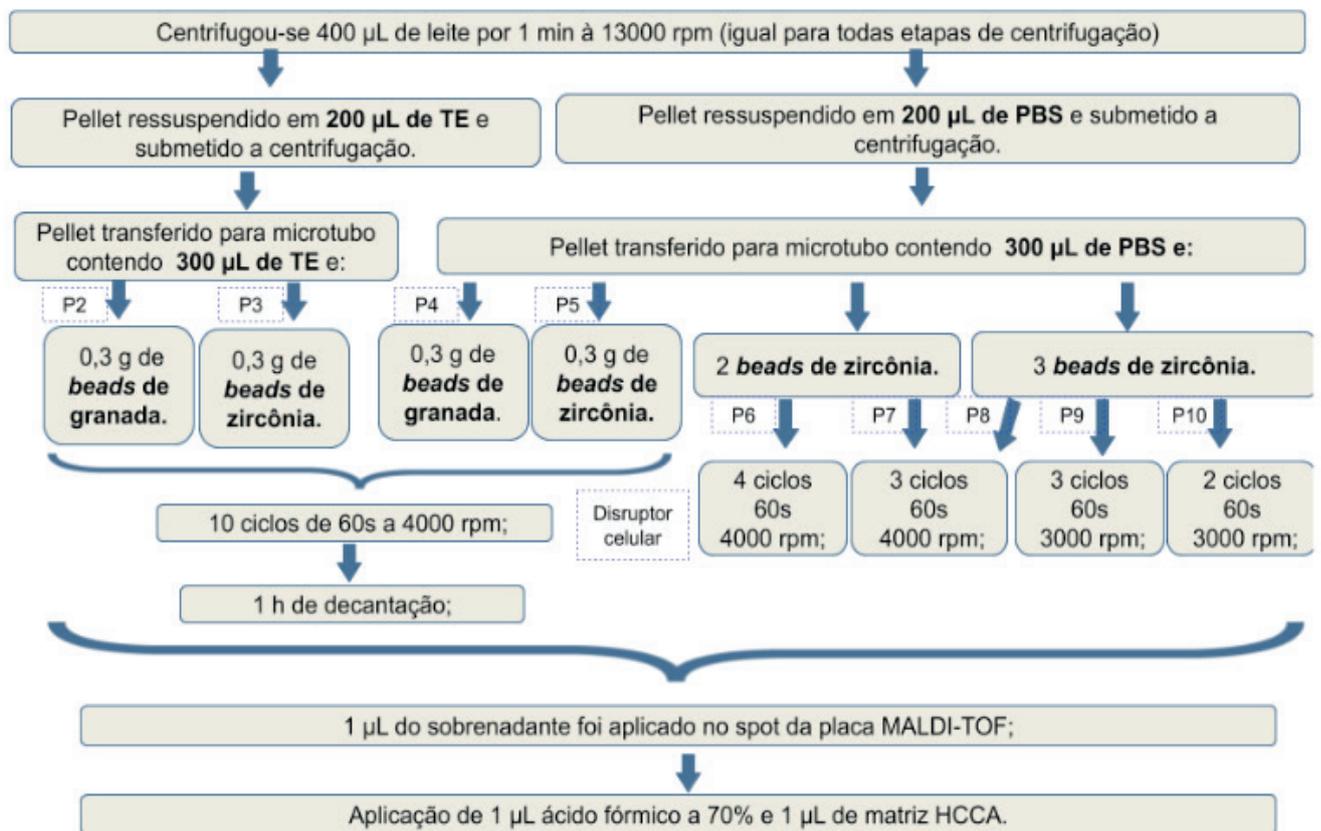


Figura 1. Exemplificação dos protocolos P2 à P10

Para obtenção de espectros de todos os protocolos utilizou-se um espectrômetro de massas Microflex (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Os espectros foram compostos por picos proteicos, sendo utilizado faixa de massa de 2.000 a 20.000 Daltons. Os espectros foram obtidos na função sepsityper e comparados com os dados da biblioteca de referência MALDI Byotiper (MBT, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Os resultados da identificação bacteriana foram gerados pelo software MBT 4.1.7 contendo 7311 entradas, em que resultados com escore $\geq 1,6$ foram considerados confiáveis para a identificação do gênero,

e os escores $\geq 1,8$ foram considerados confiáveis para identificação de gênero e espécie.

