

2º Simpósio INIAV para a Segurança Alimentar

“Sistemas Alimentares Sustentáveis e Seguros”

**27** novembro  
de 2024  
Auditório Municipal  
de Vila do Conde



Livro de  
Resumos

A segunda edição do **Simpósio INIAV para a Segurança Alimentar (SAlimentar 2024)**, realizada no Auditório Municipal de Vila do Conde no dia 27 de novembro de 2024, reuniu especialistas, investigadores, representantes do setor empresarial e instituições de investigação e académicas para debater temas muito relevante da nossa atualidade: **"Sistemas Alimentares Sustentáveis e Seguros"**. Organizado pelo Polo de Vairão do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. (INIAV), enquanto Laboratório Nacional de Referência para a Segurança Alimentar, este evento consolidou-se como um espaço essencial para a partilha de conhecimento e de reflexão sobre os desafios da Segurança Alimentar.

Num contexto em que a qualidade, a sustentabilidade e a segurança dos alimentos assumem um papel cada vez mais central nas escolhas dos consumidores e nas políticas públicas, este simpósio abordou três grandes temáticas fundamentais:

1. **Promoção da Alimentação Saudável:** Discutiram-se os desafios de conjugar modernidade e tradição na promoção de uma alimentação segura e equilibrada, destacando o papel dos laboratórios de referência na garantia da segurança dos nossos alimentos.
2. **Valorização de Subprodutos da Indústria Alimentar:** Foi enfatizada a necessidade de desenvolver novos ingredientes e produtos finais saudáveis e sustentáveis, reduzindo o desperdício alimentar e promovendo uma economia circular no setor agroalimentar.
3. **Estratégias Inovadoras de Biocontrolo:** Foram apresentadas soluções científicas inovadoras para reduzir a dependência de agentes químicos sintéticos, promovendo uma produção alimentar mais sustentável e amiga do ambiente.

A interação entre diferentes setores e entidades do sistema alimentar revelou-se essencial para enfrentar os desafios da segurança alimentar e da sustentabilidade, reforçando a necessidade de colaboração entre instituições de investigação, empresas e organismos reguladores.

O presente livro de resumos reflete a diversidade das contribuições apresentadas ao longo do simpósio, destacando o compromisso da comunidade científica e profissional com o desenvolvimento de soluções inovadoras para um sistema alimentar mais seguro e sustentável. Acreditamos que este simpósio tenha sido um passo importante para a construção de um futuro alimentar mais responsável e resiliente, e esperamos que as discussões aqui registadas possam servir de inspiração e base para futuras iniciativas na área.

A comissão organizadora do SAlimentar 2024

## PATROCÍNIOS/SPONSORSHIPS

### OURO



### PRATA



### BRONZE



## Parceiros na Comunicação



TECNOLOGIA  
INOVAÇÃO  
QUALIDADE

Autores: Andreia Freitas, Carina Almeida, Gonçalo Almeida

Edição: Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.)

E-mail: [salimentar@iniav.pt](mailto:salimentar@iniav.pt)

Telefone/Phone: (+351) 252 660 600

Esta publicação reúne os resumos das comunicações apresentadas no 2º Simpósio INIAV para a Segurança Alimentar. Todos os resumos das comunicações orais e em formato painel foram avaliadas pela Comissão Científica do Encontro.



## COMISSÃO ORGANIZADORA

- Ana Teresa Sanches Silva
- Andreia Freitas
- Carina Almeida
- Cristiana Mendes
- Daniela Araújo
- Gonçalo Almeida
- Hugo Guedes
- Joana Castro
- Marta Leite
- Ricardo Oliveira
- Sílvia Barros
- Teresa Nogueira

## COMISSÃO CIENTÍFICA

- Ana Teresa Sanches Silva (FF-UC)
- Andreia Freitas (INIAV)
- Carina Almeida (INIAV)
- Carla Brites (INIAV)
- Gonçalo Almeida (INIAV)
- Hugo Oliveira (UM)
- Alexandra Bento (INSA)
- Ana Luísa Fernando (UNL)
- Beatriz Oliveira (FF-UP)
- Cristina Delerue-Matos (ISEP/IPP)
- Fernando Ramos (FF-UC)
- Isabel Afonso (ESA-IPVC)
- José Teixeira (UM)
- Maria Aires Pereira (IPViseu)
- Maria José Saavedra (UTAD)
- Manuel Coimbra (UA)
- Miguel Cerqueira (INL)
- Nuno Azevedo (FEUP)
- Paula Teixeira (UCP)
- Sónia Silva (UM)
- Susana Bernardino (IPL)

## SECRETARIADO

- Mónica Oliveira

# PROGRAMA

|                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 8:30 – 9:30                                                          | <b>Registo e afixação de posters</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 9:30 – 10:00                                                         | <b>Sessão de Abertura</b><br><b>Nuno Canada</b> - Presidente do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária<br><b>Dália Vieira</b> - Vereadora da Camara Municipal de Vila do Conde<br><b>Amândio Santos</b> - Presidente da PortugalFoods<br><b>Pedro Graça</b> - Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto |
| <b>SESSÃO 1: Rumo à promoção da Alimentação Saudável</b>             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 10:00 – 10:30                                                        | <b>O caminho para a alimentação saudável junta tradição e modernidade – como chegar lá?</b><br><b>Pedro Graça</b> - Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto                                                                                                                                                             |
| 10:30 – 11:00                                                        | <b>The role and significance of reference laboratories in ensuring and promoting food Safety</b><br><b>Adrien Assere</b> - Anses Laboratory for Food Safety, European Union Reference Laboratory (França)                                                                                                                                                |
| 11:00 – 11:30                                                        | <b>Coffe Break</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>SESSÃO 2: Valorização dos sub-produtos da Indústria Alimentar</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 11:30 – 12:00                                                        | <b>Oportunidades e desafios da utilização de polissacarídeos resultantes de sub-produtos da Indústria Alimentar</b><br><b>Manuel Coimbra</b> - Universidade de Aveiro                                                                                                                                                                                    |
| 12:00 – 12:30                                                        | <b>Será o bagaço de azeitona um bom exemplo de/para upcycling?</b><br><b>Beatriz Oliveira</b> - Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Apresentações flash</b>                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 12:30 – 12:50                                                        | <b>Tópico: Rumo à promoção da Alimentação Saudável</b><br>Daniel Lemos (REQUIMTE/FFUP): <b>Composição nutricional e perfil de ácidos gordos de Gryllus assimilis como fonte alimentar alternativa</b>                                                                                                                                                    |
|                                                                      | <b>Tópico: Valorização dos sub-produtos da Indústria Alimentar e potenciais riscos</b><br>Diana Melo Ferreira (REQUIMTE/FFUP): <b>Wild fermentation of olive pomace - effect on macronutrients, energy values and vitamin E</b>                                                                                                                          |
|                                                                      | <b>Tópico: Estratégias Inovadoras de Biocontrolo</b><br>Beatriz Silva (UCP): <b>Modified atmosphere packaging for poultry meat: impact on microbiota and odour characteristics</b>                                                                                                                                                                       |
| 12:50 – 14:45                                                        | <b>Almoço &amp; Networking</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>APRESENTAÇÕES DE PATROCINADORES</b>                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 14:15 – 14:25                                                        | <b>Testing Environmental Sponge samples for Next-Day species results</b><br><b>Victoria Moleiro</b> - BioRad                                                                                                                                                                                                                                             |
| 14:25 – 14:40                                                        | <b>A Bioluminescência na contaminação por leveduras</b><br><b>Inês Oliveira</b> - Ambifood                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 14:40 – 14:50                                                        | <b>Food security, trends, and new challenges</b><br><b>Julio Amador Sanchez</b> - Izaza Scientific                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 14:50 – 15:00                                                        | <b>Simplify your workflow: Salmonella PCR testing in under 10 hours</b><br><b>Josué Carvalho</b> – Invitek Diagnostics                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>SESSÃO 3: Estratégias Inovadoras de Biocontrolo</b>               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 15:00 – 15:30                                                        | <b>Desafios e Inovações no Biocontrolo Microbiano</b><br><b>Paula Teixeira</b> – UCP                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 15:30 – 15:50                                                        | <b>Estratégias de Controle Biológico Pós-Colheita para Preservação da Qualidade do Arroz</b><br><b>Carla Brites</b> – INIAV                                                                                                                                                                                                                              |
| 15:50 – 16:10                                                        | <b>A segurança alimentar começa no campo: a nossa contribuição</b><br><b>Teresa Crespo</b> – IBET                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 16:10 – 16:30                                                        | <b>Coffe Break</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 16:30 – 16:50                                                        | <b>Active packaging as a strategy to maintain food quality</b><br><b>Miguel Cerqueira</b> – INL                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 16:50 – 17:10                                                        | <b>Uso de bacteriófagos como alternativa para o biocontrolo do fogo bacteriano</b><br><b>Hugo Oliveira</b> – UM                                                                                                                                                                                                                                          |
| 17:10 – 17:30                                                        | <b>Sessão de Entrega de Prémios e Encerramento</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

2º Simpósio INIAV para a Segurança Alimentar

“Sistemas Alimentares Sustentáveis e Seguros”

**27** novembro  
de 2024  
Auditório Municipal  
de Vila do Conde



Livro de  
Resumos



Comunicações Orais

# THE ROLE AND SIGNIFICANCE OF REFERENCE LABORATORIES IN ENSURING AND PROMOTING FOOD SAFETY

Adrien Assere

*Anses Laboratory for Food Safety, European Union Reference Laboratory (França)*

A apresentação destaca o papel crucial dos laboratórios de referência na garantia da segurança alimentar na União Europeia. Principais pontos incluem:

Quadro de Segurança Alimentar da UE:

- Baseado na abordagem "Do Prado ao Prato", com supervisão da DG SANTE, EFSA e ECDC, garantindo segurança em toda a cadeia alimentar.
- Priorização da avaliação de riscos, monitoramento de doenças e gestão coordenada de crises.

Papel dos Laboratórios de Referência:

- **Laboratórios de Referência da UE (EURLs):** Desenvolvem testes padronizados, treinam os Laboratórios de Referência Nacionais (NRLs) e abordam os riscos à segurança alimentar.
- **Laboratórios de Referência Nacionais (NRLs):** Implementam padrões da UE, validam métodos analíticos e apoiam investigações de surtos.

Principais Contribuições:

- Promovem padrões harmonizados de segurança alimentar nos Estados-Membros.
- Permitem respostas rápidas a crises, aumentando a confiança dos consumidores.
- Focam no monitoramento de patógenos como *Listeria monocytogenes* e no avanço de tecnologias como o Sequenciamento de Genoma Completo.

Os laboratórios de referência são indispensáveis para manter altos padrões de segurança alimentar, fomentar a colaboração e utilizar a expertise científica para um sistema alimentar mais seguro.

# **OPORTUNIDADES E DESAFIOS DA UTILIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS RESULTANTES DE SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA ALIMENTAR**

Manuel A. Coimbra

*LAQV-REQUIMTE, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro*

O desenvolvimento de novas metodologias de análise de carboidratos tem permitido revisitar as estruturas dos polissacarídeos, contribuindo para um melhor conhecimento destes compostos. A colaboração estreita entre a academia e a indústria tem permitido o desenvolvimento de novos ingredientes alimentares, formulações e tecnologias que resultam em alimentos processados saudáveis, saborosos, económicos e apelativos. Nesta apresentação serão dados exemplos de colaboração com a indústria para a utilização de polissacarídeos em novas formulações alimentares, incluindo bolachas, vinho, vinagre, peixe, preparados lácteos, maionese, produtos fermentados e snacks, contribuindo para o desenvolvimento de sistemas alimentares mais sustentáveis e seguros. Para isso, revisitam-se as estruturas e a aplicação de polissacarídeos pécicos, quitosana, amido, inulina e fruto-oligossacarídeos, manoproteínas, beta-glucanas, arabinogalactanas e arabinoxilanas.

## **Agradecimentos:**

O autor agradece o financiamento da FCT ao LAQV-REQUIMTE através dos projetos LA/P/0008/2020 DOI 10.54499/LA/P/0008/2020, UIDB/50006/2020 DOI 10.54499/UIDB/50006/2020 e UIDP/50006/2020 DOI 10.54499/UIDP/50006/2020.

## SERÁ O BAGAÇO DE AZEITONA UM BOM EXEMPLO DE/PARA UPCYCLING?

M. Beatriz P.P. Oliveira, R.C. Alves

*REQUIMTE/LAQV, Department of Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, R. J. Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal*

O bagaço de azeitona (BA) é um subproduto do processamento da azeitona em azeite, sendo a sua produção cerca de 4 vezes superior à do azeite. Contém todos os componentes da azeitona com exceção da maior parte da gordura (azeite). Tem na sua composição 60-70% de água, polpa e pele da azeitona e, ainda, 2-3% de gordura. Pode conter ou não pedaços do caroço. É um produto muito rico em compostos fenólicos, característica que o torna fitotóxico e, portanto, um perigo ambiental. Por outro lado, os ditos compostos fitotóxicos (hidroxitirosol e tirosol, maioritariamente) podem considerar-se como bioativos, uma vez que têm efeitos benéficos na saúde humana. Após a produção do azeite, o bagaço resultante é transportado para reservatórios isolados do ambiente, onde aguarda processamento, normalmente a extração da gordura remanescente com solventes orgânicos. Após este processo é vendido como biomassa para queima.

Na FFUP desenvolvemos trabalho de investigação dedicado à valorização de subprodutos agroalimentares, tendo sido o BA o nosso primeiro foco nesta área da sustentabilidade, upcycling, zero desperdício e abordagem One Health. A estratégia de valorização deste subproduto, muito abundante no país, consistiu em estudar os 2 tipos de BA possíveis: o BA fresco (após a produção do azeite) e o BA extratado (após armazenamento nas piscinas e extração do óleo de BA com solventes orgânicos). Desenvolvemos um processo sustentável, com reduzido gasto de energia e sem o uso de solventes orgânicos. O objetivo é eliminar o risco ambiental e obter produtos de valor acrescentado para uso alimentar e cosmético. Foram desenvolvidos vários trabalhos pelos estudantes do grupo (MSc e PhD) e estão alguns em desenvolvimento. Algumas das aplicações estudadas deram origem a patentes já concedidas na Europa e nos EUA, tendo sido uma delas licenciada a uma Spin-off da UP. Temos ainda outras em avaliação.

Ao longo da apresentação daremos exemplos de trabalhos desenvolvidos, nomeadamente a formulação de um patê de azeitona com 25% de incorporação de BA fresco; incorporação em massas alimentícias; incorporação em cremes para barrar à base de azeite; formulação de uma cobertura (topping) salgada; obtenção de um produto fermentado com características organolépticas melhoradas; princípio ativo usado na formulação de um creme antienvelhecimento.

Então, respondendo à pergunta inicial, se “o BA é um bom exemplo de matéria-prima para upcycling?”, claro que sim! Haja vontade e apoios para implementação de metodologias sustentáveis e conhecimento dos consumidores para escolherem este tipo de produtos.

## DESAFIOS E INOVAÇÕES NO BIOCONTROLO MICROBIANO

Paula Teixeira

Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005 Porto

Apesar dos recentes avanços científicos e tecnológicos, persistem desafios de segurança alimentar significativos: uma em cada dez pessoas sofre anualmente de toxinfecção alimentar, resultando em cerca de 420.000 mortes, e um terço dos alimentos produzidos é desperdiçado. Com o crescimento e envelhecimento da população mundial, as alterações climáticas e a escassez de recursos, torna-se essencial adotar métodos mais eficientes de produção alimentar. O controlo microbiológico dos alimentos tem por base, por exemplo, tratamentos térmicos, alta pressão, refrigeração, conservantes químicos e embalagem em atmosferas modificadas. No entanto, há uma necessidade crescente de soluções mais naturais e sustentáveis, impulsionada tanto por exigências legislativas, que limitam o uso de conservantes sintéticos, como pelas preferências dos consumidores por alimentos menos processados e sem aditivos. Neste contexto, as estratégias de biocontrolo assumem um papel relevante, oferecendo soluções baseadas em microrganismos e nos seus metabolitos, incluindo culturas protetoras, bacteriocinas e produtos fermentados. As culturas microbianas são utilizadas na produção de alimentos como ingredientes. O seu efeito antimicrobiano resulta da competição por espaço e nutrientes, bem como da produção de compostos como ácidos orgânicos, peróxido de hidrogénio e bacteriocinas. Os exemplos de aplicação são variados, por exemplo, no controlo de *Listeria monocytogenes* em produtos fermentados ou em vegetais, onde não são desejáveis alterações organoléticas. As bacteriocinas, por sua vez, são péptidos antimicrobianos que podem ser adicionados ou produzidos diretamente nos alimentos, principalmente por bactérias do ácido láctico, e que atuam contra microrganismos indesejáveis. São consideradas conservantes naturais ideais por serem seguras para consumo humano e estáveis durante o processamento alimentar. Outra abordagem relevante é a utilização de produtos fermentados, que resultam da fermentação de substratos, originando uma mistura complexa de ácidos orgânicos e metabolitos antimicrobianos, incluindo bacteriocinas. Como as bactérias responsáveis pela fermentação são inativadas após a fermentação, estas soluções minimizam alterações sensoriais indesejadas associadas à acidificação. Atualmente, já se encontram no mercado produtos como a dextrose fermentada e vinagres tamponados (E267), entre outros. As estratégias de bioconservação devem, no entanto, ser combinadas com outras barreiras, pois os seus efeitos são frequentemente bacteriostáticos, e não bactericidas, e não podem ser utilizadas na tentativa de compensar más práticas de fabrico que resultem em produtos com elevadas cargas microbianas. A utilização de culturas protetoras em produtos não fermentados, como peixe fumado e análogos de carne, levanta desafios organoléticos e legislativos. Quando utilizadas como ingredientes, a sua aceitação é clara, mas quando classificadas como conservantes, devem cumprir as normas aplicáveis aos aditivos alimentares. Atualmente, apenas a bacteriocina nisina está aprovada como conservante (E 234). Outra questão prende-se com a legislação aplicável aos novos alimentos: alimentos que não eram consumidos na União Europeia antes de 1997 devem passar por um processo de aprovação. Assim, novas aplicações de culturas protetoras em produtos inovadores, como alternativas vegetais (plant based), podem ser classificadas como novas e sujeitas a regulamentação específica. Estas questões estão a ser exploradas no âmbito do projeto MICROORC (Orchestrating food system microbiomes to minimize food waste), financiado pela União Europeia (Grant Agreement N° 101136248).

# ESTRATÉGIAS DE CONTROLE BIOLÓGICO PÓS-COLHEITA PARA PRESERVAÇÃO DA QUALIDADE DO ARROZ

Carla Brites

INIAV, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Oeiras, Portugal

Garantir a qualidade do arroz durante o armazenamento pós-colheita é fundamental para assegurar a segurança alimentar, prolongar a vida útil e minimizar as perdas. O arroz armazenado está particularmente vulnerável ao ataque de pragas e agentes patogénicos, como fungos e insetos, que podem comprometer tanto a sua qualidade como a segurança. Os métodos tradicionais, baseados no uso de pesticidas e conservantes químicos, embora eficazes, apresentam riscos significativos para a saúde humana, o meio ambiente e podem contribuir para o desenvolvimento de resistência em organismos-alvo.

As estratégias de controlo biológico têm-se destacado como alternativas sustentáveis e inovadoras, aproveitando organismos benéficos, extratos de plantas, tecnologias avançadas e modificações no ambiente de armazenamento para controlar pragas e agentes patogénicos de forma segura e eficaz.

No âmbito do projeto TRACE-RICE, foram alcançados avanços importantes na implementação destas estratégias, incluindo o uso de compostos naturais para a proteção do arroz armazenado, a aplicação de luz UV-C para controlo de insetos do género *Sitophilus* e o desenvolvimento de uma aplicação baseada no software ArcGIS. Esta ferramenta permite o registo detalhado de dados de campo, como doenças detetadas e produtos fitofarmacêuticos aplicados, proporcionando um controlo mais eficiente desde a produção até ao armazenamento.

Esta apresentação destaca as abordagens de biocontrolo pós-colheita, os avanços concretizados pelo TRACE-RICE e os benefícios das estratégias implementadas. Para além de protegerem o arroz contra agentes de degradação, estas práticas reduzem a dependência de químicos sintéticos, alinhando-se com as tendências globais de sustentabilidade, consumo consciente e preservação ambiental.

*Este trabalho foi financiado pelo projeto TRACE-RICE—Tracing rice and valorizing side streams along with Mediterranean blockchain (grant nº 1934, call 2019, Section 1 Agrofood), no âmbito do Programa PRIMA, apoiado pelo Horizonte 2020, o Programa-Quadro da União Europeia para Investigação e Inovação.*

## **A SEGURANÇA ALIMENTAR COMEÇA NO CAMPO: A NOSSA CONTRIBUIÇÃO**

Teresa Crespo

*IBET - Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica*

A comunicação apresenta o trabalho realizado no iBET para atingir os objetivos da Agenda PRR Tec4Green, focando na investigação e desenvolvimento de soluções de proteção e nutrição que respeitam as preocupações da produção integrada. Estas soluções visam cumprir as metas estabelecidas no Pacto Ecológico Europeu, mantendo a eficácia necessária para garantir uma proteção e nutrição efetivas de diversas culturas, enquanto facilitam a adoção de práticas de agricultura biológica.

Serão detalhadas as metodologias utilizadas para a obtenção de extratos com atividade fungicida, bio-estimulante ou com potencial para utilização como agente co-formulante, tanto de materiais de economia circular como de culturas microbiológicas. Adicionalmente, serão delineadas as estratégias de caracterização dos compostos bioativos, ensaios in vitro de atividade e eficácia, validação laboratorial de formulações e ensaios de estabilidade em ambiente controlado.

# ACTIVE PACKAGING AS A STRATEGY TO MAINTAIN FOOD QUALITY

Miguel Ângelo Cerqueira

*INL - International Iberian Nanotechnology Laboratory, Av. Mestre José Veiga s/n, 4715-330 Braga, Portugal*

Food packaging materials are primarily composed of petroleum-based, non-biodegradable substances such as polyethylene and polyethylene terephthalate. These materials are challenging to replace due to their unique properties. However, their non-biodegradability has led to significant environmental concerns, as their accumulation poses serious issues. One strategy to mitigate this impact is to enhance their recyclability, such as using monomaterials, or to switch to bio-based and biodegradable alternatives. However, these alternatives often face challenges because they typically do not possess the same properties, leading to a potential decrease in food shelf life. To tackle these challenges, developing active packaging has emerged as an effective method to extend the shelf life of food. Specifically, antioxidants and antimicrobials have been investigated for their ability to counteract the negative effects of oxidation and microbial growth during food storage.

This work will present various examples of how to create active materials using different substrates, such as paper and bioplastics, and employing various technologies, including extrusion and spray coating. It will also discuss the effectiveness of different active materials, like essential oils, plant extracts, bacteriophages, and peptides. Additionally, examples of how active coatings can be applied to various fruits to inhibit microbial growth will be showcased.

Finally, the project VIIAFOOD will outline the strategies used to develop active packaging with scalable technologies and materials. Concluding remarks will be provided, indicating future steps for implementing active packaging in food applications.

**ACKNOWLEDGEMENTS:** The authors acknowledge the financial support of the project “Agenda VIIAFOOD: Platform for the Agri-Food Valorisation, industrialization and commercial innovation”, with the reference n.º CC644929456-00000040, co-funded by Component C5 – Capitalisation and Business Innovation under the Portuguese Resilience and Recovery Plan, through the NextGenerationEU Fund

# USO DE BACTERIÓFAGOS COMO ALTERNATIVA PARA O BIOCONTROLO DO FOGO BACTERIANO

Hugo Oliveira

*Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, R. da Universidade, 4710-057 Braga*

O fogo bacteriano, causado pela bactéria *Erwinia amylovora*, é uma doença devastadora que afeta a família Rosaceae (principalmente pereira e macieira), com grande impacto económico nacional. Métodos químicos de controlo têm-se revelado ineficazes e prejudiciais ao ambiente, destacando a necessidade de alternativas mais sustentáveis.

O projeto BioFago visa desenvolver um novo biopesticida à base de bacteriófagos (ou fagos), para mitigar este problema e promover uma produção ecologicamente sustentável no setor hortofrutícola nacional. Os fagos são vírus que atacam especificamente bactérias, com elevada especificidade ao alvo bacteriano, são agentes naturais, ecológicos e eficazes contra resistências bacterianas.

Utilizando técnicas de microbiologia, virologia e genómica, este trabalho mostra como foi estudada a diversidade destas bactérias, incluindo isolados de pomares portugueses. Descreve-se o isolamento e a caracterização de fagos para desenvolver uma fórmula antibacteriana eficaz contra o fogo bacteriano, bem como ensaios preliminares com frutos imaturos e dados de produção industrial dos fagos em larga escala.

**Financiamento:** Projeto BioFago (PRR-C05-i03-I-000179), através do I.F.A.P.



Apresentações Flash

### COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E PERFIL DE ÁCIDOS GORDOS DE *GRYLLUS ASSIMILIS* COMO FONTE ALIMENTAR ALTERNATIVA

Susana Machado<sup>1,2</sup>, Daniel Lemos<sup>1</sup>, Anabela Costa<sup>1</sup>, Thiago F. Soares<sup>1</sup>, M. Beatriz P. P. Oliveira<sup>1</sup>, Carolina Oliveira de Souza<sup>3</sup>, Miguel A. Prieto<sup>2</sup>, Rita C. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal

<sup>2</sup>Grupo de Nutrição e Bromatologia, Departamento de Química Analítica e Ciências da Saúde, Instituto de Agroecologia e Alimentação (IAA)-CITEXVI, Universidade de Vigo, Vigo, Espanha

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos/ Departamento de Análises Bromatológicas, Faculdade de Farmácia Universidade Federal da Bahia, Brasil.

A disponibilidade alimentar e as alterações climáticas são atualmente dois desafios da sociedade. À diminuição de terra arável, por degradação dos solos ou falta de água, juntam-se os fenómenos climáticos extremos, os incêndios e as doenças que passaram a infestar culturas não habituais. Por tudo isto impõe-se pensar em sistemas alimentares sustentáveis e seguros, visando dar resposta à produção de alimentos para a população mundial.

A farinha de insetos tornou-se uma possível solução sustentável para responder à necessidade de proteínas alternativa. Com uma produção que requer menos terra, água e ração, os insetos convertem a ração que ingerem em proteína, de forma eficiente e emitem menos gases com efeito de estufa. Rica em proteína, ácidos gordos, vitaminas e minerais, esta farinha é já aceite na alimentação animal e humana [1,2].

Neste trabalho avaliou-se a composição nutricional do *Gryllus assimilis*, focando o teor de cinzas, proteína, gordura total (métodos AOAC [3]) e perfil de ácidos gordos (GC-FID) [4,5]. Todo o inseto foi triturado e homogeneizada a massa obtida para se proceder à amostragem.

Simultaneamente avaliou-se a composição da ração ingerida. Foram determinados 5,62% de cinzas, 19,95% de proteína bruta e 10,30% de gordura. O perfil lipídico apresentou 17% de ácidos gordos saturados (SFA), 62% de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e 21% de ácidos gordos polinsaturados (PUFA).

O *Gryllus assimilis* é constituído por 3,23% de cinzas, 48,42% de proteína, 39,79% de gordura e 8,56% de hidratos de carbono. Esta composição confere um elevado teor de energia (586 kcal/100g). O perfil lipídico apresenta 36% de SFA, 35% de MUFA e 29% de PUFA.

