gfi / Brasil

Estudo Regulatório sobre Proteínas Alternativas no Brasil - Fermentação

2022

FICHA DE CRÉDITOS

Autoras

Neusely da Silva, Marta Hiromi Taniwaki, Patrícia Blumer Z. Rodrigues de Sá, Claire Isabel G. L. Sarantopoulos, Danielle Ito, Eloísa Elena Corrêa Garcia e Gisele Anne Camargo.

Coordenação

Ana Carolina Rossettini, Alexandre Cabral, Gustavo Guadagnini, Katherine de Matos, Raquel Casselli.

Revisão

Alexandre Cabral, Luciana Fontinelle.

Projeto Gráfico

Fábio Cardoso, Vinícius Gallon.

Equipe do The Good Food Institute Brasil

Alexandre Cabral . . . . . Diretor de Políticas Públicas
Amanda Leitolis . . . . . Especialista de Ciência e Tecnologia
Ana Carolina Rossettini . . . . . Gerente de Desenvolvimento
Camila Lupetti . . . . . .Especialista de Dados
Cristiana Ambiel. . . . . Gerente de Ciência e Tecnologia
Guilherme Vilela. . . . . Especialista de Engajamento Corporativo
Gustavo Guadagnini . . . . . Diretor Executivo
Jaqueline Gusmão . . . . . Assistente Executiva
Karine Seibel. . . . . Gerente de Operações e Recursos Humanos
Katherine de Matos . . . . . Diretora de Ciência e Tecnologia
Lorena Pinho. . . . . Analista de Ciência e Tecnologia
Luciana Fontinelle. . . . . Especialista de Ciência e Tecnologia
Mariana Bernal . . . . . Analista de Políticas Públicas
Mariana Demarco . . . . . Analista de Ciência e Tecnologia
Raquel Casselli . . . . . Gerente de Engajamento Corporativo
Vinícius Gallon . . . . . Especialista de Comunicação

WWW.GFI.ORG.BR

GFIBR@GFI.ORG

The Good Food Institute Brasil

O The Good Food Institute é uma organização global sem fins lucrativos que trabalha para transformar a cadeia de produção de alimentos.

Com equipes nos Estados Unidos, Brasil, Israel, Índia, e países da Europa e da região Ásia-Pacífico, apoia o desenvolvimento do setor de proteínas alternativas, especialmente o mercado de carnes, ovos, e produtos lácteos vegetais, cultivados ou obtidos por fermentação.

Para isso, a instituição oferece os seus serviços gratuitamente à sociedade através de três áreas programáticas:

Engajamento Corporativo

Apoia a indústria de alimentos e de ingredientes, restaurantes e varejistas no desenvolvimento, aprimoramento e distribuição de produtos a base de proteínas alternativas. Auxilia startups e investidores na elaboração de planos de negócios, financiamento, comunicação, comercialização e regulação, além de produzir dados e informações relevantes para o mercado.

Ciência e Tecnologia

Trabalha para desenvolver, financiar e promover o conhecimento científico envolvido na produção de carnes, ovos e produtos lácteos feitos à base de plantas, cultivados a partir de células ou obtidos por fermentação. Promove a capacitação de profissionais e a disseminação do conhecimento técnico e científico associado às áreas de proteínas alternativas.

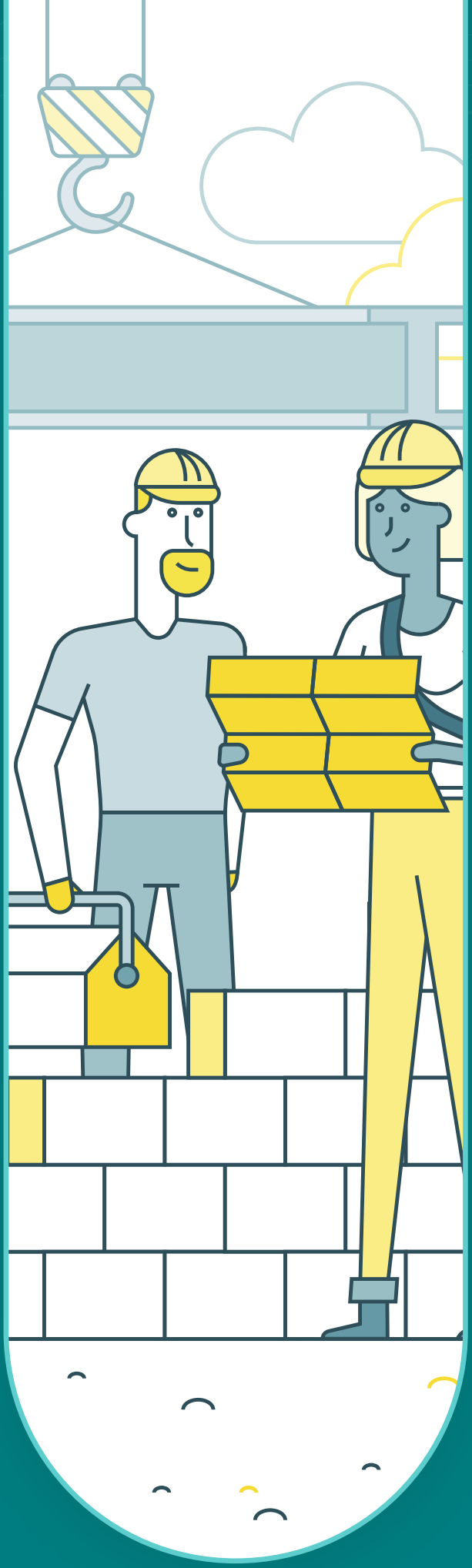
Políticas Públicas

Atua diretamente com agentes de governo e formuladores de políticas públicas, além de fomentar a comunicação entre o governo e os agentes de mercado, para assegurar que o marco regulatório vigente permita o desenvolvimento pleno do setor de proteínas alternativas no Brasil.

Com esse trabalho, o GFI busca soluções para resolver quatro grandes desafios atuais:

1. Alimentar de forma segura, justa e sustentável quase dez bilhões de pessoas até 2050.
2. Conter as mudanças climáticas provocadas pelo atual sistema de produção de alimentos.
3. Reduzir a contribuição do setor de alimentos no desenvolvimento de novas doenças infecciosas, algumas com potencial pandêmico.
4. Criar uma cadeia de produção de alimentos que não dependa de animais.

O GFI está construindo um mundo onde as proteínas alternativas não são mais alternativas, são a escolha padrão.



APRESENTAÇÃO

Com o intuito de fornecer referência técnica para o desenvolvimento do marco regulatório no Brasil para as proteínas alternativas, a pedido do The Good Food Institute – GFI, o Instituto de Tecnologia de Alimentos – Ital, elaborou três documentos técnicos abordando, separadamente, as proteínas alternativas obtidas por cultura celular, nomeadamente carne cultivada, além daquelas produzidas por fermentação ou produzidas a partir de planta (*plant-based*).

Este documento aborda as **proteínas obtidas por fermentação**. Inicialmente é apresentada uma análise do atual cenário regulatório internacional sobre o tema. O mapeamento do estágio da regulamentação da fermentação no exterior focou principalmente os regulamentos da União Europeia, Estados Unidos, Canadá, Austrália/Nova Zelândia, Cingapura, Israel, China, Índia e Japão, bem como fontes de orientação complementares, como guias e documentos de perguntas e respostas identificados nos websites das autoridades nacionais competentes. Além da legislação internacional foram também analisadas as diretrizes do *Codex Alimentarius*.

Em seguida são apresentadas as principais características técnicas dos processos fermentativos atualmente aplicados à produção de proteínas. Foi feita uma revisão bibliográfica de artigos internacionais publicados em anos recentes, com foco nas características dos processos, segurança e pureza dos insumos utilizados, pontos críticos de controle e contaminantes químicos, físicos e biológicos potenciais.

Por fim, é apresentado o panorama atual da legislação brasileira para aprovação de novos alimentos, ingredientes e aditivos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Anexo 1). Foram detalhados os requisitos legais previstos no marco regulatório vigente, com uma análise das necessidades de revisão e dos temas não previstos e que necessitam ser nele inseridos, de forma a enquadrar e controlar adequadamente esta categoria de proteínas alternativas.

PARCEIROS

PALAVRA INSTITUCIONAL

Há milhares de anos já se fazia pão e se produzia cerveja. A fermentação tem sido usada na produção de alimentos há muito tempo. As civilizações antigas usavam culturas microbianas para preservar alimentos, criar bebidas alcoólicas e melhorar o valor nutricional e a biodisponibilidade de alimentos. Ao longo do século XX, com a evolução da biotecnologia industrial, o papel da fermentação se expandiu muito além de seu uso histórico, passando a ser usada para uma gama muito mais ampla de aplicações.

Hoje, a fermentação tem se mostrado uma poderosa tecnologia que viabiliza inovações em toda a indústria de proteínas alternativas, configurando-se como um terceiro pilar tecnológico, ao lado das tecnologias envolvidas na obtenção de produtos análogos de origem animal feitos de plantas ou cultivados a partir de células. O estado-da-técnica em fermentação combina hoje o conhecimento milenar da fermentação tradicional de alimentos, as lições de escala aprendidas com os biocombustíveis e a precisão pioneira dos biofármacos para levar os produtos proteicos alternativos para um próximo nível, permitindo obter mais eficiência do próprio microrganismo como fonte primária de proteína; ou derivando ingredientes especializados, como aromatizantes, enzimas, proteínas e gorduras com características dificilmente obtidas de forma tão eficiente por outras rotas tecnológicas.

A indústria de proteínas alternativas usa a fermentação de três maneiras principais. A fermentação tradicional utiliza microrganismos vivos intactos para processar ingredientes derivados de plantas, resultando em ingredientes com sabor, textura e perfil nutricional únicos. A fermentação para produção de biomassa aproveita o rápido crescimento de muitos microrganismos para produzir eficientemente grandes quantidades de proteína. Por fim, a fermentação de precisão usa hospedeiros microbianos especialmente projetados para funcionarem como "fábricas de células" e assim produzirem ingredientes funcionais que normalmente requerem maior pureza do que os ingredientes primários e são incorporados em níveis muito mais baixos, mas são os responsáveis por características sensoriais e atributos funcionais únicos e aprimorados.

Apesar de todas as inovações tecnológicas envolvidas, o campo da fermentação fica normalmente circunscrito ao setor de ingredientes e é bem gerenciado pelos marcos regulatórios já existentes para as gerações tecnológicas anteriores, pelos regulamentos sobre microganismos geneticamente modificados e pelos regulamentos gerais de novos alimentos.

Por isso, este estudo regulatório, contratado pelo GFI Brasil com o apoio de um grupo de empresas do setor e realizado ao longo de 2021 pela equipe do Instituto de Tecnologia de alimentos (ITAL), reconhecida instituição de pesquisa com quase 60 anos de experiência, não prima por recomendações de ajustes regulatórios. Seu principal mérito está na compilação robusta de dados sobre o estado-da-técnica no uso de processos fermentativos na indústria de alimentos, acompanhada da apresentação de diversos estudos de caso recentes de ingredientes obtidos por essa rota tecnológica, apontando como eles foram regulados em seus países de origem. Tem o papel de permitir ao regulador entender os desafios trazidos pelos novos usos e como adaptar os procedimentos já existentes no Brasil às novas características trazidas pela tecnologia.

Com esse conjunto único de informações, esperamos que a execução das etapas da Análise de Impacto Regulatório para os ingredientes obtidos por fermentação possa ser iniciada em 2022 a partir das informações científicas aqui apresentadas, aprofundada através de oficinas e debates a serem produzidos em 2022, sempre complementada e atualizada através dos canais de comunicação efetivos e bidirecionais com as empresas atuantes no setor e com os reguladores estrangeiros.

CONTENTS

1 - ANÁLISE DO CENÁRIO REGULATÓRIO INTERNACIONAL DE PROTEÍNAS OBTIDAS POR FERMENTAÇÃO 10

1.1. União Europeia (UE) 10
1.2. Estados Unidos 18
1.3. Canadá 22
1.4. Austrália e Nova Zelândia 26
1.5. Singapura 29
1.6. China 32
1.7. Israel 36
1.8. Índia 37
1.9. Japão 39
1.10. Codex Alimentarius 41

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA INTERNACIONAL E NACIONAL SOBRE AS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS POR FERMENTAÇÃO 43

2.1. Processos de fermentação 44
2.2. A fermentação tradicional 53
2.3. Fermentação para produção de biomassa 56
2.4. Fermentação de precisão 69
2.4. Matérias primas para a produção de proteínas por fermentação 75

3 - ANÁLISE DO MARCO REGULATÓRIO NACIONAL 77

3.1. Resolução nº 16/1999 78
3.2. Portaria nº 15/1999 79
3.3. Resolução nº 17/1999 79
3.4. Resolução nº 18/1999 80
3.5. Resolução nº 22/2000 80
3.6. Resolução RDC nº 23/2000 81
3.7. Resolução RDC nº 27/2010 82
3.8. Guia nº 23 (versão 1)/2019 82
3.9. Guia nº 37 (versão 1)/2020 85
3.10. Páginas da ANVISA com orientações para petição de registro 89

3.11. Ferramenta de consulta de novos alimentos, novos ingredientes, probióticos e enzimas aprovados. 90

3.12. Lista de ingredientes (constituintes) autorizados para uso em suplementos alimentares. 90

3.13. Novos Alimentos e Ingredientes: Documento de Base para Discussão Regulatória 91

4 - REFERÊNCIAS 94

1 - ANÁLISE DO CENÁRIO REGULATÓRIO INTERNACIONAL DE PROTEÍNAS OBTIDAS POR FERMENTAÇÃO

Para a análise do cenário regulatório internacional foram levantadas informações sobre a legislação vigente (leis, decretos, regulamentos, diretrizes) aplicáveis a proteínas alternativas produzidas por fermentação na União Europeia, Estados Unidos, Canadá, Austrália e Nova Zelândia, Singapura, Israel, China, Índia e Japão. Além da legislação internacional foram também incluídas as diretrizes do *Codex Alimentarius*.

É importante enfatizar que em todos estes países a regulação é geral para "novel foods". Na medida da disponibilidade, destacamos os itens que tratam especificamente de proteínas obtidas por fermentação.

1.1. União Europeia (UE)

A base da normatização de novos alimentos no mercado da União Europeia, incluindo proteínas alternativas produzidas por fermentação é o Regulamento (EU) nº 2.283, de 25 de novembro de 2015, chamado de *Novel Food Regulation* (NFR). O sistema é baseado nas chamadas listas positivas, ou seja, novos alimentos só podem ser comercializados se autorizados através da inclusão numa lista disponível ao público, elaborada pela Comissão Europeia. O NFR estabelece os princípios gerais do processo de autorização, enquanto outros regulamentos complementares tratam de aspectos mais específicos.

1.1.1. Regulamento (EU) nº 2.283/2015

Regulamento do Parlamento Europeu e do Conselho da União Europeia relativo a novos alimentos

https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?qid=1587218817543&uri=CELEX:02015R2283-20210327

Define "novos alimentos" como os alimentos não utilizados em quantidade significativa para consumo humano na União Europeia antes de 15 de maio de 1997. Aplica-se a todas as categorias de produtos que se enquadrem na definição, incluindo a categoria dos "alimentos que consistam em microrganismos, fungos ou algas ou que tenham sido isolados ou produzidos a partir desses organismos", na qual se inserem as proteínas alternativas produzidas por fermentação. Não se aplica aos seguintes produtos com regulamentação própria: alimentos geneticamente modificados, enzimas alimentares, aditivos alimentares, aromatizantes alimentares e solventes de extração utilizados ou destinados a serem utilizados na produção de gêneros alimentícios.

Estabelece os procedimentos para qualificar um produto como novo alimento, as competências de execução relativas à definição de novos alimentos, os requisitos para a colocação de novos alimentos no mercado da União Europeia, os procedimentos de autorização de um novo alimento, além das regras processuais adicionais e outros requisitos.

A Comissão Europeia é responsável por especificar, através de atos de execução, as etapas do processo de consulta, avaliação e autorização dos novos alimentos. A autorização depende do cumprimento das seguintes condições: a) o alimento não representa, com base em provas científicas, um risco de segurança para a saúde humana; b) a utilização a que o alimento se destina e a rotulagem pretendida não induzem o consumidor a erro, especialmente quando uso proposto for a substituição de outro alimento e c) se o novo alimento for destinado a substituir outro alimento, a substituição não representar desvantagem nutricional para o consumidor.

1.1.2. Regulamento de Execução da Comissão (EU) nº 2.469/2017

https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02017R2469-20210327

Define os requisitos para pedidos de autorização de novos alimentos. Estabelece que o processo deve conter informações e documentação científica suficientes para que a Comissão possa verificar a validade do pedido e a segurança do novo alimento. Destaca que, em se tratando de um pedido para aditar, suprimir ou alterar condições de utilização, especificações, requisitos específicos de rotulagem adicionais ou requisitos de monitoramento pós-comercialização de um novo alimento já autorizado, pode não ser necessária a inclusão de todos estes dados, se apresentada uma justificativa verificável. Exige que os testes toxicológicos sejam realizados de acordo a Diretiva 2004/10/CE do Parlamento Europeu e do Conselho ou, se realizados fora do território da União, obedeçam os princípios da OECD GLP (*Organisation for Economic Cooperation and Development/Good Laboratory Practice*), revisão de 1997 - ENV/MC/CHEM(98)17.

Diretiva 2004/10/CE do Parlamento Europeu e do Conselho:

https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02004L0010-20090420

Princípios da OCDE em matéria de Boas Práticas de Laboratório revisão de 1997 - ENV/MC/CHEM(98)17:

https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-principles-on-good-laboratory-practice_9789264078536-en;jsessionid=P7SRldxITGIhL6X2ydbmaC3S.ip-10-240-5-100

A Comissão deve verificar, no mais breve prazo, se o pedido preenche os requisitos para aceitação, podendo para tanto consultar a EFSA (*European Food Safety Authority*), autoridade de aconselhamento científico. A EFSA deve apresentar seu ponto de vista no prazo de 30 dias úteis.

No artigo 4º são definidos os requisitos de dados administrativos. Dentre eles o item a) exige "nome(s) do(s) fabricante(s) do novo alimento, se não se tratar do requerente, endereço e pormenores de contato". Este item indica que o pedido não precisa ser obrigatoriamente apresentado pelo fabricante e o uso do plural opcional parece indicar que a aprovação de um mesmo novo alimento produzido por mais de um fabricante pode ser peticionada em um único processo.

Os dados científicos dos pedidos de autorização podem receber tratamento confidencial, se sua divulgação puder prejudicar a posição competitiva do requerente. Neste caso o item f) exige uma lista das partes do processo a tratar como confidenciais e justificativa verificável em conformidade com o artigo 23º do Regulamento (UE) 2283/2015 e com as normas estabelecidas no anexo II

do regulamento. Se o processo de produção contiver dados confidenciais, deve ser fornecido um resumo não confidencial do processo de produção". O item g) exige que sejam apresentadas "informações e explicações comprovando que o requerente tem um direito de referência a dados ou provas científicas abrangidos por direitos de propriedade industrial, em conformidade com o artigo 26º do Regulamento (UE) 2283/2015". Em caso favorável, o requerente recebe autorização de proteção dos dados por um período de cinco anos, a contar da data de autorização do novo alimento, sendo facultado ao requerente permitir que outros requerentes utilizem estes dados.

No artigo 5º são definidos os requisitos de dados científicos. O item 1) estabelece que o processo deve permitir a realização de uma avaliação de risco circunstanciada do produto. Dentre as informações requeridas estão:

Item 3) O procedimento e a estratégia seguida para coleta dos dados.

Item 4) A descrição da estratégia de avaliação da segurança e a correspondente estratégia de ensaios toxicológicos.

Item 5) A pedido, os dados brutos dos estudos realizados pelo requerente ou em seu nome, publicados ou não (tanto os dados usados para gerar as conclusões quanto os resultados das análises).

Item 6) Os dados de segurança do consumo para grupos da população aos quais não se destinam o novo alimento, quando não for possível excluir a possibilidade de consumo por tais grupos.

Item 7) Os dados comprobatórios de que o material de ensaio utilizado nos estudos biológicos ou toxicológicos atende as especificações propostas ou existentes para o novo produto e, caso o material de ensaio seja diferente daquele das especificações, demonstrar a relevância dessa informação para o novo alimento em consideração. Os dados comprobatórios de que as instalações onde foram realizados os estudos cumprem os requisitos da Diretiva 2004/10/CE ou, se efetuados fora do território da União Europeia, cumprem os "princípios da OCDE em matéria de Boas Práticas de Laboratório" e justificar qualquer desvio em relação a estes protocolos.

item 8) O requerente deve propor uma conclusão geral sobre a segurança do novo alimento para a saúde humana nas condições de uso proposta, considerando o contexto da exposição conhecida ou provável.

No item 4 do artigo 6º fica estabelecido que um pedido pode ser considerado válido mesmo que não contenha todos os elementos exigidos, desde que o requerente apresente uma justificativa adequada para cada elemento em falta.

1.1.3. Regulamento de Execução da Comissão (EU) nº 2.470/2017

https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02017R2470-20210627

Estabelece a lista de novos produtos da União Europeia, definindo as condições em que podem ser utilizados (em que categoria de alimentos e o nível máximo diário permitido) e as especificações. Já foram incluídos na lista os seguintes produtos obtidos por fermentação:

Extrato de soja preta fermentada com *Aspergillus oryzae* (proteína ≥ 55%), para adição em suplementos alimentares;

Produtos lácteos fermentados com *Bacteroides xylanisolvens* (não contém células bacterianas viáveis, inativadas por tratamento térmico após a fermentação);

Biomassa celular da levedura *Yarrowia lipolytica* (proteína 45-55 g/100 g), para adição em suplementos alimentares (até 6 g/dia);

Biomassa celular liofilizada da microalga *Tetraselmis chuii* (proteína 35% a 40%) para adição em molhos (20%), sais especiais (1%), condimentos (250 mg/dia), suplementos alimentares (250 mg/dia).

1.1.4. Regulamento de Execução da Comissão (EU) nº 456/2018

https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R0456&from=EN

Regulamenta as etapas do processo de consulta para determinar se o produto se enquadra no *status* de novo alimento.

O operador da empresa do setor alimentar deve consultar o Estado-Membro onde pretende comercializar o produto. Se o objetivo for colocar o alimento simultaneamente em vários Estados-Membros, pode apresentar o pedido de consulta apenas a um desses Estados-Membros.

O Estado-Membro destinatário deve apresentar a conclusão no prazo de quatro meses a contar da data em que considerou válido o pedido de consulta.

Os operadores das empresas do setor alimentar podem solicitar que a divulgação de determinadas informações apresentadas no pedido de consulta seja objeto de tratamento confidencial, nos casos em que a divulgação dessas informações possa prejudicar a sua posição competitiva.

1.1.5. Catálogo de Novos Alimentos

https://ec.europa.eu/food/safety/novel_food/catalogue/search/public/index.cfm

Traz uma lista não exaustiva que serve de orientação para determinar se o produto se enquadra no *status* de novo alimento.

1.1.6. Diretrizes da EFSA (European Food Safety Authority)

A EFSA é uma agência independente de aconselhamento e apoio científico, criada pelo Regulamento (CE) 178/2002 (*General Food Law*) do Parlamento e do Conselho Europeu, que normatizou a produção de alimentos na União Europeia. Na questão de novos alimentos as publicações da EFSA trazem orientação e opiniões para auxiliar na submissão de pedidos de autorização de novos produtos. Caso entenda necessário, a Comissão Europeia pode solicitar à EFSA um parecer sobre a segurança de um novo alimento que esteja em processo de avaliação.

1.1.6.1. EFSA/2021

Diretrizes para o preparo e a apresentação dos pedidos de autorização de novos alimentos no contexto do Regulamento (EU) 2283/2015 (Revisão 1) (doi:10.2903/j.efsa.2021.6555)

Orienta a preparação de um dossiê com as informações exigidas no regulamento 2283/2015 para a apresentação dos pedidos de autorização de novos alimentos. No caso de "alimentos que consistam em microrganismos, fungos ou algas ou que tenham sido isolados ou produzidos a partir desses organismos", dentre os quais se incluem as proteínas alternativas produzidas por fermentação, são detalhadas as seguintes informações técnicas e científicas, dentre outras exigidas:

a) Nome e origem do microrganismo

Nome científico e status taxonômico (família, gênero, espécie e linhagem) segundo código internacional de nomenclatura e seus sinônimos. Origem do microrganismo e, se disponível, número de código da cultura em uma coleção de cultura reconhecida.

b) Comprovação da identidade do microrganismo

Deve ser feita segundo bases de dados e metodologia reconhecida internacionalmente. No caso de algas o *Algae Database* (www.algaebase.org) e no caso de fungos filamentosos, o *Index Fungorum* (http://www.indexfungorum.org/names/names.asp).

No caso de leveduras e bactérias, métodos moleculares tais como os descritos pela EFSA na publicação *Scientific and technical guidance for the preparation and presentation of a health claim application* (EFSA Journal 2021, doi:10.2903/j.efsa.2021.6554), que permitem prever genes codificadores de toxinas, resistência a antimicrobianos e outros fatores de patogenicidade.

c) Detalhamento do processo produtivo

Para novos alimentos que consistam em ou sejam derivados de microrganismos o requerente deve descrever em detalhes: c1) as etapas do processo pelo qual a matéria-prima é convertida no produto final, c.2) Informações sobre potenciais metabólitos tóxicos, impurezas, e outros contaminantes e medidas para reduzir ou evitar sua formação, c3) informações sobre reagentes utilizados no processo de fabricação e resíduos remanescentes no produto final), c4) medidas implementadas para controle de produção (por exemplo, HACCP, GMP, ISO), c5) fluxograma do processo incluindo verificações de controle de qualidade e segurança.

d) Dados de composição

Devem ser obtidos por métodos validados, de preferência reconhecidos nacional ou internacionalmente (por exemplo, *Association Of Analytical Communities, American Chemical Society*, *European Pharmacopoeia*). As análises devem ser conduzidas preferencialmente em pelo menos cinco lotes representativos do novo alimento, produzidos independentemente (ou seja, com lotes diferentes de matérias-primas).

No caso de substâncias puras os seguintes dados devem ser fornecidos: testes de identidade, propriedades físico-químicas (por exemplo, aparência, ponto de fusão, ponto de ebulição), dados de solubilidade em água e outros solventes comuns, tamanho da partícula, forma e distribuição, valor mínimo de pureza, densidade e/ou viscosidade para preparações líquidas. No caso de misturas simples de substâncias definidas, cujos componentes possam ser totalmente caracterizados quimicamente, devem ser fornecidas informações sobre a identidade e a proporção relativa de todos os componentes, de forma a permitir a elaboração de um balanço de massa.

No caso de alimentos completos ou misturas complexas (por exemplo extratos de células) cujos componentes não podem ser totalmente identificados quimicamente, deve ser fornecida uma caracterização qualitativa e quantitativa dos constituintes principais (proteína, gordura, carboidratos, cinzas, umidade). A quantidade de componentes não identificados deve ser relatada.

No caso de produtos obtidos de microrganismos geneticamente modificados (GMMOs), há exigências adicionais dependendo da categoria de produto, que pode ser de quatro tipos: Categoria 1) Compostos purificados (quimicamente definidos) ou suas misturas, nos quais tanto os GMMOs quanto os genes recombinantes foram removidos (por exemplo, aminoácidos, vitaminas). Categoria 2) Produtos complexos não quimicamente definidos nos quais os GMMOs e os genes recombinantes não estão mais presentes (por exemplo, extratos de células e a maioria das preparações enzimáticas). Categoria 3) Produtos derivados de GMMOs nos quais os microrganismos capazes de multiplicação ou de transferência de genes não estão mais presentes, mas os genes recombinantes sim (por exemplo, culturas iniciadoras inativadas pelo calor). Categoria 4) Produtos que consistem em ou que contêm GMMOs capazes de multiplicação ou de transferência de genes (por exemplo, culturas iniciadoras vivas para produção de alimentos fermentados).

Para os produtos das categorias 1, 2 e 3 é necessário explicitar o processo pelo qual o GMMO foi removido ou inativado e confirmar a ausência de células viáveis não cultiváveis ou de esporos. No caso das categorias 1 e 2 também se deve demonstrar que nenhum gene recombinante restou no produto.