3 | RESULTADOS

Não foi possível capturar espectros oriundos da extração de amostras de leite submetidas ao protocolo P1. Após análises similares, Barreiro et al. (2017) obtiveram espectros para esse protocolo adicionando períodos de incubação, elevando a quantidade de colônias na amostra, porém estes pesquisadores citam a dificuldade de avaliar esses resultados em amostras de leite provenientes de mastite, podendo haver ampliação dos ruídos do leite. Zimmermann (2015) sugere que isso se deve ao fato de a parede celular bacteriana ter sido mantida intacta, não ocorrendo; portanto, extração das proteínas ribossomais bacterianas.

Os espectros foram obtidos por função manual, em que é possível selecionar o local de atuação do laser e selecionar os espectros a serem avaliados. Nessa função, os resultados são considerados confiáveis para gênero e espécie quando os escores >2 . Apenas os protocolos associados a lavagem com PBS, contendo beads de zircônio ou beads de granada (P4 e P5) apresentaram escore >2 (Figura 2). Foi escolhido o protocolo baseado no uso de PBS em associação com beads de zircônio para as demais análises, pois o protocolo baseado no uso de beads de granada demanda maior tempo devido a necessidade de etapa de decantação das amostras.

Os resultados obtidos pelos protocolos P6, P7, P8, P9 e P10, sugeriram a captação de espectros “limpos” (sem muito ruído). Consequentemente, foram obtidos com o uso destes últimos protocolos avaliados, mais picos de massa em comparação aos protocolos anteriores. Todos apresentaram resultados de identificação para o gênero *Staphylococcus* spp. Apenas os protocolos P7 e P10 tiveram resultado de identificação para *Staphylococcus aureus* com confirmação da espécie. Entretanto, somente o protocolo P24 obteve resultado confiável (escore >1.8) (Figura 3).