A análise nutricional do *Gryllus assimilis* revela um perfil vantajoso, com altos teores de proteína e gordura de qualidade. Apresenta significativa capacidade de conversão proteica (de 20 para 48%) e lipídica (de 10 para 40%). A sua riqueza em nutrientes essenciais torna-o uma alternativa promissora para uma alimentação sustentável.

**Agradecimentos:** Este trabalho foi suportado pela FCT/MCTES através dos projetos UIDB/50006/2020 (DOI 10.54499/UIDB/50006/2020), UIDP/50006/2020 (DOI 10.54499/UIDP/50006/2020) e LA/P/0008/2020 (DOI 10.54499/LA/P/0008/2020). S.M. agradece ao projeto PTDC/SAU-NUT/2165/2021 pelo seu financiamento. R.C.A. agradece à FCT/MCTES pelo apoio através do Estímulo ao Emprego Científico - Chamada Individual (contrato CEECIND/01120/2017; DOI 10.54499/CEECIND/01120/2017/CP1427/CT0001).

[1] H.M. Lisboa, A. Nascimento, A. Arruda, A. Sarinho, J. Lima, L. Batista, M.F. Dantas, R. Andrade. Unlocking the Potential of Insect-Based Proteins: Sustainable Solutions for Global Food Security and Nutrition. *Foods*, 13, 1846 (2024).

[2] K. Shah, P. Thorakkattu, A.C. Khanashyam, K.S. Babu, N.P. Nirmal. Entomophagy: A sustainable alternative towards food security. *Advances in Nutrition and Food Science*, 2022, 05, (2022).

[3] AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International (J. Dr. George W. Latimer Ed. 21st Edition ed. Vol. I), (2019).

[4] ISO 12966-2:2017. Gorduras e óleos animais e vegetais - Cromatografia gasosa de ésteres metílicos de ácidos gordos - Parte 2: Preparação de ésteres metílicos de ácidos gordos (2017).

[5] D. Melo, M. Álvarez-Ortí, M. A. Nunes, A. S. G. Costa, S. Machado, R. C. Alves, J. E. Pardo, M. B. P. P. Oliveira. Whole or defatted sesame seeds (*Sesamum indicum* L.)? The effect of cold pressing on oil and cake quality. *Foods*. 10(9), 2108 (2021).

## WILD FERMENTATION OF OLIVE POMACE - EFFECT ON MACRONUTRIENTS, ENERGY VALUES AND VITAMIN E

Diana Melo Ferreira,<sup>1</sup> Liliana Espírito Santo,<sup>1</sup> Anabela S. G. Costa,<sup>1</sup> Helena Ferreira,<sup>2</sup> M. Beatriz P. P. Oliveira,<sup>1</sup> Rita C. Alves<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Department of Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, R. J. Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal

<sup>2</sup>UCIBIO-i4HB, Laboratory of Microbiology, Department of Biological Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, R. J. Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal

\*rcalves@ff.up.pt

Wild fermentation, a natural process which uses the microorganisms present on foods, has been used for its ability to create complex flavors and aromas in fermented products. Additionally, fermentation can enhance nutrient bioavailability and generate new compounds with potential health benefits, aligning with principles of minimal food processing (1).

The olive oil industry faces significant challenges in waste management, particularly with the disposal of olive pomace (OP) - a by-product consisting of the solid remains of olives after pressing. Due to its high organic content, OP poses environmental risks if not properly managed (2). However, sustainable practices such as compound extraction can convert OP into useful resources (3).

This study explores the potential of wild fermentation of OP at room temperature (RT) over 32-days to transform it into a valuable food product (OP paste). The impact of this fermentation on macronutrients contents (ash, protein, fat, carbohydrates, fiber) (4), energy values (5), and vitamin E (HPLC-DAD-FLD) (2, 3) of OP were assessed.

Ash content decreased from 5.6% (T0) to 5.3% by T4-T16, with a slight increase by T32 (5.9%). Crude protein content exhibited an upward trend from 7.1% (T0) to 8.4% (T16), before slightly decreasing to 7.6% (T32). Similarly, total fat increased steadily from 12.1% (T0) to 14.6% (T32). Total carbohydrates gradually decreased from 75.3% (T0) to 72.0% (T32), probably due to microbial consumption during fermentation, most likely using sugars as primary energy source, breaking them down to fuel growth (2). In parallel, the slight increase in crude protein may be the result of a concentration effect due to carbohydrate depletion. Total fiber showed a significant increase from 54.9% to 57.9% (T32), driven mainly by an increase in insoluble fiber. Soluble fiber content experienced an initial drop but remained relatively stable throughout fermentation. The rise in fiber content, particularly insoluble fiber, suggests that microbial fermentation probably led to the breakdown of more digestible carbohydrate fractions, such as soluble fibers, while leaving insoluble fibers intact.

Energy values increased initially, peaking at T8-16 (347 kcal/100 g, 1432-1435 kJ/100 g) before slightly decreasing by T32 (334 kcal/100 g, 1370 kJ/100 g) to values similar to the control (328 kcal/100 g, 1352 kJ/100 g) ( $p < 0.05$ ).

The total vitamin E content, composed of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -tocopherols, decreased from 10.9 (T0) to 9.4-9.6 mg/100 g (T4-T16), but at T32 it reached levels similar to the control (10.3 mg/100 g) ( $p < 0.05$ ), potentially due to microbial activity breaking down cell membranes, which facilitated the release of vitamin E (2).

Overall, it seems that by the end of fermentation, the nutrient composition stabilized. In conclusion, wild fermentation of OP creates an OP paste with enhanced nutritional profile, particularly in protein, fat, fiber and vitamin E contents, making it a potential novel food for current diets. This fermentation process is a sustainable practice by valorizing a by-product. Further research is recommended to fully understand the potential health benefits of consuming fermented OP.

**Keywords:** by-product, novel food, sustainability, macronutrients, minimal food processing.

### Acknowledgements:

D.M.F. received a Ph.D. scholarship from Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) - 2022.13375.BD. L.E.S. is grateful to Laboratório Associado para a Química Verde - Tecnologias e Processos Limpos - UIDB/50006/2020 for the grant REQUIMTE 2023-49. R.C.A. thank to FCT for funding through the Scientific Employment Stimulus - Individual Call - CEECIND/01120/2017 (doi.org/10.54499/CEECIND/01120/2017/CP1427/CT0001). This work was supported by FCT/MCTES through the projects (EXPL/SAU-NUT/0370/2021, LA/P/0008/2020 DOI 10.54499/LA/P/0008/2020, UIDP/50006/2020 DOI 10.54499/UIDP/50006/2020 and UIDB/50006/2020 DOI 10.54499/UIDB/50006/2020).

### References:

- [1] Katz SE. Wild fermentation: The flavor, nutrition, and craft of live-culture foods: Chelsea Green Publishing; 2016.
- [2] Ferreira DM, Machado S, Espírito Santo L, Costa ASG, Ranga F, Chis MS, et al. Changes in the Composition of Olive Pomace after Fermentation: A Preliminary Study. *Fermentation*. 2024;10(6):287.
- [3] Ferreira DM, Barreto-Peixoto J, Andrade N, Machado S, Silva C, Lobo JC, et al. Comprehensive analysis of the phytochemical composition and antitumoral activity of an olive pomace extract obtained by mechanical pressing. *Food Biosci*. 2024;104759.
- [4] AOAC. Official methods of analysis. 21st ed. Arlington VA, USA: Association of Official Analytical Chemists; 2019.
- [5] Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, 54 (2011).

### MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING FOR POULTRY MEAT: IMPACT ON MICROBIOTA AND ODOUR CHARACTERISTICS

Beatriz Nunes Silva<sup>1</sup>, Ricardo M. Ferreira<sup>1</sup>, Maria João Monteiro<sup>1</sup>, Birgitte Moen<sup>2</sup>, Merete Rusås Jensen<sup>2</sup>, Solveig Langsrud<sup>2</sup>, Joana Barbosa<sup>1</sup>, Cristina Mena<sup>1</sup>, Susana Teixeira<sup>1</sup>, Fátima Poças<sup>1</sup>, Paula Teixeira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina e Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005 Porto, Portugal

<sup>2</sup>Department of Food Safety and Quality, Nofima AS, 1433 Ås, Norway

Specific packaging conditions such as a modified atmosphere can have a tremendous effect in delaying the proliferation of food spoilage microorganisms and, consequently, increasing the shelf life of products and reducing food waste.

To evaluate the impact of different packaging atmospheres on the microbial load and microbiota of poultry meat, chicken breasts packed in high oxygen-containing packages (55-70% O<sub>2</sub>, 20-30% CO<sub>2</sub>) and in high carbon dioxide-containing packages (0% O<sub>2</sub>, 50-55% CO<sub>2</sub>, 45-50% N<sub>2</sub>) were collected from the producer (day 0) and stored at 4 °C. At specific time points, total viable counts (TVC) were enumerated in Plate Count Agar and DNA extraction was performed using Qiagen DNeasy PowerLyzer Powersoil kit. Microbial community analysis was performed using EMP 16S Illumina Amplicon Protocol V.2. Olfactory sensory evaluation of the samples was also conducted by a group of semi-trained panellists.

The TVC in chicken breasts at the beginning of the storage (day 0) were similar for both atmospheres (around 3.7 log CFU/g). After 15 days of storage, the TVC were also comparable in breasts from both packaging atmospheres (approximately 8.0 log CFU/g), having increased at a maximum rate of 0.6 ± 0.1 log CFU/g day<sup>-1</sup> (high O<sub>2</sub> packages) and 0.5 ± 0.04 log CFU/g day<sup>-1</sup> (high CO<sub>2</sub> packages).

Throughout storage at 4 °C, the gas composition of high CO<sub>2</sub> packages was stable, with fluctuations of around +5% in CO<sub>2</sub> content between the beginning and the end of the storage period. In turn, the high O<sub>2</sub> packages revealed a decrease in O<sub>2</sub> content and an increase in CO<sub>2</sub> (both around 15%), thus indicating the presence and proliferation of oxygen-consuming spoilage microorganisms in this type of atmosphere. However, this effect must be analysed together with the gas transfer through the package.

As revealed by the microbial community analysis, there was a clear change in the microbial composition resulting from the different packaging conditions. A considerable decrease in the relative abundance of *Brochothrix* and an increase of *Lactobacillales* (mainly *Carnobacterium divergens*), *Lactococcus* spp. and *Lactobacillus* spp. was observed with high CO<sub>2</sub> packaging. The relative amount of *Yersiniaceae* (often *Serratia proteamaculans*) was relatively similar for both high O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub> packages.

The presence of distinct microbial communities triggered by the different packaging atmospheres appears to have a considerable impact on the olfactory characteristics of the chicken breasts, as revealed by the results of the semi-trained panel. The overall odour intensity of chicken breasts packed under high O<sub>2</sub> atmosphere was somewhat similar from day 0 up to day 7 of storage, and after 11 and 15 days, the semi-trained panellists indicated higher overall odour intensity, and the presence of aromas related to product degradation. This was also observed for chicken breasts packed under high CO<sub>2</sub> atmosphere, but only after 19 days of storage, and the overall odour intensity was fairly similar from day 0 up to day 12. These results suggest an improved perception of chicken freshness for a longer period, which may be a valuable outcome for extending the shelf life of this product.

Keywords: MAP, gas composition, microbial load, microbiota, shelf life

**Acknowledgments:** MICROORC – Orchestrating Food System Microbiomes to Minimize Food Waste, started on November 1st, 2023, funded by the European Union's Horizon Europe research and innovation program under Grant Agreement N° 101136248.



# Posters

Rumo à promoção da Alimentação Saudável

## ESTABILIDADE DE UM SMOOTHIE FORMULADO COM EXTRATO ANTIOXIDANTE DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

José Ignacio Alonso-Esteban<sup>1,2</sup>, Kevin Pitta<sup>1</sup>, Alexis Pereira<sup>1,3</sup>, Maria Inês Dias<sup>1,3</sup>, José Pinela<sup>1,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>2</sup>Departamento de Nutrición y Ciencias de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, España.

<sup>3</sup>Laboratório para a Sustentabilidade e Tecnologia em Regiões de Montanha (SusTEC), Instituto Politécnico de Bragança, Campus Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.), Rua dos Lágidos, Lugar da Madalena, 4485-655 Vairão, Vila do Conde, Portugal.

A produção de alimentos estáveis e nutritivos está alinhada com a crescente demanda dos consumidores por produtos saudáveis, elaborados com ingredientes naturais sustentáveis. Estes desafios também se aplicam à indústria de bebidas, que frequentemente recorre a aditivos alimentares artificiais devido à limitada disponibilidade de alternativas naturais eficazes. Este estudo pretendeu avaliar a adequação de um extrato natural antioxidante para preservar os atributos de qualidade de um smoothie à base de frutos e vegetais durante o armazenamento refrigerado. O extrato foi preparado a partir de casca de marmelo, seguindo um método otimizado [1], e caracterizado quanto à sua composição em compostos fenólicos e ácido málico e à sua atividade antioxidante [2]. Em seguida, foi preparado um smoothie com adição do extrato bioativo, o qual foi analisado ao longo de 60 dias de armazenamento a 4 °C. Um smoothie controlo (sem adição de extrato) foi preparado e analisado paralelamente. Os atributos físico-químicos e composicionais das amostras foram avaliados usando diferentes técnicas analíticas. O extrato apresentou teores elevados de flavonóis, flavan-3-óis, ácidos cafeoilquínicos e ácido málico, e inibiu em certa medida a formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e a hemólise oxidativa. O smoothie, por sua vez, revelou-se fonte de carboidratos, minerais (K, Mg, Mn, Cu) e fibra. Durante o armazenamento, observou-se uma redução no valor de pH e a cor do smoothie com adição de extrato foi mais bem preservada. O teor de frutose e glucose aumentou ao longo do tempo, enquanto o de sacarose diminuiu. No 60.º dia, a proporção de ácidos gordos saturados foi menor no smoothie com extrato, enquanto os ácidos gordos polinsaturados tenderam a aumentar. Concluiu-se que a adição do extrato teve um efeito positivo nos parâmetros de cor e nos teores de frutose e ácido oxálico, enquanto o tempo de armazenamento afetou sobretudo o teor de sacarose, levando à sua diminuição.

**Agradecimentos:** À FCT pelo apoio financeiro ao CIMO (UIDB/00690/2020 e UIDP/00690/2020) e ao SusTEC (LA/P/0007/2020) e pelos contratos de M.I.D. (10.54499/CEECINST/00016/2018/CP1505/CT0004) e J.P. (10.54499/CEECIND/01011/2018/CP1578/CT0002).

### Referências:

[1] Pereira, A., et al., *Antioxidants*, 12, 2023, 260.

[2] Othman, S., et al., *Heliyon*, 8, 2022, e11042.

## HIMANTHALIA ELONGATA AS AN ALTERNATIVE SOURCE OF CHLOROPHYLL A: ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OPTIMIZATION BY SURFACE RESPONSE ANALYSIS

Cláudia S.G.P. Pereira<sup>1</sup>, María Carpena Rodríguez<sup>2</sup>, João C.M. Barreira<sup>3,4</sup>, Miguel A. Prieto<sup>2</sup>, M. Beatriz P.P. Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Department of Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Porto, Portugal.

<sup>2</sup>Nutrition and Bromatology Group, Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Food Science and Technology, University of Vigo, Ourense Campus, E32004 Ourense, Spain.

<sup>3</sup>Mountain Research Center (CIMO), Polytechnic Institute of Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>4</sup>Associate Laboratory for Sustainability and Technology in Mountains Regions (SusTEC), Polytechnic Institute of Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

*Himanthalia elongata* (Fucales) is a common brown seaweed, usually known in Portugal as sea spaghetti (aka, thongweed or sea thong), and typically found in the Baltic region, North Sea, and north-eastern Atlantic (from Scandinavia to Portugal). The high content of different bioactive compounds in *H. elongata*, as well as its antibacterial and antioxidant capabilities, are being increasingly considered in different food production systems. Chlorophylls are non-polar green pigments characterized for having a magnesium atom bound to a central ring of porphyrin or hydroporphyrin. The most relevant analogs present in algae include chlorophyll a, b, c1, c2 and d. These natural molecules display interesting antioxidant activity, being well deemed as additives with coloring and antioxidant properties in food, cosmetics, and pharmaceutical industries. Accordingly, response surface analysis was applied to define the operational conditions (time, power and temperature) that maximize the concentration of chlorophyll *a* obtained from *H. elongata* by ultrasound-assisted extraction (UAE). Tested time (t) range varied between 5 and 55 min, while ultra-sound power (P) ranged among 100 to 500 W; tested temperature (T), in turn, varied from 35 to 100 °C. These conditions were set as the analyzed independent variables X1 (t), X2 (P), and X3 (T) (with five levels for each variable) in the optimization process, calculated by using the circumscribed central composite design. The employed mathematical model conveyed twenty-eight outcome combinations: twenty-two given by the interaction of the selected independent variables, and six others obtained from the central point. The extraction yield and the content in chlorophyll *a* (quantified by HPLC-DAD) were defined as response variables. As intended, the combination of the operational conditions that maximize the concentration of chlorophyll *a* obtained by UAE were adequately determined, contributing to establish *H. elongata* as a sustainable source of this natural antioxidant.

### Acknowledgments

Authors thank MICINN for supporting the Ramón y Cajal grant for A. Prieto (RYC-2017-22891) and Xunta de Galicia for supporting the pre-doctoral grant of M. Carpena (ED481A 2021/313); J.C.M. Barreira and C.S.G.P. Pereira acknowledge Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) for his contract (CEECIND/04479/2017) and individual PhD grant (2021.09490.BD).

## **SURVIVAL AND GROWTH OF FOODBORNE PATHOGENS IN MUNG BEAN SPROUTS IRRIGATED WITH CONTAMINATED WATER**

Joana Gomes, Joana Barbosa & Paula Teixeira

*Universidade Católica Portuguesa, CBQF—Centro de Biotecnologia e Química Fina—Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Porto, Portugal*

New healthy lifestyle trends led to increased consumption of ready-to-eat products, such as vegetables and sprouts. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli* are microorganisms that have been associated with outbreaks caused by the consumption of contaminated produce. Once in contact with plant tissue, microorganisms can adhere and persist on plant tissues for long periods. The initial level of microorganisms can significantly influence their survival, spread, and persistence within plant tissues.

This study aimed to assess the risk associated with using irrigation water contaminated with *L. monocytogenes*, *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* in sprout production.

Mung bean irrigation water was inoculated to a final level of 6 log CFU/ml of a cocktail of *L. monocytogenes* (2 serotypes), a cocktail of *E. coli*, and a cocktail of *Salmonella enterica* (4 serotypes). Mung beans were germinated for 3 days in the dark at a temperature of around 25 °C. Survival of *L. monocytogenes*, *E. coli* and *S. enterica* was assessed by plate count enumeration.

After 3 days of germination, counts increased approximately 2 log CFU/g for *L. monocytogenes*, 4 log CFU/g for *E. coli* and 3 log CFU/g for *S. enterica*.

These preliminary results have shown that when irrigation water is contaminated with *L. monocytogenes*, *E. coli*, or *S. enterica*, these pathogens can survive and multiply in mung bean sprout tissues. This presents a significant risk to public health, as sprouts are typically consumed raw and provide ideal conditions for pathogen growth. Future studies will focus on the impact of lower initial contamination levels as well as evaluating pathogen behaviour in other edible plant tissues.

**REGULAÇÃO DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES – PANORAMA INTERNACIONAL**

Verena Gomes Furtado<sup>1,2</sup>, Maria João Cabrita<sup>1</sup>, Ana Luísa Fernando<sup>2</sup>

<sup>1</sup>MED - Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & IIFA - Institute of Research and Advanced Training, University of Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal

<sup>2</sup>MEtRICs, Departamento de Química, NOVA School of Science and Technology, NOVA FCT, Universidade NOVA de Lisboa, Caparica, Portugal

No cenário internacional, a regulação dos suplementos alimentares não segue um sistema harmonizado ou coerente. A própria nomenclatura desses produtos difere, levando a diferentes classificações, composição e alegações. Por exemplo, na União Europeia (UE) são chamados de suplementos alimentares; nos Estados Unidos, de suplementos dietéticos e na Índia, de suplementos de saúde, sendo considerados alimentos nesses países. No Canadá e na Austrália, embora não haja uma definição explícita de suplementos alimentares, eles são enquadrados como produtos naturais de saúde e medicamentos complementares, classificando-se como medicamentos e produtos terapêuticos, respetivamente. Essa falta de harmonização é também evidenciada dentro de blocos regionais, como a UE, onde a classificação de suplementos varia entre os Estados-Membros, especialmente no caso dos suplementos à base de plantas, que pode sobrepor-se à regulação de medicamentos tradicionais à base de plantas. Um produto pode ser considerado alimento num país e medicamento noutro, gerando inconsistências no processo regulatório.

É notável o esforço individual de diversos países para aprimorar os seus sistemas internos de regulação e proteção da saúde pública, em termos do mercado dos suplementos alimentares, com destaque aos distintos recursos e procedimentos promovidos para apoiar tanto os operadores económicos, como as autoridades competentes. Nalguns países, como Cabo Verde, não existem informações sistematizadas ou regulamentação específica para suplementos alimentares, o que dificulta o seu controlo e a proteção dos consumidores. O presente estudo pretende mostrar como é efetuada a regulação de suplementos alimentares em diferentes regiões do Globo, identificando a necessidade de um sistema integrado de regulação de suplementos alimentares e um melhor aproveitamento de conhecimentos, experiências e recursos de diferentes países para promover uma melhoria coletiva. A criação de procedimentos harmonizados e sistemas centralizados de informações facilitaria o comércio global, possibilitando respostas mais céleres e coerentes em situações de risco para a saúde pública, ao mesmo tempo que permitiria uma melhor gestão de recursos canalizados para este fim.

**Agradecimentos:** Verena Furtado agradece à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) pela bolsa de doutoramento PRT/BD/154810/2022. Este trabalho foi ainda suportado pelo MEtRICs e MED, financiado por fundos nacionais pela FCT/MCTES (<https://doi.org/10.54499/UIDB/04077/2020> e <https://doi.org/10.54499/UIDB/05183/2020>).

## FORTIFICAÇÃO DE IOGURTE COM EXTRATO DE *Solanum melongena*: IMPACTO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E ANTIOXIDANTES

Mikel Añibarro-Ortega<sup>1,2,3</sup>, Maria Inês Dias<sup>1,2</sup>, Lillian Barros<sup>1,2</sup>, José Pinela<sup>1,2,4\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>2</sup>Laboratório Associado para a Sustentabilidade e Tecnologia em Regiões de Montanha (SusTEC), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>3</sup>Grupo de Nutrición y Bromatología, Dpto. de Química Analítica y Alimentaria, Facultad de Ciencias de Ourense, Universidad de Vigo – Campus de Ourense, 32004 Ourense, España

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.), Rua dos Lágidos, Lugar da Madalena, 4485-655 Vairão, Vila do Conde, Portugal.

\*jose.pinela@iniav.pt

A fortificação ou enriquecimento é um método utilizado para melhorar o valor nutritivo dos alimentos, no sentido de prevenir carências nutricionais. O iogurte, um produto lácteo fermentado amplamente consumido, tem sido enriquecido com diversas substâncias, como vitaminas, minerais e extratos naturais. No entanto, a adição de ingredientes não primários pode afetar as características físico-químicas e a estabilidade do iogurte. Este estudo avaliou o impacto da adição de extrato de planta de beringela (*Solanum melongena* L.) em pós-colheita nas propriedades físico-químicas e antioxidantes do iogurte durante o seu prazo de validade. O extrato, previamente descrito pelos autores como apresentando atividade antioxidante e antidiabética, foi obtido por extração hidroetanólica e caracterizado quanto à sua composição fenólica por HPLC-DAD-ESI/MS<sup>n</sup>. Depois disso, o extrato (0,1%, *p/p*) foi incorporado no iogurte durante a sua confeção, feita com iogurte natural e leite magro (1:10, *p/p*) [1,2]. Também foi preparado um iogurte controlo sem adição de extrato. Os iogurtes foram armazenados a 4 °C e analisados ao longo de 21 dias quanto ao pH, acidez titulável, cor, teor de humidade, textura, sinérese e atividade antioxidante *in vitro*. A análise cromatográfica permitiu identificar ácidos cafeoilquínicos e derivados glicosilados de quercetina e kaempferol como os compostos fenólicos maioritários do extrato. A fortificação teve um impacto mínimo nos atributos físico-químicos do iogurte, resultando apenas numa leve alteração de cor, mas promoveu um aumento na atividade antioxidante. Conclui-se que a fortificação de iogurte com extrato fenólico de plantas de beringela em fim de ciclo poderá ser uma estratégia promissora para conferir efeitos antioxidantes a este produto lácteo, promovendo também a economia circular. Estudos futuros serão necessários para avaliar o potencial efeito antidiabético *in vivo* do iogurte fortificado e a sua aceitação pelos consumidores.

**Agradecimentos:** À Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pelo apoio financeiro ao CIMO (UIDB/00690/2020 e UIDP/00690/2020) e ao SusTEC (LA/P/0007/2020), pela bolsa 10.54499/2020.06297.BD (M.A.O) e contratos 10.54499/CEECINST/00016/2018/CP1505/ CT0004 (M.I.D.) e 10.54499/CEECINST/00107/2021/CP2793/CT0002 (L.B.).

### Referências

[1] Chen, X; He, Z; He, L; et al. *LWT*, 173, 2023, 114383.

[2] Ferreira, S.M; Santos, L. *Food Bioscience*, 51, 2023, 102293.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF FATTY ACID PROFILES IN *Listeria monocytogenes* ISOLATES FROM FOOD PROCESSING ENVIRONMENTS GROWN AT 37°C AND 10°C: EXPLORING POTENTIAL PERSISTENCE MARKERS

Rui Magalhães, Manuela Machado, Paula Teixeira

CBQF—Centro de Biotecnologia e Química Fina—Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Rua Diogo Botelho, 1327, 4169-005 Porto, Portugal

*Listeria monocytogenes*, the causative agent of listeriosis, is a major foodborne pathogen. It is a ubiquitous, facultative anaerobic, gram-positive bacterium. Listeriosis can be a severe illness particularly affecting vulnerable groups: the elderly, immunocompromised individuals, pregnant women and neonates. *Listeria monocytogenes* exhibits remarkable adaptability to diverse and challenging environments, demonstrating an exceptional capacity to thrive in conditions such as refrigeration temperatures or high salt concentrations or other factors found in food processing environments (FPE). This resilience is a key factor in its ability to persist within food processing facilities and proliferate in various food products. Only certain strains are routinely isolated from these FPEs (persistent strains) while others are isolated sporadically (non-persistent strains). The objective of this study was to identify potential membrane-fatty acids that can act as persistence markers in a collection of 40 *L. monocytogenes* isolates derived from the GenoPhenoTraits4Persistence project culture collection, which were genetically categorized into persistent (P) and non-persistent (NP) strains. For this purpose, lipid extraction was performed on bacterial pellets using hexane as the solvent, followed by transesterification for analysis by GC-FID (Gas Chromatography-Flame Ionization Detection). The results revealed the presence of key branched-chain fatty acids (iso-C15 and iso-C17), which are associated with the ability of *L. monocytogenes* to resist environmental stresses, particularly temperature fluctuations. Additionally,  $\Delta$ C19 was detected in strains grown at low temperatures. This fatty acid is responsible for the adaption of membrane fluidity in response to environmental stress. These findings provide valuable insights into the lipid composition of *L. monocytogenes* and highlight potential biomarkers that may differentiate between persistent and non-persistent strains, offering a deeper understanding of the mechanisms underlying its ability to adapt and survive in food processing environments.