No caso da categoria 4 (em alguns casos das categorias 2 e 3) exige-se a comprovação de que as características do produto não diferem do equivalente tradicional ou, na inexistência de um equivalente tradicional, uma avaliação de segurança mais extensa, incluindo a possibilidade de transferência de material genético para outros microrganismos, a possibilidade de disseminar resistência e a toxicidade e/ou alergenicidade das proteínas expressas, dentre outros. No entanto, se o GMMO foi desenvolvido a partir de uma espécie microbiana com status de QPS (*Qualified Presumption of Safety*), que é uma avaliação conduzida pela EFSA para atestar a segurança de microrganismos para uso alimentar, estudos adicionais de segurança não são necessários ou podem limitar-se a evidências de que certas qualificações são atendidas (por exemplo, inexistência de resistência antimicrobiana transmissível ou produção de toxinas). Uma listagem dos microrganismos reconhecidos como QPS é mantida e regularmente atualizada pelo *EFSA Panel on Biological Hazards* (BIOHAZ).

https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/qualified-presumption-safety-qps#qps-list

e) Informações nutricionais

Deve incluir detalhes da composição de nutrientes e sua biodisponibilidade, do conteúdo e efeito de fatores antinutricionais e, no caso de novos alimentos destinados à substituição de alimentos tradicionais, demonstração de que a substituição não traz desvantagens do ponto de vista nutricional. Além dos dados de composição, em casos específicos podem ser necessários estudos *in vitro* e/ou em animais e/ou em humanos para determinar a interação do novo alimento com os nutrientes da dieta regular.

f) Padrão de identidade e qualidade do produto

Deve incluir padrões qualitativos e quantitativos sobre constituintes inerentes nutricionalmente relevantes (por exemplo, proteínas, aminoácidos, micronutrientes), padrão de pureza e limites aceitáveis para impurezas e produtos de degradação, limites máximos de contaminantes (toxinas, micotoxinas, metais pesados, resíduos de pesticidas, padrão microbiológico e limites para outros parâmetros físico-químicos ou bioquímicos relevantes.

g) Estabilidade do produto

Dados sobre a estabilidade microbiológica, bioquímica e físico química durante o armazenamento e transporte e dados sobre os ingredientes adicionados para conferir estabilidade. Se o novo produto for usado como ingrediente adicionado a outros alimentos, a estabilidade destes alimentos processados também deve ser determinada.

h) Usos propostos e ingestão estimada prevista

Dados sobre os usos propostos e estimativa de ingestão diária prevista (por kg de peso corporal e em quantidades absolutas) para cada grupo da população-alvo (incluindo, quando relevante, grupos vulneráveis, como crianças, mulheres grávidas e lactantes).

Recomenda-se como ponto de partida a estimativa da ingestão diária mais alta (ou seja, pelo menos no percentil 95) com base nos dados de um banco de dados representativo (por exemplo, *EFSA Comprehensive European Food Consumption Database* ou pesquisas dietéticas nacionais). O site da EFSA também disponibiliza dados estatísticos resumidos do consumo de alimentos na forma de planilhas. No caso de novos alimentos destinados a substituir alimentos tradicionais, os dados de consumo do alimento que se pretende substituir podem ser usados para estimar o consumo do novo produto, desde que apresentadas considerações sobre a razoabilidade de se esperar que o tradicional seja substituído pelo novo.

Food Consumption Database:

https://www.efsa.europa.eu/en/data-report/food-consumption-data

Estimativas de exposição às substâncias indesejáveis identificadas na análise de composição (por exemplo, potenciais metabólitos secundários microrganismos, resíduos, contaminantes ou produtos de degradação) também devem ser fornecidas.

i) Informações toxicológicas

Devem incluir considerações sobre o risco representado pelos componentes toxicologicamente relevantes (como impurezas, subprodutos de metabolismo, contaminantes químicos ou microbiológicos) em relação a ingestões estimadas. Os estudos requeridos incluem toxicidade subcrônica, toxicidade crônica, carcinogenicidade, toxicidade reprodutiva, toxicidade de desenvolvimento e dados humanos (como exame físico, química do sangue, hematologia, análise de urina, pressão arterial, testes de função de órgãos e monitoramento de reações adversas).

Para produtos contendo microrganismos viáveis sem *status* QPS uma avaliação de segurança do microrganismo também deve ser realizada, de acordo com as diretrizes do *EFSA Guidance on the characterization of microorganisms used as feed additives or as production organisms* (EFSA, 2018). Esta avaliação é baseada principalmente na classificação taxonômica inequívoca em nível de espécie e na caracterização completa da cepa por análise de sequência de genoma, para permitir a detecção de genes relacionados à virulência, à formação de metabólitos tóxicos e à resistência a antimicrobianos e sua potencial transferência horizontal. A caracterização fenotípica do perfil de resistência a antimicrobianos, atividade hemolítica, infecciosidade, efeitos imunológicos adversos e outras características também deve ser realizada.

EFSA, 2018: https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5206

h) Informações sobre a alergenicidade

O potencial alergênico do novo produto deve ser avaliado, considerando-se sua composição, particularmente a(s) proteína(s), a origem do microrganismo utilizado na fermentação (incluindo relações taxonômicas), o processo de produção e os dados experimentais em humanos disponíveis. Uma revisão abrangente da literatura deve ser fornecida, a fim de recuperar as informações existentes sobre sensibilização, relatos de casos de reações alérgicas e/ou estudos de alergenicidade (in vitro, em animais, em humanos) do novo alimento e/ou sua(s) fonte(s). Considerando que a maioria dos alérgenos alimentares são proteínas, deve ser determinado o teor de proteína no novo alimento com uma descrição precisa dos métodos usados para a análise. Outras informações relevantes são o h1) o peso molecular da proteína potencialmente alergênica, h2) o grau de homologia de sua sequência com alérgenos conhecidos, h3) sua estabilidade ao calor, sensibilidade ao pH e digestibilidade por proteases gastrointestinais e h4) testes imunológicos realizados (por exemplo, Western blotting). Testes em humanos aplicáveis: h5) detecção de anticorpos IgE específicos, h6) teste de picada na pele, h7) estudos de desafio alimentar duplo-cego controlados por placebo.

1.1.6.2. EFSA/2018

Diretrizes administrativas para a apresentação dos pedidos de autorização de novos alimentos no contexto do Regulamento (EU) 2015/2283

https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1381

Este documento apresenta uma lista de verificação com dados técnicos e científicos exigidos na apresentação dos pedidos de autorização de novos alimentos e quadros com modelos de apresentação dos estudos científicos incluídos no dossiê técnico.

1.2. Estados Unidos

Nos Estados Unidos não há uma definição para novos alimentos e tampouco uma legislação específica que os normatize. Qualquer novo alimento é tratado ou como aditivo alimentar direto ou como substância GRAS (*Generally Recognized as Safe*), estando, em ambos os casos, sujeito à regulamentação já existente para estas categorias de produtos no FD&C Act (*Federal Food, Drug, and Cosmetic Act*) e no Título 21 do CFR (*Code of Federal Regulation*).

FD&C Act (*Federal Food, Drug, and Cosmetic Act*)

https://www.fda.gov/regulatory-information/laws-enforced-fda/federal-food-drug-and-cosmetic-act-fdc-act

Título 21 do CFR (*Code of Federal Regulation*)

https://www.fda.gov/medical-devices/medical-device-databases/code-federal-regulations-title-21-food-and-drugs

As principais diferenças entre o programa de notificação GRAS e o processo de aprovação de aditivos alimentares estão relacionadas a quem revisa e a quem tem acesso aos dados e informações científicas. Na aprovação de um aditivo alimentar os dados são privados e a FDA é quem determina a segurança, ou seja, a aprovação é feita pelo governo. Na notificação GRAS os dados devem ser públicos, amplamente conhecidos e a conclusão de que a substância é segura deve resultar de um consenso entre especialistas qualificados, ou seja, é feita por peritos fora do governo, cabendo a FDA questionar ou não tal conclusão. Nos dois casos a quantidade e a qualidade das evidências científicas exigidas para a avaliação é praticamente a mesma.

1.2.1. Processo de avaliação com aditivo alimentar direto

https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/overview-food-ingredients-additives-colors

Aditivos alimentares diretos são definidos como substâncias adicionadas a um alimento para uma finalidade específica. O fabricante deve encaminhar uma petição à FDA, com evidências de que o produto é seguro nas condições de uso propostas. A FDA irá avaliar os dados científicos e as informações apresentadas na petição, considerando na avaliação itens como a composição e as propriedades da substância, a ingestão estimada prevista, os efeitos imediatos e de longo prazo sobre a saúde e vários outros fatores de segurança. Em função das limitações inerentes à ciência, a FDA não determina com absoluta certeza a inexistência de qualquer risco decorrente do uso de aditivos; o parecer irá determinar se há uma “certeza razoável de ausência de dano” e, se aprovado, os tipos de alimentos nos quais o aditivo pode ser usado, as quantidades máximas permitidas e as exigências de rotulagem. No caso de aditivos destinados a produtos de carne bovina e de aves, a FDA consulta o USDA (*United States Department of Agriculture*) durante o processo de avaliação.

1.2.2. Processo de avaliação como substância GRAS

https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/how-us-fdas-gras-notification-program-works

https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/generally-recognized-safe-gras

De acordo com as seções 201(s) e 409 do FD&C Act, qualquer substância intencionalmente adicionada aos alimentos é considerada um aditivo alimentar, a menos que seja geralmente reconhecida, entre especialistas qualificados, como comprovadamente segura nas condições de uso pretendido (GRAS) (ou de alguma outra forma excluída da definição de aditivo alimentar).

O uso de uma substância alimentar pode ser reconhecido como seguro (GRAS) através de evidenciação científica ou, no caso de substâncias usadas em alimentos antes de 1958, em função da experiência de uso comum em alimentos. Sob a parte 170.30 (b) do Título 21 do CFR, o reconhecimento geral de segurança por meio de procedimentos científicos exige a mesma quantidade e qualidade de evidências requeridas para os aditivos alimentares.

A FDA dispõe de um programa de notificação (*GRAS Notification Program*) que fornece um mecanismo voluntário de notificar à FDA que uma determinada substância é GRAS, em vez de solicitar à Agência que confira tal status ao produto. As notificações devem incluir uma descrição da substância, as condições de uso pretendidas e os dados científicos que comprovam a segurança (identidade, propriedades e informações de natureza química, toxicológica e, se aplicável, microbiológica). O proponente da notificação é quem avalia e afirma que a substância é GRAS, geralmente com base na opinião de um painel de especialistas independentes. Após considerar os dados científicos e corroborar as conclusões apresentadas na notificação, a FDA envia ao interessado uma carta chamada de "*no-question letter*", informando não haver, da parte da agência, objeções à afirmação de que o produto é GRAS.

Sobre o proponente da notificação

O proponente pode ser um indivíduo, uma parceria, uma corporação, uma associação ou qualquer outra entidade legal responsável por informar à FDA que o uso específico de uma substância está isento dos requisitos de aprovação pré-comercialização da seção 409 do *FD&C Act*, com base na determinação do proponente de que tal uso é GRAS. A pessoa de contato do proponente pode ser qualquer agente ou advogado autorizado a agir em nome do proponente.

https://www.fda.gov/media/78098/download (item 2. Part II – Information About the Notifier).

Informações confidencias

Deve ser informado à FDA as informações do processo consideradas como segredo comercial ou como informação comercial ou financeira confidencial.

https://www.fda.gov/media/78098/download (item 3. Part III - General Administrative Information).

1.2.3. Diretrizes e informações regulatórias da FDA

https://www.fda.gov/food/guidance-documents-regulatory-information-topic-food-and-dietary-supplements/ingredients-additives-gras-packaging-guidance-documents-regulatory-information#GRAS

A FDA disponibiliza diversas diretrizes para a preparação dos processos para uma notificação GRAS ou para a aprovação de um aditivo alimentar, cabendo destacar que todas são de caráter geral, não sendo discutidos aspectos particulares relacionados às proteínas alternativas produzidas por fermentação. Esta página lista os inúmeros documentos disponíveis com os links de acesso a cada um. Os documentos tratam de assuntos diversos; aqueles diretamente relacionados às notificações GRAS, aos aditivos alimentares ou a ambos estão destacados abaixo.

1.2.3.1. Diretrizes sobre a regulamentação das substâncias GRAS

(*Guidance for Industry: Regulatory Framework for Substances Intended for Use in Human Food or Animal Food on the Basis of the Generally Recognized as Safe (GRAS) Provision of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act*) (2017).

https://www.fda.gov/media/109117/download

1.2.3.2. Diretrizes para compor um painel de especialistas independentes em uma notificação GRAS

(*Draft Guidance for Industry: Best Practices for Convening a GRAS Panel*) (2017).

https://www.fda.gov/media/109006/download

1.2.3.3. Diretrizes para determinação de dados químicos e tecnológicos

(*Guidance for Industry: Recommendations for Submission of Chemical and Technological Data for Direct Food Additive Petitions*) (2009).

http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ucm124917.htm

1.2.3.4. Diretrizes para determinação de dados toxicológicos

(*Guidance for Industry: Summary Table of Recommended Toxicological Testing for Additives Used in Food*) (2006).

http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ucm054658.htm

(*Guidance for Industry: Templates for Reporting Toxicology Data*) (2005).

https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-templates-reporting-toxicology-data

1.2.3.5. Diretrizes para determinação de dados de ingestão estimada prevista

(*Guidance for Industry: Estimating Dietary Intake of Substances in Food*) (2006).

http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ucm074725.htm

1.2.3.6. Diretrizes para avaliar os efeitos de mudanças significativas no processo de fabricação, incluindo tecnologias emergentes, sobre a segurança dos alimentos

(*Guidance for Industry Assessing the Effects of Significant Manufacturing Process Changes, Including Emerging Technologies, on the Safety and Regulatory Status of Food Ingredients and Food Ingredients that are Color Additives*) (2014).

https://www.fda.gov/media/115075/download

1.2.4. Novos alimentos ou proteínas obtidas por fermentação já liberados no mercado norte americano

Várias empresas já obtiveram uma "*no-question letter*" no programa de notificação GRAS da FDA. Estas notificações são públicas e disponibilizadas no "Inventário das Notificações GRAS", que reúne as notificações recebidas desde 1998. O inventário completo está disponível em:

https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices

Inventário Nº 91, Janeiro de 2002, Marlow Foods. *Mycoprotein* = massa celular produzida por fermentação contínua do fungo filamentoso *Fusarium venenatum* (42% a 50% de proteína) para uso *como* substituto da carne em produtos alternativos aos cárneos (hambúrgueres, filés sem carne), substituto de gordura em certos produtos lácteos e substituto de cereais em produtos como cereais matinais.

https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=91

Inventário No 737, Julho de 2018, Impossible Foods. Soy Leghemoglobin = proteína produzida por fermentação a partir de uma cepa geneticamente modificada de Pichia pastoris, para adição em nível de até 0,8% em produtos análogos de carne moída para otimização do sabor.

https://www.fda.gov/media/116243/download

Inventário No 773, Março de 2019, Triton Algae Innovations. Massa celular em pó da alga Chlamydomonas reinhardtii (30% a 70% de proteína) para adição como fonte de proteína em alimentos (em níveis equivalentes aos atualmente consumidos), como substituto de outras proteínas dietéticas.

https://www.fda.gov/media/121982/download

Inventário Nº 829, Dezembro de 2019, Cura Global Health. Koji Mineral Products = Biomassa celular desidratada *de Aspergillus oryzae* com um ou mais minerais, obtida por fermentação em meio de cultura enriquecido com minerais, para adição em alimentos convencionais como fonte de minerais em um nível que fornece 25% do valor diário para cada mineral contido no produto (até 250 mg de pó por porção).

https://www.fda.gov/media/135997/download

Inventário No 848, Janeiro de 2020, MycoTechnology. Pure Taste® = Concentrado de proteínas de ervilha e de arroz fermentado por shiitake, em que a biomassa micelial (inativada pelo calor) e as proteínas fermentadas são concentradas e desidratadas para obtenção de um ingrediente (≥ 75% de proteína) a ser usado na formulação de diversos produtos alimentícios (misturas para panificação, sopas e misturas para sopas, produtos lácteos e análogos de produtos lácteos, massas, frutas processadas e sucos de frutas, vegetais processados e sucos de vegetais, barras de cereais) em concentrações variando de 1% a 40%.

https://www.fda.gov/media/135941/download

Inventário Nº 863, Março de 2020, Perfect Day. Beta-lactoglobulina *produzida por fermentação a partir de uma cepa geneticamente modificada de Trichoderma reesei*, para uso em substituição à proteína do soro de leite tradicional e de outras proteínas em alimentos.

https://www.fda.gov/media/136751/download

Inventário No 904, Março de 2021, Nature's Fynd. Biomassa micelial de Fusarium novum. yellowstonensis (> 45% proteína), para uso como ingrediente em análogos de carnes e aves, análogos de produtos lácteos, produtos substitutos de refeição, sucos de frutas e de vegetais, massas alimentícias, misturas para bolos, sopas e misturas para sopas, em níveis de até 23,3% do peso seco.

https://www.fda.gov/media/147828/download

1.3. Canadá

A regulamentação de novos alimentos no Canada é função da Health Canada, uma instituição federal do Ministério da Saúde.

https://www.canada.ca/en/health-canada.html

O mecanismo regulatório é a exigência de notificação obrigatória pré-comercialização, conforme estabelecido no no Regulamento de Alimentos e Drogas (Food and Drug Regulation) abaixo.

1.3.1. Regulamento de Alimentos e Drogas

(*Food and Drug Regulation*)

https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/c.r.c.,_c._870/index.html

O *Food and Drug Regulation*, Parte B, Divisão 28 define novos alimentos (*novel foods*) como: (a) uma substância, incluindo um microrganismo, que não tem histórico de utilização segura como alimento ou (b) um alimento que foi produzido, preparado, preservado ou embalado por um processo (i) nunca antes aplicado àquele alimento, e (ii) que provoca alteração significativa nas características do alimento ou (c) um alimento derivado de organismos (plantas, animais ou microrganismos) geneticamente modificados de modo que (i) o organismo passou a exibir características nunca antes observadas, (ii) o organismo deixou de exibir características anteriormente presentes, ou (iii) uma ou mais características do organismo já não se encontram dentro da faixa esperada (novel food).

Observa-se que o Canada inclui alimentos produzidos com organismos geneticamente modificados (GMOs) na definição de novos alimentos e exclui probióticos, aditivos alimentares e ingredientes utilizados com finalidade de fortificação dos alimentos (vitaminas, minerais e aminoácidos) e suplementos alimentares e seus constituintes, que são regulados como produtos naturais para a saúde.

Os critérios de avaliação de segurança para novos alimentos derivados de animais, como carne cultivada, estão em desenvolvimento. Os fabricantes ou importadores de novos alimentos derivados de fontes animais devem consultar a Diretoria de Alimentos para discutir quais informações são apropriadas para a avaliação da segurança de um determinado produto.

Com relação à notificação obrigatória pré-comercialização, as seguintes informações sobre o produto são exigidas: a designação do novo alimento; uma descrição do novo alimento; informações a respeito de seu desenvolvimento; detalhes do método de fabricação, preparação, preservação, acondicionamento e estocagem; quando aplicável detalhes da principal alteração; informações a respeito do uso pretendido e instruções para a preparação; quando aplicável informações a respeito do histórico de uso como alimento no país de origem; informações de segurança para consumo; informações sobre os níveis de ingestão estimados e informações sobre a rotulagem.

Uma Seção de novos alimentos (*Novel Foods Section*) foi estabelecida na Diretoria de Alimentos (*Food Directorate*) da Health Canada para coordenar a avaliação de segurança dos novos alimentos submetidos à aprovação. A *Novel Foods Section* distribui o processo de submissão aos gabinetes relevantes da *Food Directorate*, ou seja, o Gabinete de Segurança Química (*Bureau of Chemical Safety*) para avaliação de considerações químicas e toxicológicas, o Gabinete de Ciências Nutricionais (*Bureau of Nutritional Sciences*) para considerações nutricionais e o Gabinete de Riscos Microbianos (*Bureau of Microbial Hazards*) para aspectos microbiológicos e de biologia molecular.

Concluída a avaliação e não havendo pendências em relação a qualquer aspecto de segurança ou risco para a saúde, associados ao consumo do novo produto, o peticionário é notificado de que a Health Canada não tem objeções à sua comercialização no Canadá. O novo alimento está sujeito aos mesmos requisitos legais e regulamentares aplicáveis aos outros alimentos no país, sendo responsabilidade do fabricante garantir que tais requisitos sejam cumpridos.

1.3.2. Processo de Gestão das Submissões Pré-Comercialização adotadas pela Diretoria de Alimentos (***Food Directorate***) para Aditivos Alimentares, Fórmulas Infantis e Novos Alimentos

(*The Food Directorate's Pre-Market Submission Management Process for Food Additives, Infant Formulas and Novel Foods*)

https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/public-involvement-partnerships/food-directorate-market-submission-management-process-food-additives-infant-formulas-novel-foods.html

Este documento descreve o processo de gerenciamento dos pedidos de autorização de aditivos alimentares, fórmulas infantis e novos alimentos de acordo com os requisitos do *Food and Drug Regulations*, com informações sobre atividades e cronogramas.

O Processo começa com uma pré consulta opcional e segue os seguintes passos: a) Verificação administrativa, que determina se o processo contém as informações administrativas necessárias. b) Revisão Científica, que avalia principalmente a segurança do novo produto, embora também possa considerar outros fatores como questões regulatórias e/ou políticas, usos permitidos em outras jurisdições, comentários da CFIA (Food Inspection Agency) e de outras partes interessadas (por exemplo, associações específicas da indústria de alimentos) e c) Decisão, em que o resultado da avaliação é comunicada ao requerente através de uma "Carta de Não Objeção", no caso de novos alimentos.

O requerente pode retirar seu processo a qualquer momento durante o gerenciamento do pedido, podendo reapresentá-lo numa data posterior, sem prejuízo. Neste caso será iniciado um novo processo, embora o requerente deva fazer referência ao pedido anterior e garantir que todas as deficiências identificadas anteriormente foram corrigidas.

No tocante aos requisitos de confidencialidade ou proteção de dados, o *Food and Drug Regulation* não trata especificamente desta questão, que está normatizada pela Lei de Acesso à Informação, mas o gerenciamento dos processos garante a confidencialidade na medida permitida pela lei.

1.3.3. Diretrizes da Diretoria de Alimentos da Health Canada para a avaliação de segurança de novos alimentos

(*Guidelines for the Safety Assessment of Novel Foods*)

https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/fn-an/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/gmf-agm/guidelines-lignesdirectrices-eng.pdf

Este documento traz as diretrizes para a apresentação das informações científicas no processo a ser submetido à avaliação. Aplica-se a novos alimentos, produtos alimentícios ou ingredientes alimentícios derivados de plantas ou de microrganismos. Para avaliar a aceitabilidade de novos microrganismos e seus produtos obtidos por fermentação são exigidas as seguintes informações:

No caso de produto ou microrganismo sem histórico de uso seguro: histórico de uso, ingestão estimada, considerações nutricionais, considerações toxicológicas, considerações sobre

alergenicidade, considerações químicas. Um alimento consumido em outro país pode ser considerado como tendo um histórico de uso seguro, se tiver sido parte da alimentação de uma grande população geneticamente diversa, por pelo menos três gerações, e sua forma e níveis de consumo forem semelhantes aos esperados ou pretendidos no Canadá.

No caso de alimentos obtidos por um novo processo: detalhe do novo processo, ingestão estimada, histórico do microrganismo, considerações nutricionais, considerações toxicológicas, considerações sobre alergenicidade, considerações químicas.

No caso de alimentos obtidos por microrganismos geneticamente modificados: caracterização da cepa derivada, considerações sobre a modificação genética, histórico dos organismos hospedeiro e doador, ingestão estimada, considerações nutricionais, considerações toxicológicas, considerações sobre alergenicidade, considerações químicas.

1.3.4. Procedimentos para consulta de pré-submissão de novos alimentos, novas rações e plantas com novas características

(*Pre-submission consultation procedures for novel foods, novel feeds and plants with novel traits*)

https://inspection.canada.ca/plant-varieties/plants-with-novel-traits/applicants/pre-submission-consultation/eng/1368394145255/1368394206548

No Canadá, as empresas interessadas podem consultar o *Health Canada* ou o CFIA (*Canadian Food Inspection Agency*) antes da submissão da notificação de novos alimentos, novas rações e plantas com novas características, para verificar com antecedência se a submissão atende todos os critérios de avaliação relevantes.

1.3.5. Listagem de novos alimentos obtidos por fermentação já liberados para comercialização no Canada

(Completed safety assessments of novel foods including genetically modified foods)

https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products.html

O Health Canada disponibiliza e mantém atualizado no seu portal uma lista das avaliações de novos alimentos aprovados, com um resumo das informações revisadas que respaldaram a conclusão de que não existe objeção à venda do produto. A listagem completa está disponível no link acima.

Na listagem encontram-se ainda poucos produtos obtidos por fermentação:

01/12/2016, Solazyme Inc., biomassa desidratada e moída da microalga Chlorella protothecoides (≥ 60% proteína) para adição como fonte de proteínas em alimentos sem padrão de identidade.

06/01/2020, Impossible Foods, Soy Leghemoglobin (produzida por fermentação a partir de uma cepa geneticamente modificada de Pichia pastoris) para uso como ingrediente em produtos análogos de carne moída (Impossible™ Burger e outros).

1.4. Austrália e Nova Zelândia

Na Austrália e na Nova Zelândia, a regulamentação dos novos alimentos é responsabilidade da *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ), uma agência governamental australiana que opera sob o arcabouço legal do *Food Standards Australia New Zealand Act (1991) e responde pelo Australia New Zealand Food Standards Code.*

https://www.betterhealth.vic.gov.au/health/HealthyLiving/food-standards-australia-new-zealand-fsanz#food-standards-enforcement

As partes um e dois do Código aplicam-se na Austrália e na Nova Zelândia e regulam o uso de ingredientes, coadjuvantes de processamento, corantes, aditivos, vitaminas e minerais e também incluem normas para alimentos geneticamente modificados. Os novos alimentos são regulamentados por dois atos do Código:

1.4.1. Padrão 1.5.1 sobre novos alimentos

(*Australia New Zealand Food Standards Code – Standard 1.5.1 – Novel foods*)

https://www.legislation.gov.au/Details/F2017C00324

O Padrão 1.5.1 define novos alimentos como alimentos não tradicionais que exigem uma avaliação de segurança em relação (a) ao potencial para provocar efeitos adversos em humanos; (b) à composição ou estrutura; (c) ao processo de produção; (d) à fonte de obtenção ou sua origem; (e) ao padrão e níveis de consumo do alimento; ou (f) outras questões relevantes. Como não tradicionais entende-se alimentos e substâncias derivadas de alimentos ou de outras fontes que não tenham histórico de consumo humano na Austrália e Nova Zelândia. Não aceita como histórico de consumo humano a utilização de um produto como alimento ou ingrediente de alimentos para fins médicos.

Na categoria de novos alimentos podem ser incluídos plantas e animais e seus componentes, extratos de plantas ou animais, ervas e extratos de ervas, macro componentes, substâncias químicas, microrganismos incluindo probióticos e alimentos derivados de novas fontes ou de novos processos não previamente usados.

1.4.2. Anexo 25 – Novos alimentos permitidos

(*Australia New Zealand Food Standards Code – Schedule 25 – Permitted novel foods*)

https://www.legislation.gov.au/Series/F2015L00440

O Anexo 25 lista os novos alimentos permitidos, incluindo o nome do novo produto e as condições de uso aprovadas. Para comercialização de um novo alimento, o interessado deve submeter à FSANZ um pedido para alterar o *Food Standards Code*, através da inclusão do produto no Anexo 25.

1.4.3. Diretrizes para a submissão dos pedidos

Há vários documentos de orientação para a submissão dos pedidos de aprovação de novos alimentos

1.4.3.1. Ferramenta de orientação para determinar se um alimento é novo

Guidance Tool for Determining Whether a Food is Novel or Not

https://www.foodstandards.gov.au/industry/novel/documents/Guidance%20Tool%20-%20for%20website%20_2_.pdf

A FSANZ dispõe de um Comitê Consultivo em Novos Alimentos, o ACNF (*Advisory Committee on Novel Foods*), que auxilia na análise de potenciais novos produtos. Esta ferramenta de orientação é usada pelo ACNF para determinar se um alimento se enquadra na definição de novo alimento, quando um proponente solicita uma avaliação prévia do seu produto, antes de entrar com o processo de aprovação. A consulta não é obrigatória.