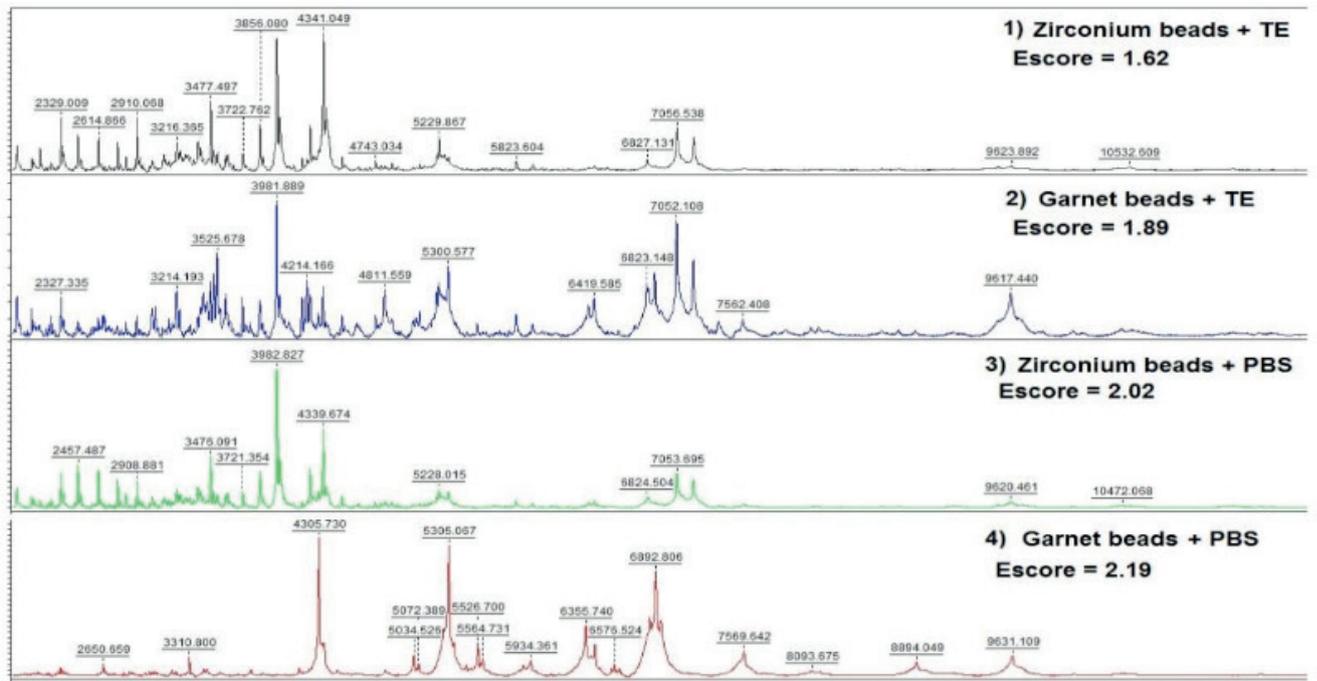


Figura 2. Espectros de massa obtidos pelos protocolos 1) P3; 2) P2; 3) P5 e 4) P4.

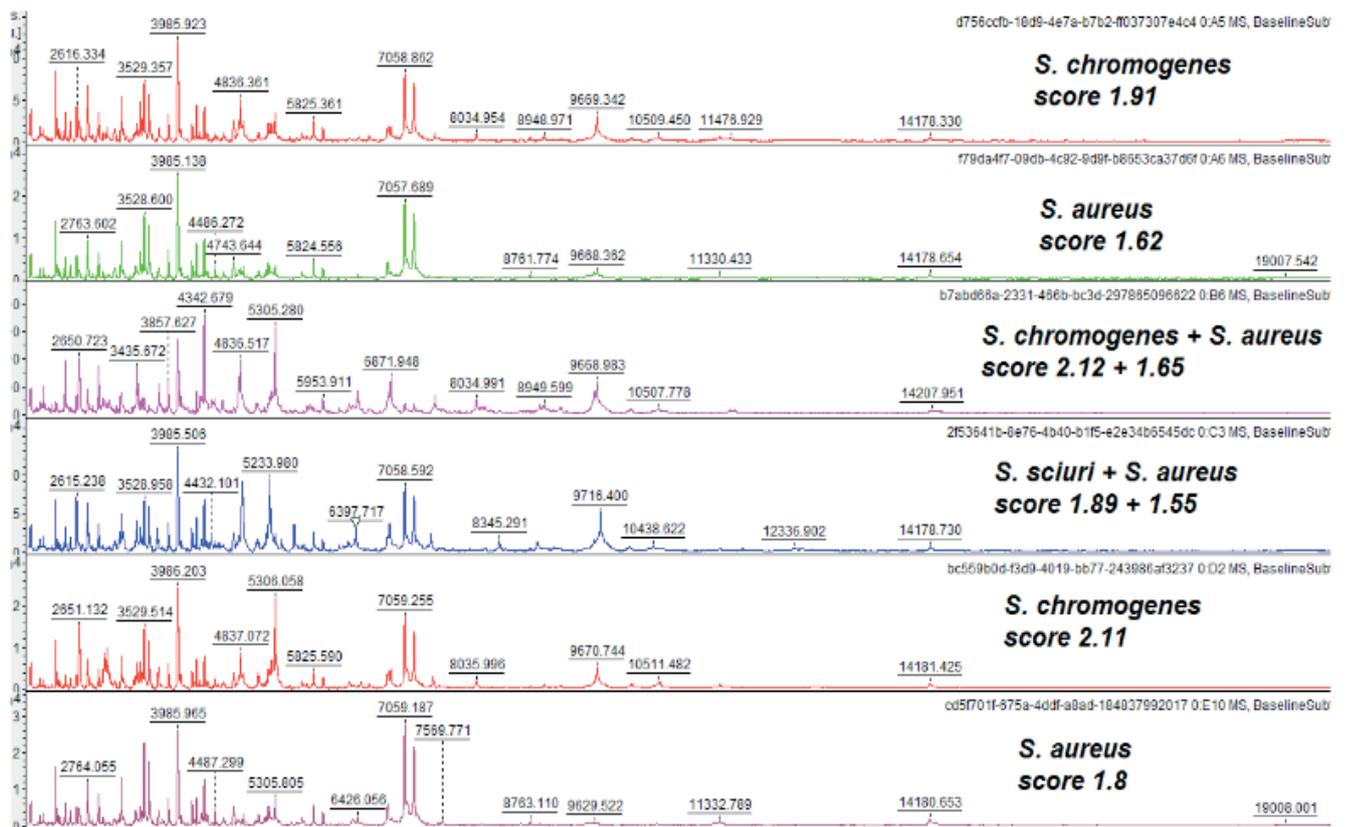


Figura 3. Espectros de massa obtidos pelos protocolos P6, P7, P8, P9, P10, respectivamente.