**Funding:** This work was supported by National Funds from FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia through project GenoPhenoTraits4Persistence - Genomic and phenotypic traits contributing to persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environment (PTDC/BAA-AGR/4194/2021), DOI 10.54499/PTDC/BAA-AGR/4194/202. We would also like to thank the scientific collaboration under the FCT project UIDB/50016/2020.

## **SUBSTITUIÇÃO DE SORBATO DE POTÁSSIO POR CONSERVANTES NATURAIS EM PREPARADO DE BANANA: AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO**

Teresa Bento de Carvalho<sup>1</sup>, Beatriz Nunes Silva<sup>1</sup>, Beatriz Silva<sup>2</sup>, Miguel Azevedo<sup>2</sup>, Elisabetta Tomé<sup>1</sup>, Paula Teixeira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CBQF – Centro de Biotecnologia e Química Fina e Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa;

<sup>2</sup> DECORGEL - Produtos Alimentares, S.A.

Os conservantes de síntese química, como o sorbato de potássio, têm sido utilizados pela indústria alimentar para prevenir a deterioração microbiana e, em alguns casos, para “mascarar” más práticas de fabrico. Contudo, a crescente exigência dos consumidores por alimentos 'naturais' e 'sem químicos', bem como as preocupações ambientais, têm levado tanto os consumidores como a indústria a procurar conservantes naturais alternativos, 'clean label', para substituir os aditivos químicos convencionais.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade durante o armazenamento (22 °C e 62% de humidade relativa) de um preparado de banana produzido a nível industrial, comercializado para utilização em recheios de produtos de pastelaria e panificação. Pretendeu-se substituir o sorbato de potássio por conservantes "clean label" existentes no mercado, à base de extratos vegetais. Foram utilizadas duas formulações naturais: a Formulação A, composta por extratos de orégano, alecrim, ameixa e linhaça, e a Formulação B, composta por extratos de frutos vermelhos, em concentrações que não afetassem as características sensoriais dos recheios.

Durante o armazenamento, foram realizadas análises microbiológicas (microrganismos totais, bolores e leveduras, bacilos esporulados aeróbios e anaeróbios), físicas ( $a_w$ , °Brix, cor, viscosidade e força de cisalhamento) e físico-químicas (pH) dos produtos, considerando as seguintes variáveis: a. com adição de sorbato de potássio (controlo positivo), b. sem adição de sorbato de potássio (controlo negativo), c. com adição da Formulação A (1,13%), d. com adição da Formulação B (1%), e. com a combinação da Formulação A (0,38%) e da Formulação B (1%).

Durante o período de estudo, não foi observado crescimento de microrganismos totais nem de leveduras, assim como não ocorreu germinação de esporos de bacilos aeróbios e anaeróbios. Os valores de pH e  $a_w$  mantiveram-se constantes durante o armazenamento, com um ligeiro aumento nos graus Brix. Relativamente à cor, os recheios de banana tendem a tornar-se mais avermelhados e amarelados com o tempo, o que pode sugerir alterações químicas que afetarão qualidade destes recheios de fruta. Do ponto de vista da reologia do produto, o creme de banana apresentou um comportamento pseudoplástico, com ligeiras variações.

Conclui-se que os conservantes “clean label” testados demonstraram ser uma alternativa promissora ao sorbato de potássio. Contudo será necessário otimizar a formulação do preparado de banana para evitar problemas de textura e cor, sendo igualmente importante monitorizar as características sensoriais do produto ao longo do armazenamento. Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projeto Agenda VIIAFOOD/Plataforma de Valorização, Industrialização e Inovação Comercial da Indústria Agro/Alimentar, financiado pelo Plano de Recuperação e Resiliência (“PRR”) na sua componente 5– Capitalização e Inovação Empresarial, no âmbito do Regulamento do Sistema de Incentivos “Agendas à Inovação Empresarial” e Aviso Convite n.02/C05-01/2022, e especificamente no subprojeto “Desenvolvimento de preparações sem conservantes para a indústria da pastelaria com ingredientes naturais”. Um agradecimento especial ao Departamento de Investigação e Desenvolvimento da Decorgel

## BIOFILM FORMATION BY *ACINETOBACTER* STRAINS ON STAINLESS STEEL: IMPLICATIONS FOR FOOD SAFETY AND CONTAMINATION RISKS

Marta Carvalho\*, Joana Barbosa and Paula Teixeira

Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina e Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia.

\*s-mipcarvalho@ucp.pt

*Acinetobacter* biofilms are a growing concern in food safety due to their ability to form resistant bacterial communities on food contact surfaces. The genus *Acinetobacter*, which is widespread in natural and artificial environments, is known for its resistance to antibiotics and disinfectants. The presence of this bacterium in food, particularly meat, dairy products and vegetables, can occur as a result of contamination during processing and handling. Biofilm formation makes *Acinetobacter* spp. more resistant to cleaning and sanitising processes, allowing it to persist in production environments such as stainless steel and plastic surfaces. These biofilms are difficult to remove and can increase the risk of food contamination, compromising quality and safety. In addition, the ability of *Acinetobacter* spp. to survive under adverse conditions and resist antimicrobial agents poses a public health risk, particularly through the potential transmission of multi-drug resistant bacteria. This study aims to determine whether the *Acinetobacter* strains isolated from food are biofilm producers on stainless steel surfaces by evaluating their adhesion and biofilm formation under controlled experimental conditions.

Three 50 ml sterile Falcon tubes containing 45 ml Tryptic Soy Broth (TSB) were prepared with stainless steel coupons, for each isolate. The tubes, were inoculated with twenty *Acinetobacter* strains to achieve a test suspension of approximately  $10^8$  cells/ml. The tubes were static incubated at 22 °C for 5 days. Biofilms were removed by swabbing both sides of the coupons and vortexing for 1 minute. Serial decimal dilutions were made in Phosphate Buffered Saline (PBS) and inoculated onto sterile Petri dishes containing Tryptic Soy Agar (TSA) using the spiral plate technique. Plates were incubated overnight at 37 °C for colony counting. Three independent experiments were performed, including negative and positive controls.

Analysis of the results showed that the isolates with higher biofilm production belonged to the genera *Acinetobacter baumannii* 135.2 (Log CFU = 5.6), *Acinetobacter calcoaceticus* 109.1 (Log CFU = 5.8) and *Acinetobacter pittii* 87. 2 (Log CFU = 5.3), and the strains with the lowest biofilm formation were *Acinetobacter johnsonii* 145.3 (Log CFU = 4.2), *Acinetobacter baumannii* 133.1 (Log CFU = 4.4) and *Acinetobacter johnsonii* 118.9 (Log CFU = 4.6). There is significant variability in biofilm production between different strains, even within the same species such as *A. baumannii* and *A. johnsonii*. This suggests that even small genetic differences or environmental factors can greatly influence biofilm formation.

Prevention and control of *Acinetobacter* biofilms is therefore essential to ensure food safety and reduce the risks associated with their presence in the production chain.

## **DEVELOPMENT OF PROTEIN BARS WITH INSECT FLOUR (TENEBRIO MOLITOR): MICROBIOLOGICAL AND NUTRITIONAL EVALUATION**

Ana Vinhas, Ana Guimarães, Miguel Teixeira, André Mota

*Colab4Food – Laboratório Colaborativo Para a Inovação da Indústria Agroalimentar*

The Research for alternative and sustainable sources of protein has gained prominence in recent decades in response to global concerns about food security and environmental sustainability. In this context, insects have emerged as a promising option due to their high protein content, essential amino acid profile, and low ecological footprint. The aim of this study was to develop protein bars incorporating *Tenebrio molitor* larva flour in different concentrations and to evaluate their sensory, microbiological, and nutritional characteristics. Four variants of protein bars were formulated, containing 0%, 5%, 10%, and 15% insect flour, with the objective of assessing the impact of adding this ingredient on the properties of the products as well as on consumer acceptance. The insect flour used in this work was supplied by Thunder Foods S.A., a company specialized in the production of *Tenebrio molitor*. The bars underwent microbiological analysis to ensure food safety. The analyses followed the regulated microbiological standards for ready-to-eat foods, checking for the presence of pathogenic microorganisms such as *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, and the count of molds and yeasts. The results indicated that all samples, regardless of the concentration of insect flour, were within acceptable limits for human consumption, confirming that the production process was effective in ensuring the microbiological safety of the bars.

In terms of nutritional profile, the bars with 15% insect flour were the most promising overall. *Tenebrio molitor* flour is rich in high-quality proteins, as well as containing unsaturated fatty acids and micronutrients such as iron and zinc. The inclusion of this ingredient increased the nutritional value of the bars without substantially compromising the energy content. This suggests that insect flour can be an efficient alternative to improve the nutritional profile of food products, meeting the needs of consumers seeking functional foods and alternative protein sources.

This study demonstrated that the production of protein bars with *Tenebrio molitor* flour is feasible and with a good balance between nutritional value and food safety. The results of this study indicate that insect-based products have the potential to become an alternative in human nutrition.

**MICROBIOLOGICAL SAFETY OF URBAN FARMS IN THE PORTO METROPOLITAN AREA**

Lourenço Pinto de Rezende, Joana Bastos Barbosa, Paula Teixeira

*Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina - Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Porto, Portugal*

With new, more fast-paced lifestyles, the necessity for proximity to industrialized and highly populated cities has led to the migration of citizens from rural areas to urban centers in ever-growing numbers. These cities are, however, extremely dependent on external food resources. Urban food production has been encouraged to reduce this dependency on the rural agricultural output, with community, collective and private farms appearing throughout cities over the last few decades. Beyond enhancing food security, urban agriculture is recognized for promoting healthier lifestyles, fostering social interactions, and raising environmental awareness. Despite these advantages, the safety of consuming urban-grown produce remains a concern.

This study evaluated the microbiological quality of produce and associated growing environments from urban farms in the Porto metropolitan area by analyzing soil, compost, lettuce, and wild cabbage from 12 farms (10 community and 2 private). Microbiological analyses were conducted to enumerate total viable counts (TVC), lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, and *Bacillus cereus*, and to detect *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., and sulphite-reducing Clostridia (SRC) spores.

Results revealed significant bacterial contamination, particularly in lettuce, with 10 of 12 farms exceeding acceptable TVC standards (6 log CFU/g). Assuming that a reduction of 90-99% will occur during washing, the number of farms exceeding the threshold decrease to six and two, respectively. Moreover, contamination with *Enterobacteriaceae* and *E. coli* was substantial, with six and two lettuce samples above the acceptable limits of 4 log CFU/g and 3 log CFU/g respectively. These results suggest some inadequacy of hygiene standards in these farms. Additionally, high levels of *B. cereus* were observed in soil, compost and/or lettuce of most farms, raising some concerns due to the pathogenicity of this organism. While these values are below the estimated infectious dose of 5 log CFU/g, contamination with this pathogen is in most cases above the satisfactory limit.

Microbial contamination was substantially reduced in the edible parts of wild cabbages (e.g. leaves), indicating that the proximity to the soil is correlated with the amount and type of contamination. Nonetheless, SRC spores were ubiquitous across most matrices, indicating potential future hazards if safe handling practices are not followed.

Furthermore, *Listeria monocytogenes* was detected in two food samples (one cabbage and one lettuce) and *Salmonella* spp. in the cabbage samples of one farm.

These findings call attention to the public health risks associated with the current state of urban farming in Porto, particularly due to the presence of high levels of *E. coli*, *B. cereus*, and the contamination with *L. monocytogenes*, and *Salmonella* spp. Although these products require washing and, in some cases, cooking before consumption, these high bacterial counts underscore the need for stricter hygiene protocols and better food safety practices. Therefore, improving on-farm sanitation and guiding both farmers and consumers in learning how to handle these products correctly is essential to mitigate risks and ensure the long-term sustainability of urban agriculture. Addressing these concerns will be crucial to guarantee public health and the benefits of urban agriculture.

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA PROTEICA COM INGREDIENTES À BASE DE INSETOS**

Helena Pinheiro, Ana Luísa Guimarães, Ana Vinhas, André Mota

*Colab4Food – Laboratório Colaborativo Para a Inovação da Indústria Agroalimentar, Vairão, Vila do Conde*

Com o crescimento da população global e a pressão sobre os recursos naturais, a procura por fontes alimentares sustentáveis tem-se intensificado. A produção de carne, especialmente a vermelha, está associada a altos níveis de emissões de gases com efeito de estufa e uso intensivo de água. Os insetos comestíveis surgem como uma alternativa nutricionalmente viável, apresentando menor impacto ambiental e oferecendo elevado teor de proteína e de gorduras insaturadas. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma bebida proteica utilizando farinha de grilo como fonte alternativa de proteína, alinhada às tendências globais de saúde e sustentabilidade.

Para tal, inicialmente, foram testadas formulações com base de iogurte e fruta e com base de leite e fruta. Optou-se pela base de leite e fruta por ter uma consistência mais adequada ao pretendido. Assim, quatro formulações de base de leite foram desenvolvidas, variando a fruta utilizada: (i) frutos vermelhos; (ii) banana e aveia; (iii) cenoura e gengibre; (iv) ananás e manga.

A estas formulações base adicionaram-se por fim quantidades crescentes de farinha de grilo (*Acheta domesticus*), fornecida pela empresa The Cricket Farming Co., Lda, de forma que as concentrações finais na bebida fossem de 1%, 5% e 10% (p/p). A proporção dos vários ingredientes foi ajustada para garantir que 20% do valor energético da bebida proviesse de proteína, permitindo denominá-la como proteica. Após as formulações iniciais verificou-se que as bebidas com 10% (p/p) de grilo apresentam uma consistência muito espessa pelo que esta concentração foi descontinuada. Por outro lado, foram também descontinuidas, nesta fase, as formulações com banana/aveia e ananás/manga devido a alterações de cor. Assim, deste trabalho resultaram quatro formulações proteicas, duas de frutos vermelhos e duas de cenoura e gengibre, com percentagens de incorporação de grilo de 1% e 5% respetivamente.

Brevemente, proceder-se-á à caracterização destas bebidas em termos de pH e cor.

Este trabalho demonstra que a utilização de insetos como fonte proteica alternativa pode não apenas atender à demanda por produtos alimentares mais sustentáveis, mas também contribuir para a diversificação da dieta. A aceitação de insetos na alimentação humana pode ser impulsionada por inovações como a bebida proteica desenvolvida. Assim, a pesquisa por alternativas proteicas, como a farinha de grilo, representa uma estratégia promissora para enfrentar os desafios alimentares do futuro, promovendo práticas alimentares mais sustentáveis e ambientalmente responsáveis.

## STRAIN-DEPENDENT INTERACTION BETWEEN *LISTERIA MONOCYTOGENES* AND *ESCHERICHIA COLI* IN CO-CULTURE: PRELIMINARY INSIGHTS

Mónica Oliveira, Joana Barbosa, Paula Teixeira\*

*Universidade Católica Portuguesa, CBQF-Centro de Biotecnologia e Química Fina Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Porto, Portugal*

*Listeria monocytogenes* is a foodborne pathogen responsible for listeriosis, a serious illness with a mortality rate exceeding 40%. This condition primarily affects vulnerable populations such as pregnant women, newborns, the elderly, and those with weakened immune systems. When contaminated food containing *L. monocytogenes* is ingested, the bacteria encounter various barriers within the human digestive system, including the gut microbiota, which significantly reduces its potential to cause an infection.

The objective was to evaluate the interaction between *L. monocytogenes* and *Escherichia coli*, a representative human gut bacterium, by assessing their growth individually or in co-culture.

Two *Listeria* strains (strains 2542 and 2606; serotype 4b) were cultured individually and co-cultured with *E. coli* for a period of 26 hours. Samples were taken every two hours and enumeration was done in selective media.

The results showed that *E. coli* exhibit similar growth patterns when cultured individually or in co-culture with either *Listeria* strains. In contrast, the growth patterns of each *Listeria* strain when co-cultured with *E. coli* versus grown individually were similar only up to 12h. After this point, the 2542 strain co-cultured with *E. coli* showed a reduction of 1.78 log cycles compared to when grown individually. However, the 2606 strain experienced a reduction of 2.05 log cycles in the presence of *E. coli*.

These preliminary results suggest that strain 2606 was more affected by the presence of *E. coli* than strain 2542. Although further testing will be conducted with more strains, these initial findings indicate variability between strains. More tests will be conducted to assess the behaviour of these *Listeria* strains in the presence of other representatives of the predominant human gut bacteria.

**Acknowledgements:** This work was supported by National Funds from FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia through project GenoPhenoTraits4Persistence - Genomic and phenotypic traits contributing to persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environment (PTDC/BAA-AGR/4194/2021); <https://doi.org/10.54499/PTDC/BAA-AGR/4194/2021>. The authors would like to thank the scientific collaboration under the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) project UIDP/00329/2020. Financial support for author Mónica Oliveira was provided by the doctoral fellowships 2021.08345.BD.

## ASSESSING THE PERSISTENCE STATE IN *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN RESPONSE TO GENTAMICIN, BENZALKONIUM CHLORIDE, NaCl SOLUTIONS AND BACTERIOCIN SB83

Mariana Sousa<sup>1</sup>, Mónica Azevedo<sup>1</sup>, Marta Almeida<sup>1</sup>, Rui Magalhães<sup>1</sup>, Gonçalo Almeida<sup>2</sup>, Paula Teixeira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Católica Portuguesa, CBQF – Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Porto, Portugal

<sup>2</sup> National Institute for Agrarian and Veterinary Research (INIAV, I.P.), Vairão, 4485-655 Vila do Conde, Portugal

In the context of food safety, persister cells are a public health concern since these may contribute to the persistence and survival of bacteria in food processing environments. *Listeria monocytogenes* persisters are described as a subpopulation of growth-arrested cells that possess non-heritable, temporary tolerance to lethal doses of antibiotics (e.g., gentamicin) and can revert to an active state under favorable conditions. Gaps still exist to understand whether stresses present in the food-producing sector, such as disinfectants, salinity, and bacteriocins, can also contribute to the formation of persisters.

This preliminary study focused on understanding if persister cells could form in response to a high dosage of gentamicin, increasing concentrations of benzalkonium chloride, high salinity (20% and 34% NaCl solutions), and exposure to SB83 bacteriocin. The dose-dependent killing curves indicate that the four strains studied, isolated from Portuguese cheese factories, were induced into a persister state upon exposure to gentamicin. Conversely, the persister state was not observed in response to the benzalkonium chloride, NaCl solutions or bacteriocin SB83, under the tested conditions. This suggests that these stresses, independently, do not induce persisters. Nonetheless, *L. monocytogenes* cultures maintained viability in saline solutions for over a month, existing in both culturable and non-culturable forms.

Further investigation into the factors that influence persister formation in *L. monocytogenes* and the potential implications for food safety and public health is still needed.

**Acknowledgements:** This work was supported by National Funds from FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia through project GenoPhenoTraits4Persistence - Genomic and phenotypic traits contributing to persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environment (PTDC/BAA-AGR/4194/2021); <https://doi.org/10.54499/PTDC/BAA-AGR/4194/2021>. The authors would like to thank the scientific collaboration under the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) project UIDP/00329/2020.

## HIGH SALINITY AND TEMPERATURE CONTRIBUTE TO *LISTERIA MONOCYTOGENES* PERSISTENCE BY INDUCING THE VBNC STATE

Mónica Azevedo<sup>1</sup>, Mariana Sousa<sup>1</sup>, Marta Almeida<sup>1</sup>, Rui Magalhães<sup>1</sup>, Gonçalo Almeida<sup>2</sup>, Paula Teixeira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Católica Portuguesa, CBQF – Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Porto, Portugal

<sup>2</sup> National Institute for Agrarian and Veterinary Research (INIAV, I.P.), Vairão, 4485-655 Vila do Conde, Portugal

Foodborne listeriosis is a severe disease caused by *Listeria monocytogenes*, particularly severe for the immunocompromised, elderly, pregnant women, and newborns. Although the number of cases worldwide is low, its high mortality rate makes it a major public health concern. *L. monocytogenes* is a ubiquitous pathogen that can contaminate food-processing and storage environments, potentially compromising the food supply chain. Despite being exposed to stresses in these settings, such as nutrient deprivation, extreme temperatures, and high salinity, *L. monocytogenes* can adapt and survive. This resilience underscores the need to understand the underlying mechanisms of its persistence, including the ability to enter a viable but non-culturable (VBNC) state.

In our study, *L. monocytogenes* cultures were exposed to 20% and 34% saline solutions, for one month or longer, at 37 °C and 8 °C. Viable *L. monocytogenes* were enumerated using the BacLight assay, as well as colony counts on TSA and PALCAM media. Results showed a significantly higher number of viable bacteria in the BacLight assay compared to colony-forming unit enumeration in cultures exposed to both 20% and 34% NaCl at 37 °C, but not at 8 °C. This difference suggests the presence of VBNC cells induced by the combination of high salinity and temperature.

The VBNC state is a dormant condition in which bacteria can cope with harsh environmental stresses while remaining metabolically active, but lose the ability to grow in routine culture media. This poses an increased risk to human and animal health, as VBNC *L. monocytogenes* may, for example, tolerate the cleaning and disinfection procedures while evading detection by typical growth-based methods, commonly employed to monitor food-processing and storage environments. Thus, it is crucial to understand and study the risks associated with VBNC *L. monocytogenes* and implement more effective detection methods, potentially involving molecular screening techniques, to ensure food safety in the food-producing sector.

**Acknowledgements:** This work was supported by National Funds from FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia through project GenoPhenoTraits4Persistence - Genomic and phenotypic traits contributing to persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environment (PTDC/BAA-AGR/4194/2021);

<https://doi.org/10.54499/PTDC/BAA-AGR/4194/2021>. The authors would like to thank the scientific collaboration under the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) project UIDP/00329/2020.

## O TERRITÓRIO DO CÁVADO NA TRANSFORMAÇÃO DO SISTEMA ALIMENTAR

Marta Pinheiro<sup>1</sup>, Paulo Pereira<sup>1</sup>, Ana M. Barata<sup>2</sup>, Violeta Lopes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ATAHCA, R Condestável Dom Nuno Alvares Pereira 356/358, 4730-743, Vila Verde Barbudo, Braga

<sup>2</sup>INIAV I.P., BPGV- Polo Inov. Braga, QTA S. José, S. Pedro Merelim, Braga

As assimetrias entre as zonas rurais e urbanas continuaram a aumentar nas últimas décadas, contribuindo para um desequilíbrio de dimensões económicas, sociais e territoriais entre regiões.

A agrobiodiversidade e a nutrição estão ligadas, pelo que a sua abordagem conjunta pode trazer sinergias em termos de valorização conjunta de ambas as questões e a utilização dos ganhos de cada uma. No entanto, existem também potenciais compromissos e os impactos na saúde, na sustentabilidade e na equidade da mudança de políticas ou práticas em cada área devem ser monitorizados de perto.

Entretanto, e com base no que já sabemos, os atores do sistema alimentar, desde os peritos mundiais aos governos nacionais às comunidades locais, devem contribuir para a criação de ambientes institucionais favoráveis, que permitam o trabalho colaborativo e a elaboração de diretrizes globais e ações específicas neste contexto, que garantam o equilíbrio equitativo das diferentes perspetivas, necessidades e interesses.

A promoção de um consumo alimentar diversificado pode promover a conservação da agrobiodiversidade; e a promoção da agrobiodiversidade é uma abordagem prática para a diversidade alimentar, a segurança alimentar, a sustentabilidade alimentar e o desenvolvimento rural, através da valorização de alimentos tradicionais, por isso, em teoria, é possível obter ganhos mútuos.

O Plano Nacional para uma Alimentação Equilibrada e Sustentável (PNAES), foi estabelecido como parte da Agenda de Inovação Terra Futura em 2021. No entanto, desde 2013, Portugal tem vindo a desenvolver os conceitos de Sistema Alimentar Local (SAL) e Circuito Curto Agroalimentar (CCA), que se tornaram posteriormente elementos fulcrais na formulação de uma estratégia para a produção de alimentos saudáveis. A proposta, relativa a um quadro legislativo para sistemas alimentares sustentáveis (SFS) na União Europeia, tem por objetivo tornar o sistema alimentar da UE sustentável e visa estabelecer princípios, objetivos gerais, requisitos e responsabilidades para todos os intervenientes no sistema alimentar sustentável da UE.

O objetivo é apresentar um projeto de sensibilização para a necessidade de transição para um sistema alimentar sustentável (SAS) no Cávado, com foco no projeto **“CÁVADO...Com Sabor”**, dinamizado pela ATAHCA - Associação de Desenvolvimento das Terras Altas do Homem, Cávado e Ave, que é um Grupo de Ação Local (GAL), com os parceiros – INIAV, CIM Cávado e Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Norte - Unidade de Agricultura.

Este projeto insere-se no PNAES, tendo como área de atuação o território do Cávado, que engloba os concelhos de Amares, Barcelos, Braga, Esposende, Terras de Bouro e Vila Verde. O objetivo é sensibilizar a população do Cávado para práticas alimentares saudáveis e sustentáveis, segundo os princípios da Dieta Mediterrânica, assim como divulgar estratégias de redução do desperdício alimentar. O projeto, entre 2023 e 2024, realizou um número substancial de atividades de educação alimentar, assim como criou produtos e materiais de apoio à sua disseminação.



A estratégia preconizada pelo **“CÁVADO...Com Sabor”**, representa assim, um passo significativo na dinamização da implementação de um sistema alimentar local saudável e sustentável.

**MILK AS A SOURCE OF INNOVATIVE NANOCARRIERS: OLD FOODS CAN LEARN NEW TRICKS**

João Albuquerque<sup>1\*</sup>, Filipa A. Soares<sup>1,2</sup>, Andreia Granja<sup>1</sup>, Cláudia Nunes<sup>1</sup>, Ana R. J. Cabrita<sup>1</sup>, António J. M. Fonseca<sup>1</sup>, Salette Reis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Associado para a Química Verde (LAQV), Rede de Química e Tecnologia (REQUIMTE), Faculty of Pharmacy, University of Porto, Porto, Portugal

<sup>2</sup>School of Medicine and Biomedical Sciences (ICBAS), University of Porto, Porto, Portugal

The recent years have shown an increase in the search for healthier and more nutritious food products but also an increased concern by the consumers regarding the origin and sustainability of these products. Aiming at providing more than just adequate nutrition, a new class of foods – nutraceuticals – has arisen, which possesses functional benefits beyond their nutritional value, such as antihypertensive, antioxidant or antimicrobial effects. Combining these recent trends, this project focused on producing nanocarriers (NC) from milk-derived components, thus bringing added value to this product but also reducing overall waste. These novel NC were designed to encapsulate bioactive agents, thus improving their stability and bioavailability, and be applied in the development of innovative nutraceuticals. These NC were produced using organic solvent-free methods, which rely solely on technologies and equipment already used in the food and feed industries. This rendered nanoparticles with good colloidal stability and diameters between 200 and 600 nm, optimal dimensions for the oral administration and intestinal absorption of lipid-based nanoparticles. Furthermore, the NC maintained these properties for at least 10 months of storage at room temperature, indicating that they could be safely stored for at least this period without comprising their properties. Vitamin D, which is increasingly deficient in western societies, was selected as a model of lipophilic bioactive agent and it was possible to reach NC loadings of 10% of this vitamin with a 100% of encapsulation efficiency. The NC were also able to resist digestion in both gastric and intestinal biomimetic media, further supporting their potential to improve the bioavailability of sensitive nutrients or bioactive molecules across the digestive tract. Lastly, the NC showed no in vitro toxicity in fibroblasts (in accordance with ISO standards for food and medical devices) and no hemolytic activity ex vivo in red blood cells when used in concentrations up to 2.5 mg/mL, proving their high biocompatibility. Concluding, the developed milk fat-derived NC are exceptional candidates for bioactive compound delivery, with proven safety for in both the feed and food sectors and promote a circular economy approach towards dairy products.