A definição de novo alimento considera se o produto é tradicional ou não, sendo o significado de não tradicional o fato de não ter histórico de consumo humano na Austrália e Nova Zelândia. Na avaliação da ACNF, os aspectos considerados na interpretação de "histórico de consumo humano" são o tempo de uso, a extensão do uso, o nível de ingestão e o propósito ou contexto de uso.

No aspecto tempo de uso, duas a três gerações seria considerado um longo período de uso, enquanto cinco anos ou menos seria um período muito curto, embora 10 a 20 anos possam ser suficientes para estabelecer um histórico de uso, dependendo dos demais aspectos. No aspecto extensão de uso, o consumo pela população em geral na Austrália ou na Nova Zelândia seria considerado uso extensivo, enquanto o consumo por uma subpopulação seria limitado, mas o consumo por uma série de subpopulações em diferentes áreas regionais, ou o uso por um número de subpopulações em combinação com algum uso pela população em geral seria suficiente para estabelecer um histórico de uso. No aspecto nível de ingestão, o consumo de um ingrediente alimentar em uma variedade de alimentos diferentes, em níveis consistentes com os macrocomponentes dos alimentos, constituiria um alto nível de ingestão na caracterização do histórico de uso, assim como um alimento completo consumido regularmente. O uso de ingredientes em níveis baixos em uma gama relativamente pequena de alimentos seria considerado um nível baixo de ingestão. No aspecto propósito de uso, o consumo como parte regular da dieta seria considerado de alta relevância no estabelecimento do histórico de uso, enquanto o consumo regular de uma erva com fins medicinais, mas não alimentar, não caracterizaria histórico de uso. Um ingrediente naturalmente presente em um alimento, se extraído para adição em alimentos que naturalmente não o contenham ou em alimentos que o contenham, mas em níveis mais elevados, seria considerado sem histórico de uso, uma vez que o propósito de uso mudou.

1.4.3.2. do Registro de posições adotadas em resposta a inquéritos

Record of views formed in response to inquiries

https://www.foodstandards.gov.au/industry/novel/novelrecs/Documents/Record%20of%20views%20updated%20April%202020.pdf

A FSANZ mantém uma listagem dos produtos submetidos à consulta prévia e das respectivas conclusões, que também serve de orientação para determinar se um produto se enquadra ou não no *status* de novo alimento. Tais recomendações não tem força legal, sendo fornecidas apenas com o intuito de auxiliar na decisão de submeter ou não um pedido de autorização de novo alimento.

1.4.3.3. Regulação de novos alimentos

Regulation of novel foods

https://www.foodstandards.gov.au/industry/novel/Pages/default.aspx

Esta página também contém esclarecimentos sobre o que são novos alimentos, como determinar se um produto se enquadra na definição de novo alimento, considerações de saúde pública e segurança e, além disso, um item adicional sobre exclusividade de permissão para marcas específicas. Quando um novo tipo de produto é incluído pela primeira vez na lista de novos alimentos autorizados, o requerente pode solicitar ao FSANZ que a permissão seja exclusiva para sua marca comercial. Esta permissão é válida por 15 meses, revertendo então para uma permissão geral que se estende a qualquer outra marca do mesmo produto. O período de exclusividade objetiva oferecer uma vantagem competitiva à empresa que realizou o trabalho de desenvolvimento do novo alimento ou novo ingrediente, mas não impede que, neste intervalo, outras empresas que também estejam produzindo tal alimento ou ingrediente solicitem uma permissão exclusiva para suas próprias marcas.

1.4.3.4. Manual FSANZ para Requerentes

FSANZ Application Handbook

https://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Documents/Application%20Handbook%20as%20at%201%20July%202019.pdf

Este Manual tem um capítulo específico sobre os pedidos relativos aos novos alimentos, com requisitos diferenciados para diferentes tipos de novos alimentos

Informações tecnológicas e científicas exigidas no processo

a) Breve descrição do produto, com o nome e, se existente, a marca comercial e a categoria em que se enquadra na definição de novo alimento (planta, animal ou componente ou extrato de planta ou animal, substância química pura, macrocomponentes como proteína, gordura ou polissacarídeo, microrganismo, ingrediente derivado de novas fontes, alimento produzido por novo processo).

b) Intenção de uso proposta, que no caso de ingredientes adicionados a alimentos, deve esclarecer a função ou funções no alimento, incluindo funções fisiológicas ou de benefícios à saúde.

c) Informações sobre a segurança, que variam com a categoria em que se enquadra o novo produto.

c.1) No caso de macronutrientes (aqui enquadrando-se as proteínas obtidas por fermentação), são requeridas: a) informações sobre metabolização e, quando apropriado, produtos de degradação e de metabolismo; b) resultados de estudos toxicológicos com animais e humanos (estudos de toxicidade aguda, toxicidade de curto prazo e toxicidade de longo prazo, estudos de carcinogenicidade, estudos de toxicidade reprodutiva, estudos de toxicidade de desenvolvimento, estudos de genotoxicidade e estudos especiais, como neurotoxicidade ou imunotoxicidade) No caso da inexistência de dados de estudos ou nos casos em que não sejam relevantes, deve ser apresentada uma exposição dos motivos; c) relatórios de avaliação de segurança preparados por agências internacionais ou nacionais responsáveis pela segurança alimentar ou saúde pública.

c.2) No caso de microrganismos (aqui incluídos probióticos) são requeridas: a) informações sobre patogenicidade potencial, b) informações sobre efeitos do microrganismo na formação da microbiota intestinal, c) informações sobre o uso do microrganismo em alimentos ou como alimento em outros países, d) informações sobre estudos de tolerância em humanos.

d) Informações sobre ingestão estimada, incluindo uma lista dos alimentos propostos ou que aos quais se pretende adicionar o novo ingrediente e os níveis de adição em cada um. Quando aplicável, os níveis de ocorrência natural da substância nos alimentos também devem ser informados. Dados de consumo provável entre a população alvo e não-alvo são preferidos. Quando aplicável, informar se o alimento ou ingrediente tem probabilidade de substituir outro alimento da dieta, com dados sobre os níveis e a frequência de consumo projetados, podendo aí incluir-se pesquisas de mercado nacional ou informações de outros mercados internacionais.

e) Informações demonstrando que o uso do novo alimento ou ingrediente alimentar não causará um desequilíbrio nutricional na dieta.

f) Informações relacionadas ao impacto potencial na compreensão do consumidor e no comportamento de consumo na dieta (substituição, adição ou rejeição de alimentos) que interfiram nos padrões de nutrição e atividade física estabelecidos pelas políticas e diretrizes da Austrália e Nova Zelândia.

1.5. Singapura

A regulamentação de novos alimentos em Singapura é função da *Singapore Food Agency* (SFA), uma diretoria estatutária do Ministério da Sustentabilidade e Meio Ambiente (antigo Ministério do Meio Ambiente e Recursos Hídricos), criada em 2019 para reunir as funções da *Agri-Food & Veterinary Authority*, da *National Environment Agency* e da *Health Sciences Authority*.

https://www.sfa.gov.sg/legislation?type=singapore-food-agency-act&page=1
[acesso em 04/08/2021].

A definição de novos alimentos e a forma de aprovação para venda estão descritas no documento apresentado a seguir.

1.5.1. Requisitos para a avaliação de segurança de novos alimentos

Requirements for the Safety Assessment of Novel Foods

https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/food-import-and-export/Requirements-on-safety-assessment-of-novel-foods_23-Nov-2020.pdf [acesso em 04/08/2021].

As empresas de alimentos que pretendem produzir, importar e vender novos alimentos em Singapura são obrigadas a realizar uma avaliação de segurança de seus produtos e submetê-la à revisão da SFA para obter uma autorização de venda. A avaliação de segurança deve demonstrar que os insumos usados na produção, bem como o processo de fabricação e os controles do processo garantem um produto sem risco de segurança alimentar e em conformidade com os padrões estabelecidos nos regulamentos existentes no país para alimentos.

A SFA estima um prazo de três a seis meses para concluir a avaliação. Para evitar atrasos, as empresas são incentivadas a consultar a Agência no início do processo, para entender as informações que deverão ser providenciadas na comprovação da segurança de seus novos produtos.

A SFA define novos alimentos como alimentos ou ingredientes alimentares que não têm um histórico de uso seguro. Como histórico de uso seguro entende o consumo contínuo na dieta de uma população humana significativa, por um período de pelo menos 20 anos, sem relatos de efeitos adversos à saúde humana. A definição de novos alimentos também pode incluir compostos quimicamente idênticos às substâncias que ocorrem naturalmente nos alimentos, mas produzidos por meio de avanços na tecnologia.

Ao avaliar se uma substância tem histórico de uso seguro a SFA levará em consideração as seguintes informações: (i) a duração do consumo (por quantos anos o ingrediente vem sendo consumido como alimento ou usado na alimentação); (ii) a extensão do uso (se produto é consumido ou usado pela população em geral, por uma subpopulação, por certas tribos etc.); (iii) a quantidade (o nível consumido como alimento ou usado na alimentação); (iv) a finalidade ou contexto de uso (se é amplamente consumido ou apenas usado para fins cerimoniais ou em períodos de fome etc); (v) evidências que demonstrem a ausência de efeitos adversos à saúde humana. As fontes de informação que serão consideradas na determinação do histórico de consumo incluem publicações científicas e não científicas, livros (por exemplo, livros de receitas, livros sobre a história da cultura alimentar), patentes, depoimentos de duas ou mais autoridades independentes e confiáveis etc. Histórico de uso como produto medicinal não é considerado evidência suficiente para demonstrar história de uso seguro como alimento. Em caso de dúvida, as empresas podem consultar a SFA para determinar se um alimento se enquadra na definição de novo alimento.

<u>Dados e informações requeridas na avaliação de segurança de novos alimentos</u>

<u>Para novos alimentos e ingredientes alimentares em geral</u> são requeridas: (i) informações sobre a identidade e pureza do novo alimento, incluindo percentagens dos principais componentes e

das impurezas presentes; (ii) informações sobre o processo de fabricação e insumos usados; (iii) uso pretendido e níveis de uso propostos, informando se o novo produto destina-se a grupos populacionais específicos; (iv) estudos de toxicidade (in vitro e in vivo), quando relevantes, incluindo toxicidade aguda, toxicidade de curto prazo e de longo prazo, carcinogenicidade, toxicidade reprodutiva, toxicidade de desenvolvimento e genotoxicidade; (v) estudos de metabolismo ou toxicocinética, quando relevantes, incluindo absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME); (vi) quaisquer relatórios de avaliação de segurança conduzidos por autoridades de segurança de alimentos nos principais países desenvolvidos (Austrália, Canadá, Nova Zelândia, Japão, União Europeia e Estados Unidos da América).

Quando usadas informações da literatura na avaliação de segurança, estas informações devem estar publicadas em revistas científicas de renome. Estudos não publicados podem ser considerados, se conduzidos de acordo com as Boas Práticas de Laboratório e outras diretrizes relevantes estabelecidas internacionalmente (como as diretrizes da OCDE). São aceitas avaliações conduzidas de acordo com as orientações da FDA, EFSA, FAO e OMS.

Para substâncias quimicamente idênticas às que ocorrem naturalmente nos alimentos, mas produzidas por processos não convencionais não é requerida uma avaliação de segurança completa, com todos os estudos de toxicidade citados para novos alimentos em geral. Para estes ingredientes, as seguintes informações são relevantes na avaliação: (i) dados demonstrando que o ingrediente é quimicamente idêntico à sua contraparte de ocorrência natural; (ii) dados sobre a pureza, incluindo identidade e níveis de quaisquer impurezas presentes (por exemplo, contaminantes, toxinas etc.); (iii) processo de fabricação, incluindo identidades e segurança dos insumos usados e quaisquer subprodutos ou metabólitos produzidos.

Além destes, caso os novos ingredientes sejam produzidos a partir de um microrganismo geneticamente modificado, as seguintes informações também devem ser apresentadas: (iv) informações de segurança da cepa utilizada (por exemplo, se os genes são conhecidos por produzir toxinas, toxinas produzidos etc;, (v) dados de alergenicidade do ingrediente e impurezas residuais (se presentes).

1.5.2. Novos alimentos já aprovados em Singapura

Impossible Foods - Soy Leghemoglobin *produzida por fermentação a partir de uma cepa geneticamente modificada de Pichia pastoris* para uso em análogos de carne (até 0,45% w/w) (*Sale of Food Act Chapter 283 Food - Amendment Nº 3 Regulations 2020*).

https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/legislation/sale-of-food-act/food-(amendment-no-3)-regulations-2020.pdf

Triton Algae – biomassa da alga *Chlamydomonas reinhardtii* para uso como ingrediente de alimentos.

https://www.foodnavigator-asia.com/Article/2019/11/27/US-based-Triton-Algae-Innovations-eyes-expansion-in-Singapore-s-alternative-protein-space

Right Treat – OmniMeat, mistura de concentrado proteico de soja, isolado proteico de soja e proteína de ervillha e arroz fermentada com shiitake

https://www.foodnavigator-asia.com/Article/2020/01/08/Plant-based-OmniMeat-launches-in-Singapore-retail-with-Japan-and-UK-next-on-the-horizon

1.6. China

Para determinar o cenário regulatório de novos alimentos na China consultamos as informações disponibilizadas pela FAO (*Food and Agriculture Organization*) no FAOLEX DataBase, pelo FSA (*Foreign Agricultural Service*) do USDA (*United States Department of Agriculture*) e pelo CIRS (*Chemical Inspection and Regulation Service*), um serviço de consultoria internacional com matriz em Hangzhou, China.

FAOLEX DataBase: http://www.fao.org/faolex/country-profiles/en/

FSA: https://www.fas.usda.gov/

CIRS: https://www.cirs-reach.com/

As informações foram compiladas das seguintes publicações:

USDA (2021). Report Number CH2021-0037 - Food and Agricultural Import Regulations and Standards Country Report – China.

https://www.fas.usda.gov/data/china-food-and-agricultural-import-regulations-and-standards-country-report

CIRS (2018). New Food Raw Material Registration in China.

http://www.cirs-reach.com/news-and-articles/New-Food-Raw-Material-Registration-in-China.html

CIRS (2020). Analysis and Comparison of New Food Raw Material Management Measures in Domestic and Overseas.

http://www.cirs-reach.com/news-and-articles/Analysis-and-Comparison-of-New-Food-Raw-Material-Management-Measures-in-Domestic-and-Overseas.html

A regulamentação de novos alimentos na China, incluindo proteínas alternativas produzidas por fermentação, é função da *National Health Commission* (NHC), agência governamental responsável pela regulamentação das políticas nacionais de saúde, incluindo a segurança, vigilância e avaliação de risco de alimentos (USDA, 2021).

http://en.nhc.gov.cn/

Toda a regulamentação tem por base a Lei de Segurança Alimentar da República Popular da China (*Food Safety Law of the People's Republic of China*), revisada em 2015. O processo regulatório passou por várias mudanças ao longo do tempo, até o formato atual, estabelecido em 31/05/2013, através

do regulamento "Medidas Administrativas para Revisão de Segurança de Novas Matérias-Primas Alimentares" (*Administrative Measures for the Safety Review of New Food Raw Materials*) (SIRS, 2018). Outros regulamentos foram promulgados posteriormente, listados pelo FAOLEX DataBase, que oferece um sumário do conteúdo de cada ato legislativo.

1.6.1. Lei de Segurança Alimentar da República Popular da China de 24/04/2015

(*Food Safety Law of the People's Republic of China*)

http://www.fao.org/faolex/results/details/en/c/LEX-FAOC154228

Esta lei estabelece o arcabouço legal para a vigilância e gestão da segurança dos alimentos na China, abrangendo monitoramento e avaliação de riscos, normas de segurança, produção e comércio, inspeção, importação e exportação, tratamento de acidentes, supervisão e administração e responsabilidades legais.

1.6.2. Medidas administrativas para revisão de segurança de novas matérias-primas alimentares, de 31/05/2013 e revisada em 26/12/2017

(*Administrative measures for the safety review of new food raw materials*)

http://www.fao.org/faolex/results/details/en/c/LEX-FAOC148012

Revisão de 2017 (*Decision of the State Health and Family Planning Commission on the Amendment of Seven Regulations such as "the Measures for the Administration of Safety Review of New Food Raw Materials"*)

http://www.fao.org/faolex/results/details/en/c/LEX-FAOC186049

Este regulamento estabelece os procedimentos e requisitos exigidos para a avaliação de segurança de novos alimentos, que passaram a ser chamados de *new food raw material* (NFM). Os NFM mencionados não incluem novas variedades de alimentos geneticamente modificados, *health foods* e aditivos alimentares, que obedecem a outros regulamentos.

1.6.3. Disposições sobre solicitação e aceitação de licenças administrativas de higiene de novas matérias-primas alimentares de 15/10/2013

(*Provisions on application and acceptance of hygiene administrative licenses of new food raw material*)

http://www.fao.org/faolex/results/details/en/c/LEX-FAOC201409

Este regulamento estabelece que NFM devem ter características de ingrediente alimentar, atender às necessidades nutricionais do ser humano e não oferecer risco de dano agudo, subagudo, crônico ou outro à saúde humana. Define NFM como produtos sem histórico de consumo tradicional na China, incluindo: a) animais, plantas e microrganismos; b) ingredientes isolados de animais, plantas e microrganismos; c) substâncias que sofreram mudanças na sua estrutura original; d) outros produtos desenvolvidos recentemente.

Por histórico de consumo tradicional entende-se alimentos com mais de 30 anos de produção em qualquer das províncias da China e que não estejam incluídos na Farmacopeia Chinesa (CIRS, 2020).

1.6.4. Diretrizes para a avaliação de segurança de novos alimentos de 15/10/2013

(Directive rules for the safety review *of new food raw materia*l)

http://www.fao.org/faolex/results/details/en/c/LEX-FAOC201410

Este regulamento estabelece que a avaliação de segurança de NFM envolve a revisão do dossiê científico por especialistas e, quando necessário, uma verificação no local de produção para uma conclusão da revisão técnica. À *National Health Commission* (NHC) cabe a decisão de aprovar ou não o novo produto, com base na conclusão da revisão técnica. O regulamento é composto por 27 artigos, divididos em cinco capítulos: disposições gerais; requisitos de avaliação de especialistas; requisitos de verificação no local; revisão e aprovação; provisões complementares.

1.6.5. Processo de aprovação de novos alimentos na China

(Fonte: CIRS, 2018)

De acordo com o disposto na Lei de Segurança Alimentar, as empresas que planejam produzir ou usar novas matérias-primas alimentares para fabricar produtos alimentícios devem enviar o material de avaliação de segurança do novo produto à NHC.

O processo de aprovação segue as seguintes etapas: O requerente apresenta uma solicitação à NHC e, cumpridas as exigências formais, o processo é encaminhado ao CFSA (*National Center for Food Safety Risk Assessment*) para uma avaliação técnico-científica. O CFSA submete a conclusão da avaliação a uma consulta pública para comentários. Com base na conclusão da CFSA a NHC emite o anúncio de aprovação e o produto é incluído numa lista de produtos aprovados (*Catalogue of Approved New Food Materials*).

Documentos e dados requeridos na apresentação da petição

O dossiê para registro da petição deve conter as seguintes informações: a) dados do peticionário, b) procuração quando a petição for encaminhada por outro agente que não o fabricante, c) relatório sobre o desenvolvimento do produto, d) relatório de avaliação de segurança, e) descrição do processo de fabricação, f) padrões definidos para o produto, incluindo os relacionados à segurança e os relacionados à qualidade, bem como metodologia de análise, g) composição e rótulo do produto, h) levantamento de pesquisas científicas nacionais e internacionais sobre a segurança do produto, i) para produtos importados, documento emitido por autoridade governamental ou associações industriais do país exportador, atestando que o produto é aprovado para fabricação ou venda no país de origem e que o fabricante foi auditado ou certificado.

Dados requeridos no relatório de avaliação de segurança

A avaliação de segurança deve ser baseada na sistemática de "análise de risco", que inclui as etapas de identificação do perigo, caracterização do perigo, avaliação de exposição ao perigo e caracterização do risco. A documentação deve incluir dados das análises de composição do

produto, com os métodos usados e os resultados obtidos para os principais componentes e para os contaminantes químicos e microbiológicos de risco para a saúde. No caso específico de alimentos derivados de microrganismos é requerido estudos de patogenicidade, estudos de resistência a agentes antimicrobianos e os seguintes estudos toxicológicos:

a) Para microrganismos sem histórico de uso doméstico ou em outros países: teste toxicidade oral aguda, toxicidade oral de 90 dias, três estudos de genotoxicidade, estudos de teratoginicidade e estudos de toxicidade reprodutiva.

b) Para microrganismos com histórico de consumo apenas em outros países ou em áreas domésticas restritas: teste de toxicidade oral aguda e toxicidade oral de 90 dias.

c) Para microrganismos aprovados para uso em vários países: teste de toxicidade oral aguda e dois estudos de genotoxicidade.

Os estudos toxicológicos, de resistência antimicrobiana e de produção de toxinas de microrganismos devem ser conduzidos em laboratórios estrangeiros com qualificação OECD GLP (*Organisation for Economic Cooperation and Development/Good Laboratory Practice*). Outros estudos devem ser conduzidos na China por laboratórios com acreditação na CMAF (*China's Metrology Accreditation Food Inspection Agency*)

1.6.6. Microrganismos já aprovados como novos alimentos na China

Abaixo apresentamos os microrganismos aprovados como novos alimentos na China a partir de 2013. Não foi possível determinar maiores detalhes do tipo de produto desenvolvido a partir destes microrganismos e o uso permitido.

Período de 2013 a 2014. *Lactobacillus reuteri* (bactéria láctica), *Cordyceps militaris* (fungo), *Pediococcus acidilactici* (bactéria láctica), *Pediococcus pentosaceus* (bactéria láctica), *Kluyveromyces marxianus* (levedura), *Euglena gracilis* (alga), *Cordyceps guangdongensis (fungo), Phylloporia ribis (fungo).*

http://www.cirs-reach.com/news/20140801_CIRS_compiles_the_positive_list_of_new_food_raw_material.html

Setembro de 2018. Massa celular desidratada *de Nostoc sphaeroides* (cianobactéria).

http://www.cirs-reach.com/news-and-articles/NHC-Approved-Two-New-Food-Raw-Materials-in-China.html

Janeiro de 2021. *Isaria cicadae* (fungo cultivado artificialmente) corpo de frutificação desidratado.

http://www.cirs-reach.com/news-and-articles/NHC-approved-3-New-Food-Raw-Materials-8-Jan-2021.html

1.7. Israel

As informações abaixo sobre a regulamentação de novos alimentos em Israel são do FSA (*Foreign Agricultural Service*) do USDA (*United States Department of Agriculture*) https://www.fas.usda.gov/, apresentadas em duas publicações.

USDA (2021). Report Number IS2020-0024: Food and Agricultural Import Regulations and Standards Country Report – Israel.

https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Food%20and%20Agricultural%20Import%20Regulations%20and%20Standards%20Country%20Report_Tel%20Aviv_Israel_12-31-2020

USDA (2020). Report Number IS2019-0006: Agricultural Biotechnology Annual – 2019.

https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Agricultural%20Biotechnology%20Annual_Tel%20Aviv_Israel_10-20-2019

Segundo o *Report Number* IS2020-0024 (USDA, 2021), a regulamentação de alimentos em Israel é função do *National Food Service*, uma agência reguladora do Ministério da Saúde, responsável pelo desenvolvimento dos padrões e regulamentações de alimentos no país, bem como pelo licenciamento de alimentos importados.

National Food Service: https://www.health.gov.il/English/MinistryUnits/HealthDivision/PublicHealth/Food/Pages/default.aspx

A base da normatização de alimentos é a *Public Health Protection Law* (*Foods*) de 2015, mas não há em vigor uma regulamentação específica para novos alimentos. Em outubro de 2013 Israel apresentou à Organização Mundial do Comércio (OMC) a notificação G/TBT/N/ISR/710, com uma proposta de projeto de regulamentação intitulada "*Public Health Regulations* (*Food*) (*Novel Foods*) 5773/2013", cuja data de implementação não ficou esclarecida.

file:///C:/Users/IEL/Downloads/isr710.pdf

Segundo o *Report Number* IS2019-0006 (USDA, 2020), as principais disposições da proposta de regulamentação 5773/2013 são o registro de novos alimentos por meio de um processo de avaliação de risco; a proibição de processamento, importação, armazenamento ou venda de novos alimentos não registrados; a criação de uma lista oficial de novos alimentos atualizada periodicamente; e as instruções de rotulagem para itens alimentares que contenham ingredientes geneticamente modificados.

Definição de novo alimento: De acordo com o projeto de regulamentação, a definição inclui as seguintes categorias de alimentos ou ingredientes alimentares: a) substâncias cuja estrutura primária no nível molecular seja nova ou tenha sofrido uma alteração deliberada e não comprovada como segura para consumo humano em Israel; b) produtos que contenham organismos ou partes de organismos geneticamente modificados (OGMs); c) produtos contendo ou extraídos de plantas, animais ou microrganismos ainda não comprovados como seguros para consumo humano em Israel; d) produtos fabricados por um novo processo (exceto limpeza e desinfecção) que provoque alteração no valor

nutricional, na metabolização ou no nível de substâncias indesejáveis nos alimentos. Não estão incluídos na definição os aditivos alimentares previamente aprovados no regulamento de aditivos alimentares, os ingredientes alimentares previamente aprovado no regulamento de ingredientes alimentares, os flavorizantes e os coadjuvantes de tecnologia.

O processo de aprovação prevê uma avaliação de risco e, se aprovado, a inclusão na lista oficial de produtos aprovados. Estão isentos da avaliação de risco os novos alimentos que já tenham sido aprovados por duas das seguintes instituições estrangeiras reconhecidas pelo *National Food Service* de Israel para avaliação de risco de alimentos: União Europeia: *European Food Safety Authority (EFSA)*, Estados Unidos: *Food and Drug Administration (FDA)*, Canada: *Health Canada*, Australia e Nova Zelândia: *Australia and New Zealand Food Authority (ANZFA) e Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)*, Japão: *Ministry of Health, Labor and Welfare/Department of Food Safety e Comitês do Codex Alimentarius*.

Lista de novos alimentos/componentes alimentares aprovados em Israel

https://www.health.gov.il/UnitsOffice/HD/PH/FCS/NovelFood/Pages/NovelFoodList.aspx (em hebraico) [acesso em 13/08/2021].

Israel mantém uma lista de novos alimentos aprovados para consumo humano. Na lista encontra-se a alga *Lithothamnium corrallioides* para uso como ingrediente alimentar, mas não foi possível determinar maiores detalhes da forma de uso.

1.8. Índia

Para determinar o cenário regulatório de novos alimentos na Índia consultamos as informações disponibilizadas pela FAO (*Food and Agriculture Organization*) no FAOLEX DataBase e pelo GFI (*Good Food Intitute*) uma organização internacional sem fins lucrativos que promove alternativas baseadas em plantas e células para produção de proteínas de consumo humano.

FAOLEX DataBase: http://www.fao.org/faolex/country-profiles/en/

GFI Índia: https://gfi.org.in/

A regulamentação de novos alimentos na Índia é função da *Food Safety and Standards Authority of India* (FSSAI), uma instituição federal do Ministério da Saúde e Bem Estar Familiar.

https://www.fssai.gov.in/

A normatização foi estabelecida através da promulgação do *Food Safety and Standards (Approval for Non-Specified Foos and Food Ingredients) Regulation*, de 2017, que estabelece as regras e os procedimentos para a concessão de aprovação prévia de "alimentos e ingredientes alimentares não especificados", categoria em que estão enquadrados os novos alimentos na Índia.

Definição de novos alimentos

Na Índia novos alimentos são denominados de "alimentos e ingredientes alimentares não especificados". A definição inclui as seguintes categorias de produtos: a) alimentos ou ingredientes

sem histórico de consumo humano no país; b) alimentos derivado de fontes ou contendo ingredientes sem histórico de consumo no país; c) alimentos ou ingredientes obtidos a partir de novas tecnologias que promovam alteração significativa na composição, estrutura ou tamanho do produto que possa alterar o valor nutricional, metabolismo ou nível de substâncias indesejáveis.