4 | CONCLUSÃO

A técnica de espectrometria de massas por MALDI-TOF possibilita a identificação de *Staphylococcus aureus* direto de amostras de leite quando adotado protocolo de extração de proteínas ribossomais, utilizando PBS para lavagem da amostra associado a ruptura celular com 3 beads de zircônia, por 2 ciclos de 60s a 3000 rpm. Portanto, comparado a metodologia convencional, é possível a obtenção de diagnóstico rápido (após 4 h) e confiável (escore >1.8), sem a necessidade de cultura microbiológica. Para dar prosseguimento, são recomendados estudos complementares para avaliação da repetibilidade em escala laboratorial e aplicação do protocolo a amostras de leite com diferentes patógenos.

REFERÊNCIAS

- BARREIRO, J.r.; FERREIRA, C.r.; SANVIDO, G.b.; KOSTRZEWA, M.; MAIER, T.; WEGEMANN, B.; BÖTTCHER, V.; EBERLIN, M.n.; SANTOS, M.v. dos. Short communication: **Identification of subclinical cow mastitis pathogens in milk by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry**. Journal Of Dairy Science, [s.l.], v. 93, n. 12, p.5661-5667, dez. 2010. American Dairy Science Association. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3614>.
- BARREIRO, Juliana Regina; GONÇALVES, Juliano Leonel; BRAGA, Patrícia Aparecida Campos; DIBBERN, Aline Gerato; EBERLIN, Marcos Nogueira; SANTOS, Marcos Veiga dos. **Non-culture-based identification of mastitis-causing bacteria by MALDI-TOF mass spectrometry**. Journal Of Dairy Science, [s.l.], v. 100, n. 4, p.2928-2934, abr. 2017. American Dairy Science Association. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11741>.
- CEBALLOS-MARQUEZ, A.; HEMLING T.; RAUCH B.J.; LOPEZ-BENAVIDES M.;SCHUKKEN Y. H. (2013). **Noninferiority trial on the efficacy of premilking teat disinfectant against naturally occurring new intramammary infections using a novel 2-step diagnostic process**. Journal of Dairy Science. 96:8081–8092.
- CROXATTO, Antony; PROD'HOM, Guy; GREUB, Gilbert. **Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology**. Fems Microbiology Reviews, [s.l.], v. 36, n. 2, p.380-407, mar. 2012. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>.
- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F.; **Infecções intramamárias causadas por Staphylococcus aureus e suas implicações em paúde pública**. Cienc. Rural, v 34 (4), p. 1315-1320, jul.-ago. 2004. LILACS.
- GOULART, V.A.M; RESENDE, R.R. (2004). **MALDI-TOF: uma ferramenta revolucionária para as análises clínicas e pesquisa do câncer**. Nanocell News, [s.l.], v. 1, n. Instituto Nanocell. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.15729/nanocellnews.2013.11.21.001>. Acesso em: 28 mar. 2019.
- HALASA, T.; HUIJPS, K.; ØSTERÅS, O.; HOGVEEN, H.. **Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review**. Veterinary Quarterly, [s.l.], v. 29, n. 1, p.18-31, jan. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01652176.2007.9695224>.
- MARTINS, C. M. M. R., PINHEIRO, E. S. C., GENTILINI, M., BENAVIDES, M. L., & SANTOS, M. V. (2017). **Efficacy of a high free iodine barrier teat disinfectant for the prevention of naturally occurring new intramammary infections and clinical mastitis in dairy cows**. Journal of Dairy Science, 100(5), 3930–3939.
- National Mastitis Council (NMC) 2017 **Laboratory Handbook on Bovine Mastitis**. Wisconsin, USA: NMC 148p
- OLIVER, S.P.O., GONZÁLEZ, R.N., HOGAN, J.S., JAYARAO, B.M., OWENS, W.E. **Microbiological**

Procedures for the Diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. In: A Global Organization for Mastitis Control and Milk Quality. National Mastitis Council Inc. (4th edition), 2004, WI, pp. 1-40, 44-46.