**Funding:** This work received financial support from national funds (FCT/ MCTES) through the project PTDC/BAA-AGR/4923/2021 'NanoProMilk'.

## EVALUATING THERMAL EFFICACY IN THE INACTIVATION OF HEAT-RESISTANT MOLD ASCOSPORES

Sousa, D.<sup>1,2,4</sup>; Noronha, L.<sup>3</sup>; Silva S. C.<sup>1,2,4</sup>; Venâncio, A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>CEB - Centre of Biological Engineering, UMinho

<sup>2</sup>LABBELS – Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal

<sup>3</sup>Colab4Food - Collaborative Laboratory for Innovation in the Agri-Food Industry, Vairão, Portugal

<sup>4</sup>INIAV - National Institute of Agrarian and Veterinary Research, Vairão, Portugal

Heat-resistant moulds (HRMs) are microorganisms recognized for their ability to endure the high temperatures encountered during heat treatment. HRMs exhibit both an asexual phase, characterized by the production of non-heat-resistant spores called conidia, and a sexual phase, which generates heat-resistant ascospores. These ascospores are formed within asci, many of which are enclosed in a large fruiting body referred to as an ascocarp (Figure 1). Remaining dormant, ascospores need an external trigger stimulus, such as heat or high pressure, to germinate. The spoilage resulting from HRMs presents a major challenge for the fruit juice industry, resulting in considerable economic losses and a key issue in this sector is the presence of *Talaromyces trachyspermus*. Thus, the aim of this work was to evaluate the effect of thermal efficacy on the inactivation of ascospores produced by *Talaromyces trachyspermus*.

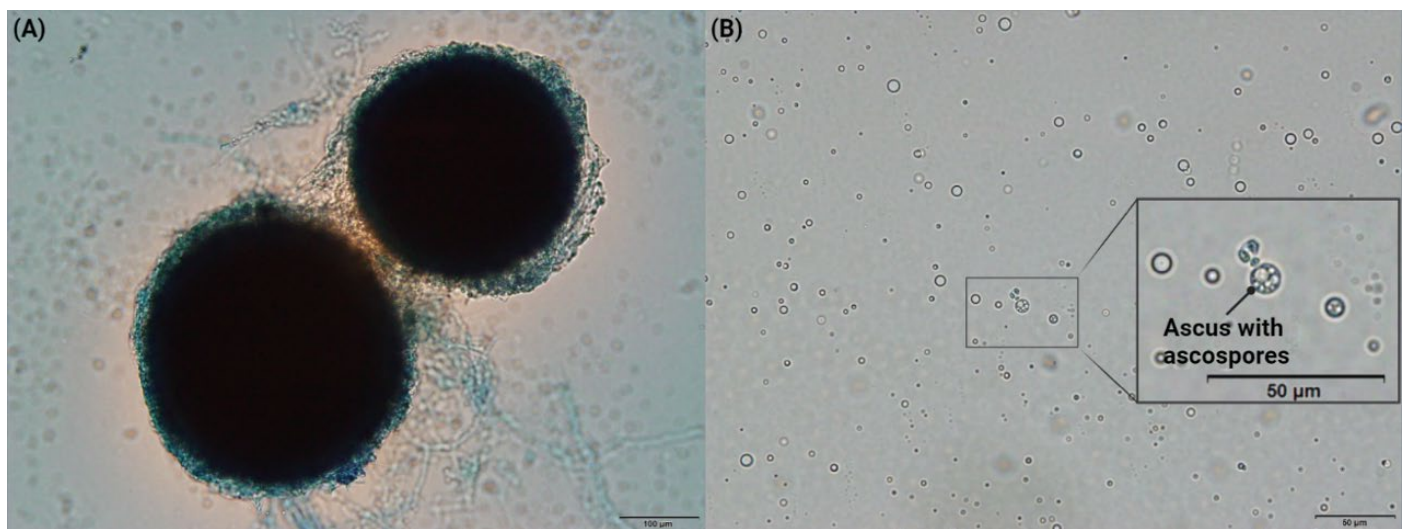


Figure 1: Microscopic images of mature ascocarps (A) and asci that contain ascospores (B) at different stages of developmental. Scale bars: A = 100 µm; B = 50 µm.

Ascocarps were produced on malt extract agar for one month at 25 °C. Subsequently, thermal inactivation studies were conducted to evaluate the conditions required to effectively neutralize the heat-resistant ascospores.

The thermal inactivation studies revealed that the ascospores exhibited notable heat resistance. Even after exposure to 80 °C for 5 minutes – a standard pasteurization temperature in the fruit juice industry – a substantial number of ascospores remained viable. This suggests that while some factories may use 80 °C for longer periods, shorter heat treatments may not be sufficient to fully inactivate these resilient spores. These findings underscore the crucial need to optimize both temperature and exposure time in pasteurization processes to ensure product safety and minimize spoilage risks.

### Acknowledgements:

This study was supported by the Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) under the scope of the strategic funding of UIDB/04469/2020 unit, with DOI 10.54499/UIDB/04469/2020, by LABBELS - Associate Laboratory in Biotechnology, Bioengineering and Microelectromechanical Systems, LA/P/0029/2020, by the National Institute for Agrarian and Veterinary Research (INIAV), by Colab4Food, and by SUMOL+COMPAL Marcas, S.A. Diana Sousa also acknowledges FCT for the fellowship 2023.04050.BDANA.

***Tenebrio molitor*: UMA FONTE DE PROTEÍNA SUSTENTÁVEL**

Susana Machado<sup>1,2</sup>, Daniel Lemos<sup>1</sup>, Anabela Costa<sup>1</sup>, Thiago F. Soares<sup>1</sup>, M. Beatriz P. P. Oliveira<sup>1</sup>, Carolina Oliveira de Souza<sup>3</sup>, Miguel A. Prieto<sup>2</sup>, Rita C. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal

<sup>2</sup>Grupo de Nutrição e Bromatologia, Departamento de Química Analítica e Ciências da Saúde, Instituto de Agroecologia e Alimentação (IAA)-CITEXVI, Universidade de Vigo, Vigo, Espanha

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos/Departamento de Análises Bromatológicas, Faculdade de Farmácia Universidade Federal da Bahia, Brasil.

A introdução de insetos na alimentação responde à crescente procura global por fontes de proteína alternativa e sustentável. O aumento populacional exerce pressão sobre os métodos tradicionais de produção de carne, que geram elevadas emissões de gases com efeito de estufa e utilizam demasiados recursos naturais. A produção de insetos, como o *Tenebrio molitor*, é mais eficiente e tem menor impacto ambiental, sendo estes simultaneamente ricos em proteína, gordura, vitaminas e minerais [1].

Neste estudo, avaliou-se o valor nutricional de *Tenebrio molitor* (estado larval) e da ração consumida, com foco no teor de proteína, gordura e minerais totais (métodos AOAC [2]).

Os hidratos de carbono totais foram obtidos por diferença e o perfil de ácidos gordos determinado por GC-FID [3].

Os insetos ingeriram uma ração com 5,9% de cinzas, 18% de proteína bruta e 4% de gordura, constituída maioritariamente por 51% de ácido linoleico, 21% de ácido palmítico e 20% de ácido oleico. O *Tenebrio molitor* apresentou uma composição constituída por 3,1% de minerais, 47% de proteína, 37% de gordura e 12,9% de hidratos de carbono. Desta composição resulta o fornecimento de 574 kcal/100 g. O perfil de ácidos gordos obtido [18% de ácido palmítico (SFA), 48% de ácido oleico (MUFA) e 23% de ácido linoleico (PUFA, ómega-6)] mostra que, embora rico em gordura, esta tem um perfil benéfico para a saúde cardiovascular e o sistema imunitário. Confirma-se a eficiência do *Tenebrio molitor* na conversão da dieta em nutrientes de alta qualidade (conversão de proteína de 2,6 e de gordura de 9,3) tornando-o uma opção promissora para sistemas de produção com menor impacto ambiental. Verifica-se igualmente um enriquecimento da gordura em MUFA (ácido oleico).

**Agradecimentos:** Este trabalho foi suportado pela FCT/MCTES através dos projetos UIDB/50006/2020, UIDP/50006/2020 e LA/P/0008/2020. S.M. agradece a bolsa ao projeto PTDC/SAU-NUT/2165/2021. R.C.A. agradece à FCT/MCTES o contrato CEECIND/01120/2017.

[1] A. Huis, D. Oonincx. Agron. Sustain. Dev. 37: 43, (2017).

[2] AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International (J. Dr. George W. Latimer Ed. 21st Edition ed. Vol. I), (2019).

[3] ISO 12966-2:2017. Gorduras e óleos animais e vegetais - Cromatografia gasosa de ésteres metílicos de ácidos gordos - Parte 2: Preparação de ésteres metílicos de ácidos gordos (2017).

## COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E PERFIL DE ÁCIDOS GORDOS DE *Gryllus assimilis* COMO FONTE ALIMENTAR ALTERNATIVA

Susana Machado<sup>1,2</sup>, Daniel Lemos<sup>1</sup>, Anabela Costa<sup>1</sup>, Thiago F. Soares<sup>1</sup>, M. Beatriz P. P. Oliveira<sup>1</sup>, Carolina Oliveira de Souza<sup>3</sup>, Miguel A. Prieto<sup>2</sup>, Rita C. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal

<sup>2</sup>Grupo de Nutrição e Bromatologia, Departamento de Química Analítica e Ciências da Saúde, Instituto de Agroecologia e Alimentação (IAA)-CITEXVI, Universidade de Vigo, Vigo, Espanha

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos/ Departamento de Análises Bromatológicas, Faculdade de Farmácia Universidade Federal da Bahia, Brasil.

A disponibilidade alimentar e as alterações climáticas são atualmente dois desafios da sociedade. À diminuição de terra arável, por degradação dos solos ou falta de água, juntam-se os fenómenos climáticos extremos, os incêndios e as doenças que passaram a infestar culturas não habituais. Por tudo isto, impõe-se pensar em sistemas alimentares sustentáveis e seguros, visando dar resposta à produção de alimentos para a população mundial. A farinha de insetos tornou-se uma possível solução sustentável para responder à necessidade de proteínas alternativas. Com uma produção que requer menos terra, água e ração, os insetos convertem a ração que ingerem em proteína, de forma eficiente e emitem menos gases com efeito de estufa. Rica em proteína, ácidos gordos, vitaminas e minerais, esta farinha é já aceite na alimentação animal e humana [1].

Neste trabalho, avaliou-se a composição nutricional do *Gryllus assimilis* (por métodos AOAC [2]) e o perfil de ácidos gordos (GC-FID) [3]. Avaliou-se, ainda, a composição da ração ingerida, tendo sido determinados 5,6% de cinzas, 19,9% de proteína bruta e 10,3% de gordura, com 17% de ácidos gordos saturados (SFA), 62% de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e 21% de ácidos gordos polinsaturados (PUFA). Por sua vez, o *Gryllus assimilis* apresentou 3,2% de cinzas, 48,4% de proteína, 39,8% de gordura e 8,56% de hidratos de carbono totais. Esta composição confere-lhe um elevado valor energético (586 kcal/100g). O perfil lipídico apresentou 36% de SFA, 35% de MUFA e 29% de PUFA. A análise nutricional do *Gryllus assimilis* revelou um perfil vantajoso, com altos teores de proteína e gordura de qualidade. O inseto apresentou, ainda, capacidades de conversão proteica (de 20 para 48%) e lipídica (de 10 para 40%) significativas. A sua riqueza em nutrientes essenciais torna-o uma alternativa promissora para uma alimentação sustentável.

**Agradecimentos:** Este trabalho foi suportado pela FCT/MCTES através dos projetos UIDB/50006/2020, UIDP/50006/2020 e LA/P/0008/2020. S.M. agradece a bolsa ao projeto PTDC/SAU-NUT/2165/2021. R.C.A. agradece à FCT/MCTES pelo contrato CEECIND/01120/2017.

### Referências:

[1] H.M. Lisboa Foods, 13, 1846 (2024).

[2] AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC, 21st ed, vol. I (2019).

[3] ISO 12966-2:2017. Gorduras e óleos animais e vegetais - Cromatografia gasosa de ésteres metílicos de ácidos gordos - Parte 2: Preparação de ésteres metílicos de ácidos gordos (2017).

**THE RESILIENCE OF *Listeria monocytogenes* TO ENVIRONMENTAL STRESSORS**Catarina Gonçalves<sup>1</sup>, Vânia Ferreira<sup>1</sup>, Paula Teixeira<sup>1</sup>, Rui Magalhães<sup>1</sup><sup>1</sup>Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005 Porto, Portugal. pteixeira@ucp.pt

*Listeria monocytogenes* is a significant foodborne pathogen capable of causing severe listeriosis, particularly in vulnerable people. To prevent its spread, effective disinfection strategies are essential. Quaternary ammonium compounds, like benzalkonium chloride, and peracetic acid are commonly used biocides in food processing environments. However, *L. monocytogenes* can exhibit remarkable resilience, particularly in high-salt conditions. This ability to survive in harsh environments, combined with its tolerance to certain disinfectants, is a persistent threat to food safety. This study evaluated the influence of high salt concentrations and common disinfectants, benzalkonium chloride and peracetic acid, on the viability of various *L. monocytogenes* strains, aiming to understand the role of environmental stressors in the survival and persistence of this foodborne pathogen. This will be achieved by determining the minimum inhibitory concentrations (MICs) under controlled conditions and survival in NaCl at 20 °C also under controlled conditions. The selected strains are part of the GenoPheno4Trait project culture collection and include strains previously classified as persistent and non-persistent in food processing environments, as well as five clinical strains belonging to the top 5 major clonal complexes in Portugal. Each strain was cultured on Brain Heart Infusion agar for 24 hours at 37 °C. A single colony was then transferred to 0.1% Tryptic Soy Broth (TSB) and incubated at 15 °C for 48 hours to determine MICs. Solutions of each disinfectant were prepared, followed by two dilutions in this medium. 50 µl of bacterial suspension and 50 µl of each disinfectant dilution were added to 96-well microtiter plates, resulting in a total volume of 100 µl/well. Microtiter plates were incubated at 15 °C for 48 hours and absorbance readings were recorded at 620 nm. To study the osmotic stress, the preparation of a cell suspension in phosphate buffer solution was adjusted to an OD<sub>600</sub> = 1, resulting in approximately 10<sup>9</sup> UFC/mL. *L. monocytogenes* strains were used to inoculate five grams of cooking salt, resulting in a maximum of 10<sup>6</sup> CFU/g. At 20 °C, the inoculated salt was kept, and bacterial enumeration was performed at specific time intervals. Negative controls, consisting of uninoculated cooking salt and disinfectant solutions, were included in both experiments. Three independent replicates were carried out in experiments. All *L. monocytogenes* strains exhibited a significant decline in viability over time in both studies. There was a significant difference in the way persistent, non-persistent, and clinical strains responded to disinfectants, with MICs varying from 1.25 to 40 mg/L for benzalkonium chloride and 50 to 100 mg/L for peracetic acid. Strains showed resilience for extended periods of time under osmotic stress conditions. Understanding these dynamics is essential to develop effective food safety strategies, given the ongoing challenge of *L. monocytogenes* contamination in the food industry. The variation observed between strains suggests the need for a more controlled and specific evaluation in the food industry.

**Funding:** This work was supported by National Funds from FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia through project GenoPhenoTraits4Persistence - Genomic and phenotypic traits contributing to persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environment (PTDC/BAA-AGR/4194/2021), DOI 10.54499/PTDC/BAA-AGR/4194/202. We would also like to thank the scientific collaboration under the FCT project UIDB/50016/2020.

## IMPACT OF SALT REPLACEMENT WITH *SALICORNIA RAMOSISSIMA* IN BREAD: NUTRITIONAL AND SENSORY EVALUATION

Lopes, M.<sup>A,B\*</sup>; Coelho, I.<sup>C</sup>; Ventura M.<sup>C</sup>; Nascimento A. C.<sup>C</sup>; Sanches-Silva, A.<sup>A,D,E</sup>; Cavaleiro C.<sup>A,F</sup>; Ramos, F.<sup>A,B</sup>

<sup>A</sup> University of Coimbra, Faculty of Pharmacy, Coimbra, Portugal

<sup>B</sup> REQUIMTE/LAQV, Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra, Coimbra, Portugal

<sup>C</sup> Food and Nutrition Department, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, INSA. IP, Lisboa, Portugal

<sup>D</sup> CECA — Centre for Animal Science Studies, ICETA, Porto, Portugal

<sup>E</sup> AI4AnimalS — Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences, Lisboa, Portugal

<sup>F</sup> Chemical Process Engineering and Forest Products Research Centre, Coimbra, Portugal

Sodium (Na) is an essential mineral that, along with chlorine, forms sodium chloride (NaCl), commonly known as salt. However, given the substantial scientific evidence linking excessive Na intake from salt, to an increased risk of cardiovascular disease, increasing focus has been placed on implementing strategies to reduce salt ingestion. This aims to improve public health and reduce the financial burden on healthcare systems. One effective approach to achieve this goal is the reduction of salt content in widely consumed processed foods, such as bread. However, salt, along with flour, water, and yeast, is considered a critical ingredient in baked goods. Briefly, salt promotes the following actions: i) improves the flavor and color of bread; ii) stabilizes the gluten network; iii) reduces the extensibility and viscosity of the dough; iv) inhibits yeast fermentation; and v) decreases water activity. Reducing the salt content of bread thus has a significant impact on techno-functional and sensory properties, namely in terms of texture, flavor, color, and shelf life, making it a challenging task.

Halophytes, defined as plant species capable of growing under high salinity conditions, may represent a good alternative to salt, mainly due to their ability to accumulate a diverse range of essential minerals in addition to Na, including potassium, calcium, and magnesium, which are known to contribute to the salty taste. *S. ramosissima*, an endogenous halophyte species from the coast of the Iberian Peninsula, is rich in nutrients and bioactive non-nutrients. Nevertheless, despite its growing importance in national and international markets, it remains underexploited.

Therefore, the present research work aimed to evaluate the effects of replacing 50 and 100% of the salt in bread with *Salicornia ramosissima*. The conventional bread formulation and the two test bread formulations were characterized for proximate and mineral composition using official AOAC procedures and an Inductive Plasma Coupled Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) method, respectively. The sensory attributes were then evaluated by a sample group of 73 consumers in a real bakery product retail environment. The results indicate that the partial replacement of salt in bread with *S. ramosissima* is a viable strategy, resulting in a 22% reduction in Na content compared to the reference bread, with excellent acceptance by consumers. On the other hand, the complete replacement of the salt allowed a reduction of around 60% in Na content compared to the reference bread, with a lower acceptance by consumers, but still a promising approach, particularly in the context of a gradual reduction of Na intake. Collectively, the data demonstrate the immense potential of using halophytes as a functional ingredients in the food industry.

## ENHANCING TRANSPARENCY AND SUSTAINABILITY IN THE RICE VALUE CHAIN THROUGH DIGITAL TRACEABILITY AND CONSUMER ENGAGEMENT

Gonçalves C<sup>1</sup>, Fernandes J<sup>1</sup>, Silva C<sup>2</sup>, Brites C<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> INIAV, National Institute for Agriculture and Veterinary Research, Oeiras, Portugal

<sup>2</sup> Ribarroz, Cabeção, Portugal

Rice presents significant traceability challenges across its supply chain. With growing consumer demand for transparency and safety, developing robust traceability systems is critical for ensuring a safe, sustainable, and authentic rice production<sup>1</sup>. As part of the TRACE-RICE project, a digital tool (App) was developed to facilitate field data recording in integrated rice production aligned with the European Union Common Agricultural Policy (CAP) requirements. Built on the ESRI Survey123 platform, this tool streamlines data collection from farmers, ensuring accurate, real-time documentation of agricultural practices, such as phytosanitary treatments, fertilization, and other operations, along with justifications<sup>2</sup>.

To enhance transparency for consumers, we conducted a pilot study in collaboration with a rice producer in the Mondego region of Portugal. Field data collected for rice sown in 2023 was linked to a unique QR code directly integrated onto rice packages. By scanning the QR code, consumers can access a map displaying the specific plot where the rice was cultivated, providing essential information on origin, cultivation methods, and adherence to sustainable practices. This innovation in rice traceability supports informed consumer choices and fosters trust by making the production journey accessible and transparent.

In the 2024 harvest, we expanded this work by including data collection for the new Portuguese *Caravela* rice variety, monitoring three additional plots in Tejo (Tagus) river region of Portugal.

Future plans include integrating blockchain technology into this system to ensure tamper-proof data storage, providing a secure and transparent supply chain from field to consumer. Blockchain integration would further enhance compliance with CAP guidelines and contribute to the sustainability and integrity of the rice supply chain, safeguarding against data manipulation and reinforcing trust in the food system.

This approach not only advances the digitalization of agricultural practices but also empowers consumers by providing accessible information about the quality, safety, and origin of the food they consume. By contributing to a more transparent and sustainable rice production system, this initiative represents a critical step toward promoting healthier and more trustworthy food choices for consumers.

### References

- [1] Yakubu, B. M., Latif, R., Yakubu, A., Khan, M. I., & Magashi, A. I. (2022). RiceChain: secure and traceable rice supply chain framework using blockchain technology. *PeerJ. Computer science*, 8, e801. <https://doi.org/10.7717/peerjcs.801>
- [2] Gonçalves, C., Fernandes, J., Silva, C., & Brites, C. Enhancing Rice Authenticity and Traceability Through a Digital Field Data Recording App. In: International Conference on Sustainable Foods (ICSF). Bragança, Portugal: Polytechnic Institute of Bragança. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.26380951.v1>

### Acknowledgments

Funding for this research was received from TRACE-RICE—Tracing rice and valorizing side streams along with Mediterranean blockchain, grant no. 1934, (call 2019, Section 1 Agrofood) of the PRIMA Program supported under Horizon 2020, the European Union's Framework Program for Research and Innovation.

## FERMENTAÇÃO SUSTENTÁVEL DE COGUMELOS *AGARICUS*: BENEFÍCIOS NUTRICIONAIS E BIOATIVOS EM NOVOS PRODUTOS ALIMENTARES

Ana Saldanha,<sup>1,2</sup> Diogo Salvati<sup>1,3</sup>, Laura Roman<sup>3</sup>, Manuel A. Coimbra<sup>2</sup>, Maria Inês Dias<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> CIMO, LA SusTEC, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300- 253 Bragança, Portugal;

<sup>2</sup> LAQV-REQUIMTE, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal;

<sup>3</sup> Food Technology Area, College of Agricultural Engineering, University of Valladolid, Av. Madrid 50, 34004, Palencia, Spain

A fermentação é considerada uma das formas mais ancestrais de biotecnologia tornando-se, ao longo do tempo, uma parte fundamental em diversas culturas, proporcionando inúmeros benefícios tanto para a saúde como para a conservação de alimentos. As bactérias do ácido láctico (LAB), amplamente utilizadas na fermentação de diversos alimentos, para além das propriedades antibacterianas, conferem também um grande auxílio na quebra de fatores anti nutricionais presentes nos alimentos melhorando, ao mesmo tempo, o sabor, aroma e textura dos produtos fermentados. O processo de fermentação com LAB pode também promover um aumento da biodisponibilidade de nutrientes, como vitaminas e minerais, e consequentemente desenvolver compostos de alto valor agregado. Este projeto teve como foco principal a fermentação de cogumelos da espécie *Agaricus*, com o objetivo de analisar as suas propriedades nutricionais, químicas e bioativas após o processo fermentativo. A análise dos cogumelos fermentados será direcionada para a identificação de melhorias no seu perfil nutricional, incluindo o aumento de vitaminas e minerais essenciais, e a redução de compostos anti nutricionais, que podem interferir na absorção de nutrientes pelo organismo. Sendo assim, será avaliado também o impacto da fermentação sobre os compostos bioativos, como antioxidantes e pré-bióticos, que são fundamentais para a promoção da saúde. Outro objetivo importante do projeto é a exploração da incorporação dos cogumelos fermentados em diversos produtos alimentares, visando o enriquecimento desses alimentos relativamente ao valor nutricional. Isso pode abrir novas possibilidades para o desenvolvimento de alimentos funcionais, que não apenas fornecem nutrientes essenciais, mas também oferecem benefícios adicionais para a saúde dos consumidores. A introdução de cogumelos fermentados em alimentos pode, ainda, proporcionar a oportunidade de explorar novas texturas e sabores, tornando os produtos mais atrativos, incentivando o aumento do consumo de cogumelos.

### Agradecimientos

À FCT/MCTES (PIDDAC): UIDB/00690/2020 (DOI:10.54499/UIDB/00690/2020) e UIDP/00690/2020 (DOI: 10.54499/UIDP/00690/2020); e SusTEC, LA/P/0007/2020 (DOI: 10.54499/LA/P/0007/2020); contrato-programa de emprego científico institucional de M.I.D. (10.54499/CEECINST/00016/2018/CP1505/CT0004) e BD de A.S. (2021.08346.BD). L. R. a Ramon y Cajal (RYC2021-032926-I) pelo MICIU/AEI/10.13039/501100011033 e pela União Europeia “NextGenerationEU/PRTR”, bem a FEDER Interreg VI A Espanha –Portugal (POCTEP) projeto de cooperação 2021-2027 TRANSCoLAB PLUS (0112\_TRANSCoLAB\_PLUS\_2\_P).

**ALMÔNDEGAS COM ALGAS: UM CONTRIBUTO PARA UMA ALIMENTAÇÃO MAIS SAUDÁVEL E NUTRITIVA**

Ana Gomes Rodrigues<sup>1</sup>, Mafalda Alexandra Silva<sup>2,3</sup>, Gilberto Costa<sup>1</sup>, Helena S. Costa<sup>2,3</sup>, Tânia Gonçalves Albuquerque<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

<sup>3</sup>REQUIMTE/LAQV-Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

As algas comestíveis têm-se afirmado como uma tendência na alimentação atual e na sociedade moderna, sendo uma opção saudável e sustentável caracterizada pelos seus teores em nutrientes como iodo, ferro, cálcio, magnésio, vitaminas do complexo B, fibra e antioxidantes. No entanto, as algas nem sempre são apreciadas pelos consumidores ocidentais devido a características como o sabor forte e salgado, a textura incomum e o aroma característico.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver almôndegas de carne de aves com a adição de algas comestíveis que respeitassem as características de um alimento saudável, mas que permitissem suavizar o sabor e textura das algas, criando assim um produto com melhor aceitação para o público em geral.

Foram desenvolvidos 7 tipos de almôndegas (1 sem alga incorporada, 6 com algas rehidratadas – *Palmaria palmata* (dulse), *Undaria pinnatifida* (wakame), *Porphyra* spp. (erva patinha), *Himanthalia elongata* (esparguete do mar), *Laminaria japonica* (kombu), e *Ulva lactuca* (alface do mar)). Para a formulação das almôndegas com algas foram utilizados os seguintes ingredientes: carne picada de frango, ovo, farinha de tremço, sumo de limão, levedura nutricional, alga, alho, cebola roxa, cogumelos frescos, pimentão doce, cominhos, pimenta preta, mostarda, tomilho e noz-moscada.

Para cada tipo de almôndega foi determinada, em duplicado, a composição nutricional (humidade, cinza, proteína, gordura, ácidos gordos, fibra alimentar e sal). O valor energético e o teor de hidratos de carbono foram obtidos por cálculo. Posteriormente, as almôndegas foram salteadas e assadas no forno para testar a sua aceitabilidade por parte do consumidor. Os resultados são apresentados em g/100 g de produto fresco e a análise de resultados foi realizada através do Software Microsoft Excel.