O processo de aprovação de novos alimentos

Um operador de empresa do setor de alimentos deve solicitar a aprovação prévia do novo produto antes de iniciar a fabricação ou a importação. A solicitação deve ser feita à FSSAI, que cobra uma taxa por aplicação/por produto. No processo de aprovação será conduzida a avaliação de segurança e, uma vez aprovado, o operador deve solicitar uma licença para fabricar ou importar.

Informações gerais solicitadas para entrar com o pedido de aprovação

Informações sobre o requerente: nome do candidato e informações de contato relevantes; nome da organização e endereço da organização/sede social; número da licença, se houver; natureza do negócio;

- Nome do novo produto (que pode ser um ingrediente, um aditivo, uma enzima ou um coadjuvante de tecnologia), nome do proprietário (se houver) e justificativa do nome;
- Categoria de produto proposta;
- Origem do(s) produto(s) (animal, químico, botânico ou microbiano). No caso de origem animal, botânica ou microbiana devem ser mencionados gêneros e espécies do organismo;
- Uso funcional e uso pretendido do produto;
- Certificados de análise do produto, que devem ser obtidos de laboratórios nacionais acreditados pelo *National Accredited Board of Laboratories* (NABL) ou internacionais acreditados pelo *International Laboratories Accreditation Cooperation* (ILAC). Dentre as análises devem constar parâmetros físicos, químicos e microbiológicos relevantes para o produto junto, bem como os métodos utilizados;
- Resumo do processo de fabricação;
- Status regulatório produto em outros países. Mencionar os países onde o produto é permitido para consumo humano direto ou indireto como alimento (por exemplo, aprovação GRAS da FDA dos EUA). Em caso afirmativo, forneça o nível e a finalidade do consumo pelos consumidores onde o produto foi aprovado, com os regulamentos relevantes e evidências documentais;
- Cópia do acordo de relação do requerente com o fabricante e demais entidades envolvidas (comerciantes, importador, reembalador);
- Informações de segurança baseadas em análise de segurança ou risco publicados e em estudos conduzidos pelo requerente no produto e, também, no alimento em que foi adicionado, quando se tratar de ingrediente, aditivo, enzima ou coadjuvante de tecnologia. Devem ser fornecidas evidências de que o produto não afetará adversamente nenhum grupo específico da população, como mulheres grávidas, lactantes, crianças, idosos ou qualquer outro grupo vulnerável;

Informações específicas solicitadas para entrar com o pedido de aprovação

- O grupo-alvo a que se destina o novo alimento, se houver;
- A composição detalhada do produto, incluindo a quantidade dos ingredientes e aditivos adicionados. Especificar se o produto contém um ou mais novos ingredientes ainda não listados no *Food Safety and Standards Regulation* ou um ingrediente que está sendo introduzido pela primeira vez na Índia.
- Detalhamento da nova tecnologia de fabricação;
- Informações de segurança (documentos sobre avaliação de risco ou estudos de toxicidade a serem anexados), incluindo:

a) Estudos em humanos, com dados de exposição, impacto nutricional e impacto potencial no consumidor, se houver.

b) Estudos toxicológicos, com resultados de testes de Ames para mutagenicidade, testes de aberração cromossômica, estudos de toxicidade reprodutiva, estudos de toxicidade de desenvolvimento pré-natal.

c) Estudos publicados ou não publicados sobre alergenicidade ou outros efeitos adversos associados ao consumo do novo produto, podendo ser incluídos relatórios preparados pela Organização Mundial de Saúde ou por outra agência nacional ou internacional responsável pela segurança alimentar ou saúde pública.

Histórico de consumo do produto (com documentos comprovativos), incluindo dados sobre a área geográfica de consumo (com histórico estabelecido de uso seguro em pelo menos dois países com status regulatório bem estabelecido), a quantidade de consumo e a duração do consumo (em anos).

Novos produtos obtidos de microrganismos aprovados na Índia

https://www.fssai.gov.in/upload/uploadfiles/files/List_Approved_Product_Ingredients_28_02_2020.pdf

20/01/2020 Vegebrite® Ultimate Ice Blue (concentrado de spirulina) da Naturex, França, para uso como corante de alimentos.

1.9. Japão

Para determinar o cenário regulatório de novos alimentos no Japão consultamos as informações disponibilizadas pelo *Foreign Agricultural Service* (FSA) do *United States Department of Agriculture* (USDA), pelo Campden Bri, uma organização britânica de pesquisa e inovação, que atua como provedora de serviços de análise, serviços tecnológicos, suporte operacional e gestão do conhecimento, e pela Baker & McKenzie International, uma firma de advocacia global que opera em todo o mundo como provedora de serviços jurídicos.

FSA: https://www.fas.usda.gov/

Campden Bri: https://www.campdenbri.co.uk/

Baker & McKenzie International: https://resourcehub.bakermckenzie.com/en

As informações foram compiladas das seguintes publicações:

USDA, 2020. *Report Number: JA2020-0166 - Food and Agricultural Import Regulations and Standards - Country Report Japan*

https://www.fas.usda.gov/data/japan-fairs-country-report-4

Campden BRI (Chipping Campden), 2021. *FS304005 Report - Comparing international approaches to food safety regulation of GM and Novel Foods*. https://doi.org/10.46756/sci.fsa.rdg239

Baker & McKenzie, 2021. *Japan - Food product and safety regulation*.

https://resourcehub.bakermckenzie.com/en/resources/asia-pacific-food-law-guide/asia-pacific/japan/topics/food-product-and-safety-regulation

Há no Japão três leis regulamentando a produção, qualidade e segurança dos alimentos, o *Food Safety Basic Act*, que define os princípios para garantia da segurança dos alimentos e estabelece o papel da *Food Safety Commission* (FSC), órgão responsável pela avaliação de risco de alimentos, o *Food Sanitation Act*, que define padrões para alimentos e estabelece medidas de fiscalização e o *Food Labeling Act*, que define os padrões de rotulagem de alimentos (USDA, 2020).

Food Safety Basic Act

http://www.japaneselawtranslation.go.jp/law/detail/?printID=&id=1839&re=02&vm=02

Food Sanitation Act

http://www.japaneselawtranslation.go.jp/law/detail_main?id=12&vm=2&re

Food Labeling Act

http://www.japaneselawtranslation.go.jp/law/detail/?printID=&id=2601&re=02&vm=02

O conceito de novo alimento não é usado no Japão. Um novo alimento ou ingrediente alimentar pode ser colocado no mercado japonês sem aprovação prévia, desde que não seja um aditivo ou um produto com alegação de propriedade sobre a saúde e, obviamente, haja a certeza de que não representa risco à saúde humana. Os fabricantes e importadores são os responsáveis pelo cumprimento da legislação de alimentos, cabendo ao Ministério da Saúde, Trabalho e Bem-Estar (MHLW) as medidas cabíveis em caso de descumprimento (Campden, 2021).

Por outro lado, alimentos derivados de organismos geneticamente modificados (plantas ou microrganismos) estão sujeitos à avaliação de segurança pré mercado, sob a responsabilidade da FSC (Baker & McKenzie, 2021). Em 2000 foi promulgado uma diretriz para a fabricação de alimentos e aditivos usando microrganismos geneticamente modificados, o *Standard for manufacturing foods and food additives produced by use of recombinant microorganisms obtained through recombinant DNA techniques*, que aplica-se diretamente às proteínas produzidas por fermentação de precisão (https://www.mhlw.go.jp/english/topics/food/3-4.html).

É interessante notar que esta diretriz trata detalhadamente das normas de segurança e higiene requeridas para a planta de processamento, não discutindo com tanto detalhe os critérios exigidos para a avaliação do produto em si, o que contrasta com o que se observa nos outros países. Resumidamente, as informações e critérios exigidos para a avaliação incluem:

a) Relatório do status da produção: deve incluir dados do fabricante (nome, endereço e representante legal), dados do local de fabricação (nome e endereço), denominação do produto, sumário do processo de produção, data de início da produção, nome do responsável pelo controle sanitário da produção e mapeamento das situações de risco, com as medidas aplicáveis em caso de ocorrência.

b) Critérios para os microrganismos: b.1) Microrganismo hospedeiro: que não seja patogênico ou contaminado com fatores patogênicos exógenos (vírus etc.), que tenha histórico de uso industrial seguro, que apresenta crescimento adequado em condições industriais, mas sobrevivência limitada e sem consequências adversas no meio ambiente externo; b.2) Microrganismo doador e genes inseridos: que seja bem caracterizado e isento de sequências de genes nocivos conhecidos, que limitado em tamanho ao DNA necessário para realizar a função pretendida, que não aumente a estabilidade da cepa recombinante no ambiente, a menos que seja um requisito da função pretendida, que seja pouco mobilizável, que não transfira quaisquer marcadores de resistência a outros microrganismos; b.3) Microrganismo geneticamente modificado: que não seja patogênico, que seja tão seguro quanto o hospedeiro original em condição industriais e que tenha sobrevivência limitada e sem consequências adversas no meio ambiente externo.

c) Padrões para as instalações e equipamentos: devem ser apropriados para a produção de alimentos e toda a área que envolva a manipulação de recombinantes deve ser separada das demais áreas.

d) Itens de controle do processo: medidas de controle das instalações e equipamentos, medidas de controle das propriedades biológicas do microrganismo, medidas de prevenção de contaminação, procedimentos de emergência em caso vazamento maciço de material contendo microrganismos viáveis.

e) Critérios de manuseio do microrganismo: todos os materiais contendo recombinantes viáveis devem ser claramente identificados, critérios de teste de propriedades biológicas, critérios de estocagem, critérios de transporte.

f) Critérios para o pessoal e a organização: a organização deve dispor de um organizador ou chefe da fábrica, um gerente geral de produção, um responsável pelo controle sanitário da produção, pessoal de manufatura treinado e um comitê de segurança de fabricação.=

1.10. Codex Alimentarius

Foram compilados os seguintes documentos do Codex Alimentarius que se aplicam às proteínas produzidas por fermentação.

1.10.1. Guideline for the conduct of food safety assessment of foods produced using recombinant-DNA microorganisms (CAC/GL 46/2003)

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/

Este documento estabelece os princípios para a análise de risco de alimentos produzidos por fermentação usando microrganismos geneticamente modificados (GMM). É importante destacar que abordagem utilizada na análise de risco baseia-se no princípio de que a segurança dos alimentos produzidos com GMM é avaliada em comparação com os produtos convencionais que têm um histórico de uso seguro. Nesta abordagem, em lugar de tentar identificar todos os perigos associados a um determinado produto ou GMM, a intenção é identificar perigos novos ou alterados em comparação à contraparte convencional. Esta abordagem exclui do escopo do documento todos os novos alimentos que não tenham um equivalente tradicional.

1.10.2. Principles for the risk analysis of foods derived from modern biotechnology (CAC/GL 44/2003 - Amendments 2008, 2011).

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/

O objetivo deste documento é fornecer uma abordagem estruturada para a realização de análises de risco sobre os aspectos nutricionais e de segurança de alimentos derivados da biotecnologia moderna, onde entende-se por "biotecnologia moderna" a aplicação de: a) técnicas de DNA, incluindo DNA recombinante e injeção direta de DNA em células ou organelas ou b) fusão de células além da família taxonômica, que superam as barreiras naturais fisiológicas reprodutivas ou recombinantes e que não são técnicas utilizadas no melhoramento e seleção tradicional.

É importante destacar que a avaliação de segurança deve incluir uma comparação entre o alimento derivado da biotecnologia moderna e seu equivalente convencional, para o qual se dispõe de experiência no estabelecimento de segurança com base no uso comum. Esta abordagem pode excluir do escopo do documento os novos alimentos que não tenham um equivalente tradicional.

1.10.3. Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods (CAC/GL 74/2010)

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/

O objetivo deste documento é padronizar métodos moleculares e imunológicos para detecção, identificação e quantificação de proteínas e sequências de DNA específicas que possam estar presentes em alimentos, incluindo alimentos que contenham materiais derivados da biotecnologia moderna. Os principais métodos alcançados por estas diretrizes são a PCR (*polymerase chain reaction*), usado para detectar sequências de DNA, e o ELISA (*enzyme-linked immuno-sorbent assay*) para detectar proteínas, embora também sejam aplicáveis a outros métodos.

1.10.4. Guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance (CAC/GL 77/2011)

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/

Este documento fornece uma abordagem estruturada de análise de risco para avaliar o perigo para a saúde humana associado à presença de microrganismos resistentes a antimicrobianos em alimentos e rações para animais.

Estão fora do escopo do documento as seguintes áreas relacionadas a agentes antimicrobianos: a) resíduos de agentes antimicrobianos em alimentos, b) genes marcadores de resistência antimicrobiana em plantas e microrganismos geneticamente modificados, c) microrganismos não modificados geneticamente (por exemplo, culturas starter) adicionados intencionalmente a alimentos com uma finalidade tecnológica e d) certos ingredientes alimentares potencialmente passíveis de transportar genes de resistência antimicrobiana, como probióticos.

1.10.5. Guidelines for the utilization of vegetable protein products (VPP) in foods (CAC/GL 4/1989)

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/

O objetivo deste documento é fornecer orientação na determinação dos testes necessários para avaliar a segurança e o valor nutricional de proteína de origem vegetal (VPP) em alimentos. É importante destacar que estas diretrizes aplicam-se a todas as proteínas derivadas de fontes vegetais (inclusive as submetidas à fermentação), mas não às derivadas exclusivamente de biomassa microbiana.

As matérias-primas a partir das quais as VPP são produzidas podem conter fatores tóxicos ou antinutricionais de ocorrência natural, como glicosinolatos em *Brassica* spp, gossipol em caroço de algodão, hemaglutinas e inibidores de tripsina em legumes. O processamento envolvido na preparação das VPP pode elevar o nível de certos nutrientes (como o sódio, por exemplo) e eliminar outros (como as vitaminas) e também alterar a digestibilidade, absorção e qualidade da proteína. Em função disto é importante que antes do uso como alimento humano, as VPP sejam submetidas a testes adequados para demonstrar sua segurança e qualidade nutricional adequada.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA INTERNACIONAL E NACIONAL SOBRE AS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS POR FERMENTAÇÃO

Há centenas de anos a fermentação tem sido usada para conservar alimentos e melhorar seu valor nutritivo. No século 20 este processo expandiu-se para uma gama muito mais ampla de aplicações, abrangendo química industrial, biomateriais, medicamentos, combustíveis e aditivos alimentares avançados. No século 21 está ocorrendo um novo salto tecnológico, com a produção em larga escala de proteínas alternativas às de origem animal e vegetal tradicionais.

Os agentes de fermentação são microrganismos amplamente distribuídos na natureza, incluindo bactérias, fungos e algas. As bactérias são microrganismos unicelulares procariontes usados tradicionalmente na produção de produtos lácteos, cárneos e vegetais fermentados, como iogurte, salame e chucrute, por exemplo. Os fungos são microrganismos eucariontes divididos em dois

grupos; as leveduras, que são fungos unicelulares muito usados na fermentação de pães e bebidas alcoólicas e os fungos filamentosos (também chamados de bolores), que são pluricelulares e formam estruturas chamadas micélios, compostas de longos filamentos de células (hifas) que se ramificam e se entrelaçam. Os bolores são tradicionalmente usados na fabricação de queijos (curados por fungos azulados ou brancos) e alimentos orientais como *tempeh*, *nato* e *misso*. As algas constituem um grande e diversificado grupo de organismos, incluindo espécies autotróficas unicelulares ou multicelulares que produzem a energia necessária ao seu metabolismo através da fotossíntese.

A fermentação tem sido utilizada atualmente de três formas para incrementar o suprimento de proteínas na dieta humana.

a) Fermentação tradicional, na qual são adicionados microrganismos vivos a uma matriz proteica de origem vegetal ou animal, com a finalidade de, através da sua multiplicação e produção de compostos de metabolismo, desenvolver características sensoriais mais atrativas e/ou melhorar o valor nutricional e a biodisponibilidade das proteínas.

b) Fermentação para produção de biomassa, na qual são adicionados microrganismos vivos a um substrato nutritivo natural ou a um meio de cultura formulado, com a finalidade de promover a multiplicação das células microbianas e, posteriormente, utilizar o próprio microrganismo, ou seja, a biomassa celular, como fonte de proteínas e outros constituintes de interesse alimentar.

c) Fermentação de precisão, na qual o material genético que codifica uma determinada proteína em uma planta ou animal (doador) é inserido em um microrganismo (hospedeiro) de crescimento rápido e eficiente, que é então cultivado por fermentação para produzir a proteína desejada em grande quantidade. A proteína pode ser subsequentemente separada das células hospedeiras e purificada, resultando numa molécula idêntica à produzida na planta ou animal, com as mesmas características sensoriais e funcionais da original nos alimentos aos quais seja incorporada. A fermentação de precisão, além de ser utilizada para produção de proteína, também é utilizada para a produção de importantes ingredientes para o setor de plant-based, como aromas, gorduras, vitaminas, pigmentos, dentre outros.

2.1. Processos de fermentação

Há três formas básicas de conduzir um processo de fermentação: fermentação em estado sólido, fermentação em superfície de meio líquido e fermentação submersa. Qualquer destes processos permite tanto a obtenção de biomassa microbiana como de proteínas.

2.1.1. Processo de fermentação em estado sólido

A fermentação em estado sólido é definida por Chen (2013) como aquela na qual o substrato é fermentado em estado sólido, umidificado por um filme líquido. O processo originou-se nas formas tradicionais de fermentação, usados, por exemplo, na produção do pão, que envolve o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* na massa sólida, dos queijos curados, que envolvem o cultivo de fungos azulados ou brancos durante a cura, do *tempeh*, que envolve o cultivo do fungo *Rhizopus oligosporus* em grãos de soja cozidos ou do *ang-kak*, ou "arroz vermelho", que envolve o cultivo do fungo *Monascus purpureus* em arroz cozido.

A partir desses usos tradicionais o processo foi aprimorado para muitas outras aplicações, particularmente com a introdução de suportes sólidos inertes para ancorar o crescimento microbiano. Na moderna fermentação em estado sólido o substrato pode ser de dois tipos:

a) Nutritivo, como no uso tradicional, servindo tanto como estrutura física para o crescimento do microrganismo, mas também como fonte de nutrientes. As inovações neste caso são resultantes da variedade de substratos que estão sendo usados (farelos e tortas prensadas obtidas na extração de óleo de vários grãos, por exemplo), como também da finalidade da fermentação, que ultrapassou o clássico enriquecimento nutricional e/ou sensorial de matérias primas comestíveis, passando, na área de alimentos, a ser também usado na produção de biomassa microbiana e na fermentação de precisão.

b) Poroso inerte, como espuma de poliuretano, resina macroporosa, perlita ou vermiculita, servindo apenas de suporte, enquanto os nutrientes são fornecidos pelo meio de cultura fluido distribuído nas lacunas do suporte poroso. Esta inovação permite um maior controle na pureza dos insumos nutritivos e maior facilidade na colheita das células ou dos bioprodutos gerados pelos microrganismos.

O conteúdo de água do substrato sólido pode ser mantido na faixa de 12% a 80%, normalmente ficando em torno de 60%. Em contraste, o conteúdo de água típico da fermentação líquida é acima de 95%.

Segundo Rodriguez-Couto & Sanromán (2006), há basicamente três tipos de reatores para a fermentação em estado sólido:

a) Reator de bandeja (Figura 2.1), em que o substrato sólido é espalhado em bandejas planas, em camadas finas com apenas alguns centímetros de profundidade. O reator é mantido em uma câmara à temperatura constante por onde circula o ar umidificado.

b) Reator de leito compactado (Figura 2.2), normalmente composto por uma coluna de vidro ou plástico em que é acondicionado o substrato sólido e o ar umidificado é continuamente forçado através da coluna de substrato. Pode ser dotado de camisa para circulação de água no controle de temperatura durante a fermentação.

c) Reator de tambor horizontal (Figura 2.3), em que o substrato é acondicionado em um tambor que gira continuamente, permitindo a aeração da mistura.

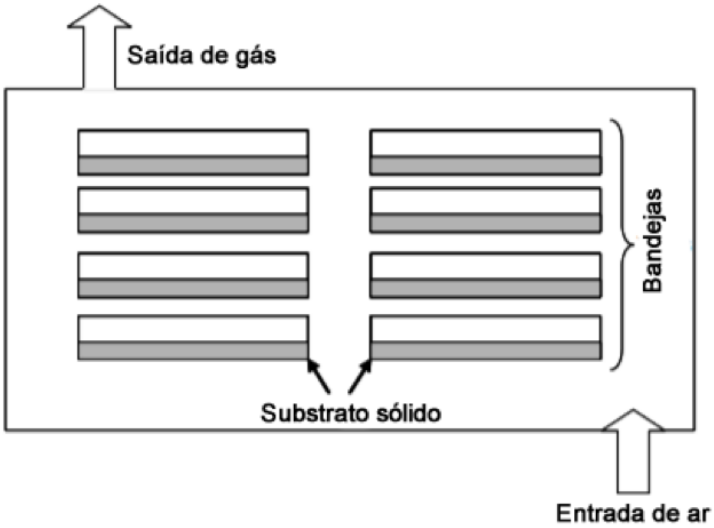


Figura 2.1. *Esquema simplificado de biorreator de bandeja para fermentação em estado sólido (adaptado de Rodriguez-Couto & Sanromán, 2006).*

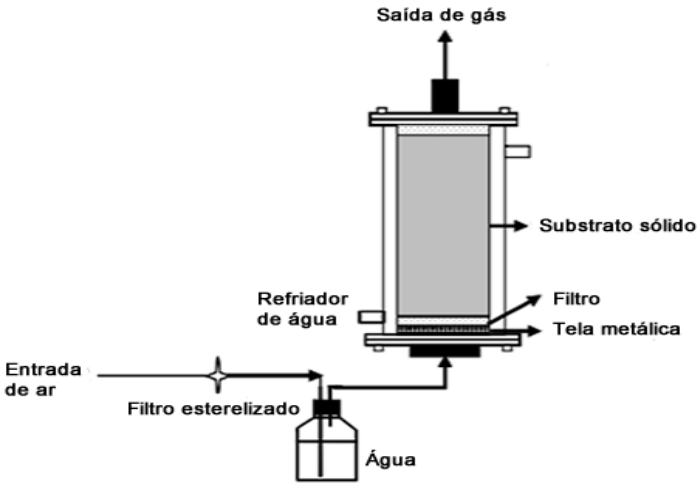


Figura 2.2. *Esquema simplificado de biorreator de leito compactado para fermentação em estado sólido (adaptado de Rodriguez-Couto & Sanromán, 2006).*

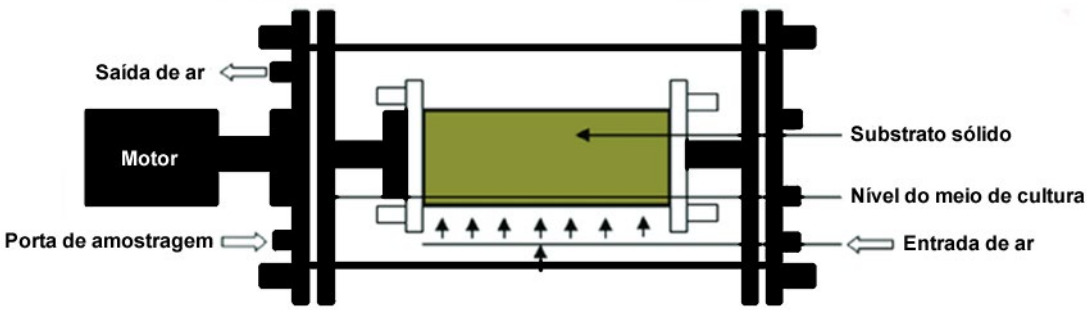


Figura 2.3. *Esquema simplificado de biorreator de tambor horizontal para fermentação em estado sólido (adaptado de Rodriguez-Couto & Sanromán, 2006).*

Bactérias, leveduras e fungos filamentosos podem crescer em substratos sólidos, mas os fungos filamentosos são os organismos mais bem adaptados e dominam as aplicações práticas. O modo de crescimento das hifas oferece uma grande vantagem a estes microrganismos na colonização do substrato e na utilização dos nutrientes disponíveis, dada sua capacidade de penetrar no material sólido.

2.1.2. Processo de fermentação em superfície de meio líquido

Este tipo de fermentação foi patenteado em 2017 para o cultivo de fungos filamentosos na superfície de um meio de cultura líquido, sem qualquer suporte sólido (Patente WO 2017/151684A1). O processo é baseado na característica de crescimento dos fungos filamentosos que, quando cultivados em um caldo nutritivo estático, formam uma camada de biomassa micelial na superfície do líquido, denominada de biomata. Aplica-se a fungos dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Tricoderma*, *Penicillium, Mucorales* e *Rhizopus*, entre outros gêneros.

Patente: https://patents.google.com/patent/WO2017151684A1/en

O processo pode ser usado para a produção de biomassa e também de enzimas e outras proteínas, carboidratos, lipídeos, aminoácidos, vitaminas e qualquer outro produto de metabolismo de fungos, geneticamente modificados ou não. A biomassa pode ser consumida diretamente como ingrediente alimentar ou as proteínas podem ser extraídas e purificadas.

Condições do processo. Para o crescimento do fungo é usado um reator de bandejas similar ao usado na fermentação em estado sólido (Figura 2.1), com bandejas de plástico rasas acomodadas num rack de aço revestido de cromo. A dimensão das bandejas pode ser adaptada ao usuário (por exemplo, há reatores com bandejas de 41,27 x 31,75 x 2,54 cm ou 61,28 x 41,27 x 2,54 cm). O rack com as bandejas é envolto por um filme plástico transparente, criando uma espécie de câmara de fermentação, cuja finalidade é minimizar a contaminação pelo ambiente e controlar as condições de temperatura, umidade e fluxo de ar. Ar umidificado estéril é continuamente insuflado na câmara à velocidade controlada, de forma a garantir aeração e umidade e, por arraste, remover o CO_2 e o calor gerado na multiplicação dos fungos. A temperatura da câmara é mantida a 25±2 °C durante toda a fermentação.

Meio de cultivo. O meio de cultivo pode estar na forma líquida ou em gel (com todos os nutrientes dissolvidos, inclusive as fontes de carbono) ou na forma de uma base nutritiva líquida na qual a fonte de carbono é adicionada como substrato sólido particulado em suspensão. Também pode ser usada a base líquida nutritiva cobrindo o substrato sólido, fonte de carbono. Neste último caso o substrato sólido é submerso sob a superfície da base líquida, de modo que a biomata cresce na superfície do líquido usando o carbono derivado do sólido submerso. Enzimas extracelulares excretadas pelos fungos degradam o substrato de carbono sólido, liberando carbono solúvel que pode ser absorvido pelo biomata na interface biomata/líquido. Em geral, a camada de líquido acima da fonte de carbono submersa deve ter cerca de 0,01 a 1,0 cm de profundidade.

Dependendo da fonte de carbono utilizada, a composição do meio base é ajustada para acomodar a contribuição de nutrientes originada da fonte de carbono. Por exemplo, se a fonte de carbono for melaço, soro de leite ou lignocelulose, os elementos traço provavelmente serão parcial ou totalmente fornecidos pela fonte de carbono. Os fungos podem ser cultivados sem a adição de qualquer antibiótico ao meio de cultura, com pouca ou nenhuma contaminação. Normalmente

a contaminação no meio artificial é causada por outros microrganismos (bactérias, leveduras e bolores indesejáveis), algas, plantas e insetos.

Após a fermentação, que leva de três a 12 dias, dependendo da espécie de fungo, a biomassa pode ser coletada da superfície do líquido sem adição de qualquer solvente e encaminhada aos tratamentos posteriores, de acordo com a finalidade de uso.

2.1.3. Processo de fermentação líquida submersa

A fermentação líquida submersa é definida por Renge *et al*. (2012) como o cultivo de microrganismos submersos em um caldo rico em nutrientes (o meio de fermentação), em reatores fechados e normalmente sob agitação, para manter uma alta concentração de oxigênio. Parâmetros como temperatura, pH, consumo de oxigênio e formação de dióxido de carbono são medidos e controlados para otimizar a fermentação. O processo pode ser conduzido de três formas: fermentação em batelada, fermentação contínua ou fermentação em batelada alimentada.