Zimmermann, Stefan. (2015). MALDI-TOF. In: POPP, Jürgen; BAUER, Michael. **Modern Techniques for Pathogen Detection.** Wheinheim, Alemanha: Wiley Blackwell. Cap. 5. p. 221-252.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Alimento funcional 42, 52, 62

Alimentos 6, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 32, 41, 42, 43, 44, 45, 47, 49, 54, 56, 57, 59, 60, 61, 62, 63, 72, 73, 76, 79, 85, 86, 99, 101, 102, 107, 108, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 126, 128, 131, 132, 133, 134, 135, 139, 142, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 153, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 172, 175, 177, 180, 181, 182, 183

Alimentos funcionais 1, 26, 49, 54

Análise sensorial 4, 66, 69, 71, 72, 75, 78, 79, 82, 86, 99, 101, 104, 112, 115, 183

Antioxidante 4, 5, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 43, 47, 49, 50, 54, 85, 87, 89, 95, 115, 133, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142

Apidae 51, 52, 59, 60, 61, 62

Aplicações em Alimentos 1

B

Belém 12, 13, 14, 15, 23, 24, 182

Benefício 144

Beta caroteno 134, 140

C

Caju 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86

Capsaicina 41, 42, 43, 46, 47, 49

Característica físico-química 64

Clean label 41, 42, 43, 46, 49

Compostos naturais 1, 8

Consumo 2, 4, 8, 19, 41, 45, 46, 49, 52, 54, 55, 56, 76, 80, 81, 85, 86, 100, 101, 117, 118, 119, 120, 121, 127, 130, 131, 134, 135, 139, 151, 176, 178, 179, 180, 181

Contaminação 6, 14, 17, 19, 21, 22, 24, 34, 56, 57, 60, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 156, 157, 159, 160, 161, 162, 164, 179, 180, 181, 182

Cultura-independente 33

D

Desperdício de alimentos 117, 118, 119, 120

Digestão in vitro 25, 26, 27, 28, 29

E

Espectrometria 32, 33, 34, 35, 39, 116

Estresse oxidativo 87, 89, 94, 95

F

Farinha de resíduos de frutas 99

Farinha de trigo 75, 77, 78, 99, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 111, 113, 114, 166, 167, 168, 169, 170, 172

Feira livre 13, 23, 24

Fermentação 25, 26, 27, 53, 153, 166, 168, 172, 173, 174, 178

Fibra 55, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 99, 103, 107

Flavonóides 87, 101

H

Higiênico sanitária 13

I

Impacto ambiental 6, 42, 113, 118

L

Leite 8, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 65, 67, 68, 73, 103, 142, 154, 166, 167, 169, 170, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182

Leite humano 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182

Licopeno 47, 49, 50, 134, 135, 136, 137, 139, 140, 141

M

Maillard 166, 167, 168, 172, 173, 174, 175

Meia cura 64

Meliponíneos 51, 52

Microbiológica 5, 23, 28, 33, 34, 39, 56, 58, 60, 61, 62, 64, 66, 71, 86, 161, 162, 176, 178, 180, 181, 182

Morangos 5, 6, 144, 145

N

Não conformidades 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20

P

Perfil livre 63, 64, 66, 73

Pólen armazenado 51, 52, 53, 55, 58

Processamento 23, 33, 49, 56, 57, 67, 75, 76, 77, 99, 101, 102, 105, 106, 133, 134, 140, 142, 149, 151, 153, 158, 166, 168, 174, 178, 181

Processamento de alimentos 57, 133, 134, 151

Produtos panificados 99, 101

Proteína 32, 45, 51, 54, 58, 63, 65, 71, 77, 90, 91, 103, 106, 107, 172

Q

Queijo macio 64

R

Radiação 144, 145

Resíduos orgânicos 118, 119, 131

S

Secagem 35, 54, 65, 101, 102, 104, 106, 133, 134, 135, 138, 139, 141, 142

SERM 87, 88, 96

Solanum lycopersicum 134

Subproduto 85, 99, 101, 106

Substituição parcial 64, 99, 101

Sustentabilidade 23, 41, 42, 43, 45, 49, 50, 114, 132

T

Tabela nutricional 45, 47, 75, 79, 81

 **Atena**
Editora

2 0 2 0