O teor de proteína variou entre 16,0 e 18,7 g/100 g para a almôndega com alga esparguete do mar e almôndega controlo, respetivamente. A almôndega enriquecida com alga wakame foi a que apresentou o menor teor de gordura ( $3,56 \pm 0,05$  g/100 g); o menor teor de fibra alimentar ( $3,54 \pm 0,45$  g/100 g); e o menor valor energético (107 kcal/100 g). As almôndegas foram maioritariamente bem aceites pelos consumidores, sendo que estes produtos tinham teor baixo de sal, de gordura total e saturada, e açúcares.

O desenvolvimento das almôndegas com diferentes tipos de algas comestíveis permitiu formular produtos com uma composição nutricional equilibrada, nomeadamente em produtos com baixos teores de sal, gordura e açúcares, atendendo aos princípios de uma alimentação saudável. Embora as algas possam representar um desafio sensorial para consumidores menos familiarizados, o trabalho desenvolvido conseguiu criar formulações bem aceites, principalmente ao combinar ingredientes e métodos de preparação que suavizaram o sabor e a textura das algas incorporadas. Assim, as almôndegas com algas revelam-se uma alternativa promissora para a promoção de uma alimentação saudável e adaptada às preferências dos consumidores.

## ASSESSING THE EFFICACY OF HOME COOKING IN MINIMIZING 121 PESTICIDE RESIDUES ACROSS DIFFERENT RICE VARIETIES

Filipa Carreiró<sup>1,2,\*</sup>, Sílvia Cruz Barros<sup>2,3,4,5,\*</sup>, Carla Brites<sup>2,6</sup>, Patrícia Cazón<sup>2,7</sup>, Duarte Torres<sup>3,4,5</sup>, Fernando Ramos<sup>1,8</sup>, Ana Sanches Silva<sup>1,9,10,\*</sup>

<sup>1</sup> University of Coimbra, Faculty of Pharmacy, Polo III, Azinhaga de St. Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal

<sup>2</sup> National Institute for Agrarian and Veterinary Research (INIAV), I.P., Av. da República 2780-157 Oeiras, Portugal

<sup>3</sup> EPIUnit-Institute of Public Health, University of Porto, 4200-450 Porto, Portugal;

<sup>4</sup> Faculty of Nutrition and Food Sciences, University of Porto, 4200-393 Porto, Portugal;

<sup>5</sup> Laboratory for Integrative and Translational Research in Population Health (ITR), 4200-450 Porto, Portugal

<sup>6</sup> GREEN-IT Bioresources for Sustainability, ITQB NOVA, Av. da República, 2780-157 Oeiras, Portugal

<sup>7</sup> Department of Analytical Chemistry, Area Food Technology, Faculty of Veterinary Science, University of Santiago de Compostela, Lugo, 27002, Spain

<sup>8</sup> REQUIMTE/LAVQ, R. D. Manuel II, Apartado 55142, Porto Portugal

<sup>9</sup> Centre for Animal Science Studies (CECA), ICETA, University of Porto, 4501-401 Porto, Portugal

<sup>10</sup> Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences (Al4Animals), 1300-477 Lisbon, Portugal

\* These authors contributed equally to the study

The growing reliance on pesticides to protect crops from pests in agricultural fields and household settings has increased concerns about their accumulation in the food chain. To improve food safety and reduce pesticide residue exposure, it is crucial to establish effective methods for residue mitigation. In this study, we evaluated the effectiveness of various processing techniques—such as cooking and steam cooking, both with and without pre-washing – in reducing the levels of 121 pesticide residues in long-grain, brown, and basmati rice.

Rice samples were artificially contaminated with pesticides at 20 and 50 µg/kg concentrations and then processed using different techniques. Factors influencing the reduction of pesticide residues included the adsorption properties of the rice grains, water solubility of the residues, and thermal breakdown during heating. Pesticides were extracted using the QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) method and analysed through high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS).

Our findings reveal that washing rice with apple cider vinegar before cooking resulted in a more significant reduction of pesticide residues than other methods. This highlights the potential of pre-wash treatments, combined with heat processing, in effectively mitigating pesticide residues in rice, enhancing the safety of this widely consumed staple food.

### Acknowledgements and Funding:

The study was funded by project TRACE-RICE—Tracing rice and valorizing side streams along Mediterranean blockchain, grant No. 1934, of the PRIMA Programme, supported under Horizon 2020, the European Union's Framework Programme for Research and Innovation. This research was also funded by PT national funds (FCT/MCTES, Fundação para a Ciência e Tecnologia and Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior) through the grant UIDB/00211/2020. F. Carreiró is grateful for her fellowship in the frame of the TRACE-RICE project.

## THE CATALYSE PROJECT - CATALYSING FOOD SAFETY INNOVATIONS THROUGH A COMMUNITY OF PRACTICE

Diana R. Fonseca, João Cortez, Paula Teixeira

*Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005 Porto, Portugal*

Contaminated food causes 600M cases of foodborne diseases and 420k deaths every year, resulting in 33M years of healthy lives lost, and this is possibly an underestimation.

Food safety is a critical aspect of the food sector to protect public health, as it is essential to ensure that the food we consume is free from harmful contaminants.

Despite recent advances in scientific research and innovation, several barriers hinder the widespread adoption of food safety improvements, such as a lack of collaboration and information sharing among stakeholders, complex regulations, and high costs of implementation.

Overcoming these barriers requires a coordinated and interdisciplinary effort among industry, regulators, researchers, and innovators to identify food safety priorities and translate them into practical innovative solutions. Therefore, the increase in collaboration among stakeholders can help drive the adoption of innovative technologies and practices.

To address these key challenges, CATALYSE, a European project, seeks to catalyse scientific innovations into practical food safety actions by creating a Community of Practice (CoP). A CoP is a group of people and organizations with a shared interest in a particular domain who collaborate to exchange knowledge, solve problems, and advance innovation. The CATALYSE CoP aims to foster collaboration and knowledge sharing between food safety actors to accelerate the adoption and scaling-up of innovative practices and technologies. This contributes to a more resilient, sustainable, and equitable community, meeting the needs of all stakeholders, from “farm2fork”, with the common goal of ensuring food safety.

Educational tools will be developed to fulfill stakeholders needs and the active dissemination of new knowledge and innovative solutions generated by the scientific and industry communities will be promoted. Besides, by creating effective online channels to connect knowledge and innovation ecosystems in food safety, CATALYSE will connect stakeholders across the food system, including regulators, industry professionals, researchers, and non-governmental organizations. This collaborative online platform will facilitate dialogue and collaboration across the whole food system, leading to win-win solutions for all stakeholders involved.

Through its focus on building a strong CoP, CATALYSE will drive the transfer and uptake of food safety knowledge and innovation, ensuring that cutting-edge research translates into real improvements in food safety practices.

CATALYSE will not generate science by itself or promote specific proprietary solutions: it will be a common online place where all the actors of the food chain can meet and define together the needs and possibilities that innovation can either answer and/or offer.

We invite you to join our CoP to connect with peers, access cutting-edge resources, and contribute to the development of safe and sustainable food systems. By becoming a member of CATALYSE CoP, you will have access to consolidated updates on food safety, all in one place.

## Multi-class method for the determination of antibiotics in honey by UHPLC-ToF-MS: a comprehensive assessment of extraction procedures

Rodrigues, Helena<sup>1,2</sup>; Leite, Marta<sup>2,3</sup>; M. Beatriz P.P.<sup>1,3</sup>; Freitas, Andreia<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup> University of Porto, Faculty of Pharmacy, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313, Porto, Portugal

<sup>2</sup> National Institute for Agricultural and Veterinary Research (INIAV), Rua dos Lagidos, Lugar da Madalena, 4485-655, Vila do Conde, Portugal

<sup>3</sup> Associated Laboratory for Green Chemistry (LAQV) of the Network of Chemistry and Technology (REQUIMTE), R. D. Manuel II, 4051-401 Porto, Portugal

In food-producing animals including bees, bacterial bee diseases can be prevented or treated by administering antibiotics. This can lead to the presence of veterinary drug residues in honey and honey-based products, endangering the safety of the products and impacting the health of consumers. In the European Union, Commission Regulation (EU) n° 37/2010 established Maximum Residue Limits (MRLs) for pharmacologically active substances in foodstuffs of animal origin. However, no regulatory limits have yet been set for honey or other beekeeping products. In this context, the development of accurate and reliable analytical methods is essential for effective risk assessment.

The aim of this study is to develop a multi-class method for the determination of veterinary drug residues from different classes, namely  $\beta$ -lactams, lincosamides, macrolides, quinolones, sulfonamides, tetracyclines and diaminopyrimidines, by using Ultra-High Performance Liquid Chromatography coupled to Time-of-Flight Mass Spectrometry (UHPLC-ToF-MS).

For the optimization study, the efficacy of solvent extraction was tested for several hypotheses and combinations of extraction solvents, including solutions with various concentrations of acetonitrile, water, methanol, McIlvaine buffer, EDTA, and acidification with acetic, formic, hydrochloric, trichloroacetic, and heptafluorobutyric acids were tested. The optimization of the extraction procedures also included the comparison between different Solid-Phase Extraction columns and various experimental conditions within the QuEChERS protocol.

The results indicated that the most effective extraction solvents were acetonitrile-based solutions, specifically acidified solvents. Finally, the extraction method with the most optimal analytical performance entailed an initial extraction step with formic acid 0.1% in ACN:H<sub>2</sub>O (80:20, v/v), followed by a modified QuEChERS protocol only including the salting out step. This method was further validated according to Commission Implementing Regulation 808/2021 evaluating several parameters including linearity, precision expressed as repeatability and reproducibility, recovery and Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantification (LOQ). In general, the data obtained were found to comply with the criteria set out in the regulation.

The developed analytical protocol with further detection by high resolution mass spectrometry will be an important analytical tool to assess health risks and to add value to the consumption of honey and honey-based products.

**Acknowledgements:** The authors would like to acknowledge the European Union's Framework Programme for Research & Innovation as part of the COST Action CA22105 - BEekeeping products valorization and biomonitoring for the SAFETY of BEEs and HONEY (BeSafeBeeHoney), as supported by the COST Association (European Cooperation in Science and Technology). The authors would also like to acknowledge Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P. (FCT, I.P.) for the support through the project grant No. UIDB/50006/2020.

**OPTIMIZATION OF MULTI-DETECTION METHODS FOR ANTIBIOTICS IN HONEY SAMPLES: A REVIEW**Ferreira, Rosa<sup>1,2</sup>, Oliveira, M. Beatriz P.P.<sup>1,3</sup>, Freitas, Andreia<sup>2,3\*</sup><sup>1</sup> *University of Porto, Faculty of Pharmacy, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313, Porto, Portugal*<sup>2</sup> *National Institute for Agricultural and Veterinary Research (INIAV), Rua dos Lagidos, Lugar da Madalena, 4485-655, Vila do Conde, Portugal*<sup>3</sup> *Associated Laboratory for Green Chemistry (LAQV) of the Network of Chemistry and Technology (REQUIMTE), R. D. Manuel II, 4051-401 Porto, Portugal*

The detection of antibiotics in honey samples is not merely a matter of food safety; it is a critical step in health promotion. Honey, a staple in many households for its nutritional and health properties, can contain antibiotic residues used in beekeeping to combat bees' bacterial diseases. The presence of these residues poses significant risks to human health, including allergic reactions and the development of antimicrobial resistance. Despite the ban on the use of antibiotics as growth promoters in livestock in the European Union since 2006, their use is still permitted in other parts of the world. With the exports increase from these countries to the EU, detecting and monitoring antibiotic residues in various food matrices, including honey, is essential and urgent.

A systematic review concerning the optimization and validation of analytical methodologies for the determination of antibiotics in honey was therefore performed to fulfil a comprehensive assessment of the current multi-detection technologies in this topic. PubMed and Scopus were used as databases for article search with a defined string of keywords, which included "honey," "validation," "antibiotics," and "analytical methods." The scope of the search and inclusion criteria was developed considering extraction procedures and detection methods. In this matter, data showed Solid Phase Extraction (SPE) methods are the procedures most used for the extraction of different families of antibiotics, though most of the research is focused on a limited number of compounds. For detection purposes, the golden method in analytical chemistry, the liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS) was also found to be the most prominent technique for determining multi-class antibiotics in this highly consumed food product. Screening methods have also been identified in several studies, including enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), chemiluminescence immunoassay, radioimmunoassay, colloidal gold immunoassay, and fluorescence immunoassay.

There are still many challenges regarding the detection of antibiotics in honey. However, the importance of quality control in this type of samples has been alerted throughout the EU to promote their monitoring and, consequently, to prevent public health issues. Current methods allow low detection limits but require very complex pre-treatment samples. In addition, long-term follow-up of strategies for honey monitoring is essential.

**Acknowledgements:** The authors would also like to acknowledge Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P. (FCT, I.P.) for the support through the project grant No. UIDB/50006/2020.

## GARANTIA DA SEGURANÇA ALIMENTAR NA CASA DO CONSUMIDOR: AVALIAÇÃO DA HIGIENE EM FRIGORÍFICOS DOMÉSTICOS

Ana Rita Barata<sup>1,2,3</sup> Beatriz Ferreira<sup>1,4</sup> Patrícia Oliveira<sup>1</sup> Hugo Guedes<sup>1</sup> Maria José Saavedra<sup>2,3,5</sup> Gonçalo Almeida<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) I.P.

<sup>2</sup>Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB) e Inov4Agro, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

<sup>3</sup>Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), Laboratório Associado de Ciência Animal e Veterinária (AL4Animals), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

<sup>4</sup>Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP)

<sup>5</sup>AB2Unit—Unidade de Antimicrobianos, Biocidas e Biofilmes, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

<sup>6</sup>Centro de Estudos de Ciência Animal (CECA-ICETA), Laboratório Associado de Ciência Animal e Veterinária (AL4Animals)

A Segurança Alimentar é de extrema importância para a saúde pública e abrange todas as etapas do ciclo de vida dos alimentos, incluindo o armazenamento de alimentos perecíveis nas nossas casas. Os frigoríficos domésticos podem comprometer a segurança alimentar devido à falta de controlo da temperatura e à ausência regular de limpeza, podendo ocorrer a proliferação de agentes patogénicos.

Este estudo avaliou as condições de higiene e a temperatura de funcionamento de frigoríficos domésticos com o objetivo de avaliar o impacto nos perigos microbiológicos. Foi realizada a pesquisa de três agentes patogénicos: *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. utilizando a metodologia PCR em tempo real. Para avaliar as práticas de higiene e armazenamento, foram realizadas as contagens de microrganismos indicadores: contagem de microrganismos a 30 °C (ISO 4833), Enterobacteriaceae (ISO 21528) e *Escherichia coli* (ISO 16649) utilizando um pano de esfregaço de 34 x 37 cm. Simultaneamente, foi registada a temperatura de cada frigorífico durante a noite com um “datalogger”.

Os resultados demonstraram que 55% dos frigoríficos estava a operar a temperaturas acima do recomendado, (5 °C) segundo o *Codex Alimentarius*. Nenhum dos agentes patogénicos pesquisados foi detetado. Dos frigoríficos amostrados, 98% exibiram a presença de microrganismos a 30 °C, com uma carga média de  $4,12 \pm 0,45$  log UFC/ pano, 62% exibiram a presença de Enterobacteriaceae com uma carga média de  $2,95 \pm 0,10$  log UFC/ pano e 9% exibiram a presença de *E. coli* com uma carga média de  $2,82 \pm 0,05$  log UFC/ pano.

Concluindo, as falhas de higiene identificadas e o uso inadequado do frigorífico, incluindo temperaturas acima do recomendado, representam um potencial risco à segurança alimentar. O estudo permitiu igualmente incentivar os participantes a melhorarem as práticas de higiene.

**Agradecimentos:** A Ana Rita Barata gostaria de agradecer à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT I.P.) pela bolsa de doutoramento com ref.ª 2023.04257.BDANA.



# Posters

Estratégias Inovadoras de Biocontrolo

## REDUÇÃO DOS NITRITOS EM PRODUTOS DE CHARCUTARIA: UMA “ALTERNATIVA” SAUDÁVEL E SEGURA?

Maria J. M. Nunes<sup>1</sup>, Lúcia Noronha<sup>2</sup>, Inês Cruz<sup>3</sup>, Fátima Carvalho<sup>3</sup>, Paula Teixeira<sup>1</sup><sup>1</sup> Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005 Porto, Portugal<sup>2</sup> Associação Colab4Food, Rua dos Lagidos, 4485-655, Vairão, Portugal<sup>3</sup> Primor – Charcutaria Prima, S. A., Avenida de Santiago de Gavião, 4760-003 Vila Nova de Famalicão, Portugal

Os produtos de charcutaria são consumidos mundialmente, e uma grande percentagem consumidores inclui esta gama de produtos na sua dieta. Nas últimas décadas, o consumidor tem mostrado um maior interesse pelo consumo alimentar e pelo conhecimento dos produtos e processos a eles associados, incluindo a sua composição. A redução da adição de conservantes, sal e açúcares, entre outros, são tendências alinhadas com as medidas recentes para uma alimentação mais saudável.

O nitrito, rotulado como E250 (nitrito de sódio) e E249 (nitrito de potássio), é um aditivo alimentar frequentemente utilizado nos produtos de charcutaria. As suas principais funções incluem a manutenção de características organoléticas e a conservação dos produtos, controlando o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogénicos nomeadamente, *Clostridium botulinum*. A coloração rosada, o sabor e a textura são algumas das propriedades que este conservante confere aos produtos.

Apesar de todas as vantagens tecnológicas, a adição de nitrito aos produtos alimentares poderá levar à formação de nitrosaminas, que são prejudiciais para a saúde do consumidor. Neste seguimento, com o objetivo de reduzir o uso de nitrito e minimizar o risco de formação das nitrosaminas, novas regulamentações foram implementadas. Atualmente, já existem produtos no mercado com alternativas ao nitrito como extratos de plantas ou outros compostos naturais. No entanto, manter as propriedades organoléticas e a segurança microbiológica dos produtos com estes compostos alternativos ao nitrito tem sido um desafio para a indústria de charcutaria.

Como suporte às alterações regulamentares, este estudo visa avaliar parâmetros microbiológicos e físico-químicos em dois produtos de charcutaria com o impacto da redução de nitrito em dois produtos: chouriço e fiambre de suíno. Cada produto, devido à sua composição, apresenta características diferentes: o fiambre, composto por carne de suíno e os demais temperos, é considerado um produto cozido com uma cor característica, que influencia a aceitabilidade do consumidor. Por outro lado, o chouriço é um produto mais heterogéneo e alaranjado, em que o nitrito não impacta tanto na componente da cor, mas mais na conservação.

Os parâmetros analisados neste estudo incluem os microbiológicos, de acordo com as respetivas normas ISO: contagem de bactérias totais a 30°C, bactérias do ácido láctico, enterobactérias, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e a deteção de esporos de *Clostridium* sulfito-redutor, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Em simultâneo, também foi avaliada a cor dos produtos, a atividade da água, o pH e o desempenho tecnológico (presença de exsudado, textura e comportamento do produto a fatiar).

Para ambos os produtos, concluiu-se que a redução da concentração de nitrito apresenta resultados promissores para a sua introdução no mercado, não se verificando diferenças significativas no tempo de vida útil dos produtos, nem nos parâmetros físico-químicos. De modo a robustecer os resultados preliminares obtidos, é ainda necessário desenvolver mais estudos.

## HONEY AUTHENTICATION: EMPLOYING ELECTROCHEMICAL GENOSENSORS TO ASSESS THE SAFETY, QUALITY AND PLANTS ORIGIN OF HONEYS

Stephanie Morais <sup>1</sup>, Eduarda Pereira <sup>2</sup>, Michelle Castanheira <sup>1</sup>, Marlene Santos <sup>2</sup>, Valentina Domingues <sup>1</sup>, Cristina Delerue-Matos <sup>1</sup> & M. Fátima Barroso <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> REQUIMTE/LAQV, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal; stlom@isep.ipp.pt, up200604160@edu.fc.up.pt, vdf@isep.ipp.pt, cmm@isep.ipp.pt, \*mfb@isep.ipp.pt

<sup>2</sup> REQUIMTE/LAQV, Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal; arp.eduarda@gmail.com, mes@ess.ipp.pt

Food fraud is a recurring problem in the global market with considerable consequences to the economy, public health and the environment. Among the frequently adulterated foods is honey. Honey is a naturally sweet food with a rich nutritional profile and multiple health benefits, making it a highly sought-after product by consumers worldwide. Nevertheless, honey is susceptible to adulteration. The mislabelling of a honey's geographic and botanical origin and composition, its melding with lower-quality honeys, processed sugars or other substances and the use of thermal treatments are some of the common fraudulent practices utilized for honey adulteration. Therefore, it is necessary to develop an analytical tool that can quickly, cheaply, and easily guarantee the quality and safety of honey. In this study, two electrochemical genosensors, based on the sandwich hybridization between two complementary sequences, were developed and optimized for the detection and quantification of *Erica arborea* (white heather plant) and *Castanea sativa* (chestnut tree) in honey samples. First, a synthetic DNA-target probe for *E. arborea* and *C. sativa* were selected and designed analysing public databases. Their complementary probe was modified with a thiol group and a fluorescein enzyme in its extremities and cut in two to generate the enzymatic amplification of the electrochemical signal. Using chronoamperometry, a concentration range of 0.03 to 2.00 nM for *E. arborea* and 0.03 to 1.00 nM for *C. sativa* was obtained. The developed genosensors was then successfully applied to detect and quantify *E. arborea* and *C. sativa* present in real plant samples and, hence, determine the botanic and, consequently, the geographic origin of the honeys. Thus, electrochemical genosensors are a promising, innovative and cost-effective tool to authenticate the origin of honeys, guaranteeing their quality and safety.

### Acknowledgements

This work received financial support from national funds (FCT/MCTES, Fundação para a Ciência e Tecnologia and Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior) through project MTS/SAS/0077/2020—"Honey+—New reasons to care honey from the Natural Park of Montesinho: A bioindicator of environmental quality & its therapeutic potential" and through the projects UIDB/50006/2020 and UIDP/50006/2020.

MFB thanks Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) for the FCT Investigator (2020.03107.CEECIND). Stephanie Morais (2023.028929.BD) and Michelle Castanheira (2023.05159.BDANA) are grateful to FCT and the European Union (EU) for their grants financed by POPH-QREN-Tipologia 4.1-Formação Avançada, funded by Fundo Social Europeu (FSE) and Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (MCTES).

## PHAGE ISOLATION AND BIOCONTROL POTENTIAL AGAINST *ERWINIA AMYLOVORA*: NEW STRATEGIES FOR MANAGING FIRE BLIGHT

Gabriel Abreu <sup>1</sup>, Edgar Garcia <sup>1</sup>, Carlos Rodrigues <sup>1</sup>, Hugo Oliveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CEB-Centre of Biological Engineering, University of Minho, Braga, Portugal

<sup>2</sup> LABBELS –Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal

Fire blight, caused by the bacterium *Erwinia amylovora*, is a highly destructive disease affecting members of the Rosaceae family, with particularly severe impacts on commercial apple and pear orchards worldwide. Current chemical-based control methods have proven largely ineffective and environmentally harmful, underscoring the urgent need for sustainable alternatives. Bacteriophages (phages), which specifically target and lyse bacterial hosts, offer a promising biocontrol strategy for managing this pathogen. In this study, we report the isolation, characterization, and biocontrol potential of four novel bacteriophages targeting *E. amylovora*.

In this work, phages were isolated from soil and water samples collected from infected pear orchards in Portugal using an enrichment technique. They were characterized in terms of host range, infectivity, genome sequencing, stability and host receptors.

We isolated four novel phages that have broad infectivity across tested *E. amylovora* strains (>98%), without affecting other related bacterial species. Genomic analysis confirmed that each phage is genomically distinct, with genome sizes ranging from 41.2 to 85.3 kb, and no genes associated with virulence factors. We also demonstrated that phage cocktails (combination of multiple phages) could be designed targeting different receptors (e.g. cellulose, capsule) to further enhance their antibacterial activity and prevent the development of bacterial resistances. In addition, phages remained stable under a wide range of temperatures (4-50°C) and pH conditions (4-9), demonstrating their applicability as biocontrol agents in diverse environmental conditions.

In summary, the successful isolation and characterization of novel phages highlights their significant potential for controlling *E. amylovora* and managing fire blight. While effective control was demonstrated *in vitro*, further tests are needed to evaluate its antibacterial properties under real-world conditions (e.g. *in-planta* or open fields).

**Funding:** This work was supported by BioFago project (PRR-C05-i03-I-000179), through national funds through the Agriculture and Fisheries Financing Institute, Public Institute - I.F.A.P.

## μQUECHERS AS A NEW ANALYTICAL METHOD FOR THE DETERMINATION OF RESIDUES OF PESTICIDES IN FRUIT BY-PRODUCT EXTRACTS

Ana Rita Soares Mateus<sup>1,2,3,4</sup>, Sílvia Cruz Barros<sup>1</sup>, Angelina Pena<sup>2,3</sup>, Ana Sanches-Silva<sup>2,4,5</sup>

<sup>1</sup> National Institute for Agrarian and Veterinary Research (INIAV), I.P., Rua dos Lágidos, Lugar da Madalena, Vila do Conde, Portugal

<sup>2</sup> University of Coimbra Faculty of Pharmacy, Polo III, Azinhaga de Sta Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal

<sup>3</sup> REQUIMTE/LAVQ, R. D. Manuel II, Apartado 55142, 4501-401 Porto, Portugal

<sup>4</sup> Centre for Animal Science Studies (CECA), ICETA, University of Porto, 4501-401 Porto, Portugal

<sup>5</sup> Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences (AL4Animals), 1300-477 Lisbon, Portugal

Extracts from fruit by-products are a hot topic in the circular economy, both to produce functional foods and active packaging, due to the presence of bioactive compounds [1]. However, when preparing extracts from by-products to increase their antioxidant activity, there is also the risk of concentrating pesticide residues and potentially reaching concentrations considered unsafe [2]. Therefore, there was a need to develop a method to assess the content of pesticide residues in extracts obtained from by-products.

This work optimized and validated a methodology based on μQuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) extraction followed by High-Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry (HPLC–MS/MS) to determine residues of pesticides in extracts obtained from fruit by-products.

The analytical methodology was successfully validated for the determination of 105 residues of pesticides, demonstrating good linearity, low limit of quantification (LOQ, of 10 μg/kg), repeatability (RSD<sub>r</sub> between < 19%), and precision inter-day (RSD<sub>r</sub> < 19%), accuracy (recovery between 90 to 107%), following the guidance document SANTE/11312/2021v2 [3].

Additionally, the developed method was used to determine the residues of pesticides present in Mediterranean fruit by-product extracts, including citrus pomace (lemon, orange and lime), sweet cherry pits, date, and grape seeds. Fungicides were the main class of pesticides detected in fruit by-products. Grape seed extracts showed the highest frequency of detected pesticide residues with twelve fungicides and one insecticide but below the MRLs established for wine grapes. Contrary, sweet cherry pit extracts presented high levels of residues of pesticides, e.g. high content of tebuconazole (1.57 ± 0.13 mg/kg) was found in *Cambo Corso* vr., higher than the Maximum Residue Level (MRL= 1 mg/kg) for the edible portion of sweet cherries.

In summary, the study of pesticide residues should also be carried out on by-product extracts for food applications to ensure a safe circular economy. Out of the extracts evaluated, those from date stones and citrus by-products were considered the safest for incorporation into food supplements and active packaging. Looking ahead, it is crucial to establish MRLs for pesticide residues in fruit by-products. This will provide regulatory clarity and enhance consumer confidence in the safety of these valuable materials, ultimately supporting their broader utilization in the food industry. This proactive approach will contribute to protecting Public Health while promoting sustainability and waste reduction in food production systems.