No processo em batelada o reator é preenchido com o meio de fermentação e a multiplicação microbiana prossegue até o fim da fermentação. O conteúdo é então esvaziado e um novo ciclo é iniciado. Na fermentação contínua, o meio é continuamente adicionado e o fluido do biorreator é continuamente removido. Como resultado, as células recebem continuamente o meio novo e são continuamente removidas para processamento subsequente. O reator pode operar sem interrupção por longos períodos de tempo. A produtividade é maior do que o processo em batelada, tanto pelo fato de não haver paradas como também por permitir um melhor controle e otimização na taxa de crescimento específica (μ) do microrganismo. Na fermentação em batelada alimentada, o meio fresco é contínua ou periodicamente adicionado ao biorreator, mas, ao contrário do processo contínuo, não há remoção contínua. O fermentador é esvaziado ou parcialmente esvaziado quando o volume de meio atinge a capacidade do tanque ou quando a fermentação termina. Assim como no processo contínuo, é possível atingir alta produtividade, uma vez que a taxa de crescimento das células pode ser otimizada controlando-se a taxa de fluxo da alimentação.

A maior parte dos processos submersos utiliza reatores tipo tanque com agitação mecânica, promovida por um eixo vertical com vários agitadores em forma de pá, conforme mostrado na Figura 2.4.

Nesta figura Arnau *et al*. (2020) descreveram as etapas básicas de um processo genérico de fermentação submersa, para produção de enzima por um fungo hospedeiro geneticamente modificado. Além das enzimas, outras proteínas de interesse nutricional podem ser obtidas da mesma forma.

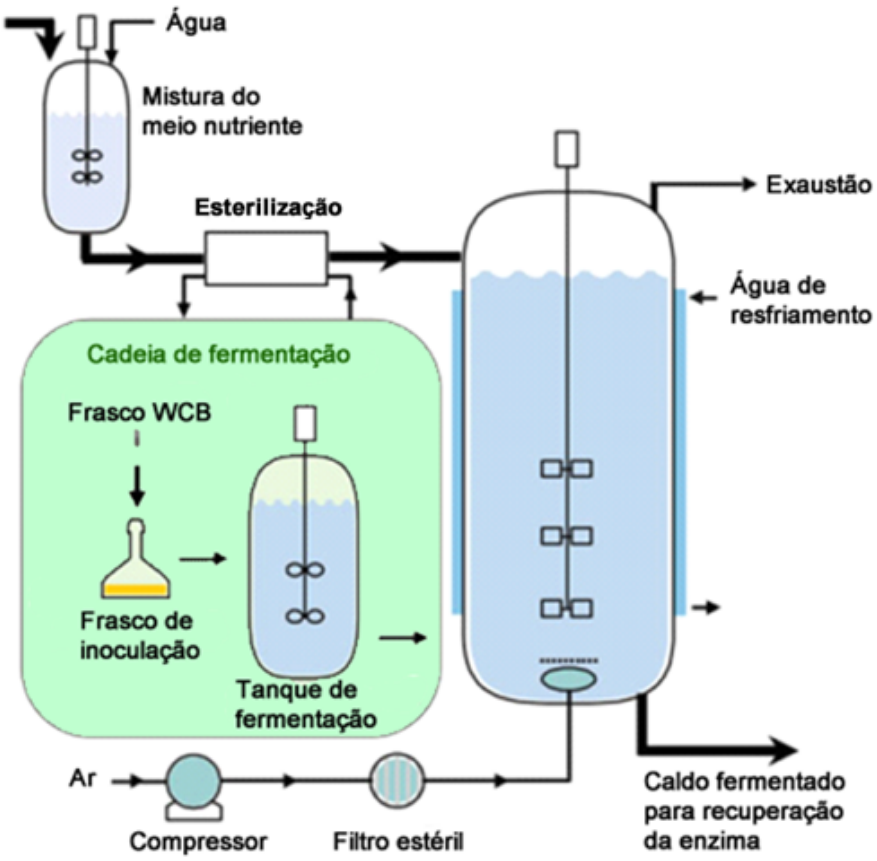


Figura 2.4. *Visão geral de um processo de fermentação de precisão submersa para produção de proteína em um fungo hospedeiro. O fungo em geral é cultivado em um meio pré-definido esterilizado. A linhagem é inicialmente inoculada em um frasco e, após cinco a 10 dias, dependendo do microrganismo, os esporos ou células são coletados e transferidos para um tanque de fermentação de médio porte. Decorridos um a quatro dias, a cultura é então adicionada a um tanque maior, onde a produção da enzima é induzida por alimentação com um indutor. Tanto o pH como a temperatura do meio são controlados, sendo a temperatura mantida por água resfriada (adaptado de Arnau et al., 2020).*

Resumidamente, uma cultura advinda de um banco de culturas é cultivada em um meio sólido, para gerar uma quantidade de esporos suficiente para inocular um tanque de fermentação de médio porte (*seed fermenter*). Nesta etapa é gerada biomassa fúngica suficiente para a produção em grande escala, mas ainda sem indução da produção de enzima. A biomassa é então usada como inóculo para o tanque de fermentação principal (5000 L ou maior), onde ocorre a indução da produção de enzima.

A etapa seguinte é a recuperação da enzima. Na maioria dos processos fermentativos envolvendo fungos, as enzimas são secretadas no meio de cultura durante a fermentação, não exigindo a lise das células para a liberação. Uma vez terminada a fermentação, a enzima pode ser recuperada diretamente do meio ou caldo de cultura, o que envolve várias operações, mostradas na Figura 2.5.

Figura 2.5. *Visão geral das etapas de recuperação da proteína após a fermentação. Neste processo a proteína é secretada pelo fungo no meio de cultura, não exigindo a lise das células. O caldo fermentado é tratado para remover o microrganismo (floculação seguida de filtração ou centrifugação) e o material é, então, concentrado por ultrafiltração, seguindo-se uma etapa de estabilização e subsequente esterilização por filtração (remoção de contaminantes microbianos). O caldo contendo a proteína é usado para a formulação de um produto líquido ou sólido (granulado) (adaptado de Arnau et al., 2020).*

Inicialmente é adicionado ao caldo um agente floculante, para floculação dos resíduos celulares e posterior remoção do material foculado por filtração em tambor ou centrifugação. O caldo livre de células é, então, submetido a uma etapa de ultrafiltração, para concentração da enzima. Em seguida o material é estabilizado e esterilizado por filtração em membrana (para remoção de contaminantes microbianos) e pode ser desidratado ou concentrado em sua forma final.

As enzimas ou outras proteínas obtidas através deste processo são um concentrado do sobrenadante do meio de cultura, sem separação física/bioquímica de moléculas puras. Em função disto, impurezas e compostos do metabolismo do fungo, como micotoxinas, devem ser controlados e monitorados durante todo o processo, no sentido de garantir a segurança do produto final.

2.1.4. Processo de fermentação submersa em reator *airlift* para produção da biomassa

O reator airlift é outro tipo de reator usado na fermentação submersa, em que não são utilizados agitadores para a aeração do meio líquido. Este processo, chamado de *airlift fermentation*, é bastante usado na produção de biomassa e um dos exemplos de sua aplicação é a produção da biomassa do fungo filamentoso *Fusarium venenatum*, denominada de micoproteína. O produto foi lançado com a marca registrada Quorn™, pertencente à Marlow Foods Ltd, uma *joint venture* formada em 1984 entre as empresas britânicas Ranks Hovis McDougall (RHM) e Imperial Chemical Industries (ICI), que já usava este processo para produzir uma biomassa celular bacteriana (Pruteen®) para ração animal.

https://www.chemistryworld.com/opinion/flashback/3005374.article

O processo de *airlift fermentation* usado para a produção da *Single Cell Protein* (SCP) Quorn™ foi descrito por Moore *et al*. (2000) e encontra-se esquematizado na Figura 2.6.

O fermentador consiste num *loop* alongado (*riser*) com duas seções. O meio de cultura é bombeado continuamente numa seção e uma mistura de gases comprimidos (ar estéril e amônia) é injetada na outra seção. A diferença na carga hidrostática entre as seções fornece a força motriz para a circulação do líquido e a turbulência fornece excelentes condições para a transferência de oxigênio da fase gasosa para a fase líquida. Conforme o líquido sobe, o oxigênio é consumido e CO_2 é produzido pela cultura, sendo expulso pela redução da pressão no topo do *riser*. Com o aumento da densidade a cultura desce, sendo novamente insuflada de ar, completando o ciclo de pressão. A cultura com os filamentos de hifas crescentes circula continuamente, sendo mantida a cerca de 30 °C por um trocador de calor colocado no tubo de descida. A taxa de suprimento de nitrogênio para o crescimento (gás amônia na mistura gasosa) é regulada por um monitor de pH configurado para manter o pH da cultura em 6,0. A taxa de suprimento de glicose é operada para garantir que a glicose esteja sempre em excesso, de forma a obter uma taxa de crescimento específica (μ) máxima.

O fermentador funciona 24 horas por dia. Os testes para a presença de micotoxinas são feitos a cada 24 horas, usando um método com sensibilidade para 2 ppb. Como o fungo está crescendo a μmax e as toxinas são metabólitos secundários produzidos por crescimento lento ou culturas estacionárias, a síntese de micotoxinas é evitada.

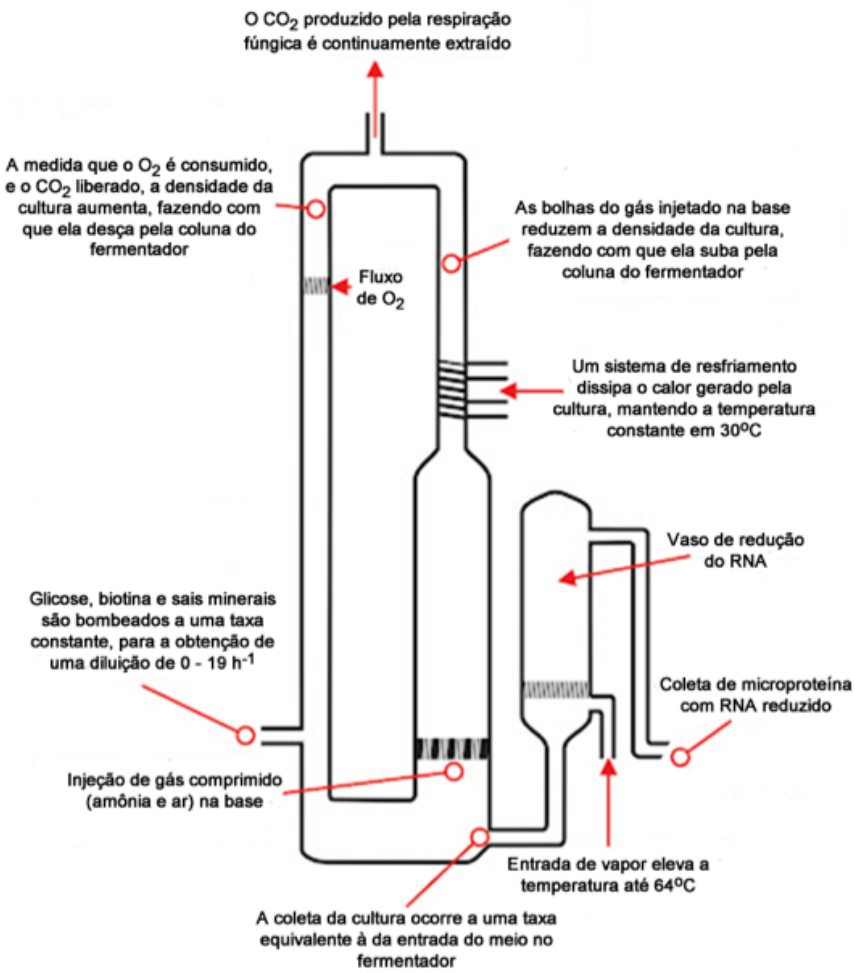


Figura 2.6. *Esquema do processo de air lift fermentation usado na produção da micoproteína Quorn™ (extraído de Moore et al., 2000).*

A massa celular é colhida continuamente, mas antes passa por um tanque acoplado ao fermentador, onde é tratada para redução do teor de ácido ribonucléico (RNA). A massa celular de fungos normalmente apresenta um conteúdo relativamente alto de RNA, em comparação com fontes tradicionais de proteína, como carne, peixe ou soja. O RNA ingerido dá origem a purinas e pirimidinas e as purinas são subsequentemente convertidas em ácido úrico, aumentando o risco de gota e pedras nos rins em indivíduos suscetíveis. O *United Nations Protein Advisory Group* das Nações Unidas recomendou, em 1972, que proteínas de massa celular destinadas ao consumo humano não forneçam mais de duas gramas de RNA por dia. A especificação para o nível ácido ribonucléico (RNA) na microproteína é de no máximo 2% do peso seco. Para a redução do RNA a temperatura da biomassa é elevada a 68 °C por 20 a 30 minutos, interrompendo o crescimento e ativando as RNAases endógenas, que quebram o RNA e liberam os nucleotídeos para o meio de cultura. Como as RNAases são mais resistentes ao calor do que as proteases, a perda de proteínas é minimizada, embora uma quantidade significativa seja perdida. Após processo resta na micoproteína apenas 1% de RNA (p/p), semelhante ao presente no fígado animal e dentro do limite superior de 2% (p/p) recomendado pela OMS.

Após a redução do RNA a biomassa fúngica é colhida, apresentando, em base seca, cerca de 44% de proteína, 18% de fibra dietética e apenas 13% de gordura (os valores para a carne bovina são 68%, 0% e 30%, respectivamente). Esta massa ou "pasta" de micoproteína é, então, tratada para a formação da textura semelhante à da carne, que caracteriza a biomassa Quorn™.

Para a texturização podem ser adicionados diferentes agentes gelificantes e firmadores como albumina de ovo (ou proteínas de ervilha e batata em produtos veganos), alginato, ágar ou goma de alfarroba. O gel é então congelado, sendo a textura final alcançada após o congelamento inicial e durante cerca de duas semanas de armazenamento congelado. Ao final o produto oferece a mesma sensação de "mastigação" e suculência da carne.

O processo fermentativo foi originalmente desenhado para funcionar indefinidamente, mas na prática é encerrado a cada mil horas (cerca de 6 semanas) após o início do fluxo contínuo. Isto devido a mutações naturais que ocorrem na cultura; a biomassa composta por mutantes apresenta a mesma composição química e nutricional da linhagem parental, mas a textura da micoproteína muda, tornando-se mais friável (mais fácil de desintegrar-se). O processo então precisa ser encerrado e um novo ciclo fermentativo iniciado.

2.1.4. Extração e purificação de proteínas obtidas por fermentação

Na produção de biomassa o produto de interesse obtido na fermentação são os próprios microrganismos. Na fermentação de precisão o produto de interesse são as proteínas sintetizadas pelos microrganismos, que precisam ser separadas das células e recuperadas. Dois tipos de situações devem ser consideradas na recuperação: a) se a proteína é excretada no meio de cultura ou b) se a proteína é acumulada no interior das células. Ferraz (2010) apresentou uma revisão das etapas de recuperação de enzimas, que se aplicam a qualquer proteína e permitem uma visão geral dos procedimentos nestas duas situações.

Em ambos os casos a recuperação tem início no líquido fermentado ou, se a fermentação foi feita em estado sólido, no líquido de extração do substrato. A primeira etapa é uma separação sólido-líquido para remoção das células do microrganismo, que normalmente envolve operações como floculação, centrifugação e filtração (como já mostrado na Figura 2.5).

No caso das proteínas extracelulares, o caldo livre das células segue diretamente para uma etapa subsequente de concentração das proteínas por ultrafiltração, na qual são utilizadas membranas filtrantes que permitem a passagem dos compostos de baixa massa molar e retém as proteínas.

No caso das proteínas intracelulares as células separadas do caldo são submetidas a um processo de ruptura celular (lise) para liberação das proteínas, antes da concentração. Há vários processos que podem ser usados para romper as células, como ultra-som, digestão com álcalis e digestão enzimática, mas industrialmente os mais aplicados são a moagem em moinhos de bolas de vidro e a ruptura sob alta pressão, que são processos mecânicos e não envolvem compostos químicos. Após a lise é feita uma nova separação sólido-líquido para eliminar os fragmentos insolúveis de células. O sobrenadante pode seguir direto para a ultrafiltração, porém, é comum a necessidade de etapas adicionais para remoção de outros constituintes intracelulares, particularmente ácidos nucléicos.

Dependendo do grau de pureza desejado, o concentrado rico em proteínas pode ser usado diretamente na formulação de ingredientes alimentares ou pode seguir para etapas posteriores de purificação, para obtenção da molécula quimicamente pura.

Os processos de obtenção de proteínas puras quimicamente definidas são os mesmos aplicados à produção de enzimas alimentares, podendo ser usados, dentre outros, precipitação por salificação (*salting out*), precipitação isoelétrica, precipitação por solventes, cromatografia de troca iônica, cromatografia de afinidade, eletroforese, diálise, ultrafiltração e ultracentrifugação. Tais processos são amplamente divulgados na literatura, fugindo ao escopo do presente documento.

2.2. A fermentação tradicional

Exemplos de fermentação tradicional já foram citados anteriormente, na abordagem do processo de fermentação em estado sólido. Destes, um tipo de produto que se destaca como exemplo do potencial de aplicação da fermentação tradicional na oferta de proteínas é o *tempeh*. Neste produto o micélio fúngico é cultivado nos grãos de soja para reduzir o conteúdo de fatores antinutricionais, aumentar a digestibilidade e melhorar o sabor, sendo a massa micelial também consumida e funcionando como fonte adicional de nutrientes.

Inúmeras fontes vegetais de proteínas e resíduos vegetais de processamento de alimentos não são usadas na alimentação humana em função dos mesmos problemas de sabor, digestibilidade e conteúdo de fatores antinutricionais observados na soja. A aplicação da fermentação tradicional a estas matérias primas pode permitir a obtenção de novos ingredientes alimentares proteicos adequados à formulação de alimentos.

Por exemplo, a empresa Planetarians, de Palo Alto, Califórnia, usa a fermentação tradicional para melhorar a digestibilidade, o sabor, a textura e o perfil nutricional de subprodutos agroindustriais de baixo valor, como a torta prensada de girassol resultante da produção de óleo (Specht *et al.*, 2020). A empresa MycoTechnology, de Aurora, Colorado, lançou um concentrado de proteína de ervilha e de arroz fermentado por shiitake, em que a biomassa micelial (inativada pelo calor) e as proteínas fermentadas são concentradas e desidratadas para obtenção de um ingrediente (Pure Taste®) com mais de 75% de proteína, a ser usado na formulação de diversos produtos alimentícios (análogos de carne, misturas para panificação, misturas para sopas, produtos lácteos e análogos de produtos

lácteos, massas, frutas processadas e sucos de frutas, vegetais processados e sucos de vegetais, barras de cereais) em concentrações variando de 1% a 40% (FDA GRN 848/2020). A fermentação reduz odor e sabor indesejáveis da matéria prima e confere propriedades funcionais como texturização e retenção de água e óleo. A nova marca Planterra da JBS lançou uma linha de produtos *plant-based* usando este ingrediente da MycoTechnology na formulação (Specht *et al.*, 2020).

Um grupo de pesquisadores brasileiros (Muniz *et al.*, 2020) apresentou resultados de um estudo no qual cascas de goiaba e bagaço de caju foram submetidos à fermentação por *Saccharomyces cerevisiae*, com o objetivo de enriquecimento protéico. A fermentação foi realizada a 30 ºC com umidade relativa de 70% e atividade de água de 0,90, iniciada com uma concentração de 3% da levedura para o bagaço de caju e 5% para a casca de goiaba. Os subprodutos enriquecidos com proteínas foram utilizados em três diferentes formulações de barras de cereais, compostas de mel de abelha, óleo de coco, aveia em flocos, bagaço de caju fermentado, casca de goiaba fermentada e uvas passas. A análise físico-química das barrinhas demonstrou que a adição dos ingredientes derivados da fermentação aumentou em 11 vezes o conteúdo de proteína de ambos os produtos. A análise de textura instrumental revelou que o alto teor de fibra alimentar aumentou a dureza e a coesão das barrinhas. As três formulações apresentaram escores médios de 7/10 para atributos sensoriais e média de 4/5 para intenção de compra. Segundo os autores, os resultados gerais sugerem que a adição de subprodutos enriquecidos de proteínas é uma alternativa para agregar valor nutricional e econômico às barras de cereais.

A seguir apresenta-se, como exemplo, estudos requeridos para a liberação de proteínas de fonte vegetal fermentadas para consumo humano - o processo de aprovação do produto PureTaste® da MycoTechnology no mercado americano.

Estudo de caso

Processo de aprovação no mercado americano do concentrado de proteína de ervilha e de arroz fermentado por shiitake

FDA GRAS Notice Nº 848 de janeiro de 2020 da MycoTechnology, Aurora, CO, USA

https://www.fda.gov/media/135941/download

Descrição do produto

Pure Taste® = Concentrado de proteína de ervilha e de arroz fermentado por shiitake, (*Lentinula edodes*) em que a biomassa micelial (inativada pelo calor) e as proteínas fermentadas são concentradas e desidratadas para obtenção de um ingrediente (≥ 75% de proteína).

Especificação da matéria prima

b.1) Concentrado proteico de ervilha: Proteína (base seca) ≥ 80%, pH 6,0 a 8,0, gordura ≤ 8%, fibras dietéticas ≤ 9%, umidade ≤ 10%, cinzas ≤ 6%, carboidratos totais ≤ 10%, contagem total de aeróbios mesófilos ≤ $3x10^4$ UFC/g, bolores e leveduras ≤ 100 UFC/g, coliformes ≤ 30 UFC/g, *E. coli* ausente/g, *Staphylococcus aureus* ausente/g, *Salmonella* ausente/g,

micotoxinas < 5 µg/kg, metais pesados: arsênio < 0,25mg/kg, cádmio < 0,85mg/kg, chumbo <0 ,5mg/kg, mercúrio < 0,1mg/kg (FDA GRAS Notice GRN 608/2016).

https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=608

b.2) Concentrado proteico de arroz: Proteína (base seca) ≥ 80%, pH 4,5 a 7,0, gordura ≤ 5%, fibras dietéticas ≤ 18%, umidade ≤ 6%, cinzas ≤ 3,5%, carboidratos totais ≤ 18%, glúten ≤ 20ppm, contagem total de aeróbios mesófilos ≤ $1,5x10^4$ UFC/g, bolores e leveduras ≤ 100 UFC/g, coliformes ≤ 30 UFC/g, *E. coli* ausente/10g, *Staphylococcus aureus* ausente/10 g, *Salmonella* ausente/10 g, aflatoxina B1 <5µg/kg, aflatoxina B2 < 5 µg/kg, aflatoxina G1 < 5 µg/kg, aflatoxina G2 < 5 µg/kg, ocratoxina A < 5 µg/kg, metais pesados: arsênio < 0,20 ppm, cádmio < 0,30 ppm, chumbo < 0,25 ppm, mercúrio < 0,045 ppm (FDA GRAS Notice GRN 609/2015).

https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=609

Processo

Adição da cultura iniciadora à uma mistura de pasta de concentrado proteico de ervilha, pasta de concentrado proteico de arroz, maltodextrina, cenoura em pó e agente antiespumante (preparação do inóculo) → adição do inóculo às matérias primas estéreis → fermentação principal sob condições controladas → parada da fermentação após 20 a 40 horas por tratamento térmico → concentração e secagem da proteína (concentrados proteicos + biomassa) por pulverização. Controles: BPF, insumos de grau alimentício ou GRAS.

Especificações

Em base seca: proteína 75%, umidade 7%, contagem total de aeróbios mesófilos ≤ 10^4 UFC/g, *Listeria* ausência em 25 g, *Escherichia coli* ausência em 10 g, *Salmonella* ausência em 25 g e metais pesados.

Intenção de uso e ingestão estimada

Ingrediente para uso na formulação de diversos produtos alimentícios (misturas para panificação, sopas e misturas para sopas, produtos lácteos e análogos de produtos lácteos, massas, frutas processadas e sucos de frutas, vegetais processados e sucos de vegetais, barras de cereais, nutrição para esportistas) em concentrações variando de 1% a 40%. Com base no consumo da população dos EUA, relatado nos dados da Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição de 2011-2012 (*National Health and Nutrition Examination Survey Data*), não resultará em um aumento no consumo geral de proteína.

Valor nutricional e considerações de segurança

A fermentação tem o objetivo de alterar as propriedades organolépticas de duas matérias primas que já receberam o documento *no question letter* da FDA quanto ao *status* GRAS, com pouca ou nenhuma alteração na sua composição, valor nutricional e características. Os processos de notificação GRAS dos dois produtos apresentaram informações extensivas sobre o valor nutricional e segurança (FDA GRAS Notices GRN 608/2016 e GRN 609/2016).

Quanto ao fungo, há um longo histórico de consumo seguro na alimentação humana e foram apresentados estudos publicados de toxicidade de suspensões aquosas de micélio de *Lentinula edodes* em ratos Wistar (2000 mg/kg de peso corporal/dia), outros animais e humanos. Quanto à segurança de enzimas fúngicas em geral, incluindo lacase endógena secretada por micélios de shiitake durante a fermentação, presume-se que sejam inativadas durante as etapas de concentração e secagem por pulverização.

2.3. Fermentação para produção de biomassa

A proteína da biomassa de microrganismos é chamada de "single cell protein" (SCP), embora muitos dentre os microrganismos produtores sejam multicelulares, como os fungos filamentosos e algumas algas. O termo SCP foi cunhado para evitar as conotações negativas de denominações como como "proteína microbiana" ou "proteína bacteriana" (Trinci, 1992). Segundo Garibay *et al.* (2014) o conceito "single cell protein" é aplicado ao crescimento massivo de microrganismos para consumo humano ou animal. É um termo genérico que se refere à proteína bruta ou purificada originada de células de bactérias, leveduras, bolores ou algas, que pode ser consumida diretamente como biomassa ou como um suplemento para aumentar o teor proteico de outros alimentos (Finnigan *et al.*, 2017). A produção de biomassa tem importantes vantagens sobre outras fontes de proteínas; é produzida em pouco tempo, requer pouco espaço e não é afetada por condições climáticas. Além disso, os microrganismos podem multiplicar-se utilizando várias fontes de carbono.

Ao projetar um processo de fabricação de biomassa para consumo humano, vários requisitos básicos devem ser considerados.

- A fabricação deve ser economicamente viável para competir com outras alternativas mais bem estabelecidas, como o tofu e outros derivados da soja, por exemplo, bem como a própria carne e o leite.
- O organismo deve ser capaz de adequar-se à produção em larga escala e multiplicar-se para produzir quantidades suficientes do produto.
- Se o produto objetivar a substituição de fontes convencionais de proteína, deve ser rico em proteínas e fornecer vários aminoácidos essenciais.
- O organismo não pode ser patogênico nem produzir toxinas nas condições de processo.
- Para suprir os níveis relativamente altos de proteínas necessários para a dieta humana, deve ser obtido preferencialmente a partir de organismos que contenham pelo menos 30% de proteínas em sua biomassa.

Consequentemente, a produção de SCP é restrita a um número relativamente pequeno de espécies, ainda mais limitado devido a questões de segurança e normas sobre alimentos para consumo humano em comparação à ração animal (Finnigan *et al.*, 2017).

2.3.1. Produção de biomassa de fungos

Várias espécies de fungos já foram avaliadas para uso como biomassa, conforme mostrado no Quadro 2.1, que também traz os substratos utilizados na fermentação e o teor de proteína observado nas condições em que foram cultivadas.

Produtos dos gêneros *Saccharomyces* e *Fusarium* já estão disponíveis comercialmente e uma SCP de *Yarrowia lipolytica* também está sendo produzida em pequena escala pela empresa polonesa Skotan S.A., com as marcas Yarrowia Equinox e Yarrowia GoodStart (https://nl.linkedin.com/in/alptradingeurope).

A SCP de *Saccharomyces cerevisiae* gerada no processo de fermentação para produção de álcool de cana é amplamente usada na produção de diversos ingredientes alimentares. A Zilor, uma das maiores produtoras brasileiras de etanol e açúcar de cana, dispõe de uma unidade de negócios especialmente dedicada a este setor, a empresa Biorigin, que em 2008 adquiriu a PTX Food Corp. nos Estados Unidos e a Immunocorp Animal Health, na Noruega, ampliando e fortalecendo sua presença internacional. Dentre os produtos derivados da SCP de *Saccharomyces cerivisiae* há vários aromas, realçadores de sabor e uma linha (**Goldcell) com ingredientes usados para aumentar o** valor nutricional. Nesta linha há também um produto (Goldcell NY) produzido com massa celular da levedura *Torula* (https://www.biorigin.net/biorigin/index.php/pt/food/portfolio).