**Acknowledgements:** This work was financially supported by the research project ValICET (PRIMA/0001/2020) - Valorise foods and Improve Competitiveness through Emerging Technologies applied to food by-products within the circular economy framework (section 2 PRIMA project) funded in Portugal by the Foundation for Science and Technology (FCT). This work received financial support from FCT/MCTES (UIDB/00211/2020, DOI 10.54499/ UIDB/00211/2020) through national funds. A.R.S.M. would like to thank to Foundation for Science and Technology (FCT) for her fellowship (2023.04705.BDANA).

### References:

1. P. Skwarek, M. Karwowska. Fruit and vegetable processing by-products as functional meat product ingredients - a chance to improve the nutritional value. *LWT*, 189 (2023) 115442.
2. A.R.S. Mateus, A. Pena, R. Sendón, C. Almeida, G.A. Nieto, K. Khwaldia & A. S. Silva. By-products of dates, cherries, plums, and artichokes: A source of valuable bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 131 (2023) 220–243.
3. European Commission. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANTE 11312/2021, (2021).

## EVALUATING THE EFFECTIVENESS OF FUNGICIDES ON STEMPHYLIUM VESICARIUM STRAINS ISOLATED FROM 'ROCHA' PEARS AFFECTED BY BROWN SPOT DISEASE: IMPACT ON FOOD SECURITY

Inês Mendonça<sup>1,2,3</sup>, Miguel Leão<sup>2</sup> Armando Venâncio<sup>3,4</sup> Sónia Silva<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> INIAV, IP - National Institute for Agrarian and Veterinary Research, Polo de Vairão, Rua dos Lagidos, Portugal

<sup>2</sup> INIAV, IP - National Institute for Agrarian and Veterinary Research, Polo de Alcobaça, Rua de Leiria, Portugal

<sup>3</sup> Centre of Biological Engineering, University of Minho, Braga, Portugal

<sup>4</sup> LBBELS – Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal

Brown spot disease (BSP), caused by the pathogen *Stemphylium vesicarium*, poses a significant threat to 'Rocha' pear crops, leading to substantial economic losses and potential food security concerns. Despite the growing resistance of fungal pathogens, fungicides remain a commonly employed method for managing fungal diseases in agriculture and the BSP. Therefore, this study sought to evaluate the effectiveness of different fungicides employed by 'Rocha' pear producers in treating and controlling BSP caused by *S. vesicarium* strains isolated from symptomatic and asymptomatic leaves and fruits of 'Rocha' pears (Figure 1).

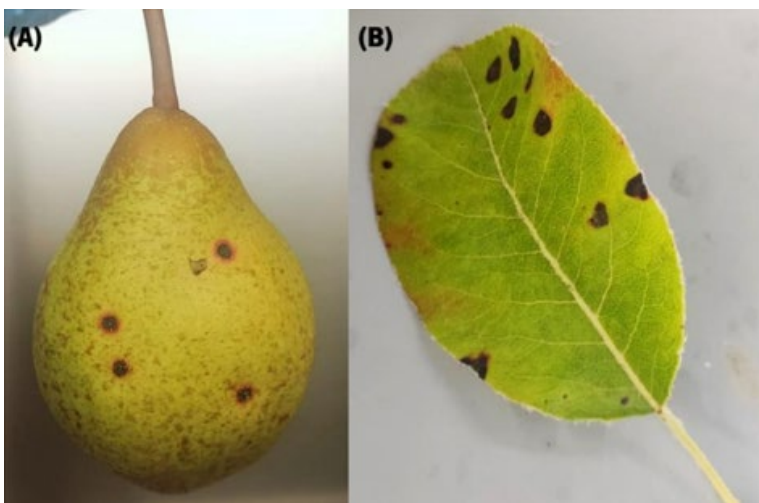


Figure 1:  
"Rocha" pear (A) and leaf from "Rocha"  
pear (B) with symptoms of BSP.

The efficacy of the seven fungicides was evaluated by measuring the inhibition of mycelial growth in ten strains of *S. vesicarium*. This assessment was conducted on potato dextrose agar medium for 10 days at 25 °C, using fungicide concentrations that matched the recommended rates for field application. The results indicated that, out of the seven fungicides tested, only one successfully inhibited the overall growth of all ten *S. vesicarium* strains. Additionally, two fungicides demonstrated moderate efficacy in controlling *S. vesicarium* growth, with one completely suppressing only four strains. Meanwhile, four of (A) (B) the fungicides demonstrated only limited effectiveness, failing to significantly inhibit the growth of any of the ten strains. This research enhances our understanding of BSP disease management, revealing that the vast majority of fungicides employed by producers of 'Rocha' pear are ineffective against *S. vesicarium*. This dilemma presents significant challenges to food security and raises environmental and health concerns.

The authors acknowledge the Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) for the fellowship 2023.04778.BDANA. The authors also acknowledge "Rocha" pear producers for providing pear and leaf samples, which were essential for the successful completion of this study.

**GENOPHENO4TRAIT PROJECT - GENOMIC AND PHENOTYPIC TRAITS CONTRIBUTING TO PERSISTENCE OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN FOOD PROCESSING ENVIRONMENT**

Lúcia Noronha<sup>a</sup>, Ana Sousa<sup>a</sup>, Vânia Borges<sup>b</sup>, Rui Magalhães<sup>b</sup>, Paula Teixeira<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Colab4Food - Collaborative Laboratory for Innovation in the Agri-Food sector, Rua dos Lagidos, 4485-655 Vairão

<sup>b</sup>Universidade Católica Portuguesa, CBQF – Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005, Porto

*Listeria monocytogenes* is a foodborne pathogen responsible for a deadly disease - listeriosis- and major food recalls. Listeriosis represents the most severe human infectious disease in terms of hospitalization, with the highest case fatality rate of zoonotic diseases in the EU. In addition to suffering, functional disability and death, *L. monocytogenes* have a huge economic impact in food industry. Some strains of this foodborne pathogen can persist for months to years in Food Processing Environment (FPE), affecting all the food chain. These strains have a major role in contamination events, and consequently major impact in food industry.

The overall objective of the GenoPheno4Trait project is to improve food safety and decrease food waste reducing food contamination with *L. monocytogenes*. This project addresses the control of *L. monocytogenes* along the food chain contributing to support human health through reducing listeriosis. The proposed holistic approach will augment knowledge and define control strategies regarding persistence of *L. monocytogenes* in the FPE.

## TURNING WASTE INTO SOLUTIONS: BIOACTIVE POTENTIAL OF PROPOLIS INDUSTRY BY-PRODUCTS

Nuno Mendes<sup>1,2</sup>, Ana Cunha<sup>1,2</sup>, Cristina Almeida Aguiar<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, School of Sciences, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

<sup>2</sup>Center of Molecular and Environmental Biology (CBMA), University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

Propolis, a natural product made by bees from plant resins, exhibits various bioactivities such as antimicrobial, antitumor, anti-inflammatory and antioxidant properties (Silva-Carvalho *et al.*, 2015), which have been driving new industries and markets for propolis-based products. However, raw propolis can be rejected by the major industries due to non-compliance and/or shortage issues, being discarded from the commercial pipeline. Aligned with a circular economy, in order to promote a more sustainable agri-food chain for all as outlined in the European Green Deal (EGD), our objective was to evaluate the bioactive potential of such underutilized propolis waste. Three Portuguese propolis samples were studied: Caramulo (Cr18), harvested in 2018 and rejected by the pharmaceutical industry for not meeting quality standards; a second sample, composed of mixed propolis leftovers (mPN1), small quantities that beekeepers from the North of Portugal were unable to market; and, finally, propolis harvested in 2023 from Gerês (G23), used as a control sample due to the consistent biological and chemical profiles of Gerês propolis over the years (Freitas *et al.*, 2019).

All the samples were extracted with ethanol in water (70 %, v/v), characterized for phenolic compounds contents and tested *in vitro* for antimicrobial activity against a panel of bacteria and phytopathogenic fungi/oomycetes and for antioxidant capacity using the DPPH• assay. mPN1.EE<sub>70</sub> showed the highest antioxidant capacity among the three hydroalcoholic extracts (EC<sub>50</sub> = 19.16 ± 1.84 µg/mL), followed by Cr18.EE<sub>70</sub> and G23.EE<sub>70</sub>. Phenolic composition is a key parameter for the commercial value of propolis for it is linked to its bioactivities: while mPN1.EE<sub>70</sub> displayed the highest ortho-diphenol content (542.2 ± 11.8 mg GAE/g), Cr18.EE<sub>70</sub> exhibited the highest contents of total polyphenols (175.0 ± 0.9 mg GAE/g) and total flavonoids (77.8 ± 2.3 mg Q/g). The extracts showed higher antibacterial activity against Gram-positive bacteria, particularly *B. subtilis* (< 50 - MIC - 200 µg/mL), than to the Gram-negative *Escherichia coli* (MIC > 2000 µg/mL). Regarding anti-oomycete activities, mPN1.EE<sub>70</sub> and Cr18.EE<sub>70</sub> were the most active extracts, with approximately 91 % inhibition of *Phytophthora cinnamomi*, followed by G23.EE<sub>70</sub> with approximately 83 % inhibition, both at 2000 µg/mL. However, against the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*, the higher inhibitions was obtained with Cr18.EE<sub>70</sub> (32.0 ± 6.0 %) followed by G23.EE<sub>70</sub> (25.0 ± 3.7 %) at 500 µg/mL, showing different antimicrobial efficacies and specificities. Given these results and considering the goals of reducing agro-food waste, future studies will focus on coatings, using these extracts in strategies to extend the shelf life of various fruits, promoting food waste reduction and the reuse of underutilized propolis samples.

### REFERENCES:

- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: a complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015(1), 206439.
- Freitas, A. S., Cunha, A., Cardoso, S. M., Oliveira, R., & Almeida-Aguiar, C. (2019). Constancy of the bioactivities of propolis samples collected on the same apiary over four years. Food Research International, 119, 622-633.

## ASSESSING UV-C LIGHT TREATMENT AS A METHOD TO CONTROL HIDDEN INFESTATIONS OF WEEVIL (*SITOPHILUS* SPP.) IN STORED RICE

Inês Sousa<sup>1,2,3</sup>, Nicole Ferreira<sup>2,4</sup>, Vanessa Pereira<sup>2,4,5</sup>, Graça Barros<sup>3</sup>, António Mexia<sup>3</sup>, Carla Brites<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> National Institute for Agricultural and Veterinary Research (INIAV), I.P., Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal

<sup>2</sup> GREEN-IT, Bioresources for Sustainability, Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal

<sup>3</sup> Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center (LEAF), Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal;

<sup>4</sup> IBET - Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Apartado 12, 2781-901 Oeiras, Portugal

<sup>5</sup> Instituto de Tecnologia Química e Biológica António Xavier, Universidade Nova de Lisboa, Av. da República, 2780-157 Oeiras, Portugal

Effective strategies for controlling rice infestations by *Sitophilus* species (rice weevil) are crucial for reducing waste and safeguarding food quality. Hidden infestations, often undetected until the adult insect emerges, present a unique challenge, as eggs are laid in the field, making early detection difficult. Current chemical disinfestation methods, while effective, pose environmental and health risks, sparking interest in alternative solutions like ultraviolet (UV) light treatment.

UV light in the 200-280 nm range (UV-C), a non-ionizing form of electromagnetic radiation with germicidal potential, offers a promising non-toxic approach for food disinfection<sup>1</sup>. This study examines the impact of UV-C diodes that emit light at 280 nm on rice previously infested with *Sitophilus* spp., applying exposure durations of 15, 30, and 40 minutes. Infestation progression was monitored via daily carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) measurements using a portable sensor (CheckMate 9900, PBI Dansensor). Our findings indicate the persistence of weevils in UV-C-treated rice, suggesting that limited penetration or insufficient UV doses may reduce efficacy.

Higher doses of UV-C could potentially improve insect reduction, though challenges remain due to UV-C limited penetration in solid foods<sup>2</sup>. This research underscores the need for further studies on UV-C applications at varied doses, as well as testing the direct exposure on rice weevil larvae and pupae, to enhance the method's effectiveness for grain disinfestation.

**Funding:** Funding for this research has been received from TRACE-RICE with Grant nº 1934, (call 2019, section 1 Agrofood) which is part of the PRIMA Programme supported under Horizon 2020, the European Union's Framework Programme for Research and Innovation. This study was also funded by FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P., under the projects UIDB/04551/2020 of GREEN-IT – Bioresources for Sustainability, with base funding (doi: 10.54499/UIDB/04551/2020) and programmatic funding (doi: 10.54499/UIDP/04551/2020), the project UIDB/04129/2020 of LEAF – Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food, Research Unit, and through PhD grant number 2023.02433.BDANA to Inês Sousa.

### References:

1. Dittgen, C. L. *et al.* Chemical, physical, and sensory changes in rice subjected to UV-C radiation and its acceptability to rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and humans. *J. Stored Prod. Res.* **90**, 101760 (2021).
2. Fan, X., Huang, R. & Chen, H. Application of ultraviolet C technology for surface decontamination of fresh produce. *Trends Food Sci. Technol.* **70**, 9–19 (2017).

**EXPLORING THE POTENTIAL OF KILLER YEASTS FOR FOOD BIOCONTROL**

Patrícia Serra<sup>1,2</sup>, Daniela Araújo<sup>1,2,3</sup>, Beatriz Pereira<sup>4</sup>, Anita Torres<sup>4</sup>, Fernanda Gomes<sup>2,3</sup>, Cristina Almeida Aguiar<sup>4,5</sup>, Sónia Silva<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>INIAV – National Institute for Agrarian and Veterinarian Research, Rua dos Lagidos, Vairão, Vila do Conde, Portugal

<sup>2</sup>CEB - Centre of Biological Engineering, University of Minho, Braga, Portugal

<sup>3</sup>LABBELS – Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal

<sup>4</sup>DB- Department of Biology, University of Minho, Braga, Portugal

<sup>5</sup>CBMA- Centre of Molecular and Environmental Biology (CBMA), University of Minho, Braga, Portugal

Killer yeasts produce toxins that are lethal to other microorganisms, giving them a competitive advantage in many environments. This phenomenon enhances their potential as natural biocontrol agents against pathogens and spoilage organisms in food systems. Thus, this study aimed to assess the killer activity potential of yeasts isolated from raw milk in Portugal's northern dairy region across various pH levels and temperatures, with the goal of identifying them as potential candidates for food biocontrol. To assess the killer potential of 12 yeast strains from various species, a cross-reaction process protocol was conducted at pH levels of 3, 4, and 7, and temperatures of 20°C, 25°C, and 37°C. The results revealed that most of the strains displayed killer activity across all tested conditions; however, this activity was affected by temperature and pH levels. Specifically, a greater number of yeasts exhibited killer activity in acidic environments (pH 3 and 4) at temperatures of 20 °C and 25 °C compared to alkaline conditions (pH 7) at both 25 °C and 37 °C. These findings offer critical insights that could pave the way for innovative biotechnological applications of these yeasts, enhancing food safety and fostering sustainable biocontrol practices in the future.

## VIGILÂNCIA DE RESISTÊNCIAS E RESÍDUOS EM PEQUENOS RUMINANTES DA REGIÃO CENTRO

Alexandra Baptista<sup>1,2</sup>; Carla Santos<sup>1</sup>; Rita Cruz<sup>1,3,4</sup>; Fernando Esteves<sup>1,5</sup>; João Mesquita<sup>3,4,6</sup>; Hélder Quintas<sup>7</sup>; Ana Matos<sup>8</sup>; Pedro Caseiro<sup>9</sup>; Pedro Carreira<sup>10</sup>; Ana Amaro<sup>11</sup>; Andreia Freitas<sup>11</sup>; Helena Vala<sup>1,5,12</sup>; Ana Maria Aires Pereira<sup>1,5,13</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico de Viseu, Escola Superior Agrária de Viseu, Campus Politécnico, 3504-510 Viseu, Portugal

<sup>2</sup>Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados 5000-801, Vila Real, Portugal

<sup>3</sup>Epidemiology Research Unit (EPIUnit), Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto, Porto 4050-091, Portugal

<sup>4</sup>Laboratório para a Investigação Integrativa e Translacional em Saúde Populacional (ITR), Porto 4050- 600, Portugal

<sup>5</sup>CERNAS-IPV Research Centre, Instituto Politécnico de Viseu, Campus Politécnico, Repeses, 3504-510 Viseu, Portugal

<sup>6</sup>ICBAS-School of Medicine and Biomedical Sciences, Porto University, 4050-313 Porto, Portugal

<sup>7</sup>Mountain Research Centre (CIMO), School of Agriculture, Polytechnic Institute of Bragança (IPB), Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal;

<sup>8</sup>Instituto Politécnico Castelo Branco, Escola Superior Agrária de Castelo Branco, Quinta da Senhora de Mércules, 6000-909 Castelo Branco, Portugal

<sup>9</sup>Diogo Themudo Sociedade Unipessoal Lda., Rua da Fontanheira 8, 3520-021 Nelas, Portugal

<sup>10</sup>Clínica Veterinária Arricom, Avenida General Humberto Delgado Lote 4/RC-D, 2040- 329 Rio Maior, Portugal

<sup>11</sup>INIAV - National Institute of Agrarian and Veterinary Research, 2780-157 Oeiras, Portugal

<sup>12</sup>Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801 Vila Real, Portugal

<sup>13</sup>Global Health and Tropical Medicine, GHMT, Associate Laboratory in Translation and Innovation Towards Global Health, LA-REAL, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, IHMT, Universidade NOVA de Lisboa, UNL, Rua da Junqueira 100, 1349-008 Lisboa, Portugal

A produção de pequenos ruminantes na região Centro, essencialmente em regime extensivo e semi-extensivo, tem um impacto positivo na economia local, desempenhando um papel importante na manutenção das comunidades rurais e dos ecossistemas locais. A sustentabilidade da produção de pequenos ruminantes nesta região, assenta na valorização económica do leite e da carne produzidos de forma tradicional, através da garantia da sua segurança e qualidade. Com o objetivo de avaliar o risco de transferência de bactérias portadoras de genes de resistência aos antimicrobianos e de resíduos medicamentoso ao consumidor, foi implementado um projeto piloto de vigilância epidemiológica de resistências e resíduos. Foram visitadas 100 explorações de pequenos ruminantes (72 de ovelhas e 28 de cabras), tendo sido amostrados 6 animais saudáveis por exploração (432 ovinos e 168 caprinos), selecionados aleatoriamente. Obtiveram-se amostras fecais *per rectum* e zaragatoas nasais dos 600 animais. Procedeu-se ao isolamento e identificação de *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e *E. coli* comensal nas amostras fecais, utilizando as metodologias ISO6579, ISO10272-1/2017 e EURL-AR, respetivamente. O isolamento e identificação de *S. aureus* foi realizado em *pools* de zaragatoas nasais (um *pool* por exploração, num total de 100 *pools*), de acordo com o protocolo EURL-AR. *E. coli* comensal foi isolada em todos os animais amostrados, *Campylobacter* spp. em 16,3% (19,2% dos ovinos e 8,9% dos caprinos) e *Salmonella* spp. foi detetada em 9,5% dos animais (12,7% dos ovinos e 1,2% dos caprinos). *S. aureus* foi isolado em 9,0% das explorações (10,7% das explorações de caprinos e 8,3% das explorações de ovinos). Os isolados obtidos foram criopreservados para estudo fenótipo (*Minimum Inhibitory Concentration*, MIC) e genotípico (*Whole Genome Sequencing*, WGS) das resistências antimicrobianas. Adicionalmente, foram obtidas amostras de leite das fêmeas lactantes amostradas e colhidas 600 amostras de músculo de ruminantes criados na região Centro e abatidos em matadouros locais. Estas amostras foram armazenadas a -80°C para pesquisa de resíduos medicamentosos por cromatografia líquida acoplada a espectrometria, de forma a estudar o tipo de resíduos que surgem, identificar as moléculas mais prevalentes, ocorrência cumulativa de vários fármacos na mesma amostra e o seu perfil de concentrações. Com a implementação deste projeto piloto de vigilância epidemiológica, espera-se obter indicadores relacionados com as resistências antimicrobianas e a presença de resíduos medicamentos em alimentos de origem animal, que possam ser utilizados por diferentes entidades e que suportem a implementação de intervenções educacionais de reforço do uso responsável de antimicrobianos em pequenos ruminantes, dirigidas a produtores e médicos veterinários, com o objetivo final de garantir a segurança alimentar.

### FINANCIAMENTO

Este trabalho foi financiado pelo projeto RumiRes- “Vigilância epidemiológica e sensibilização para as resistências antimicrobianas e resíduos medicamentosos em pequenos ruminantes da região Centro” (Ref. PRR-C05-i03-I-000190).



# Posters

Valorização dos produtos da  
Indústria Alimentares e Potenciais Riscos

## ÁGAR E GOMA GELANA NA PROMOÇÃO DA ECONOMIA CIRCULAR DA INDÚSTRIA DAS FRUTAS

Ana Luísa Leitão Correia,<sup>1,2</sup> Maria João Ramalhosa,<sup>1</sup> Elsa F. Vieira,<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> REQUIMTE/LAQV, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4249-015 Porto, Portugal

<sup>2</sup> Ourense Campus, Universidade de Vigo, E32004 Ourense, Espanha

O desperdício de frutas e legumes é um problema global e, segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), representa uma perda de 45% de todas as frutas e legumes produzidas.<sup>1</sup> Os *Estruturados de Frutas* são uma forma sustentável e inovadora de valorizar as frutas de baixo valor comercial ou altamente perecíveis, bem como de aumentar o consumo das frutas sazonais, preservando as características nutricionais e sensoriais da polpa fresca. São produtos obtidos através da mistura de polpas de frutas com hidrocolóides, podendo ser utilizados em caldas, sorvetes, recheios de iogurtes ou produtos de confeitaria.<sup>2</sup> O ágar e a goma gelana são dois exemplos de hidrocolóides amplamente usados na preparação de Estruturados de Fruta<sup>3</sup> à base de polpas mistas de manga com cajá, cajú, acerola, goiaba; pêra, morango, amora, etc. Este trabalho tem como objetivo realizar a revisão das aplicações destes hidrocolóides na preparação de estruturados de fruta.

O ágar é um hidrocolóide extraído de macroalgas vermelhas, composto por agarose (um polissacarídeo linear) e agarpectina. É insolúvel em água fria, solúvel em água quente (>90°C), e forma um gel firme, brilhante e estável a baixas concentrações (0,2%), degradando-se a temperaturas superiores a 250 °C. De uma forma geral, frutas estruturadas com ágar apresentam boa aceitação sensorial em termos de estrutura e sabor (melhor retenção de compostos voláteis), e permitem uma boa bioacessibilidade de compostos bioativos (antioxidantes e fibras) das frutas.<sup>2,3,5</sup>

A goma gelana é obtida por fermentação em cultura das bactérias *Sphingomonas elodea* e *Sphingomonas Shingomonas paucimobilis*, sendo compostas por resíduos de β-D-glicose, β-D-glucoro-nato e α-L-ramnose. Apresenta propriedades gelificantes quando usadas a concentrações baixas (0,05%), sendo amplamente usada na preparação de Estruturados de Fruta para serem aplicados na confecção de glacês, sorvetes, geleias e recheios de tortas. Também pode atuar como agente estabilizante de óleos voláteis, vitamina C e compostos antioxidantes em frutas revestidas. Devido à sua alta cristalinidade e capacidade de regular a humidade do produto, a goma gelana é bastante usada na produção de doces e geleias de fruta em concentrações ideais de 0,3%, podendo estes produtos ser armazenados à temperatura ambiente.<sup>2-5</sup>

Em conclusão, os hidrocolóides ágar e goma gelana permitem a produção de Estruturados de Fruta com elevada aceitação pelo consumidor, sendo uma forma de promover a economia circular da indústria da fruta. A preparação de Estruturados de Fruta constitui uma inovação tecnológica e sustentável permitindo a presença de frutas sazonais com características nutricionais distintas no mercado durante todo o ano, e de prolongar o tempo de vida útil de frutas altamente perecíveis. São também uma excelente opção para o aumento do consumo de frutas minimamente processadas, sem adição de conservantes sintéticos e corantes.

### Referências

1 <https://www.ifco.com/pt/qual-pais-desperdica-mais-alimentos/>

2 Amanda Rodrigues Leal, Luciana de Siqueira Oliveira, Juliana Nascimento da Costa, Carlos Artur Nascimento Alves, Paulina Mata, Paulo Henrique Machado de Sousa (2022) In vitro bioaccessibility of antioxidant compounds from structured fruits developed with gellan gum and agar

3 Yu-Chen Liao, Chia-Che Chang, Dillirani Nagarajan, Chun-Yen Chen e JoShu Chang (2021) Algae-derived hydrocolloids in foods: applications and health-related issues

4 D. Gomes, J.P. Batista-Silva a , A. Sousa a , L.A. Passarinha (2023) Progress and opportunities in Gellan gum-based materials: A review of preparation, characterization and emerging applications

5 Amanda Rodrigues Leal, Luciana de Siqueira Oliveira, Lorena Machado Faria, Carlos Artur Nascimento Alves, Juliana Nascimento da Costa, Paulina Mata, Paulo Henrique Machado de Sousa (2021) Elaboration of mixed structured fruit formulations with agar and gellan gum: Texture, physicochemical and sensory properties

## WILD FERMENTATION OF OLIVE POMACE - EFFECT ON MACRONUTRIENTS, ENERGY VALUES AND VITAMIN E

Diana Melo Ferreira,<sup>1</sup> Liliana Espírito Santo,<sup>1</sup> Anabela S. G. Costa,<sup>1</sup> Helena Ferreira,<sup>2</sup> M. Beatriz P. P. Oliveira,<sup>1</sup> Rita C. Alves<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Department of Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, R. J. Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal

<sup>2</sup>UCIBIO-i4HB, Laboratory of Microbiology, Department of Biological Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, R. J. Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal

Wild fermentation, a natural process which uses the microorganisms present on foods, has been used for its ability to create complex flavors and aromas in fermented products. Additionally, fermentation can enhance nutrient bioavailability and generate new compounds with potential health benefits, aligning with principles of minimal food processing (1).

The olive oil industry faces significant challenges in waste management, particularly with the disposal of olive pomace (OP) - a by-product consisting of the solid remains of olives after pressing. Due to its high organic content, OP poses environmental risks if not properly managed (2). However, sustainable practices such as compound extraction can convert OP into useful resources (3).

This study explores the potential of wild fermentation of OP at room temperature (RT) over 32-days to transform it into a valuable food product (OP paste). The impact of this fermentation on macronutrients contents (ash, protein, fat, carbohydrates, fiber) (4), energy values (5), and vitamin E (HPLC-DAD-FLD) (2, 3) of OP were assessed.

Ash content decreased from 5.6% (T0) to 5.3% by T4-T16, with a slight increase by T32 (5.9%). Crude protein content exhibited an upward trend from 7.1% (T0) to 8.4% (T16), before slightly decreasing to 7.6% (T32). Similarly, total fat increased steadily from 12.1% (T0) to 14.6% (T32). Total carbohydrates gradually decreased from 75.3% (T0) to 72.0% (T32), probably due to microbial consumption during fermentation, most likely using sugars as primary energy source, breaking them down to fuel growth (2). In parallel, the slight increase in crude protein may be the result of a concentration effect due to carbohydrate depletion. Total fiber showed a significant increase from 54.9% to 57.9% (T32), driven mainly by an increase in insoluble fiber. Soluble fiber content experienced an initial drop but remained relatively stable throughout fermentation. The rise in fiber content, particularly insoluble fiber, suggests that microbial fermentation probably led to the breakdown of more digestible carbohydrate fractions, such as soluble fibers, while leaving insoluble fibers intact.

Energy values increased initially, peaking at T8-16 (347 kcal/100 g, 1432-1435 kJ/100 g) before slightly decreasing by T32 (334 kcal/100 g, 1370 kJ/100 g) to values similar to the control (328 kcal/100 g, 1352 kJ/100 g) ( $p < 0.05$ ).

The total vitamin E content, composed of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -tocopherols, decreased from 10.9 (T0) to 9.4-9.6 mg/100 g (T4-T16), but at T32 it reached levels similar to the control (10.3 mg/100 g) ( $p < 0.05$ ), potentially due to microbial activity breaking down cell membranes, which facilitated the release of vitamin E (2).

Overall, it seems that by the end of fermentation, the nutrient composition stabilized. In conclusion, wild fermentation of OP creates an OP paste with enhanced nutritional profile, particularly in protein, fat, fiber and vitamin E contents, making it a potential novel food for current diets. This fermentation process is a sustainable practice by valorizing a by-product. Further research is recommended to fully understand the potential health benefits of consuming fermented OP.

### Acknowledgements:

D.M.F. received a Ph.D. scholarship from Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) - 2022.13375.BD. L.E.S. is grateful to Laboratório Associado para a Química Verde - Tecnologias e Processos Limpos - UIDB/50006/2020 for the grant REQUIMTE 2023-49. R.C.A. thank to FCT for funding through the Scientific Employment Stimulus - Individual Call - CEECIND/01120/2017 (doi.org/10.54499/CEECIND/01120/2017/CP1427/CT0001). This work was supported by FCT/MCTES through the projects (EXPL/SAU-NUT/0370/2021, LA/P/0008/2020 DOI 10.54499/LA/P/0008/2020, UIDP/50006/2020 DOI 10.54499/UIDP/50006/2020 and UIDB/50006/2020 DOI 10.54499/UIDB/50006/2020).

### References:

1. Katz SE. Wild fermentation: The flavor, nutrition, and craft of live-culture foods: Chelsea Green Publishing; 2016.
2. Ferreira DM, Machado S, Espírito Santo L, Costa ASG, Ranga F, Chiş MS, et al. Changes in the Composition of Olive Pomace after Fermentation: A Preliminary Study. *Fermentation*. 2024;10(6):287.
3. Ferreira DM, Barreto-Peixoto J, Andrade N, Machado S, Silva C, Lobo JC, et al. Comprehensive analysis of the phytochemical composition and antitumoral activity of an olive pomace extract obtained by mechanical pressing. *Food Biosci*. 2024;104759.
4. AOAC. Official methods of analysis. 21st ed. Arlington VA, USA: Association of Official Analytical Chemists; 2019.
5. Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, 54 (2011).

## HARNESSING THE POWER OF LEMON BY-PRODUCTS: TRANSFORMING INTO FUNCTIONAL FOOD INGREDIENTS

Daniela Magalhães<sup>a\*</sup>, M. Viuda-Martos<sup>b</sup>, J.A. Pérez-Álvarez<sup>b</sup>, Paula Teixeira<sup>a</sup>, Manuela Pintado<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Católica Portuguesa, CBQF – Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005 Porto, Portugal

<sup>b</sup> IPOA Research Group (UMH-1 and REVIV-Generalitat Valenciana), Agro-Food Technology Department, Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Miguel Hernández University, Crta. Beniel km. 3,2, E-03312 Orihuela Alicante, Spain.

Citrus is one of the most widely cultivated fruit crops and one of the main consumed products in the Mediterranean area. The annual production of different types of citrus fruits was approximately 143 thousand tonnes, where lemons and limes, represented around 20 thousand tonnes, in the year 2019. Industrial processes exploit only 45% of the total fruit weight, which generates a significant amount of waste, including peel (flavedo: 27%), pulp (albedo and endocarp: 26%), and seeds (2%). Lemon by-products are composed of significant amounts of bioactive compounds, such as minerals, carotenoids, vitamins, essential oils, phenolic compounds, and fibers, which give them bioactivities related to food preservation, such as antimicrobial and antioxidant. Furthermore, lemon by-products, which are usually discarded as waste in the environment, can generate new ingredients, such as lemon dietary fiber-based powder (LDF), and lemon phenolic compounds-rich extracts (LPC), being an opportunity for the food industry, to promote the zero-waste concept. The aim of this study was to evaluate the impact of adding LDF (3%), LPC (1%), and a combination of both (LDF 3% + LPC 1%) on the nutritional profile, shelf-life, and sensory qualities of meat products (*mortadellas*). Three independent batches were prepared, each consisting of five individual *mortadellas* (200 g each). Residual nitrite levels (mg NaNO<sub>2</sub>/kg sample) were measured according to ISO/DIS 2918.26 standards. Lipid oxidation (mg malonaldehyde/kg) was assessed by monitoring changes in thiobarbituric acid-reactive substances (TBARs). The findings demonstrated significant nutritional and preservative benefits. After 28 days, the inclusion of LDF, LPC, and LDF+LPC resulted in substantial reductions in residual nitrite levels: 7.85, 35.05, and 19.15 mg/kg, respectively, compared to the control mortadella (56.66 mg/kg). On day 28, lipid oxidation levels were 0.21, 0.06, and 0.19 mg malonaldehyde/kg, respectively, compared to the control (0.07 mg malonaldehyde/kg). TBARs values for all samples remained below the threshold for incipient rancidity ( $\geq 1.0$ ) throughout the storage period. Additionally, the reformulated *mortadellas* were well-received by sensory panellists, showing a close resemblance to the control in terms of overall taste, quality, colour appearance, and homogeneity. Furthermore, incorporating dietary fiber-enriched ingredients, such as 3% LDF, into mortadella provides a convenient way to increase fiber intake without significantly altering eating habits, qualifying the product as a source of dietary fiber.

**PRICKLY PEAR: A RESOURCE FOR ENHANCING FOOD AVAILABILITY AND DIVERSITY**

L. Espírito Santo<sup>1,2</sup>, S. Machado<sup>1,2</sup>, A.S.G. Costa<sup>1,2</sup>, M. A. Prieto<sup>2</sup>, R.C. Alves<sup>1</sup>, M.B.P.P. Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Department of Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, R. J. Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto

<sup>2</sup>Universidade de Vigo, Nutrition and Bromatology Group, Department of Analytical Chemistry and Food Science, Instituto de Agroecoloxía e Alimentación (IAA) – CITEVI, 36310 Vigo, Spain.

Consumers are becoming more discerning in their food choices, favoring diverse and healthier options with potential health benefits, while paying greater attention to companies' sustainability efforts. Prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller), an invasive plant allowed to be produced under restricted conditions, has emerged as an alternative due to its biofunctional properties. This study evaluated the nutritional composition of different varieties of two-year-old *O. ficus-indica* cladodes (a by-product) from plants producing white, orange, and red pulp fruits, kindly provided by a national producer (Torres Novas, Portugal).

Ash, protein, total fat, and fibre contents were determined using official AOAC methods [1]. Moisture was measured with an infrared balance. The remaining carbohydrate content was calculated by difference. Chromatographic methods were employed to analyse amino acid and free sugar profiles.

All cladodes stood out for their total fibre content, with a content of between 18 and 40g/100g dry weight (dw). The ash content ranged from 17 to 27 g/100 g dw, being magnesium one of the major minerals found. All samples exhibited a low fat content (<1.8 g/100 g dw), with protein contents between 3 and 8 g/100 g dw. A total of 18 amino acids were identified in all samples, including 9 essential ones, such as the branched-chain amino acids leucine, isoleucine, and valine. All essential amino acids were also identified in their free form. Fructose, glucose, and sucrose were present in all samples, with total sugars ranging from 14 to 19 g/100g dry weight.

These results indicate that cladodes offer a promising way to enhance food availability and diversity due to their high fibre and mineral content, low fat and a complete amino acid profile, although histidine, methionine and tryptophan are limiting. This by-product can be used to develop nutritionally balanced functional foods to enrich diets, reducing food waste and promoting sustainability.

**Acknowledgements:** L.E.S. is grateful to LAQV-Tecnologias e Processos Limpos-UIDB/50006/2020 for her grant (REQUIMTE 2023-49). R.C.A. thanks FCT/MCTES for her CEECIND/01120/2017 contract. The authors thank to Paulo Costa (Torres Novas), for kindly providing the samples for the study. Funding: This work received financial support from PT national funds (FCT/MCTES) through the projects UIDB/50006/2020 (DOI 10.54499/UIDB/50006/2020), UIDP/50006/2020 (DOI 10.54499/UIDP/50006/2020) and LA/P/0008/2020 (DOI 10.54499/LA/P/0008/2020).

**References:**

[1] AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International (J. Dr. George W. Latimer Ed. 21st Edition ed. Vol. I), 2019.

**PERFIL MINERAL E FITOQUÍMICO DE MICROVEGETAIS DE ACELGA BIOFORTIFICADOS COM SELÊNIO**Alexis Pereira<sup>1,2</sup>, Maria Inês Dias<sup>1</sup>, M. Beatriz P. P. Oliveira<sup>2</sup>, José Pinela<sup>1,3\*</sup><sup>1</sup> CIMO, LA SusTEC, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal<sup>2</sup> REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira nº 228, 4050-313 Porto, Portugal<sup>3</sup> Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), I.P., Rua dos Lágidos, Lugar da Madalena, 4485-655 Vairão, Vila do Conde, Portugal

O selénio (Se) é um micronutriente essencial nos mamíferos, desempenhando um papel crucial no funcionamento normal da tireoide e no fortalecimento do sistema imunológico [1]. Embora necessário em pequenas quantidades, a ingestão inadequada de alimentos ricos em Se está associada a graves problemas de saúde [1]. Além disso, quando o teor de selénio no solo agrícola é baixo, as colheitas apresentam inevitavelmente uma menor concentração deste mineral. A biofortificação de alimentos surge, portanto, como uma estratégia para mitigar a deficiência de selénio na dieta. Este estudo teve como objetivo produzir microvegetais de acelga (*Beta vulgaris* subsp. *cicla*) biofortificados com selénio em sistemas de agricultura vertical. Os microvegetais foram produzidos numa câmara climática de dimensões “walk-in”, com condições controladas de luz, temperatura e humidade, e suplementados com uma solução nutritiva contendo diferentes concentrações de selenato e selenito de sódio. Quatorze dias após a sementeira, os microvegetais foram colhidos, desidratados e submetidos a extração sólido-líquido com etanol a 80% para obtenção de extratos para análise. Os perfis de compostos fenólicos, betalaínas, ácidos orgânicos, açúcares livres e elementos minerais foram determinados através de diferentes técnicas, incluindo métodos cromatográficos e espectroscópicos. As análises permitiram identificar ácido oxálico, sete betalaínas e até oito compostos fenólicos; porém, não foram detetados açúcares solúveis. Por outro lado, os microvegetais biofortificados com selenato de sódio apresentaram teores mais elevados de selénio, potássio, cálcio e ferro, em comparação com aqueles biofortificados com selenito de sódio. Os resultados indicaram que a fonte inorgânica de selénio utilizada na biofortificação influencia o perfil mineral e fitoquímico dos microvegetais de acelga, sendo o selenato de sódio a fonte mais eficiente para a acumulação de nutrientes essenciais.

**Agradecimentos:** Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pelo apoio financeiro através de fundos nacionais FCT/MCTES (PIDDAC): CIMO UIDB /00690/2020 (DOI: 10.54499/UIDB/00690/2020) e UIDP/00690/2020 (DOI: 10.54499/UIDP/00690/2020); e SusTEC LA/P/0007/2020 (DOI: 10.54499/LA/P/0007/2020). Financiamento nacional pela FCT, no âmbito da bolsa de doutoramento (2023.00954.BD) de A.P e do contrato (10.54499/CEECINST/00016/2018/CP1505/CT0004) de M.I.D.

**Referências:**

1. G. Genchi, G. Lauria, A. Catalano, et al., Int J Mol Sci, 24 (2023) 2633.

**IMPROVING CARRAGEENAN GEL PROPERTIES: IS SUBCRITICAL WATER EXTRACTION THE KEY?**

Elsa F. Vieira<sup>1,\*</sup>, Clara Grosso<sup>1\*</sup>, Maria Luz Maia<sup>1</sup>, Cristina Delerue-Matos<sup>1</sup>, Bruno Faria<sup>2</sup>, Loic Hilliou<sup>2</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Instituto Superior de Engenharia do Politécnico do Porto, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 431, 4249-015, Porto, Portugal

<sup>2</sup>Institute for Polymers and Composites (IPC), University of Minho, Building 11, Campus of Azurém, 4804-533, Guimarães, Portugal

This study aimed to assess the effectiveness of Subcritical Water Extraction (SWE) as an environmentally friendly technique for recovering carrageenans from two red seaweed species: Irish moss (*Mastocarpus stellatus* Stackhouse Guiry) and *Chondrus crispus* Stackhouse.

A Central Composite Design was used to examine the effects of temperature (90-160°C) and pressure (40-90 bar) on carrageenan yield (%) and gel-forming capacity. The extraction time (30 minutes) and solid-to-liquid ratio (1:30 g/mL, w/v) were kept constant. All extracts were evaluated based on yield, gelling ability, and rheological properties, and compared to those obtained through conventional extraction using water (3 hours at 80°C + 1 hour at 90°C).

The results demonstrated that SWE had varying effects on the yield and properties of hybrid carrageenans isolated from *C. crispus* and *M. stellatus*. Carrageenan yields ranged from 51% (125°C, 65 bar) to 74% (100°C, 90 bar) for *M. stellatus*, and from 26% (100°C, 90 bar) to 68% (140°C, 40 bar) for *C. crispus*. The gels formed by *C. crispus* were stronger (up to 30 times) than those from *M. stellatus*, though more brittle, while *M. stellatus* gels exhibited strain-hardening behavior. Higher extraction temperatures generally led to shorter carrageenans (100 kDa), with both seaweeds producing hybrid carrageenans ranging between 700 and 500 kDa.

In conclusion, SWE proved to be a promising method for recovering carrageenans from *M. stellatus* and *C. crispus* red seaweed species, producing hybrid carrageenans with superior gel properties compared to those obtained by conventional extraction (3 hours at 80°C + 1 hour at 90°C).

**Acknowledgments:**

This work received financial support from PT national funds (FCT/MCTES) through the projects UIDB/50006/2020 and UIDP/50006/2020. Luz Maia thanks Requite for the fellowship under the project PTDC/BII-BIO/5626/2020 – E2B2-PHACAR - Extractive Extrusion-based biorefinery (E2B2) of biomass into a cascade of polyhydroxyalkanoates (PHA), natural products and gelling hybrid carrageenans (CAR) financed through FCT/MCTES, Elsa F. Vieira, Clara Grosso, Loic Hilliou and Bruno Faria thanks FCT for funding through the Individual Call to Scientific Employment Stimulus (CEECIND/03988/2018, CEECIND/03436/2020, and CEECINST/00156/2018, respectively) and to REQUIMTE/LAQV.

## IMPACT OF *IN VITRO* SIMULATED GASTROINTESTINAL DIGESTION ON THE PREBIOTIC POTENTIAL OF COFFEE PULP: CHLOROGENIC ACID PROFILE AND PROBIOTIC GROWTH

M. Machado,<sup>1\*</sup> I. Fernandes,<sup>2</sup> A. Fernandes,<sup>2</sup> M.B.P.P. Oliveira,<sup>1</sup> H. Ferreira,<sup>3</sup> R.C. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup> REQUIMTE/LAQV, Dep. Chemical Sciences, Fac. Pharmacy, University of Porto

<sup>2</sup> REQUIMTE/LAQV, Dep. Chemistry and Biochemistry, Fac. Sciences, University of Porto

<sup>3</sup> i4HB, UCIBIO, Microbiology, Dep. Biological Sciences, Fac. Pharmacy, Univ. of Porto

The coffee sector generates a considerable volume of by-products, with coffee pulp being one of the most important (40-50% of the coffee cherry). It is rich in soluble dietary fiber (9-18% dry weight, dw) and bioactive compounds, such as chlorogenic acids, which can act as prebiotics, promoting the growth of beneficial bacteria [1].

The aim of this study was to evaluate the impact of *in vitro* simulated gastrointestinal digestion (SGID) on the composition and prebiotic potential of dried coffee pulp from *Coffea arabica* (Costa Rica). For that, the sample was digested *in vitro* following the INFOGEST protocol (INRAE, Rennes, France). After, the solid fraction (undigested fraction) was combined with 10% of the supernatant to mimic the unabsorbed fraction, resulting in digested pulp (DP). A digestion blank (DB) using deionized water and an aqueous control (CP) were also prepared. Chlorogenic acids (CGA) were monitored by RP-HPLC-DAD. The growth of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* and *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* was evaluated after 24 and 48 hours of incubation with glucose (Glc), fructooligosaccharides (FOS), DP, DB, and CP by plating serial dilutions on MRS agar.

The results show that SGID promoted the release of CGA from the pulp into the intestinal fluid. The concentration of 5-caffeoylquinic acid, the main CGA, decreased from 1.17 mg/g in CP to 0.66 mg/g in DP (dw). Both CP and DP promoted the growth of *L. paracasei* and *L. plantarum*, with CP leading to a higher growth, probably due to its higher retention of sugars and bioactive compounds, such as CGA.

In conclusion, SGID impacted the chemical composition of the pulp and its prebiotic effect. However, even after SGID, there were still substrates that were metabolised by the probiotic bacteria, promoting their growth and activity.

**Acknowledgements:** This work was supported by FCT/MCTES (PTDC/SAU-NUT/2165/2021, UIDB/50006/2020, UIDP/50006/2020 and LA/P/0008/2020). M.M., R.C.A. and A.F. thank FCT/MCTES (2021.04907.BD, CEECIND/01120/2017 and CEECIND/00029/2018/CP1545/CT0010, respectively). I.F. acknowledges her assistant professor contract CEECINST/00064/2021. The authors also thank to JMV José Maria Vieira, SA for kindly provide the sample for the study.

### References:

[1] Machado, M., Ferreira, H., Oliveira, M.B.P.P., Alves, R.C. (2023) Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 64, 7181-7200.

**PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF SYNTHESIZED SUGAR-BASED NADES**

Thiago F. Soares<sup>1\*</sup>, Ricardo N.M.J. Páscoa<sup>1</sup>, Eliana M.B. Souto<sup>2</sup>,  
M. Beatriz P.P. Oliveira<sup>1</sup>, Rita C. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Dep. of Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, R. J. Viterbo 228, 4050-313 Porto, Portugal

<sup>2</sup>UCD School of Chemical and Bioprocess Engineering, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, D04 V1W8, Ireland

Traditionally, the extraction of bioactive compounds relies on organic solvents like hexane and methanol, which are toxic, volatile, and flammable, raising environmental and safety concerns. Consequently, recent studies are exploring safer solvent alternatives<sup>1,2</sup>. Water and/or ethanol have been employed as safer options, though their efficiency in extracting the more apolar compounds is often limited. Natural deep eutectic solvents (NaDES) have emerged as promising green solvents due to their low toxicity, biodegradability, and tunable properties, showing great potential for extracting a wide range of bioactive compounds, particularly those that are difficult to solubilize in traditional aqueous or ethanol solutions.

This study aimed to characterize different natural deep eutectic solvents (NaDES) formulated by combining glucose or sucrose with various hydrogen bond acceptors (citric acid, malic acid, and lactic acid), and deionized water. Key physicochemical properties, such as pH, density, conductivity, polarity, water content, thermal behavior (Differential Scanning Calorimetry, DSC) and molecular interactions (Fourier-transform infrared, FTIR), were measured and compared to those of water and ethanol/water (1:1).

The results showed minimal pH variation (0.63-1.90) since all the hydrogen bond acceptors were acidic. This parameter is crucial for the solvent's effectiveness in extracting different compound classes. Density, which is essential in extraction process design, increased in comparison to water (1.155-1.459 mg L<sup>-1</sup>), reflecting the enhanced hydrogen bonding in NaDES that reduces molecular spacing. Water content remained close to the initially added amount, with minor variations found. Polarity, a critical property influencing NaDES' solubilization capacity, was consistent across the different NaDES formulations (44.63-48.00 kcal mol<sup>-1</sup>), with values close to those of water (49.02 kcal mol<sup>-1</sup>) and the hydroethanolic mixture (52.93 kcal mol<sup>-1</sup>). DSC and FTIR analyses confirmed the formation of eutectic mixtures.

In conclusion, these sugar-based eutectic solutions with added water can be a sustainable and eco-friendly alternative for the selective extraction of bioactive compounds, offering broad potential for diverse industrial applications.

**Acknowledgements:** T.S. acknowledges FCT/MCTES and the European Social Fund through NORTE 2020 for PhD funding (Ref: 2022.13829.BD). R.C.A. acknowledges FCT/MCTES for support via the Scientific Employment Stimulus—Individual Call (Ref. CEECIND/01120/2017). This work received financial support from FCT/MCTES under projects UIDB/50006/2020, UIDP/50006/2020, and LA/P/0008/2020.

**References:**

1. M.B. Özmatara, *Rec. of Agric. and Food Chem.*, 1 (2021) 12–18.
2. L. Schuh, M. Reginato, I. Florêncio, *et al.*, *Molecules*, 28 (2023) 7653.

## PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF ENCAPSULATED HYDROPONICALLY GROWN GINGER FROM IRAN: A PRELIMINARY STUDY

Masood Ghodrati <sup>1</sup>, Mohammad Taghi Ebadi <sup>1</sup>, Samad N. Ebrahimi <sup>2</sup>, Rita C. Alves <sup>3</sup>, Faezeh Fathi <sup>3</sup>, M. Beatriz, P. P. Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. <sup>2</sup>Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Evn, Tehran, Iran. <sup>3</sup>REQUIMTE/LAQV, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Porto, Portugal.

Ginger (*Zingiber officinale*), from the Zingiberaceae family, is widely recognized for its health benefits, due to its bioactive compounds (e.g. polyphenols and terpenes), which may prevent/help to treat various disorders such as nausea and migraines [1]. However, its effectiveness is often limited by poor solubility, low oral bioavailability, and degradation during extraction and storage [1, 2]. Encapsulation can be a valuable tool to overcome these challenges, by protecting sensitive materials within a coating, improving their stability, taste, and bioavailability [3]. Despite ginger potential, polysaccharide-based encapsulation of ginger bioactives has not been extensively studied. In this study, hydroponically grown ginger from Iran was used. The rhizomes were sliced, dried in the shade, and subjected to a 70% hydroalcoholic extraction. The extract was encapsulated using maltodextrin, pectin, and a 1:1 mixture of both. Extraction yield and antioxidant capacity (total phenolic and flavonoid contents and DPPH• scavenging activity) were evaluated. The developed encapsulation powder was analysed for particle size, zeta potential, and polydispersity index (PDI). It was also structurally characterized using FTIR.

The results showed an extraction yield of 12.5%, a phenolic content of 47 mg gallic acid eq./g of extract, a total flavonoid content of 30 mg quercetin eq./g in the dry extract, and an IC<sub>50</sub> value of 210 µg/mL in the DPPH• assay. The encapsulation yield varied among the polysaccharide coatings, ranging between 45.72 and 62.22%. The particle size and zeta potential ranged from 1923.5 nm to 1322.7 nm and -17 mV to -30 mV, respectively, with uniform PDI values. The structural characteristics and availability of the bioactive ingredients were confirmed by FTIR analysis.

In conclusion, the encapsulated ginger extract showed promising potential for applications in food and pharmaceutical formulations.

**Acknowledgements:** We would like to express our gratitude to Shahid Beheshti University and Tarbiat Modares University Research Council for providing the facilities to conduct this study. Faezeh Fathi is grateful to FCT (2023.08789. CEECIND) and LAQV/REQUIMTE. Rita C. Alves thanks FCT (CEECIND/01120/2017).

**Funding:** This work received financial support by FCT/MCTES through UIDB/50006/2020, UIDP/50006/2020 and LA/P/0008/2020.

### References:

2. Tavares, L., et al., *Food Funct*, 2022. 13, 1078. <https://doi.org/10.1039/D1FO02998C>
3. Maleki, H., et al., *J. Pharm. Sci.* 2023. 112, 1687. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2023.02.003>
4. Timilsena, Y.P., et al., *J. Nutr. Sci.*, 2020. 1, 481. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.116035>

**BIORREMEDIAÇÃO DA CAFEÍNA POR *Pseudomonas putida***Luana Ferreira<sup>1</sup>, Rita C. Alves<sup>1</sup>, M. Beatriz P.P. Oliveira<sup>1</sup>, Helena Ferreira<sup>2</sup><sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal<sup>2</sup>UCIBIO-i4HB, Departamento de Ciências Biológicas, Microbiologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) está presente em vários produtos, incluindo bebidas, alimentos, suplementos alimentares e medicamentos [1,2]. O impacto negativo deste composto, principalmente a nível ambiental, tem levado à pesquisa de métodos eficazes e ecológicos para a sua degradação [1]. A bactéria *Pseudomonas putida* é capaz de recorrer à cafeína para obter nutrientes e energia [1,2], produzindo metabolitos mais simples, o que a torna num potencial biorremediador [2].

Este trabalho de revisão, teve como objetivo analisar e discutir (i) os efeitos negativos da cafeína observados na flora e fauna; (ii) as vias de metabolização praticadas por *Pseudomonas putida* na cafeína e os produtos resultantes; (iii) as aplicações já atribuídas a esta bactéria com a intenção de direta, ou indiretamente, remediar a cafeína contaminante e/ou rejeitada.

Na pesquisa bibliográfica, utilizaram-se as bases de dados “Web of Science”, “Scopus” e “Pubmed”. As palavras-chave “caffeine”, “*Pseudomonas putida*”, “environment”, “toxicity”, “ecotoxicity”, “remediation”, “biodegradation”, “degradation” “metabolism” e “removal” foram os filtros introduzidos, dependendo do respetivo subtema. Vários critérios de inclusão e exclusão específicos foram, ainda, aplicados para a seleção das referências a utilizar.

A bibliografia selecionada demonstra que a cafeína poderá suscitar respostas biológicas em organismos não-alvo (não humanos) em concentrações ambientalmente realistas. Estes efeitos indesejáveis são especialmente registados em espécies aquáticas e insetos terrestres, influenciando as reservas de energia, a atividade metabólica, a reprodução, o desenvolvimento e o funcionamento neurológico. Para além disso, realizaram-se estudos em ratos expostos à cafeína durante a fase pré-natal e várias estimativas do quociente de perigo (“hazard quotient” ou HQ) perante concentrações ambientais de cafeína [3]. Segundo os estudos publicados, esta bactéria apresenta uma via catabólica de *N*-desmetilação para a degradação da cafeína [2], em que o composto sofre vários passos catabólicos, incluindo desmetilações e a via catabólica clássica das purinas, resultando nos seguintes metabolitos: teobromina, paraxantina, 7-metilxantina, xantina [1,2], ácido úrico, dióxido de carbono e amoníaco [2,4]. Devido a estas capacidades metabólicas, a *Pseudomonas putida* poderá ter várias aplicações possíveis, tais como a bio-descafeinação (na remoção completa da cafeína de extratos de café e de chá, e dos subprodutos associados); a remediação ambiental (no tratamento de águas e solos contaminados com elevadas concentrações de cafeína); e a produção química alternativa, com o intuito de reaproveitar a cafeína poluente para a produção comercial de produtos clínicos e industrialmente relevantes [1,2].

Estes resultados corroboram o potencial da *Pseudomonas putida* sugerido como bioconversor e bio-ferramenta para a decomposição da cafeína, com utilidades desde a remediação ambiental até ao reaproveitamento comercial e industrial de subprodutos.