A biomassa de fungos tem sido predominantemente utilizada na fabricação de produtos que serão usados como ingredientes em outros alimentos. Há, entretanto, uma classe de produtos derivados da biomassa dos fungos filamentosos, cujo objetivo é aproveitar a estrutura altamente ramificada do micélio para criar textura semelhante à da carne. Enquanto os análogos de carne tradicionalmente produzidos, como "hambúrgueres" e "nuggets" vegetarianos, apresentam uma textura de carne finamente moída, os análogos produzidos com a biomassa filamentosa buscam imitar a textura dos músculos inteiros. Um produto deste tipo é a micoproteína Quorn™, da britânica Marlow Foods. Mais recentemente a startup Meati Foods (anteriormente chamada Emergy Foods), de Boulder, Colorado, criou uma linha de bifes à base de fungos (Specht *et al.*, 2020).

Quadro 2.1. Fungos filamentosos e leveduras avaliados para a produção de biomassa para alimentação humana e animal (extraído de Thrane, 2007 e Ritala *et al.*, 2017).

Organismo (Referência*)	Substratos (teor de proteínas %)
Actinomucor elegans (1)	NR
Aspergillus fumigatus (1)	NR
Aspergillus flavus (2)	farelo de arroz (10)
Aspergillus niger (2)	bagaço de maçã (17 a 20)
	resíduos de banana (18)
	farelo de arroz (10 a 11)
	stickwater (49)
	resíduo de líquor (50)
Aspergillus ochraceus (2)	farelo de arroz (10)

Aspergillus oryzae (deoiled) (2)	farelo de arroz (24)
Candida crusei (2)	soro de queijo (48)
Candida lipolytica (1)	NR
Candida tropicalis (2)	melaço (56)
Candida utilis (2)	cama de frango (29)
	resíduo de pimentão em pó (48)
	resíduo do processo de amido de batata (46)
Chrysonilia sitophilia (2)	lignina (39)
Cladosporium cladosporioides (2)	farelo de arroz (10)
Debaryomyces hansenii (2)	hidrolisado com alto teor de hemicelulose de grãos já usados de cervejaria (32)
Fusarium moliniforme (1)	NR
Fusarium oxysporum (1)	NR
Fusarium semitectum (2)	farelo de arroz (10)
Fusarium venenatum (Quorn) (2)	glicose (44)
Geotrichum candidum (1)	NR
Hanseniaspora uvarum (2)	frutos deteriorados de tamareiras (49)
Kluyveromyces marxianus (2)	soro de queijo (43)
	bagaço de laranja, melado, grãos usados de cervejaria, soro, polpa de batata (59)
Monascus ruber (2)	farelo de arroz (10)
Penicillium citrinum (2)	farelo de arroz (10)
Pestalotiopsis westerdijkii (1)	NR
Phanerochaete chrysosporium (1)	NR
Pleurotus florida (2)	palha de trigo (63)
Rhizopus oligosporus (1)	NR
Saccharomyces cerevisiae (2)	bagaço de laranja, melado, grãos já utilizados de cervejaria (24)
Thielavis terrestres (1)	NR
Trichoderma harzianum (2)	filtrado de soro de queijo (34)
Trichoderma viride (2)	polpa cítrica (32)
Yarrowia lipolytica (2)	inulina, óleo cru, hidrocarbonetos do resíduo de processamento de glicerol (48-54)

** (1) extraído de Thrane (2007), (2) extraído de Ritala et al. (2017).*
NR = Não relatado.

A seguir apresentamos, como exemplo dos estudos requeridos para a liberação de biomassa de fungos filamentosos para consumo humano, o processo de aprovação da biomassa de *Fusarium strain flavolapis* no mercado americano.

Estudo de caso

Processo de aprovação no mercado americano da biomassa de Fusarium strain flavolapis

FDA GRAS Notice Nº 904/2021 da Nature's Fynd, Chicago, IL, USA

https://www.fda.gov/media/147828/download

Processo de fermentação em superfície de meio líquido

Inoculação e fermentação. Ativação da cultura pura preservada sob congelamento (preparação da cultura estoque) e cultivo da cultura estoque em meio líquido (fermento). Transferência do fermento para a câmara de fermentação para crescimento e formação da biomassa do fungo na superfície do meio de cultura líquido. A câmara de cultivo é monitorada quanto às condições ambientais, incluindo, mas não se limitando, a temperatura e umidade. O processo de fermentação continua até que o meio seja consumido e a biomassa formada.

Colheita e inativação. A biomassa é removida fisicamente da câmara de cultivo, sem o uso de solventes ou outros produtos químicos. É, então, submetida a tratamento térmico por calor úmido em temperatura acima de 55 °C, por não menos de três minutos para inativação (morte) das células.

Prensagem e desidratação. A biomassa inativada é prensada mecanicamente para remoção da água, resultando em um teor de umidade consistente com a especificação do produto para uso como fonte de proteína e macronutrientes em alimentos. Opcionalmente pode ser desidratada e moída para produção de farinha de micélio.

Congelamento e armazenamento. A biomassa prensada ou desidratada é embalada a vácuo em embalagem de grau alimentício, congelada e estocada à temperatura de -20 °C ou menor. A comercialização para uso na formulação de alimentos é feita na forma congelada.

Identificação do fungo

A cepa de *Fusarium strain flavolapis* foi descoberta no Parque Nacional de Yellowstone, Estados Unidos e depositada na American Type Culture Collection (ATCC Accession Deposit Nº PTA-10698) com a designação de *Fusarium oxysporum* MK7. No processo enviado à FDA foi designada como *Fusarium novum yellowstonensis*, o que levou a questionamentos da agência quanto à identidade da cultura. Além disso, por tratar-se de um gênero de fungo filamentoso com diversas membros toxigênicos, o painel de avaliadores solicitou dados adicionais sobre a posição filogenética da linhagem, comparada com as espécies toxigênicas de *Fusarium* e, também, para demonstrar não se tratava da mesma espécie usada na produção da biomassa Quorn™. A árvore filogenética foi construída, mostrando que a localização da cepa a identificava como *Fusarium strain flavolapis*, incluída entre as espécies do complexo *Fusarium fujikuroi*.

Patogenicidade

Fusarium spp. são amplamente distribuídos no meio ambiente e os seres humanos são regularmente expostos a membros do gênero sem desenvolver infecções. Também são frequentemente encontrados no micobioma gastrointestinal normal de indivíduos vegetarianos saudáveis. As infecções invasivas são raras e oportunistas, desenvolvendo-se principalmente em pacientes com trauma ou lesão, ou em indivíduos gravemente imunocomprometidos. Há mais de 100 espécies com diversidade filogenética e patogenicidade variável, mas as infecções invasivas, quando ocorrem, são raramente associadas às espécies do complexo *Fusarium fujikuroi*. Além disso, são necessários hifas ou conídios viáveis para iniciar infecções. No processo de fabricação da biomassa são usados métodos reconhecidos como eficazes na desativação.

Potencial de produção de micotoxinas

Uma extensa análise foi conduzida para determinar se a linhagem apresentava potencial de produção de micotoxinas, através das técnicas de sequenciamento genético e análise dos metabólitos (estudo de metaboloma). Os resultados demonstraram o potencial de produção de quatro micotoxinas: fumonisina, beauvericina, fusarina C e ácido fusárico. Análises posteriores demonstraram que, na eventual formação destas micotoxinas durante a fermentação, os níveis não representariam perigo para o consumidor, com base nos padrões estabelecidos pelas autoridades regulatórias e na estimativa da ingestão diária.

Na patente WO 2017/151684A1 do processo de fermentação em superfície de meio líquido (item 2.1.5) este fungo foi cultivado em diferentes condições para avaliar a produção das micotoxinas Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, Ocratoxina A, Deoxinivalenol, Fumonisinas B1 e B2, Nivalenol, Toxina T-2, Toxina HT-2 e Zearalenona. Em todas as condições a quantidade produzida ficou muito abaixo do limite estabelecido pela FDA.

Caracterização da matéria prima

Os ingredientes usados na formulação do meio de fermentação são de grau alimentício, químico ou farmacêutico, comumente usados nas indústrias de alimentos e na produção de enzimas alimentares, com especificações definidas para pureza e limites de metais pesados. Apenas um componente com potencial de deixar resíduo no produto final foi identificado, o nitrato presente no meio de cultura na forma de nitrato de sódio e nitrato de potássio, que são permitidos para uso ou adição em alimentos de acordo com os regulamentos da FDA. Com relação a resíduos de pesticidas, não há expectativa razoável de presença, uma vez que os insumos derivados de matérias-primas vegetais são altamente purificados e o processo de fermentação é feito na superfície do meio de cultura. Ainda assim, foram analisados três lotes de produto, todos com resultados negativos.

Caracterização do produto

A biomassa micelial do fungo contém 20% a 30% de sólidos e pode ser desidratada e moída até aproximadamente 95% de sólidos (farinha de micélio de *Fusarium*). A composição típica do produto, com base no peso seco, é a seguinte: proteína > 45%, carboidratos 5% a 15%, fibras 25% a 35%, gordura 5% a 10% e açúcar < 0,5%.

Especificações (em base seca)

Teor de água 70% a 80%, proteínas > 45%, açúcares totais ≤ 0,5%, glicerol ≤ 4%, fibras dietéticas totais 25% a 35%, carboidratos (não fibra) 5% a 15%, ácidos graxos totais 4% a 10% (saturados 0 a 3%, monoinsaturados 0 a 3%, poliinsaturados 2% a 6%, trans ≤ 1%), cinzas ≤ 5%, RNA ≤2 %, fumonisinas totais ≤ 0,5 ppm, contagem total de aeróbios mesófilos ≤ 10^4 UFC/g, bolores e leveduras ≤ 100 UFC/g, *E. coli* ausência em 10 g, *Salmonella* ausência em 25 g, cor esbranquiçada a levemente castanha, metais pesados (chumbo, cádmio, arsênio e mercúrio) ≤ 0,1 ppm.

Estabilidade

Em embalagem a vácuo e estocagem sob congelamento, a vida de prateleira do produto (prensado ou em pó) foi estabelecida em 12 semanas com base nos seguintes parâmetros: físico-químicos (proteínas, cinzas, umidade, ácidos graxos), microbiológicos (contagem total de aeróbios mesófilos, bolores e leveduras, coliformes totais, *E. coli* e *Salmonella*), sensoriais (cor, odor) e micotoxinas (fumonisinas B1+B2).

Qualidade nutricional

O valor PDCAAS (escore de aminoácidos corrigido pela digestibilidade) médio é de 0,92, medido in vitro, e 0,91, medido in vivo, valor comparável ao da carne bovina, que é de 0,92. O teor de aminoácidos em peso seco é de 40% a 50%, contendo todos os que são normalmente encontrados em proteínas comuns na dieta humana, incluindo os nove essenciais, que constituem 20% a 24% do peso seco total do produto. Os aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina) constituem de 10% a 15% do peso seco e 20% a 25% do conteúdo total de proteína. Os aminoácidos essenciais e não essenciais combinados compreendem todo o conteúdo de nitrogênio orgânico na proteína. Comparado a outras fontes de proteína vegetal, como tofu e proteína de ervilha, apresenta qualidade similar e como substituto não resulta em deficiência nutricional.

Uso proposto e avaliação da exposição

O uso proposto é a substituição de proteínas de origem vegetal em produtos como análogos de carne e aves, análogos de produtos lácteos, derivados de leite, bebidas e bases para bebidas, cereais matinais, sucos de frutas e vegetais, produtos de grãos e massas; produtos assados e misturas para bolos, sopas e misturas para sopas. Não se destina ao uso em fórmulas infantis ou em produtos cárneos ou avícolas regulamentados pelo USDA. Foram apresentados os teores recomendados para as diversas aplicações e calculada a ingestão diária estimada para a proteína e também para duas categorias de substâncias que podem estar presentes na biomassa: micotoxinas (fumonisina, beauvericina, fusarina C e ácido fusárico) e nitratos.

Estudos toxicológicos

Foram realizados estudos de toxicidade oral aguda em ratos Sprague-Dawley e de genotoxicidade usando dois métodos in vitro: teste de Ames (mutação bacteriana reversa) e teste de micronúcleos em linfócitos humanos. Estes estudos foram complementados com os estudos genotoxicidade realizados pela Marlow Foods para a micoproteína de *Fusarium*

venenatum, com base nas informações sobre a metabolômica e toxicidade de *Fusarium*, que apoiam o reconhecimento geral de semelhança nos perfis toxicológicos entre as duas espécies.

Alergenicidade

O potencial alergênico foi avaliado pelo *Food Allergy Research and Resource Program (FARRP)* da Universidade de Nebraska-Lincoln, usando análise comparativa de sequência genética, buscando no genoma do fungo regiões de homologia com as de proteínas dos oito principais alimentos ou grupos de alimentos alergênicos (leite, ovos, peixes, crustáceos, nozes, amendoim, trigo e soja). As sequências foram comparadas àquelas depositadas no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* e no *Protein and FARRP's Allergen Online*.

Desde o sucesso do *Quorn*, outros grupos começaram a produzir biomassa para consumo humano direto. No Quadro 2.2 são mostrados alguns destes produtos já disponíveis comercialmente.

É importante salientar que a seleção de uma linhagem de fungo para produção de biomassa deve levar em consideração o fato de que certos gêneros têm uma alta diversidade de metabólitos secundários potentes e biologicamente ativos. Isso inclui micotoxinas altamente tóxicas, algumas das quais são mais tóxicas do que qualquer toxina sintética feita pelo homem.

Aspergillus fumigatus é conhecido como altamente patogênico a humanos, por causar uma infecção pulmonar conhecida como aspergilose. A mortalidade causada por este fungo pode atingir até 85%, principalmente em pessoas imonucomprometidas. Em 1977, Khor *et al*. (1977), testando a viabilidade de produzir proteínas a partir de micélio de *A. fumigatus*, realizaram testes com ratos, mostrando que a micoproteína produzida era segura. Análises da presença de aflatoxinas, citrinina, ocratoxinas, zearalenona, toxina T-2 e Esterigmatocistina mostraram que esta espécie não produzia tais micotoxinas (Reade & Gregory, 1975). No entanto, hoje sabe-se que as micotoxinas testadas não são as produzidas por *A. fumigatus* e o uso desta espécie para produção de micoproteína não é recomendável.

Quadro 2.2. Produtos comerciais de biomassa de fungos produzidas por fermentação.

	Quorn™ Biomassa de Fusarium venenatum Marlow Foods, Reino Unido https://www.quorn.co.uk		**Promyc™** Biomassa Mycorena, Suécia https://mycorena.com
	Abunda® Biomassa 3F Bio, Reino Unido http://www.3fbio.com		**FyProtein™** Biomassa de Fusarium strain flavolopis Nature's Fynd, EUA https://www.naturesfynd.com
	Ferment IQ™ Biomassa de micélio de shiitake MycoTechnology, EUA https://www.mycoiq.com/		**Hickory Bacon** Biomassa Prime Roots, USA https://www.primeroots.com/

Fusarium moniliforme foi apontado como produtor de biomassa de alto valor nutricional a partir de substratos de baixo valor (Drouliscos *et al.*, 1976; Macris & Kokke, 1978, citados por Thrane, 2007). Neste estudo os autores não avaliaram a produção de micotoxinas e, baseados em experimentos com ratos, concluíram que o fungo não apresentava efeitos danosos. Estudos posteriores, entretanto, mostraram que *F. moniliforme*, renomeado como *F. verticillioidesi,* é um forte produtor de fumonisinas, que são carcinogênicas, hepatotóxicas, nefrotóxicas, causadoras de leucoencefalomalácia, relacionadas com lesões necróticas no cérebro em equinos e edema pulmonar em suínos. O consumo de alimentos contaminados com fumonisinas pode estar relacionado com os casos de câncer esofágico em humanos (Desjardines, 2006; Murphy, *et al.*, 2006).

Aspergillus niger é amplamente utilizado na produção de enzimas e ingredientes alimentares, sendo geralmente considerado um fungo benigno. A biomassa desta espécie tem sido usada em ração animal, usando como matérias primas o farelo de cacau e resíduos de soja, dentre outros (Amorim, 2011). *A. niger* tem status GRAS pela FDA dos EUA, mas estudos sobre o genoma e o metaboloma do grupo *Aspergillus* section *Nigri* mostraram que algumas cepas de *A. niger* são capazes de produzir as micotoxinas ocratoxina A (OTA) e a fumonisinas B2, B4 e B6 (Frisvad *et al.*, 2007; Frisvad *et al.*, 2011). A OTA é nefrotóxica e possivelmente carcinogênica (Grupo 2B) de acordo com a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (IARC, 1993) e a fumonisina B2 é citotóxica (Gutleb *et al.*, 2002).

Considerando a seriedade dos metabólitos tóxicos formados pelos fungos filamentosos, é importante salientar que estudos mais aprofundados sobre o potencial de produção de micotoxinas e patogenicidade da cepa fúngica sempre serão necessários. Atualmente, a conservação da sequência em bancos de dados e a organização genômica das vias de biossíntese de micotoxinas permitem a identificação, caracterização e até a previsão do potencial de uma determinada cepa para produzir micotoxinas, com base em sua sequência de genoma e pela bioinformática (Desjardins, 2006; King *et al.*, 2018).

2.3.2. Produção de biomassa de bactérias

Várias espécies de bactéria já foram avaliadas para uso como SCP, conforme mostrado no Quadro 2.3, que também traz os substratos utilizados na fermentação e o teor de proteína observado nas condições em que foram cultivadas.

Quadro 2.3. Bactérias já avaliadas para a produção de biomassa para alimentação humana e animal (extraído de Ritala *et al.*, 2017).

Organismo	Substratos	Teor de proteínas (%)
Bacillus cereus	chifre de carneiro	68
Bacillus licheniformis	resíduo do processo de amido de batata	38
Bacillus pumilus	resíduo do processo de amido de batata	46
Bacillus subtilis	chifre de carneiro	71
	casca de soja	12
Corynebacterium ammoniagenes	glicose + frutose	61
Corynebacterium glutamicum	não informado	57–70
Cupriavidus necator	meio de cultivo sintético	40–46
Escherichia coli	chifre de carneiro	66
Haloarcula sp.	água residuária da indústria petroquímica	76
Methylococcus capsulatus	metano (gás natural)	67–73
Ralstonia sp.	metano (gás natural)	67-73
Brevibacillus agri	metano (gás natural)	67-73
Aneurinibacillus sp.	metano (gás natural)	67-73

Methylomonas sp.	metano (sal)	69
Bactérias diazotróficas	água residual de cervejaria	>55
Rhodopseudomonas palustris	água residual de processamento de borracha	55–65

As bactérias têm um longo histórico de uso na produção de biomassa, porém, a principal aplicação tem sido a alimentação animal. Numa busca no Inventário de Notificações GRAS da FDA no período de 1998 (quando a agência começou a inventariar as notificações) até agora (20/09/2021), apenas duas notificações foram registradas, uma para uso como ingrediente em alimentos (GRN No 415/2012) e outra para uso como fonte de antioxidante (GRN No 700/2017).

Notificação GRN No 415/2012 da Meiju Co., Japão, para o produto "cultura inativada de *Propionibacterium freudenreichii* ET-3 em pó", a ser usado como ingrediente em bebidas e bases de bebidas, cereais matinais, queijos, café e chá, gorduras e óleos, sobremesas e misturas lácteas congeladas, gelatinas, doces, pudins e recheios, produtos de grãos e massas, produtos lácteos, frutas processadas e sucos de frutas, vegetais processados e sucos de vegetais e doces em níveis que variam de 0,2 a 0,6 gramas por porção.

https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=415

GRN No 700/2017 da JX Nippon Oil & Energy Corp., Japão, para o produto "extrato de *Paracoccus* carotinifaciens contendo carotenóides" (biomassa desidratada), para uso como fonte de astaxantina em produtos de panificação e misturas para panificação, bebidas e bases de bebidas, energéticos e isotônicos, cereais e produtos à base de cereais, gomas de mascar, café, chá, laticínios análogos de produtos lácteos e outros, sobremesas e misturas lácteas congeladas, balas, produtos lácteos, frutas e sucos de frutas processados, vegetais e sucos vegetais processados, em níveis que fornecem 0,15 mg de astaxantina por porção.

https://www.fda.gov/media/108869/download

Na aplicação para ração animal, ao contrário, a produção de biomassa bacteriana é muito bem estabelecida. Segundo dados levantados por Ritala et al. (2017) a biomassa bacteriana geralmente contém 50% a 80% de proteína em base seca e, assim como os fungos, alto teor de ácido nucleico (8% a 12%), especialmente RNA. Portanto, requer processamento prévio para uso como alimento ou ração. Além da proteína a SCP bacteriana fornece alguns lipídios e vitaminas do grupo B.

É interessante notar que há empresas envolvidas na produção de biomassa bacteriana para alimentação animal utilizando bactérias metilotróficas ou metanotróficas em seus processos. As bactérias metilotróficas são capazes de crescer tendo como fonte de carbono e energia compostos de carbono único, como o metano (CH4) e o metanol (CH3OH), ou compostos contendo mais átomos de carbono, mas sem ligações entre estes átomos, como éter dimetílico ou dimetilamina. As metanotróficas são bactérias aeróbias que utilizam metano como única fonte de carbono e energia, sendo consideradas um subgrupo das metilotróficas (Embrapa, 2020).

As empresas Unibio, da Dinamarca, que produz a ração **Uniprotein®**, e a **Calysta**, que produz a ração FeedKind® numa instalação estabelecida em Teesside, Reino Unido, **utilizam um processo de *airlift fermentation* com bactérias metanotróficas e gás metano como fonte de carbono**.

https://www.unibio.dk/technology/u-loop-fermentor/ [acesso em 20/09/2021]

https://www.unibio.dk/technology/process/ [acesso em 20/09/2021]

http://www.feedkind.com/production/ [acesso em 20/09/2021]

2.3.3. Produção de biomassa de algas

A produção de microalgas para consumo humano ou animal é particularmente promissora em função do alto teor de proteínas que pode ser encontrado em suas células, conforme mostrado no Quadro 2.4. O conteúdo de ácido nucleico é relativamente baixo (3% a 8%) e a biomassa também fornece gorduras, carotenóides, vitaminas A, B, C, E, sais minerais e clorofila (Ritala *et al.*, 2017).

Além do alto valor nutricional das proteínas e sua abundância, outro fator que torna estes organismos extremamente atraentes para a produção de biomassa é sua capacidade de utilizar eficientemente a luz como fonte de energia (Grossmann *et al.* 2018). As algas em geral são fotossintéticas e utilizam CO_2 como fonte de carbono e luz solar como fonte de energia. A produção por fotossíntese em tanques é a mais comum, embora empresas como a TerraVia, da Califórnia, trabalhe com a fermentação em reatores na produção de seu produto AlgaVia® (https://algavia.com/how-we-innovate/).

Fotobiorreatores também têm sido usados para a produção de algas frescas usadas na aquicultura (moluscos, camarões e peixes) como fonte de ácidos graxos insaturados (como o ômega 3) e carotenóides, embora o teor proteico também contribua para a nutrição (Ritala *et al.*, 2017).

Quadro 2.4. Relatos sobre o conteúdo de proteína de algumas algas de interesse como SCP (extraído de Ritala *et al.*, 2017).

Organismo	Teor de proteínas (%)
Aphanizomenon flos-aquae	60–75
Aphanothece microscopica	42
Arthrospira maxima (Spirulina maxima)	60–71
Arthospira platensis (Spirulina platensis)	46–63
Chlorella pyrenoidosa	45
Chlorella sorokiana	46–65
Chlorella spp.	62–68
Chlorella vulgaris	42–55

Euglena gracilis	50–70
Scenesdesmus obliquus	30–50

A biomassa de microalgas é usada principalmente na forma de suplementos, disponíveis em cápsulas, comprimidos e na forma líquida. Há, entretanto, um crescente desenvolvimento de produtos na forma de ingredientes, que podem ser adicionados a massas, produtos de panificação e petiscos, dentre outros alimentos. Os produtos disponíveis comercialmente são derivados principalmente das seguintes espécies: *Arthrospira platensis* e *Arthrospira maxima* (comercializadas como spirulina), *Chlorella*, *Dunaliella salina* (comercializada principalmente como fonte de beta-caroteno), *Aphanizomenon flos-aquae* e *Euglena* (comercializada principalmente como fonte de beta-glucanos, mas há também produtos com células íntegras).

As algas verdes unicelulares do gênero *Chlorella*, na forma de células intactas, têm baixa digestibilidade das proteínas devido à parede celular rígida. Para a ruptura das células vários métodos já foram aplicados, como dissolução alcalina, congelamento-descongelamento, ultrassom e líquidos iônicos (materiais semelhantes a sais e podem ser utilizados a temperaturas abaixo de 100 ºC na separação e extração de materiais bioativos de plantas, incluindo proteínas). Pesquisadores (Wang & Zhang, 2012) avaliaram a aplicação de líquido iônico e alta pressão em baixa temperatura para rompimento das células de *Chlorella pyrenoidosa*, em comparação com métodos tradicionais. Os resultados indicaram que a taxa de extração com líquido iônico é moderada, mas alta pressão em baixa temperatura pode aumentar a taxa de extração de proteína em 2 a 15 vezes. Os autores avaliaram também a hidrólise das proteínas extraídas com três enzimas (papaína, tripsina e alcalase), obtendo, em condições ideais, graus de hidrólise de 18,31% com alcalase, 14,33% com papaína e 8,47% com tripsina. Estes dados demonstram o potencial dos hidrolisados protéicos de *Chlorella pyrenoidosa* para aplicação em suplementos nutricionais.

A seguir apresentamos, como exemplo, dos estudos requeridos para a liberação de biomassa de algas para consumo humano - processo de aprovação do produto de uma empresa no mercado americano.

Estudo de caso

Processo de aprovação no mercado americano da biomassa de Chlamydomonas reinhardtii

FDA GRAS Notice Nº 773 de março de 2019 da Triton Algae Innovations, San Diego, CA, USA

https://www.fda.gov/media/121982/download

Produto

Biomassa desidratada de *Chlamydomonas reinhardtii* para uso como fonte de proteína em alimentos, em substituição a outras proteínas dietéticas em níveis equivalentes aos consumidos atualmente. Não se destina ao uso em produtos com padrão de identidade definido, fórmulas infantis ou alimentos regulamentados pelo USDA.

Microrganismo

A cepa THN 6 de *Chlamydomonas reinhardtii* é uma alga verde unicelular, adquirida do *Chlamydomonas Resource Center* da Universidade de Minnesota. Não foi geneticamente modificada e a identidade foi confirmada ao nível da cepa, com base no sequenciamento de DNA. *Chlamydomonas* reinhardtii não contém nenhum alérgeno.

Processo

A cepa é fermentada em condições assépticas sob condições de pH e temperatura controlados. Após a fermentação as células são coletadas por centrifugação e secas por pulverização. Todos os materiais usados no processo de fabricação são de grau alimentício e atendem aos regulamentos vigentes.

Especificações

Proteína 30% a 70%, umidade ≤ 10%, contagem total de aeróbios mesófilos ≤ 103 UFC/g, *Salmonella* ausente em 25g.

Exposição estimada

O produto objetiva substituir outras fontes de proteína em alimentos, nos níveis consumidos atualmente. Considerando a completa substituição de proteína dietética para a população dos EUA (acima de dois anos de idade) e a especificação do produto em 30% a 70% de proteína, estima-se que a exposição dietética seja de aproximadamente 3 a 7 g/kg de peso corporal/dia (percentil 90), respectivamente.

Esta é uma suposição conservadora e calcula-se uma exposição dietética real de aproximadamente 0,3 a 0,7 g/kg de peso corporal/dia, assumindo que 10% da proteína total seja substituída.