**Agradecimentos:** Este trabalho foi financiado pela FCT/MCTES através dos projetos UIDB/50006/2020, UIDP/50006/2020 e LA/P/0008/2020. R.C.A. agradece à FCT/MCTES (CEECIND/01120/2017).

**Referências:**

[1] Gummadi SN, Bhavya B, Ashok N. P. Appl Microbiol Biot 2011, 93, 545-54.

[2] Summers RM, Mohanty SK, Gopishetty S, Subramanian M. Microb Biotechnol 2015, 8, 369-78. [3] Li S, He B, Wang J, Liu J, Hu X. Chemosphere 2020, 243, 125343

[4] Middelhoven WJ, Lommen A. A Van Leeuw J Microb 1984, 50, 298-300.

**PERFIL DE VITAMINA E NA POLPA DE CAFÉ DOS AÇORES**

Anabela S.G. Costa<sup>1,2</sup>, M. Beatriz P. P. Oliveira<sup>1</sup>, Jesus Simal-Gandara<sup>2</sup>, Rita C. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, Dept. Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal

<sup>2</sup>Nutrition and Bromatology Group, Department of Analytical Chemistry and Food Science, Faculty of Science, University of Vigo, E-32004 Ourense, Spain

A produção de café, uma das bebidas mais consumidas mundialmente, gera uma quantidade substancial de subprodutos que são tratados como resíduos. A polpa de café, gerada na primeira etapa do processamento dos frutos por via húmida para obtenção do grão verde, representa um desafio ambiental devido à sua fitotoxicidade e elevada carga orgânica. No entanto, estudos apontam que este subproduto pode e deve ser valorizado devido às suas propriedades, promovendo a valorização e sustentabilidade na cadeia de produção de café.

Este trabalho teve como objetivo quantificar o teor de gordura e analisar o perfil de vitamina E da polpa de café seca proveniente dos Açores (Portugal). As amostras foram fornecidas pela Quinta do Avô João, um produtor de café localizado na ilha de S. Miguel.

A determinação do teor total de gordura foi efetuada usando o método de Soxhlet [1] e o perfil de vitamina E foi analisado por HPLC-DAD-FLD [2]. Os resultados obtidos mostram que a polpa de café contém um baixo teor de gordura (~2%). No entanto, esta gordura é rica em vitamina E, que apresenta propriedades benéficas para a saúde e é um forte antioxidante lipossolúvel. Relativamente aos teores totais, a polpa contém ~7,4 mg de vitamina E /100 g, o que corresponde a ~443 mg/100 g de gordura. O principal vitâmero detetado foi o  $\alpha$ -tocoferol (~5,1 mg/100 g de polpa ou ~312 mg/100 g de gordura), conhecido por ser o mais biologicamente ativo [3], sendo preferencialmente retido e utilizado pelo organismo em relação aos demais [3]. Foram ainda detetados outros vitâmeros, embora em quantidades mais reduzidas, tal como o  $\gamma$ -tocoferol (~1,9 mg/100 g de polpa ou ~115 mg/100 g de gordura) e o  $\beta$ -tocoferol (0,2 mg/100 g de polpa e 13 mg/100 g de gordura).

Estes resultados evidenciam o potencial da polpa de café como uma fonte de compostos bioativos, particularmente de vitamina E. Embora o seu teor de gordura seja reduzido, a presença significativa de  $\alpha$ -tocoferol e outros vitâmeros confere-lhe propriedades antioxidantes relevantes, com possível aplicabilidade na formulação de produtos alimentares e cosméticos, contribuindo para a sustentabilidade na cadeia de produção de café.

**Financiamento:** Este trabalho foi apoiado financeiramente por fundos nacionais (FCT/MCTES) através do projecto PTDC/SAU-NUT/2165/2021 COBY4HEALTH - Can coffee by-products decrease the risk of metabolic syndrome? Uma abordagem abrangente para reduzir o desperdício e valorizar os benefícios para a saúde.

**Agradecimentos:** Este trabalho foi apoiado pela FCT/MCTES através dos projectos (LA/P/0008/2020, doi.org/10.54499/LA/P/0008/2020; UIDP/50006/2020, doi.org/10.54499/UIDP/50006/2020; UIDB/50006/2020, doi.org/10.54499/UIDB/50006/2020). R.C. Alves agradece à FCT o contrato CEECIND/01120/2017 (doi.org/10.54499/CEECIND/01120/2017/CP1427/CT0001). Os autores agradecem também à Quinta do Avô João, S. Miguel, Açores, por ter gentilmente cedido a polpa de café para o estudo.

**Bibliografia:**

1. AOAC. Official Methods of Analysis, 21 st ed.; Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA, USA, 2019
2. R.C. Alves, S. Casal, M.R. Alves, M.B. Oliveira, Food Chemistry, 114 (2009) 295-299
3. Galli, F., Bonomini, M., Bartolini, D., Zatini, L., Reboldi, G., Marcantonini, G., Gentile, G., Sirolli, V., & Di Pietro, N., Antioxidants, 2022

## PELE DE PRATA DO CAFÉ: INFLUÊNCIA DO GRAU DE MOAGEM NA DETERMINAÇÃO DA FIBRA ALIMENTAR E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

M. Heś<sup>1</sup>, K. Dziedzic<sup>1</sup>, S. Machado<sup>2</sup>, M. Beatriz P. P. Oliveira<sup>2</sup>, Rita C. Alves<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Ciências da Vida de Poznań, Faculdade de Ciências dos Alimentos e Nutrição, Poznań, Polónia

<sup>2</sup> REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, Portugal

A pele de prata do café, um subproduto gerado durante a torrefação, é uma fonte potencial de compostos de valor acrescentado. Neste trabalho, investigou-se a influência do seu grau de moagem na determinação do teor de fibra alimentar (método AOAC 991.43) [1], bem como na atividade antioxidante de extratos hidroetanólicos (20:80). Foram utilizadas, para o estudo, pele de prata de duas espécies (arábica e robusta) em três graus de moagem distintos:  $x < 95 \mu\text{m}$ ,  $95 < x < 132 \mu\text{m}$ ,  $x > 132 \mu\text{m}$ .

O grau de moagem não influenciou significativamente o teor de fibra total determinado, mas observaram-se teores de fibra solúvel superiores nas amostras de robusta. Os extratos de robusta apresentaram teores superiores de fenólicos totais ( $x < 95 \mu\text{m}$  e  $x > 132 \mu\text{m}$ ) e o grau de moagem influenciou significativamente a atividade antioxidante dos extratos. Aqueles que foram preparados com o maior grau de moagem ( $x < 95 \mu\text{m}$ ) apresentaram uma maior capacidade de inibir o DPPH• (149,2 mg e 113,8 mg Eq. Trolox/g, para robusta e arábica, respetivamente). No entanto, a inibição do ABTS• foi significativamente maior nos extratos de robusta  $x > 132 \mu\text{m}$  (84,79 mg Eq. Trolox/g). Esta espécie destacou-se, ainda, com um poder redutor do ião férrico superior comparativamente à pele de prata arábica, particularmente para os extratos preparados com partículas  $< 95 \mu\text{m}$  e  $95 < x < 132 \mu\text{m}$ .

Os resultados obtidos mostram que, de uma maneira geral, as propriedades antioxidantes encontradas dependem não só do grau de fragmentação da amostra, mas também da espécie analisada. Apesar de o teor total de fibra ser semelhante em ambas as espécies, partículas de menores dimensões podem ser vantajosas para aumentar a atividade biológica dos compostos contidos na matriz da fibra. As propriedades antioxidantes demonstradas sugerem a possibilidade do uso deste tipo de extratos em diversas áreas, como ingrediente inovador em vários tipos de produtos, incluindo na área alimentar e cosmética.

**Agradecimentos:** Este trabalho foi financiado pelo Ministério da Ciência e Ensino Superior da Polónia, como parte da Estratégia da Universidade de Ciências da Vida de Poznań para 2024-2026. Foi também financiado pela FCT (Portugal) através dos projetos: PTDC/SAU-NUT/2165/2021|COBY4HEALTH; UIDB/50006/2020; UIDP/50006/2020; e LA/P/0008/2020. S.M. agradece ao projeto PTDC/SAU-NUT/2165/2021 a bolsa de investigação. R.C.A agradece à FCT o contrato CEECIND/01120/2017. Os autores agradecem também à JMV José Maria Vieira, SA, Portugal, a cedência das amostras.

### Referências:

[1] AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC, 21st ed, vol. I (2019).

## DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS ALIMENTARES INOVADORES ENRIQUECIDOS COM SUBPRODUTOS DE MELÃO

Mafalda Alexandra Silva<sup>1,2</sup>; Helena S. Costa<sup>1,2</sup>; M. Beatriz P.P. Oliveira<sup>2</sup>; Nelson Félix<sup>3</sup>; Tânia Gonçalves Albuquerque<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

<sup>2</sup> REQUIMTE-LAQV/Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

<sup>3</sup> Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril

Estima-se que a população mundial continue a aumentar exponencialmente, atingindo cerca de 9,7 biliões até 2050. Com este crescimento, os desafios para garantir o acesso a alimentos seguros, nutritivos e saudáveis para toda a população tornam-se cada vez maiores.

A acumulação de subprodutos alimentares provenientes do processamento e produção de fruta está a tornar-se um problema de difícil gestão a nível ambiental e económico. A utilização destes subprodutos poderá ser uma opção para minimizar este problema, contribuindo para o desenvolvimento de produtos alimentares com propriedades benéficas para a saúde, permitindo também uma utilização dos recursos naturais de uma forma mais sustentável e eficiente.

Este estudo teve como objetivo desenvolver dois produtos alimentares inovadores à base de farinhas de casca e de sementes de melão (subprodutos) e avaliar a sua composição nutricional.

Em 2022, empresas de produção e distribuição destes frutos disponibilizaram as amostras utilizadas no trabalho. As cascas do melão foram desidratadas e as sementes secas em estufa. Posteriormente, os subprodutos foram moídos para a obtenção das farinhas respetivas, de casca de melão e de sementes de melão. Foram desenvolvidos dois bolos enriquecidos com as farinhas dos subprodutos de melão, um com cobertura de farinha da casca (bolo A) e outro com cobertura da farinha da semente (bolo B). A composição nutricional foi determinada analiticamente, e calculados o valor energético e os hidratos de carbono disponíveis. Foi também testada a aceitabilidade por parte do consumidor.

Os dois bolos produzidos, B e A tinham teores de 7,58 e 9,20 g/100 g de proteína total, respetivamente. Os teores de fibra alimentar, variaram entre 4,39 g/100 g (bolo A) e 7,65 g/100 g (bolo B). Segundo o Regulamento (CE) Nº 1924/2006 relativo às alegações nutricionais, o bolo A pode ser considerado fonte de fibra ( $\geq 3$  g/100 g) e o bolo B pode ser considerado rico em fibra ( $> 6$  g/100 g). Os dois produtos, relativamente à aceitabilidade por parte dos consumidores, apresentaram resultados satisfatórios.

Este trabalho demonstra que é possível desenvolver alimentos nutricionais e sensorialmente adequados e bem aceites pelos consumidores. Simultaneamente valorizam-se subprodutos (casca e sementes de melão), reduzindo os seus impactos a nível ambiental, mas aumentando-os a nível económico e social, ajudando na implementação de um conceito de produção e consumo mais sustentáveis.

**BIOPREPARADOS COMO RECURSO EM AGRICULTURA FAMILIAR**Joana Simões<sup>1</sup>, Ana Luísa Amaral<sup>1</sup>, Daniela Costa<sup>1,2</sup>, Cristina Amaro da Costa<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Escola Superior Agrária de Viseu, Instituto Politécnico de Viseu, Viseu, Portugal<sup>2</sup> Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade, Pólo de Viseu, Viseu, Portugal

O projeto HARVEST – Valorizar a Horta fAmiliar de forma a educaR para uma dieta mediterrânica, saudáVel E SustenTável tem como objetivos: a construção de toda a cadeia alimentar por forma a beneficiar todos os intervenientes ao longo de todo o processo, do prado ao prato, e que, como tal, ajuda na revitalização da horta familiar; o fomento de uma alimentação mais saudável baseada na Dieta Mediterrânica e, assim, contribuir para o desenvolvimento dos territórios locais; a consolidação e o aprofundamento de práticas agroecológicas inovadoras, para que os consumidores possam fazer escolhas saudáveis e sustentáveis acerca da sua alimentação. Assim, é essencial perceber-se o trabalho desenvolvido pelos agricultores e a sua influência na produção de alimentos. Alguns dos trabalhos agrícolas, ou seja, operações culturais importantes em agricultura familiar, nomeadamente em proteção de plantas, são: diversidade e rotação de culturas, pousio, consociações, seleção de variedades resistentes a pragas e doenças e adaptadas às condições edafoclimáticas, intervenções em verde, luta biotécnica e luta química com produtos naturais (Amaro *et al.*, 2018). Os biopreparados são produtos naturais usados em luta química, ou enquanto fertilizantes e/ou bioestimulantes, produzidos pelos agricultores com produtos de origem mineral, vegetal e/ou animal, que podem ter diversas funções, de acordo com o objetivo de utilização, do protocolo de confeção, de aplicação e de conservação destes produtos (Simões, 2023; Simões *et al.*, 2024). Apesar de potencialmente serem usados pelos agricultores, existem ainda poucos estudos a comprovar a eficácia deste tipo produtos, nomeadamente ao nível do controlo fitossanitário, assim como ainda não se encontram muitas informações disponíveis acerca deste tema. É necessário continuar a estudar biopreparados e a compilar e a disponibilizar a informação tanto para a comunidade científica como para os agricultores, de forma a potenciar-se a transição da forma de fazer agricultura para uma agricultura mais sustentável.

**Referências:**

Costa, C. A., Guiné, R., Correia, H. E., Costa, D. T., Costa, T., Parente, C., Pais, C., Gomes, M., & Aguiar, A. A. R. M. (2018). Agricultura familiar e proteção das culturas: abordagens tradicionais e proximidade com práticas de agricultura biológica. *Revista de Ciências Agrárias*, 41(Especial):164-173. <https://doi.org/10.19084/RCA.17086>

Simões, J. (2023). *Biopreparados agroecológicos – usos e caracterização química, microbiológica e em campo*. Trabalho Final de Curso de Licenciatura em Engenharia Agronómica. Viseu, Escola Superior Agrária de Viseu: 3-4.

Simões, J., Pinto, A., Correia, H.E., Coelho, J., Miranda, M., Peleja, A., Neves, C. M. B., Wessel, D., Moreira, L., Bahcevandziev, K., Vidal, M. M. B., Filipe, O. M. S., Marmota, C., Horta, C., Carneiro, J. P., Delgado, F., Costa, S. R., Costa, D. V. T. A., & Costa, C. A. (1ª ed., 2024). *Manual de Biopreparados Agroecológicos*. Viseu, *Edições Nova Acrópole*: 2.

## INFLUENCE OF PHOTOSELECTIVE NETS ON THE PHENOLIC PROFILE OF *REDLUM* APPLES: A COMPARATIVE ANALYSIS

João David Teixeira<sup>1,2</sup>, Miguel Leão de Sousa<sup>3</sup>, Sílvia Barros<sup>1</sup> Carina Almeida<sup>1,4,5</sup>, Ana Sanches-Silva<sup>2,6,7</sup>

<sup>1</sup> National Institute for Agrarian and Veterinary Research (INIAV), I.P., Rua dos Lágidos, Lugar da Madalena, Vila do Conde, Portugal,

<sup>2</sup> Center for Study in Animal Science (CECA), ICETA, University of Porto, Porto, Portugal

<sup>3</sup> National Institute for Agrarian and Veterinary Research (INIAV), I.P., Alcobaça, Portugal

<sup>4</sup> LEPABE – Laboratory for Process Engineering, Environment, Biotechnology and Energy, Faculty of Engineering, University of Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal

<sup>5</sup> AliCE – Associate Laboratory in Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal

<sup>6</sup> University of Coimbra, Faculty of Pharmacy, Polo III, Azinhaga de Stª Comba, Coimbra, Portugal

<sup>7</sup> Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences (Al4AnimalS), 1300-477 Lisbon, Portugal

Photoselective nets are an unconventional agronomic technique that enhances crop quality by altering the spectral composition of radiation, as opposed to conventional nets, that only changes the level of shading. Photoselective nets were first utilized in fruit crops in the 1990s, and they have since served not only as a physical barrier to numerous variables, but also to influence physiological processes related with tree growth and fruit quality. They create noticeable modifications based on their color, including changes in shading, increased temperature, and reduced frost incidence [1,2]. To better understand the influence of these nets on apple cultivation, this study aimed to evaluate the profile and concentration of phenolic compounds found in the peels, seeds and pulp of *Redlum* apple fruits cultivated under two photoselective nets - IRIDIUM® Yellow and IRIDIUM® Red and three other nets- Grey, Black and Kristal.

The identification and quantification of 51 individual phenolic compounds was performed by Ultra High Performance Liquid Chromatography – Time of Flight – Mass Spectrometry (UHPLC-ToF–MS) using a previously validated method [3]. Briefly, 2 g of sample were extracted with 20 (10+10) ml of methanol:ultrapure H<sub>2</sub>O:formic acid (49.95:49.95:0.10 v/v/v). The resulting extracts were sonicated, agitated and centrifuged and later combined.

The results revealed that the extracts from the peels of fruit from orchards with nets had a lower content of phenolic compounds. However, while no flavanonols were identified in the control fruit, they were identified in fruits protected with 4 of the 5 nets. In addition, the Flavanone content was also higher in the fruit from the nets (0.095 – 0.170 µg/g) than in the control (0.042 µg/g) and, with regard to Flavones, the yellow and white (5.972 and 6.316 µg/g, respectively) nets produced fruit with a substantially higher content than the control (0.154 µg/g). A similar result profile happened in the extracts from the seeds of fruit from orchards with nets. In this case, the difference is much smaller between the control fruits and the fruit from some of the orchards with photo-selective nets (227.7 µg/g relatively to 220.8 and 218.0 µg/g, from the grey and yellow nets, respectively). Again, the flavones, flavanones and flavonols content was generally higher in the fruits from nets. Isoflavones were the only compound group where the content was higher in fruits from photoselective nets than the control in pulps.

As expected, the main phenolic compounds identified in these fruit samples were quercetin in the peels (59.26 to 94.60 µg/g) and phloridzin in seeds (68.92 to 142.36 µg/g). On the other hand, it is important to highlight that none of the photoselective nets were able to help the orchards to produce fruits with higher phenolic content than the control group. This may be attributed to the fact that these nets reduce light intensity and provide protection against direct sunlight and extreme heat, which consequently lowers thermal and oxidative stress. As a result, the stimulation for the production of phenolic compounds—known for their antioxidant properties and ability to protect against sun damage—is diminished. In the absence of nets, the apples become more susceptible to temperature fluctuations, UV radiation, and water stress, leading to an increased accumulation of phenolic compounds as an adaptive response to these environmental challenges.

### References:

- [1] T. Li, J. Zhou, R. Liu, Z. Yuan, and J. Li, "Effects of photo-selective nets and air humidity coupling on tomato resistance to *Botrytis cinerea*," *Scientia Horticulturae*, vol. 305, p. 111356, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.scienta.2022.111356.
- [2] B. S. Harish, K. Umesha, R. Venugopalan, and B. N. Maruthi Prasad, "Photo-selective nets influence physiology, growth, yield and quality of turmeric (*Curcuma longa* L.)," *Industrial Crops and Products*, vol. 186, p. 115202, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.indcrop.2022.115202.
- [3] J. D. Teixeira, A. R. Soares Mateus, C. Sanchez, P. Parpot, C. Almeida, and A. Sanches Silva, "Antioxidant Capacity and Phenolics Profile of Portuguese Traditional Cultivars of Apples and Pears and Their By-Products: On the Way to Newer Applications," *Foods*, vol. 12, no. 7, p. 1537, Apr. 2023, doi: 10.3390/foods12071537.

### Acknowledgments and funding

This work was carried out in the frame of the clabel+ project: Innovative Natural, Nutritious and Consumer Oriented "Clean Label" Foods with the reference POCI-01-0247-FEDER-046080 financed by the Competitiveness and Internationalization Thematic Operational Programme (PO CI), under the COMPETE2020, PORTUGAL2020 Partnership Agreement, through the co-financing of European Regional Development Fund (FEDER). The work was supported by UIDB/00211/2020 with funding from FCT/MCTES through national funds. JDT would like to thank FCT for his fellowship (2023.04311.BDANA).

## CHEWING GUM AS AN INNOVATIVE AND SUSTAINABLE MITIGATION DEVICE CAPABLE RETAINING POLLUTANTS AND PROMOTE OCCUPATIONAL HEALTH

Pedro Almeida<sup>1</sup>, Virgínia Cruz Fernandes<sup>1</sup>, Cristina Delerue-Matos<sup>1</sup>, Paulo Costa<sup>2,3</sup>, Francisca Rodrigues<sup>1</sup>, Marta Oliveira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE/LAQV, ISEP, Polytechnic of Porto, Porto, Portugal

<sup>2</sup>Associate Laboratory i4HB—Institute for Health and Bioeconomy, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Portugal

<sup>3</sup>UCIBIO—Applied Molecular Biosciences Unit, MEDTECH, Laboratory of Pharmaceutical Technology, Department of Drug Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto (FFUP), Porto, Portugal

The food industry is constantly pursuing the development of secure and sustainable food systems for people. Various occupational activities (*e.g.*, firefighting forces) present increased risk of developing occupational disease, including cardiorespiratory diseases and cancer, due to regular exposure to health-hazardous pollutants such as particulate matter, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), brominated flame retardants (BFRs), among others [1-2]. This work aims to provide an innovative and sustainable mitigation technology through the development of a chewing gum (CG), enriched with fruit extracts with low commercial value, capable to reducing occupational exposure to PAHs and BFRs during firefighting activities. In collaboration with Lusiteca – Produtos Alimentares, S.A., three different CG formulations (CG<sub>a</sub>, CG<sub>b</sub>, and CG<sub>c</sub>) were created using various proportions of natural excipients, namely essential oil and dry kiwiberry (*Actinidia arguta*). The formulations were characterized utilizing several techniques, namely texture profile analysis and rheometry. The sensory analysis of the CGs was conducted with a panel of military firefighters from the Republican National Guard. CGs were exposed to commercial saliva contaminated with 18 PAHs and 7 BFRs, extracted and analyzed by liquid and gas chromatography, respectively. All of the developed formulations revealed similar textural and rheological characteristics. They were similarly perceived by our test panel, which showed great interest in the product and elected CG<sub>a</sub> and CG<sub>c</sub> as the preferred formulations. The two analytical methods developed and validated demonstrated the CG's capacity to retain PAHs and BFRs. Among the 2 formulations, CG<sub>a</sub> presented the highest capacity to retain the studied pollutants. A new CG was developed by a leading national industry to mitigate firefighters' occupational exposure to fire emissions during firefighting activities. During the last 2 summer seasons, the CG was used during live firefighting activities to evaluate the presence of fire-related pollutants in the oral cavity of firefighters. In the future, the protective capacity of the kiwiberry' extract added to the CG will be evaluated through in-vitro cell assays.

**Acknowledgments:** This work received support from UIDB/50006/2020, UIDP/50006/2020, LA/P/0008/2020, and <http://doi.org/10.54499/PCIF/SSO/0090/2019> by FCT-MCTES. M. Oliveira and F. Rodrigues are thankful for the scientific contracts <https://doi.org/10.54499/CEECIND/03666/2017/CP1427/CT0007> and <https://doi.org/10.54499/2020.01886.CEECIND/CP1596/CT0001>, respectively. The authors thank Lusiteca and the agents of UEPS-GNR for their collaboration and support.

**Funding:** This work was funded by project <http://doi.org/10.54499/2022.05381.PTDC> through Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (FCT-MCTES) with national funds. This work was also supported by national funds from FCT—Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P., under projects UIDP/04378/2020, UIDB/04378/2020 (UCIBIO), and LA/P/0140/2020 (i4HB).

### References

- [1] IARC Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer (2022)132, Lion, France.
- [2] Teixeira, J., Delerue-Matos, C., Morais, S. *et al.* Environmental contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons and contribution from biomonitoring studies to the surveillance of global health. *Environ Sci Pollut Res* (2024). <https://doi.org/10.1007/s11356-024-34727-3>

**PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO RIZOMA DE RUIBARBO**Matilde Rodrigues<sup>1,2</sup>, Maria Inês Dias<sup>1,2</sup>, Lillian Barros<sup>1,2</sup>, José Pinela<sup>1,2,3\*</sup><sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.<sup>2</sup>Laboratório para a Sustentabilidade e Tecnologia em Regiões de Montanha (SusTEC), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.<sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.), Rua dos Lágidos, Lugar da Madalena, 4485-655 Vairão, Vila do Conde, Portugal.

O ruibarbo (*Rheum rhabarbarum* L., syn. *R. undulatum* L.) é uma planta herbácea perene com aplicações promissoras nos setores alimentar e nutracêutico. O pecíolo (talo) da folha é comestível e comumente utilizado em preparações culinárias, destacando-se pelo seu sabor agri-doce e pelos elevados teores de fibra e ácido ascórbico. Por sua vez, o rizoma é tradicionalmente utilizado na medicina popular, principalmente como purgante [1]. Apesar do vasto potencial desta espécie, o rizoma permanece pouco explorado pela comunidade científica. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar o perfil fitoquímico e a atividade antioxidante do rizoma de ruibarbo. Os perfis de açúcares livres, ácidos orgânicos e tocoferóis foram caracterizados por cromatografia líquida de alta eficiência com diferentes tipos de deteção. O perfil de ácidos gordos foi analisado por cromatografia gasosa com deteção por ionização de chama, após derivação da fração lipídica obtida por extração de Soxhlet. As antraquinonas e os compostos fenólicos foram identificados por HPLC-DAD-ESI/MS num extrato hidroetanólico, que também foi utilizado para avaliar a atividade antioxidante através de ensaios de inibição *in vitro* da hemólise oxidativa e da formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico [2]. Este estudo permitiu identificar os açúcares frutose, glucose e sacarose, bem como os ácidos oxálico, málico, ascórbico e cítrico. Entre os compostos lipossolúveis, destacou-se o  $\alpha$ -tocoferol com sendo particularmente abundante, enquanto a fração lipídica era constituída principalmente por ácidos gordos polinsaturados. O extrato demonstrou uma elevada atividade antioxidante em comparação com o Trolox, o controlo positivo, e um perfil variado de antraquinonas e compostos fenólicos (flavonoides C-glicosilados). Deste modo, este trabalho contribuiu para aumentar o conhecimento sobre a composição fitoquímica e o potencial bioativo do rizoma de ruibarbo e os resultados poderão ser úteis para promover a sua valorização.

**Agradecimentos:** Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pelo apoio financeiro através de fundos nacionais FCT/MCTES (PIDDAC): CIMO, UIDB/00690/2020 (10.54499/UIDB/00690/2020) e UIDP/00690/2020 (10.54499/UIDP/00690/2020); SusTEC, LA/P/0007/2020 (10.54499/LA/P/0007/2020); e contratos de M.I.D. (10.54499/CEECINST/000 16/2018/CP1505/CT0004) e L.B. (10.54499/CEECINST/00107/2021/CP2793/CT0002).

**Referências**

[1] Kolodziejczyk-Czepas, J.; Liudvytska, O. *Phytochemistry Reviews*, 20, 2021, 589–607.

[2] Lockowandt, L.; Pinela, J.; Roriz, C.L.; et al. *Industrial Crops & Products*, 128, 2019, 496–503.