Segurança

Foram apresentadas informações de segurança publicadas e não publicadas que caracteriza a massa celular seca de *C. reinhardtii* como principalmente proteína, fibra, gordura, vitaminas, minerais e clorofila, sem compostos bioativos ou tóxicos. O produto é digerido e metabolizado como um alimento derivado de plantas, pois os macronutrientes e micronutrientes são comuns às plantas. Foi apresentado um estudo publicado de toxicidade oral de 28 dias em ratos, que não resultou em toxicidade na dose mais alta testada (4 g/kg de peso corporal/dia). Os estudos publicados de mutagenicidade e genotoxicidade apresentaram resultados negativos. Foi apresentado um estudo não publicado de crescimento em leitões, que não mostrou quaisquer efeitos adversos após o consumo de uma dieta contendo 0,33% da biomassa seca (aproximadamente 27g/kg de peso corporal/dia).

Além disso, não há na literatura evidências de patogenicidade ou toxigenicidade dos membros da classe *Chlorophyceae*. Da mesma forma, não há relatos publicados de alergenicidade de *C. reinhardtii*, o que é corroborado por um estudo não publicado de digestibilidade, mostrando que as proteínas THN6 de C. reinhardtii são digeridas rapidamente e, portanto, a probabilidade de potencial alergênico é baixa.

2.4. Fermentação de precisão

Ingredientes derivados da fermentação de precisão são amplamente usados na indústria de alimentos. A maioria das vitaminas em suplementos nutricionais e alimentos processados fortificados, como as vitaminas B12 e riboflavina, por exemplo, são produzidas por fermentação, assim como muitos componentes aromatizantes.

Uma das aplicações mais bem estabelecidas deste processo é a fabricação de enzimas alimentares, como a quimosina do coalho, por exemplo, usada na produção de queijos. A maioria das enzimas alimentares hoje também são predominantemente produzidas usando microrganismos recombinantes.

Este processo, já totalmente desenvolvido tecnologicamente para a produção de enzimas, começa a ser aplicado também para a obtenção de outras proteínas de alto valor nutricional ou funcional para adição em análogos *plant-based* de produtos cárneos, lácteos e de ovos. Dentre os produtos já liberados pela FDA há a leghemoglobina de soja produzida pela levedura *Pichia pastoris*, lançada pela empresa Impossible Foods para adição em hambúrguer vegetal. Esta proteína simula a função da mioglobina na conferência de cor, sabor e outros atributos da carne, produzindo um conjunto de propriedades organolépticas típicas no produto, sendo mais notáveis a cor, o sabor e suculência (*juiceness*) do produto frito ou grelhado (FDA GRN Nº 737/2018). Também já foi liberada a beta-lactoglobulina do soro de leite, *produzida por Trichoderma reesei*, lançada pela empresa Perfect Day, de Berkeley, CA, para substituir a proteína do soro de leite tradicional e de outras proteínas em alimentos (FDA GRN Nº 863/2020). Duas outras proteínas encontram-se em fase de avaliação pela FDA. Uma é a ovomucóide (OVD) (uma glicoproteína localizada na clara do ovo de galinha) *produzida por Pichia pastoris* e fabricada pela empresa Clara Foods, de South San Francisco, CA, para uso como fonte de proteína em alimentos convencionais, incluindo bebidas esportivas, suplementos proteicos em pó e barras de cereais (FDA GRN Nº 967). Outra é a mioglobina da carne bovina *produzida por Pichia pastoris*, fabricada pela empresa Motif Food Works, de Boston, MA, para uso em análogos de carne como realçador de sabor e aroma (FDA GRN Nº 1001).

A fermentação de precisão também é a principal fonte de fatores de crescimento substitutos aos de origem animal na produção de carne cultivada. Além disso, proteínas como o colágeno e fibronectina recombinantes podem servir como *scaffolding* para produtos mais complexos de carne cultivada (Specht *et al.*, 2020).

Um fluxograma com as etapas básicas da produção de proteínas por fermentação de precisão é apresentado na Figura 2.7. Nesta figura não foram incluídas as etapas de modificação genética do microrganismo, mas várias tecnologias disponíveis podem ser encontradas no livro de Nevalainen (2020).

Figura 2.7. *Etapas básicas do processo de produção de proteínas por fermentação de precisão.*

2.4.1. Microrganismos usados para a produção de novas proteínas por fermentação de precisão

Os microrganismos que têm sido usados para a produção proteínas de alto valor nutricional ou funcional para adição em análogos *plant-based* são os fungos filamentosos e as leveduras. *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris*, por exemplo, são consideradas particularmente adequadas, pois apresentam a capacidade de produzir proteínas maiores do que 50 kDa com alto rendimento e possibilidade de glicosilação. As leveduras também têm a capacidade de produzir chaperoninas, proteínas que auxiliam no enovelamento de outras proteínas, incluindo aquelas ricas em ligações de dissulfeto. As propriedades funcionais das proteínas dependem da estrutura espacial resultante deste enovelamento e dobramento do filamento protéico sobre si mesmo. Outra vantagem dos fungos é o fato de que estes microrganismos secretam apenas uma quantidade limitada de suas próprias proteínas secundárias no meio, facilitando as etapas subsequentes de purificação da proteína recombinantes de interesse (Deckers *et al*., 2020).

As bactérias são organismos hospedeiros simples e baratos, com muitos sistemas de expressão disponíveis para recombinação, mas, devido a problemas relacionados ao enovelamento, só podem produzir proteínas pequenas e simples (Deckers *et al*., 2020).

A produção de proteínas de interesse nutricional ainda é restrita para avaliar os microrganismos que poderão ser usados no futuro. No caso das enzimas, ao contrário, há um histórico muito mais longo de aplicação. Segundo Deckers *et al*. (2020), 50% destas proteínas são produzidas por fungos, 35% por bactérias e os demais 15% são derivadas de fontes animais ou vegetais. Na União Europeia 50% das submissões para aprovação de enzimas envolvem apenas cinco espécies: *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* e *Trichoderma reesei* (fungos filamentosos), *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* (bactérias). Cabe destacar, entretanto, que apenas 43% de todos os dossiês apresentados usam cepas geneticamente modificadas. Destas enzimas recombinantes, 63% são produzidas por fungos e 37% por bactérias.

A seguir apresentamos, como exemplo, estudos requeridos para a liberação de proteínas recombinantes para consumo humano, o processo de aprovação da leghemoglobina de soja e da beta-lactoglobulina do soro de leite no mercado americano.

Estudo de caso

O processo de aprovação nos mercados canadense e americano da leghemoglobina de soja da Impossible Foods

FDA GRAS Notice Nº 737 julho de 2018 da Impossible Foods

https://www.fda.gov/media/116243/download

Health Canada 06/01/2020 da Impossible Foods

https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products.html

Proteína

A leghemoglobina (LegH) é uma pequena holoproteína, isto é, uma proteína mais um cofator heme) de 16 kDa, expressa nos nódulos fixadores de nitrogênio da raiz da soja (*Glycine max* L). Os nódulos radiculares não fazem parte dos tecidos comestíveis consumidos por humanos, não havendo, portanto, histórico de consumo da leghemoglobina.

Microrganismo

Linhagem MXY0291, construída a partir da linhagem Bg11 de *Pichia pastoris,* não patogênica, não toxigênica e com histórico bem estabelecido de uso seguro na indústria de alimentos. As alterações genéticas não introduziram elementos potencialmente patogênicos, tóxicos ou alergênicos. A produção da proteína é intracelular.

Processo

Fermentação submersa em batelada → lise das células por cisalhamento mecânico → separação sólido líquido por centrifugação e microfiltração → concentração do lizado por ultrafiltração → estabilização do concentrado líquido com cloreto de sódio e ascorbato de sódio → congelamento. Controles: matérias primas de grau alimentício não derivadas de fontes alergênicas, verificação periódica da identidade, pureza e rendimento da cepa, BPF.

Especificações

Sólidos ≤ 24% (peso/peso, LehH 6% a 9% (pureza ≥ 65%), pH 6,5 a 8,5, gordura ≤ 2%, carboidratos ≤ 4%, cinzas ≤ 4%, chumbo ≤ 0,4mg/kg, ausência de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e *E. coli* O157:H7, ausência de *Salmonella*, ausência de *Listeria monocytogenes*.

Uso pretendido e exposição estimada

Adição em análogos de carne bovina moída para fornecer não mais do que 0,8% de LegH, teor comparável ao da mioglobina na carne bovina (0,8% a 1,8%). O uso é autolimitante em função do sabor conferido.

No Canadá a preparação LegH será utilizada exclusivamente como um componente dos produtos análogos de carne bovina moída da empresa, incluindo o Impossible™ Burger, não havendo comercialização como ingrediente para uso geral por outros fabricantes.

Características nutricionais

Atualmente o ferro heme na dieta humana é quase exclusivamente de origem animal. Como fonte de ferro a LegH tem valor nutritivo análogo ao da mioglobina. O peticionário forneceu dados mostrando que a hemoglobina bovina e a leghemoglobina de soja têm biodisponibilidade semelhante quando consumidas como parte de uma matriz alimentar.

Um homem adulto requer em média 8 mg de ferro na dieta diária; mulheres requerem 8 a 18 mg, mulheres grávidas 27 mg, crianças 7 a 10 mg, adolescentes do sexo masculino 8 a 11 mg e adolescentes do sexo feminino 8 a 15 mg, respectivamente. No organismo é encontrado principalmente como hemoglobina e a anemia por deficiência de ferro é frequentemente caracterizada por uma redução na concentração da hemoglobina no sangue. Entre os canadenses, 97% da população com idade entre 3 e 79 anos têm níveis de hemoglobina iguais ou acima dos valores de referência e 96% têm níveis suficientes de ferritina sérica.

Com base na ingestão diária estimada de carne moída (apenas consumidores), a ingestão de leghemoglobina de soja no percentil 90 foi calculada em 800 a 1066 mg/dia, considerando-se que todos os produtos de carne moída sejam substituídos por análogos de carne contendo a proteína de soja. A ingestão em uma unidade do Impossible ™ Burger foi estimada em 678 a 904 mg/dia. Esses valores são comparáveis ao consumo atual de mioglobina de carne bovina e de aves.

Esta exposição estimada de LegH foi usada para determinar em 2,8 a 3,7 mg/dia a ingestão de ferro, valor que também se assemelha ao da carne moída. Assim, a substituição da carne pelos análogos contendo leghemoglobina não implica em alteração na ingestão de ferro.

Quanto a outros componentes de interesse nutricional, devem ser obedecidas as disposições estabelecidas para produtos análogos de carne nas Seções B.14.085 a B.14.090 do Regulamento de Alimentos e Drogas (*Food and Drug Regulation*), que determinam valores para o teor de proteína, gordura, vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais.

Características químicas

O peticionário informou a adição do conservante alimentar ascorbato de sódio à preparação de leghemoglobina de soja, que é permitido para uso em alimentos não padronizados, de acordo com a Lista de Conservantes Permitidos no Canadá.

Os resultados da análise de arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio fornecidos pelo peticionário demonstraram que a preparação LegH contém concentrações consideradas adequadamente baixas destes elementos. Da mesma forma, no produto final análogo de carne Impossible™ Burger esses elementos estão abaixo dos limites observados na carne moída comercializada no Canadá.

Não se espera que a adição da preparação LegH a produtos análogos à carne moída no nível máximo de uso proposto represente um problema de saúde.

Informações toxicológicas

O peticionário forneceu informações demonstrando que a leghemoglobina de soja é estruturalmente semelhante a outras heme-proteínas consumidas na dieta, como a mioglobina presente em carnes animais, que tem um histórico seguro de consumo alimentar humano.

Uma avaliação bioinformática conduzida pelo peticionário não identificou na leghemoglobina de soja ou nas proteínas de *Pichia pastoris* presentes na preparação de LegH qualquer sequência de aminoácidos homóloga a de quaisquer toxinas putativas. Um ensaio em fluido gástrico simulado (SGF) in vitro demonstrou que a proteína de LegH e as proteínas de *Pichia pastoris* seriam suscetíveis a processos digestivos in vivo.

O peticionário forneceu estudos toxicológicos conduzidos de acordo com as diretrizes da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) para ensaios de produtos químicos em que a preparação LegH não se mostrou mutagênica (em um ensaio de mutação reversa in vitro) ou clastogênica (em um teste de aberração cromossômica in vitro). Nas condições dos ensaios, a preparação não foi considerada genotóxica.

Em um estudo de toxicidade alimentar de 28 dias em ratos Sprague Dawley (10 ratos por grupo por sexo) estabeleceu um valor NOAEL (*no observed adverse effects level*) de 1526 mg por kg de peso corporal por dia para a preparação de LegH (equivalente a 750 mg da proteína de soja). Considerando-se que a ingestão estimada é mais de dez vezes abaixo deste valor, que a natureza da proteína é similar à da mioglobina da carne e que as proteínas na preparação são digeridas em condições de ensaio SGF, que são semelhantes às condições digestivas humanas, concluiu-se que não há, do ponto de vista toxicológico, preocupações quanto à segurança da preparação LegH, nas condições propostas de uso em produtos análogos de carne bovina moída.

Informações sobre alergenicidade

Há vários alérgenos conhecidos na soja, mas não na preparação LegH produzida por *Pichia pastoris*. As análises de bioinformática confirmaram a ausência de similaridade significativa na sequência de aminoácidos da LegH ou das proteínas da levedura com a de alérgenos relevantes conhecidos (ou seja, homologia de sequência > 35% em uma janela de 80 aminoácidos e homologia na sequência de oito aminoácidos contíguos).

A LegH é desnaturada por tratamento térmico, separando o polipeptídeo do cofator heme. Esta informação indica que a proteína é desnaturada quando consumida em um produto cozido. As proteínas desnaturadas geralmente são mais acessíveis como substratos para proteólise e o ensaio em fluido gástrico simulado sugere que as da preparação LegH são prontamente digeríveis em condições de digestão normal. Assim, não se espera que as proteínas estejam disponíveis para desencadear uma resposta imune, nas condições propostas de uso em produtos análogos de carne bovina moída.

Estudo de caso

O processo de aprovação no mercado americano da beta-lactoglobulina

FDA GRAS Notice Inventário Nº 863, Março de 2020, Perfect Day, Berkeley, CA, USA

https://www.fda.gov/media/136751/download

Descrição do microrganismo

A empresa descreveu a construção da cepa através da integração direcionada de um cassete de expressão carregando um códon de gene otimizado para expressão no fungo filamentoso *Trichoderma reesei*, que codifica uma proteína idêntica à beta-lactoglobulina do soro do leite de de vaca (*Bos taurus*). A inserção do DNA foi confirmada por PCR e sua estabilidade foi evidenciada pela expressão da proteína ao longo de várias gerações. A identidade da sequência de aminoácidos foi determinada por espectrometria de massa e o peso molecular por SDS-PAGE (eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio). Foi também confirmada a inexistência de genes de resistência a antibióticos ou elementos genéticos móveis na cepa de *Trichoderma reesei*.

Especificações

A empresa apresentou as seguintes especificações para o produto: proteína (Dumas/Kjeldahl 2:85% wt, beta-lactoglobulina em % de proteína 2:90%); umidade (< 6% do peso); cinzas (< 3% do peso); gorduras (< 1,5% do peso); carboidratos totais (< 2% do peso) e limites para metais pesados e microrganismos, bem como os resultados da análise de três lotes não consecutivos demonstrando conformidade com as especificações.

Uso pretendido e ingestão diária proposta

O uso pretendido é a substituição da beta-lactoglobulina do soro de leite e de outras proteínas nos alimentos em que já são normalmente permitidas e adicionadas, obedecendo os limites estabelecidos nos padrões de identidade de cada produto alimentício, de forma a não alterar a ingestão de proteínas na dieta humana.

Descrição do processo

O processo de fabricação foi descrito como fermentação submersa sob condições controladas, no qual a beta-lactoglobulina é secretada no meio de cultura. Após a fermentação o meio de cultura é submetido à centrifugação para separação da biomassa, ficando a proteína solúvel no meio. O pH é então ajustado para concentrar a proteína, com uma filtração intermediária opcional para diminuir as impurezas. A proteína é então concentrada por ultrafiltração/diafiltração e secada em *spray dryer* para obtenção do produto final.

Segurança

Com relação à cepa usada na fermentação a empresa apresentou uma extensiva revisão de literatura demonstrando que *T. reesei* não está associado a doenças (humanas, animais ou vegetais) ou a casos de alergenicidade entre adultos saudáveis. Com base nisto concluiu-se que o fungo não é considerado toxigênico, patogênico ou alergênico. A conclusão foi apoiada não só na literatura científica publicada, mas também na longa história de uso seguro de *T. reesei* na produção de enzimas alimentares em escala industrial e nos resultados da análise bioinformática de proteínas de *T. reesei* conduzida pelo FARRP (*Food Allergy Research and Resource Program*) da Universidade de Nebraska/Linconln.

Com relação à proteína propriamente dita, os dados de caracterização da molécula demonstraram que a sequência de aminoácidos da beta-lactoglobulina produzida por fermentação é idêntica à obtida do soro do leite bovino. Com base neste fato, a segurança do produto obtido por fermentação pode ser considerada similar à do soro de leite, que tem um longo histórico de consumo humano seguro por indivíduos de todas as faixas etárias. Há exceção no caso de reações alérgicas em indivíduos com alergia ao leite, mas esta situação é coberta aplicando-se as exigências legais de rotulagem dos oito principais alimentos alergênicos (leite, ovos, peixes, crustáceos, nozes, amendoim, trigo e soja) e dos produtos contendo proteínas derivadas destes alimentos.

2.4. Matérias primas para a produção de proteínas por fermentação

A produção de proteínas por fermentação é um campo imenso para o aproveitamento de materiais de baixo custo nunca antes utilizados no suprimento de alimentos à população. Nos Quadros 2.1 e 2.3 já foram sumarizadas inúmeras fontes estudadas para a produção de biomassa, com os rendimentos em proteína obtidos.

Na patente WO 2017/151684A1, já citada no processo de fermentação em superfície de meio líquido (item 2.1.5) para fungos filamentosos, é apresentado um número elevado de fontes de carbono alternativas, tanto para a produção de biomassa como para a obtenção de proteínas purificadas. Este processo é particularmente adequado para o aproveitamento de resíduos, uma vez que, ao contrário dos processos de fermentação em estado sólido ou fermentação submersa, o fungo pode crescer sem contato com o substrato sólido. Na patente foram listados:

Resíduos do processamento de alimentos, como soro de leite, cascas, resíduos e rejeitos de batatas, frutas e outros vegetais, resíduos do processamento de amido, resíduos do processamento de açúcar de beterraba e de cana e licor de maceração de milho.

Resíduos lignocelulósicos como palha de trigo, palha de cevada, palha de arroz, palha de milho, fibras de milho, grãos secos de destilaria, grãos de cervejaria, farinha de glúten de milho, gramíneas, feno, alfafa, bagaço de cana, resíduos florestais, resíduos orgânicos municipais, resíduo de árvores urbanas ou de quintais, resíduos industriais diversos (por exemplo da fabricação de papel e da indústria madeireira), papel de jornal e resíduos gerados durante a produção de biocombustíveis (por exemplo glicerol, resíduos da produção de etanol celulósico, refugo sólido derivado da produção de biodiesel).

Em um dos experimentos apresentados na patente a cepa de *Fusarium strain flavolapis* da Nature's Fynd cresceu tendo água de lagoa de captação de instalações de confinamento de gado como únicas fontes de carbono e nitrogênio. Em outro experimento, a cepa cresceu tendo como únicas fontes de carbono e nutrientes o resíduo sólido derivado da digestão anaeróbia de materiais ricos em lignocelulose (palha de milho, palha de trigo ou esterco de gado).

Em um artigo publicado por Gray & Abou-El-Seoud (1966a) os autores relataram a produção de proteína fúngica a partir de melado de beterraba, subproduto da produção de açúcar. A fermentação foi concluída em 30 horas produzindo 15,79 g de proteína fúngica por libra de beterraba fresca, cujo teor de proteína bruta era de 3,40 g/libra.

Gray & Abou-El-Seoud (1966b) estudaram a utilização de raízes frescas de mandioca como fonte de carboidrato na produção de biomassa fúngica, obtendo um rendimento de 14,6 g de proteína por libra de raízes. Segundo os autores, o rendimento pode ser melhorado alterando-se as condições da fermentação.

Na Finlândia, em 1970, a indústria de papel investiu fortemente no desenvolvimento de um processo de aproveitamento de seus resíduos industriais (licor de sulfito contendo 32 g/L de açúcares) na produção de biomassa. No processo, denominado Pekilo Process, o fungo filamentoso *Paecilomyces variotii* foi cultivado por fermentação contínua, obtendo uma biomassa com rendimento protéico de 55%. A biomassa, inicialmente desenvolvida para uso em ração animal, também foi avaliada como suplemento protéico em produtos cárneos. Em 1992 as duas plantas de processamento da biomassa foram desativadas, segundo Byrne (2020), em função da indisponibilidade da matéria prima; a polpação com sulfito na produção de papel foi substituída pela polpação kraft, que usa hidróxido de sódio e sulfeto de sódio. A autora relatou, entretanto, que há um grupo de experts na Finlândia planejando a retomada do processo Pekilo usando resíduos da silvicultura. Estes resíduos englobam todos os materiais orgânicos que sobram nas áreas de reflorestamento após a colheita das árvores, tipo cacos de madeira, galhos, folhas, raízes, serapilheira e cascas.

Há vários outros exemplos de pesquisas para a produção de SCP a partir de subprodutos industriais: lignina e resíduos lignocelulósicos (biomassa de *Chrysonilia sitophila, Candida utilis* e R*hizopus oligosporus*), soro de queijo (biomassa de *Candida krusei* e *Kluyveromyces marxianus*), resíduos agrícolas (biomassa de *Candida utilis*), águas residuais industriais (biomassa de bactérias e microalgas roxas), bagaço de maçã (biomassa de *Aspergillus niger*), resíduos de banana (biomassa de *A. niger*) e cascas de camarão (biomassa de levedura marinha) (Jalasutram *et al.*, 2013).

Pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (Cardoso & Nicoli, 1981) avaliaram a produção de micélio de *Phanerochaete chrysosporium* em vinhaça, subproduto da produção de etanol de cana de açúcar. Após 30 horas a 45ºC em cultura descontínua, a produção de micélio foi de 11,67 g/L. A biomassa obtida apresentou um teor de 23% de proteína rica em lisina, mas com limitação em metionina.

3 - ANÁLISE DO MARCO REGULATÓRIO NACIONAL

Este item objetivou a identificação dos regulamentos e das exigências da legislação brasileira que podem ser aplicados diretamente às proteínas produzidas por fermentação, dos regulamentos que deverão ser adaptados e das lacunas na legislação que exigirão regulamentos específicos.

Para o levantamento da legislação vigente de "novos alimentos" foi consultada a "Biblioteca de Alimentos" da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), atualizada em 10/06/2021.

https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/regulamentacao/legislacao/bibliotecas-tematicas/arquivos/biblioteca-de-alimentos

No Brasil o controle sanitário de alimentos é uma responsabilidade compartilhada entre o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (*MAPA*), através do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) e Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal (DIPOV).

ANVISA: https://www.gov.br/anvisa/pt-br

DIPOA: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal

DIPOV: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal

Ao MAPA cabe a regulamentação, controle e fiscalização de alimentos exclusivamente de origem animal (carnes, leite, ovos, mel, pescados) e seus derivados, de alimentos de origem vegetal e de bebidas em geral (não alcoólicas, alcoólicas e fermentadas). O registro é obrigatório para todos os estabelecimentos de produtos de origem animal que realizem o comércio interestadual ou internacional (Decreto No 9013/2017 da Presidência da República), bebidas em geral (Decreto Nº 6.871/2009 da Presidência da República), vinho e derivados da uva e do vinho (Decreto Nº 8.198/2014 da Presidência da República) e alguns produtos vegetais (Lei No 9972/2000 da Presidência da República, Instrução Normativa Nº 9/2019 da Secretaria de Defesa Agropecuária e Instrução Normativa Nº 97/2020 da Secretaria de Defesa Agropecuária).

À ANVISA cabe a regulamentação, controle e fiscalização de produtos e serviços que envolvam risco à saúde pública, dentre eles medicamentos, cosméticos, produtos de higiene pessoal, saneantes, alimentos e seus insumos (embalagens, aditivos, contaminantes e produtos obtidos por engenharia genética). É obrigatório o registro de alimentos com alegações de propriedade funcional e ou de saúde, alimentos infantis, fórmulas para nutrição enteral, suplementos alimentares contendo enzimas ou probióticos e novos alimentos e novos ingredientes (Resolução RDC 27/2010 alterada pela RDC 240/2018).

Com relação à situação regulatória nacional de "novos alimentos", incluindo aqueles produzidos por fermentação, o MAPA ainda não estabeleceu regulamentação especificamente voltada a esses produtos. Em dezembro de 2020 realizou um workshop para tratar sobre mercado, conceitos, pesquisas em desenvolvimento e marco regulatório do segmento de produtos *plant-based* (à base de vegetais), uma das linhas de produtos abarcados pela conceituação de "novos alimentos". A produção de alimentos plant-based inclui muitas matérias primas vegetais novas que estão sendo submetidas à fermentação para redução de fatores antinutricionais e melhoramento do sabor e da digestibilidade.

https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mercado-de-alimentos-a-base-de-vegetais-e-tema-de-workshop-promovido-pelo-mapa

Em junho de 2021 a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) promulgou a Portaria Nº 327/2021, com o objetivo de obter subsídios para fomentar a discussão sobre a regulação dos *plant-based*.

https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-327-de-2-de-junho-de-2021-325365539

Segundo a diretoria do DIPOV, o processo de estabelecimento de uma agenda regulatória encontra-se na fase inicial de estruturação e só tem previsão de ser concluída em 2023. O processo envolverá, além do MAPA, a ANVISA e outros órgãos que possam contribuir com o estabelecimento das normas e compartilhar competências e responsabilidades.

https://www.beefpoint.com.br/regulacao-da-carne-vegetal-tem-inicio-no-brasil/

Na ANVISA, por outro lado, há uma regulamentação de "novos alimentos" estabelecida desde 1999, que se encontra em fase de discussão para revisão e aprimoramento. Em julho de 2020 foi publicado o documento "Novos alimentos e ingredientes – documento de base para discussão regulatória" (ANVISA, 2020), onde foram apresentadas as tratativas iniciais para a revisão desta legislação.

http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33880/5833856/Documento+de+base+sobre+novos+alimentos/ed783550-fc93-42c2-91cc-ccbd02c36fc9

No que respeita aos novos alimentos apresentamos, a seguir a situação regulatória atual estabelecida pela ANVISA, comentando e discutindo as lacunas observadas quanto ao enquadramento das proteínas alternativas produzidas por fermentação.

3.1. Resolução nº 16/1999

Regulamento referente a procedimentos para registro de alimentos e/ou novos ingredientes

http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26327

Estabelece o procedimento para registro de novos alimentos ou novos ingredientes junto à ANVISA no Brasil. Define "novos alimentos ou ingredientes" como alimentos ou substâncias sem histórico de consumo no país, ou alimentos com substâncias já consumidas, e que, entretanto, venham a ser adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos da dieta regular. Esse conceito legal não se aplica aos aditivos alimentares e aos coadjuvantes de tecnologia, que devem observar uma regulamentação específica sobre sua identidade, qualidade, segurança e eficácia.

Comentário. A resolução não estabelece as categorias de produtos incluídos na definição e o que se entende por "histórico de consumo no país" e "nível muito superior de consumo em relação à alimentação regular da população brasileira".

Estabelece a documentação a ser fornecida na apresentação do pedido de registro, incluindo um relatório técnico científico com as seguintes informações: denominação do produto; finalidade de uso; recomendação de consumo indicada pelo fabricante; descrição científica dos ingredientes; composição química com caracterização molecular, quando for o caso, e ou formulação do produto; descrição da metodologia analítica para avaliação do produto; evidências científicas aplicáveis, conforme o caso, à comprovação de segurança de uso (ensaios nutricionais e ou fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação; ensaios bioquímicos; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; comprovação de uso tradicional pela população sem danos à saúde; evidências abrangentes da literatura científica, órgãos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecida sobre as características do alimento ou ingrediente).

Comentário. A resolução não inclui entre as exigências a descrição do processo produtivo.

Estabelece que a avaliação do relatório técnico científico será feita pela Comissão de Assessoramento Técnico Científico em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos (CTCAF), instituída pela Portaria nº 15/1999.

3.2. Portaria nº 15/1999

Institui a Comissão de Assessoramento Tecno-Científico em Alimentos Funcionais e Novos alimentos (CTCAF), para assessorar a Anvisa nos assuntos científicos relacionados à avaliação de segurança e eficácia de novos alimentos e alimentos funcionais.

https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=2&pagina=4&data=03/05/1999

(o número da Portaria neste endereço fornecido pela ANVISA é 395/1999).

3.3. Resolução nº 17/1999

Diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança dos alimentos

http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26333

Define "Avaliação de Risco", estabelece as bases para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes alimentares e atribui à CTCAF a responsabilidade pela condução da avaliação caso a caso.

3.4. Resolução nº 18/1999

Diretrizes básicas para a análise e comprovação de propriedades funcionais ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos

http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26339

Define "alegação de propriedade funcional" como aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. Define "alegação de propriedade de saúde" como aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde. Dentre os produtos obtidos por fermentação esta resolução aplica-se aos probióticos.

Estabelece a necessidade de comprovação científica da alegação de propriedades funcionais e ou de saúde e da segurança de uso, segundo as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos.

Estabelece as informações requeridas na apresentação do pedido de registro, incluindo: consumo previsto ou recomendado pelo fabricante; finalidade, condições de uso e valor nutricional, quando for o caso; composição química com caracterização molecular e ou formulação do produto quando for o caso, ensaios bioquímicos; ensaios nutricionais e/ou fisiológicos e/ou toxicológicos em animais de experimentação; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; evidências abrangentes da literatura científica, organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecida sobre as propriedades e características do produto; comprovação de uso tradicional pela população sem relatos de danos à saúde e informações documentadas sobre aprovação de uso do alimento ou ingrediente em outros países, blocos econômicos, Codex Alimentarius e outros organismos internacionalmente reconhecidos.

3.5. Resolução nº 22/2000

Procedimentos básicos de registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos importados pertinentes à área de alimentos.

http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26494

Estabelece que os procedimentos e formulários para registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos importados serão os mesmos estabelecidos para os produtos nacionais, conforme regulamento técnico específico.

Comentário. Os regulamentos específicos aplicáveis a novos alimentos exigem uma avaliação de risco para registro. No caso da importação de novos produtos já aprovados em outros países mediante análise de risco, não fica esclarecido como tal aprovação poderá ser usada no Brasil, ou seja, quais dados poderão ser considerados e quais terão que ser adaptados à situação nacional.

Estabelece que o pedido de registro deve ser feito pelo importador, empresa subsidiária ou representante do fabricante. Caso exista mais de um importador para um mesmo produto importado, os pedidos devem ser solicitados por cada importador. Caso exista a empresa subsidiária ou representante do fabricante estabelecido no Brasil, a subsidiária ou representante pode solicitar um único registro para marcas e importadores distintos de um mesmo produto, desde que cada importador ou distribuidor autorize a utilização de sua marca pelo detentor do registro. Quando o estabelecimento do importador ou representante do fabricante se constituir em escritório comercial, deve ser apresentado o Alvará Sanitário ou a Licença de Funcionamento de cada depósito onde será armazenado o produto objeto da solicitação de registro.

Comentário. A Resolução traz orientações para o pedido de dispensa de obrigatoriedade de registo de produtos importados, mas não indica o procedimento para os produtos com obrigatoriedade de registro, como é o caso dos novos alimentos, uma vez que devem seguir o regulamento técnico específico. A Resolução RDC 23/2000 traz maiores esclarecimentos sobre tais procedimentos.

3.6. Resolução RDC nº 23/2000

Manual de Procedimentos Básicos para Registro e Dispensa da Obrigatoriedade de Registro de Produtos Pertinentes à Área de Alimentos

http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26496

Estabelece procedimentos básicos para o registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos pertinentes à área de alimentos. Aplica-se a todos os setores envolvidos com o trâmite de processos de registro ou dispensa da obrigatoriedade de registro de alimentos, aditivos, coadjuvantes de tecnologia e embalagens, nacionais e importados.

Estabelece que, para efeito de registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos importados devem ser obedecidos os mesmos trâmites e procedimentos previstos neste regulamento para os alimentos produzidos nacionalmente. Para efeito de registro, os produtos importados na embalagem original e prontos para oferta ao consumidor passam a ser registrados de acordo com a legislação específica.

Estabelece que as importadoras e empresas distribuidoras de produtos alimentícios devem implementar e dispor de Manual de Boas Práticas de Fabricação ou Armazenagem e nas demais etapas do processo produtivo sob sua responsabilidade.

Estabelece que o registro dos produtos é válido por cinco anos, em todo território nacional. A revalidação do registro deve ser solicitada no prazo de até 60 (sessenta) dias, antes da data do seu vencimento.

Comentário. No anexo VIII da RDC 23/2000 solicita-se informar o código da categoria de produto conforme o Anexo II. O Anexo II foi revogado e substituído pelo Anexo II da RDC 27/2010, no qual consta a categoria 4300030 "novos alimentos e novos ingredientes". Para registro de produto importado, além do código específico de registro, incluir o código de produto importado (459).

3.7. Resolução RDC nº 27/2010

Estabelece as categorias de alimentos e embalagens dispensadas e com obrigatoriedade de registro sanitário (com redação atualizada pela RDC nº 240/2018).

http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/28564

No Anexo II lista os alimentos e embalagens com obrigatoriedade de registro sanitário, dentre os quais está incluída a categoria 4300030 "novos alimentos e novos ingredientes".

3.8. Guia nº 23 (versão 1)/2019

Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes

http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5355698/Guia+Seguran%C3%A7a+de+Alimentos.pdf/dae93caa-7418-4b9a-97f2-2ec9ebc139e2#:~:text=Portanto%2C%20mesmo%20que%20a%20Page,do%20produto%20n%C3%A3o%20a%20pro%C3%ADba

Este documento foi colocado em vigor em 09/08/2019 e submetido à consulta pública em 12/08/2019, com encerramento previsto para 10/08/2020. Em 04/08/2020, foi autorizada a prorrogação do prazo para contribuições, estendida até 10/08/2021. O link de acesso ao documento foi desativado na versão de 10/06/2021 da Biblioteca de Alimentos da ANVISA, provavelmente em função do processo de revisão em andamento.

O Guia inclui as diretrizes para comprovação da segurança de novos alimentos e ingredientes e orientações sobre como apresentar uma petição de registro.

Comentário. O Guia complementa a RES Nº 16/1999 com respeito às categorias de produtos abarcadas pela definição de novos alimentos, apresentando exemplos de novos alimentos e do que se entende por "histórico de consumo no país". Também detalha as informações exigidas para a "avaliação de risco".

Exemplos de produtos que se enquadram no conceito de novo alimento ou ingrediente. a) produtos não consumidos de forma significativa no Brasil, mas com histórico de consumo em outro país (exemplos: semente de chia, lucuma, xarope de agave); b) produtos obtidos por processo tecnológico que resulte em mudanças significativas na composição, estrutura, comportamento físico-químico ou valor nutricional (exemplos: nanocompostos de vitaminas, açúcares modificados); c) substâncias

derivadas de fontes não utilizadas como alimentos pelo homem (exemplos: fitoesteróis obtidos de árvores conífera, cálcio obtido de concha de ostras e luteína obtida da flor da *Tagetes erecta*); d) produtos que consistam ou que sejam isolados de microrganismos (exemplos: *spirulina*, beta-glucana de *Saccahromyces cerevisiae*); e) ingrediente obtido por síntese ou a partir de fontes alimentares e cuja adição em alimentos resulte em aumento do seu consumo (exemplos: ácidos graxos da família ômega 3 provenientes do óleo de peixe, licopeno sintético ou extraído de tomate).

Comentário. O item "d" contempla, nos exemplos da definição, a categoria de proteínas obtidas por fermentação.

Estão excluídos do conceito de novo alimento ou ingrediente os aditivos alimentares, os produtos consumidos com finalidade terapêutica e as substâncias sujeitas a controle especial segundo a Portaria nº 344/1998 da ANVISA e suas atualizações (estimulantes, anabolizantes, anorexígenos). Também não são considerados novos alimentos os produtos que fazem parte do hábito alimentar regular de determinadas regiões do Brasil, mas que por razões diversas não se difundiram significativamente no país, tais como: pequi (*Caryocar brasiliensis*), bacaba (*Oenakarpus multicaulis*), beldroega (*Portulaca oleracea*), araruta (amido extraído da *Maranta arundinacea*) e farinha de alfarroba (*Ceratonia siliqua*).

Exemplos de evidências que caracterizam histórico de uso

Caracterizam histórico de uso a combinação de evidências científicas, registros históricos, informações comerciais oficiais de produção e venda, dados de pesquisas sobre aquisição ou consumo alimentar e documentos publicados por autoridades internacionais que atestem o consumo do produto por determinada população durante duas ou mais gerações, com dados dos métodos tradicionais de processamento e de preparo, composição, quantidade e frequência de consumo e efeitos adversos observados. Dados que descrevam o uso limitado do produto por períodos curtos ou o consumo de forma diferente da sugerida pelo fabricante não evidenciam histórico de uso. Por exemplo, frutas ou hortaliças exóticas que são consumidas ocasionalmente ou após determinado tipo de processamento ou preparo podem causar problemas quando consumidas em maiores quantidades ou com diferentes formas de processamento e preparo.

Com relação à petição de registro o guia traz as seguintes orientações

O dossiê técnico-científico deve ser apresentado na língua portuguesa. As publicações técnico-científicas e os pareceres de autoridades ou instituições estrangeiras poderão ser aceitos em língua inglesa ou espanhola, desde que essas sejam as línguas dos textos originais.

Considerando a Lei de Acesso à Informação (LAI) (Lei nº 12.527/2011), deve ser indicada que partes das informações e documentação constantes no dossiê técnico científico devem ser tratadas como confidencial.

Administrativamente, nem todos os produtos que atendem à definição de novos alimentos ou novos ingredientes deverão ser autorizados nesta categoria, uma vez que a legislação prevê enquadramentos específicos para alguns produtos cobertos por regulamentos próprios. Estes regulamentos, apresentados no Quadro 3.1, foram revisados de forma a estabelecer que novos produtos não previstos nos regulamentos possam ser incluídos, mediante petição das empresas através de

protocolo específico de avaliação de segurança e de eficácia. Nestes casos serão obedecidos os procedimentos administrativos dos respectivos regulamentos e os novos produtos relativos a estes regulamentos serão enquadrados nas listas positivas das respectivas normas.

Quadro 3.1. Categorias de novos produtos com enquadramento em regulamento específico.

Categoria	Regulamento(s) específico(s)
Novos ingredientes para adição em suplementos alimentares	Resolução RDC 243/2018
Novos ingredientes para adição em alimentos destinados a lactentes e a crianças de primeira infância	Resolução RDC 42/2011
Novos ingredientes para adição em fórmulas infantis	Resolução RDC 43/2011 Resolução RDC 44/2011 Resolução RDC 45/2011
Novos produtos cuja competência de regularização pré-mercado é do MAPA	-

O documento prevê que no caso de petições de avaliação de novos alimentos ou novos ingredientes relacionados a alimentos de competência do MAPA, cópia do ofício sobre o resultado da avaliação será encaminhada a este órgão.

Informações científicas requeridas para avaliação de segurança

Para identificação do perigo

a) Denominação do ingrediente/alimento

b) Formulação e descrição científica do ingrediente/alimento

c) Composição química com caracterização molecular (INS, CAS, fórmula molecular, especificação do ingrediente)

d) Descrição da metodologia analítica para avaliação do ingrediente

e) Descrição detalhada do processo de produção

f) Evidências abrangentes sobre as características do alimento ou ingrediente

g) Informações adicionais para identificação do perigo

Para caracterização do perigo

h) Estudos toxicológicos (ADME = absorção, distribuição, metabolismo e excreção; genotoxicidade; toxicidade aguda; toxicidade subcrônica; toxicidade crônica, toxicidade sobre a reprodução, toxicidade sobre o desenvolvimento; e outros estudos toxicológicos)

i) Estudos em humanos

j) Evidências sobre histórico de uso

k) Determinação do nível de segurança

Para caracterização do risco

l) Finalidade e condições de uso

m) Informações adicionais para avaliação da exposição (principais fontes alimentares, incluindo concentração das substâncias de preocupação toxicológica; dados de consumo alimentar pela população brasileira das principais fontes alimentares)

n) Abordagem para avaliação da exposição

Para avaliação de exposição

o) Combinação dos resultados das outras três etapas para estimativa quantitativa ou qualitativa da probabilidade de ocorrência e da gravidade de um efeito adverso na população.

Comentários. O item "e" complementa a RES Nº 16/1999 com respeito à exigência da descrição detalhada do processo de produção. Com respeito ao item "n", quais fontes de dados sistematizadas estão disponíveis e podem ser usadas para a avaliação da exposição no Brasil?

3.9. Guia nº 37 (versão 1)/2020

Guia de Especificações de Ingredientes Alimentares

http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/433500

Este documento foi colocado em vigor em 02/09/2020 e submetido à consulta pública em 23/09/2020, com encerramento em 22/09/2021. Trata-se de instrumento regulatório não normativo, de caráter recomendatório e não vinculante. Seu objetivo é fornecer recomendações para o estabelecimento de especificações de novos ingredientes, aditivos alimentares (inclusive aromatizantes de extratos vegetais), coadjuvantes de tecnologia (exceto enzimas), compostos fonte de nutrientes, substâncias bioativas e constituintes de alimentos em geral que não têm especificações em referências reconhecidas pela Agência ou que cujas especificações diferem daquelas constantes nestas referências.

Os princípios básicos descritos neste documento são aplicáveis aos ingredientes alimentares no âmbito de competência da Anvisa, mas não isentam os peticionários do cumprimento de regras estabelecidas por outros órgãos reguladores, como o MAPA.

Comentário. Este guia complementa o arcabouço legal vigente com recomendações específicas para determinadas categorias de novos produtos (dentre elas as proteínas obtidas por fermentação), e também no que concerne à determinação e controle de contaminantes relevantes para o novo produto.

Recomendações para a especificação de ingredientes isolados ou produzidos a partir de microrganismos, fungos ou algas (exceto probióticos e enzimas)

No caso de ingredientes produzidos por fermentação microbiana, sugere-se a descrição detalhada do processo pelo qual a matéria-prima é convertida no produto, informando o micro-organismo de produção e se é geneticamente modificado ou não. A descrição do processo contempla os seguintes aspectos, entre outros: (i) condições de cultura e matérias-primas utilizadas, (ii) limites operacionais e parâmetros-chave do processo de produção; (iii) medidas implementadas para controle de produção e garantia de qualidade (por exemplo, HACCP, BPF, ISO); e (iv) fluxograma de produção, incluindo verificações de controle de qualidade. As informações detalhadas serão tratadas de forma sigilosa, mas é importante que seja fornecida uma descrição abreviada e não confidencial para que seja publicada.

Microrganismos como fungos, bactérias ou leveduras podem gerar substâncias tóxicas, tais como, histaminas, micotoxinas, toxinas bacterianas e/ou outros parâmetros-chave que devem ser caracterizados e informados, se pertinente, conforme identificação de perigos relacionados ao microrganismo utilizado.

Para auxiliar na identificação e caracterização de ingredientes derivados de algas pode ser utilizado *Algae Database* [www.algaebase.org].

No caso de fungos filamentosos pode ser utilizado o *Index Fungorum* [http://www.indexfungorum.org/names/names.asp]

Comentário. Não há recomendação de como deve ser feita a identificação de bactérias e leveduras. O Guia Nº 21 (versão 2) de 2021 da ANVISA (*Guia para Instrução Processual de Petição de Avaliação de Probióticos para Uso em Alimentos*) traz orientações detalhadas e poderia ser citado como referência para a identificação.

As orientações para identificação e caracterização dos produtos produzidos por fermentação estão no Anexo II, Categoria 6 do Guia e inclui os parâmetros abaixo:

a) Fonte biológica (informação taxonômica sobre família, gênero, espécie, subespécie, variedade).

b) Órgão, tecido ou parte do organismo de origem.

c) Informação sobre a identidade das células.

d) Células ou substrato de tecido usado como um novo alimento.

e) Tipo de cultura.

f) Resistência antimicrobiana e outros fatores patogênicos.

g) Para algas e fungos, verificação da identidade de acordo com padrões internacionalmente reconhecidos.

h) Para bactérias e leveduras (organismos unicelulares), verificação das espécies e identidade da cepa; caracterização de bactérias e leveduras.

i) Parâmetros-chave e analíticos.

j) Se disponível, deposição em uma coleção de cultura oficialmente reconhecida com número de acesso.

k) Caso utilizado microrganismo geneticamente modificado para a produção do ingrediente, método utilizado para confirmar ausência de DNA recombinante do organismo no ingrediente.

Limites de tolerância para contaminantes

Devem ser incluídos os limites de tolerância para contaminantes microbiológicos e químicos do novo produto, principalmente quando não definidos em legislação. Devem ser definidos e caracterizados os contaminantes de ocorrência mais provável, estabelecendo-se limites e métodos analíticos validados para quantificá-los, sempre levando em consideração as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e as Boas Práticas Agrícolas (BPA). Na definição dos parâmetros e seus limites, é fundamental considerar as informações disponíveis na literatura, regulamentos técnicos internacionais, farmacopeias e outros sobre a fonte origem do produto e seus ingredientes e sobre o processo de fabricação. Em espécies botânicas, por exemplo, características de determinadas culturas e do solo da região de origem podem favorecer a presença de determinados metais pesados em quantidades relevantes, o que justificaria o controle e consequentemente a presença deste parâmetro na monografia.

Contaminantes microbiológicos

Os padrões microbiológicos para alimentos foram estabelecidos pela Resolução RDC nº 331/2019 e Instrução Normativa nº 60/2019 da ANVISA.

RDC 331/2019: http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/412266

IN 60/2019: http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/412498

Não se aplicam aos ingredientes destinados exclusivamente ao uso industrial e tampouco aos novos alimentos, uma vez que não constam da lista de produtos da IN 60/2019. Neste caso serão considerados os padrões microbiológicos estabelecidos na especificação do novo produto. No caso de novos ingredientes a serem incorporados em alimentos regulamentados pela IN 60/2019, as especificações do ingrediente devem ser tais que não alterem os limites microbiológicos estabelecidos na IN 60/2019 para este alimento acabado.

De maneira geral devem ser contemplados os seguintes parâmetros microbiológicos, a depender do ingrediente: contagem total de aeróbios mesófilos; contagem de bolores e leveduras, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, e *Pseudomonas aeruginosa*, cabendo ao fabricante definir que contaminantes microbiológicos são relevantes no produto. Procedimentos rotineiros para a redução da carga microbiana não devem ser usados como substitutos das BPF ou para garantir que o ingrediente atenda às especificações.

Contaminantes inorgânicos

Os limites aceitáveis de contaminantes inorgânicos (metais pesados) em alimentos foram estabelecidos pela Resolução RDC nº 487/2021 e Instrução Normativa nº 88/2021 da ANVISA.

RDC 487/2021: http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/447077

IN 88/2021: http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/447078

Novos alimentos não constam da lista de produtos regulamentados. Neste caso serão considerados os limites estabelecidos na especificação do novo produto.

Micotoxinas

Os limites aceitáveis de micotoxinas em alimentos foram estabelecidos pela Resolução RDC nº 487/2021 e Instrução Normativa nº 88/2021 da ANVISA.

RDC 487/2021: http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/447077

IN 88/2021: http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/447078

No caso de novos produtos que utilizem matérias primas incluídas na IN 88/2021 é necessário o monitoramento das micotoxinas listadas para tais matérias primas. No caso de matérias primas não incluídas na IN 88/2021 e nas quais seja provável a ocorrência de micotoxinas, é necessário definir as micotoxinas potenciais, fixar limites e monitorar com métodos analíticos referenciados.

Comentário. Na introdução de uma nova cepa de fungo filamentoso na produção de proteínas por fermentação, é recomendável uma avaliação das micotoxinas que tal cepa tem potencial de produzir, além das citadas na IN 88/2021. Há atualmente ferramentas ômicas (genômica, transcriptômica, metabolômica) disponíveis para tal avaliação. As diretrizes da EFSA/2021 (doi:10.2903/j.efsa.2021.6555) recomenda que sejam usados métodos moleculares capazes de prever genes relacionados a toxinas, resistência antimicrobiana e outros fatores patogênicos.

Matérias estranhas macroscópicas e microscópicas

Os limites aceitáveis de matérias estranhas em alimentos foram estabelecidos pela Resolução RDC nº 14/2014 da ANVISA.

RDC/14/2014: http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/29181

No caso de novos alimentos que não constam da lista de produtos regulamentados serão considerados os limites estabelecidos na especificação do novo produto.

Resíduos de solventes

Os limites aceitáveis de resíduos de solventes em alimentos foram estabelecidos pela Resolução RDC nº 466/2021 da ANVISA, promulgada após a publicação do Guia 37/2020.

RDC 466/2021: http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/444602

O Guia 37 estabelece que os novos alimentos devem estar em conformidade com os limites estabelecidos no Regulamento Técnico Específico a ser publicado pela Anvisa.

3.10. Páginas da ANVISA com orientações para petição de registro

A ANVISA disponibiliza diversas páginas com orientações para a apresentação de petições de registro de alimentos. Dentre elas as seguintes apresentam orientações relacionadas a novos alimentos:

3.10.1. Sistema de Consulta de assuntos de peticionamento da ANVISA – Área de Alimentos

https://www9.anvisa.gov.br/peticionamento/sat/Consultas/ConsultaAssuntoPersistir.asp

Apresenta um check list dos documentos e informações necessárias para realizar peticionamentos afetos a diversos assuntos regulamentados pela agência.

O assunto Nº 4109 trata da "Avaliação de Segurança e Eficácia de Propriedades Funcional ou de Saúde de Novos Alimentos e Novos Ingredientes".

https://www9.anvisa.gov.br/peticionamento/sat/Consultas/ConsultaAssuntoCheckList.asp?pCoAssunto=4109&sArea=Alimento

O assunto 4034 trata do "Registro de Novos Alimentos e Novos Ingredientes" https://www9.anvisa.gov.br/peticionamento/sat/Consultas/ConsultaAssuntoCheckList.asp?pCoAssunto=4034&sArea=Alimento

3.10.2. Documentação solicitada para o peticionamento de registro e pós-registro de alimentos – Embasamento Legal (Junho/2021)

https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/alimentos/arquivos/documentaoregistroepsregistrodealimentos.pdf

Esta publicação resume a documentação requerida para os pedidos de registro de diversas categorias de alimentos, incluindo novos alimentos e novos ingredientes. A organização da listagem de documentos é feita em função do ato legislativo que fundamenta cada exigência.

3.11. Ferramenta de consulta de novos alimentos, novos ingredientes, probióticos e enzimas aprovados

https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiNTA3ZDQxOGEtYzg0NC00NTI1LTg0MzYtOGEzMWU4MThlNjAwIiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWMzZjMtNGQzNS04MGM3LWI3MDg1ZjVlZGQ4MSJ9

A Anvisa disponibiliza uma ferramenta que permite a consulta de novos ingredientes e novos alimentos já aprovados, incluindo enzimas e probióticos. Desenvolvida em formato de painel, a plataforma possibilita a pesquisa a partir do nome do ingrediente ou da finalidade de uso.

A ferramenta apresenta informações como a finalidade e as condições de uso do ingrediente, bem como as categorias de alimentos para as quais o uso do ingrediente está permitido, as doses mínimas e máximas estabelecidas e as referências de especificações publicadas em compêndios. A plataforma contém ainda a identificação das empresas.

O usuário pode navegar por uma das seguintes categorias: Açúcares, Aminoácidos, Carboidratos, Copolímeros, Enzimas, Especiarias, Fibras alimentares, Lipídeos, Minerais, Oligossacarídeos, Outros nutrientes, Probióticos, Proteínas, Substâncias bioativas e Vitaminas.

Na seção inferior do painel principal o usuário encontra links para acesso direto a um painel específico para:

a) Enzimas aprovadas como coadjuvantes de tecnologia. O painel específico traz informações complementares sobre o ato legislativo que concedeu a aprovação.

b) Ingredientes aprovados para uso em suplementos alimentares. O painel específico apresenta informações complementares sobre limites de dosagem estabelecidos por faixa etária.

Comentário. Considerando-se que os limites estabelecidos na legislação vigente para contaminantes microbiológicos, contaminantes inorgânicos, micotoxinas e outros podem não ser aplicáveis aos novos alimentos e que, nestes casos, serão considerados os padrões estabelecidos na especificação do novo produto, é importante a inclusão de tais limites na ferramenta de consulta de novos alimentos, novos ingredientes, probióticos e enzimas aprovados.

3.12. Lista de ingredientes (constituintes) autorizados para uso em suplementos alimentares

https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/ingredientes

Esta listagem é a mesma apresentada no painel específico “ingredientes aprovados para uso em suplementos alimentares” da “ferramenta de consulta de novos alimentos, novos ingredientes, probióticos e enzimas aprovados”, mas nesta página foram também incluídos os seguintes links: a) informações gerais sobre suplementos alimentares, b) perguntas e respostas sobre o marco normativo de suplementos alimentares, c) guia Nº 23, versão 1, de 23/07/2019 - Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes, d) Sistema de peticionamento.

3.13. Novos Alimentos e Ingredientes: Documento de Base para Discussão Regulatória

http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33880/5833856/Documento+de+base+sobre+novos+alimentos/ed783550-fc93-42c2-91cc-ccbd02c36fc9

Este documento traz as tratativas iniciais da ANVISA para a revisão da legislação de novos alimentos.

O documento é muito completo, com uma análise crítica detalhada da situação vigente e propostas factíveis para a revisão. De maneira geral as lacunas e falhas detectadas nos comentários inseridos nos itens acima foram abordadas e sugeridas soluções.

Com relação às novas proteínas produzidas por fermentação, há algumas questões que poderiam ser mais bem esclarecidas e outras que poderiam ser incluídas na discussão. Estas questões são apresentadas abaixo.

3.13.1. Definição proposta para novos alimentos

A proposta de definição da ANVISA inclui alimentos e ingredientes obtidos de vegetais, animais, minerais, microrganismos, fungos, algas ou de forma sintética sem histórico de consumo seguro no Brasil como alimento, incluindo, mas não limitado aos produtos que: (a) sejam obtidos de fontes sem histórico de consumo seguro no Brasil; (b) possuam estrutura molecular nova ou intencionalmente modificada; (c) consistam em culturas de células ou culturas de tecidos ou tenham sido produzidos a partir destas culturas; (d) tenham sido submetidos a processo produtivo não aplicado na produção de alimentos; (e) tenham alterações na sua composição ou estrutura que afetem seu valor nutricional, metabolismo ou teor de contaminantes; (f) sejam constituídos por nanomateriais artificiais; (g) sejam constituintes de suplementos alimentares não previstos na IN nº 28, de 2018; (h) sejam compostos de nutrientes e de outras substâncias para fórmulas enterais não previstos na RDC nº 22, de 2015; (i) sejam compostos de nutrientes para alimentos destinados a lactentes e a crianças de primeira infância não previstos na RDC nº 42, de 2011; (j) ingredientes fontes de nutrientes e de substâncias bioativas para uso em alimentos convencionais; ou (k) sejam constituintes autorizados apenas para uso em suplementos alimentares, caso venham a ser usados em outros alimentos. **Produtos excluídos da definição**. Aditivos alimentares, coadjuvantes de tecnologia, substância consideradas doping pela Agência Mundial Antidopagem, substâncias sujeitas a controle especial, substâncias obtidas das espécies que não podem ser usadas na composição de produtos tradicionais fitoterápicos, outras substâncias com finalidade terapêutica ou medicamentosa e alimentos e ingredientes que atendam à definição de Organismos Geneticamente Modificados (OGM) e de produtos derivados de OGM na Lei de Biossegurança.

Sobre a situação dos probióticos na definição. A definição proposta pela ANVISA não cita os probióticos dentre os produtos incluídos ou excluídos do escopo, embora no item 6.1 do "Documento de Base para Discussão Regulatória" tenha relatado a intenção de manter esta categoria no escopo de novos alimentos. Tal intenção poderia ser traduzida na definição, citando explicitamente os probióticos, como faz a maioria dos demais países consultados (alguns incluindo e outros excluindo).

Sobre a situação dos produtos OGM excluídos da definição. Com relação aos produtos OGM excluídos da definição, é importante analisar a situação das proteínas obtidas por fermentação de precisão usando microrganismos OGM. A definição proposta exclui os alimentos e ingredientes que atendam à definição de Organismos Geneticamente Modificados (OGM) e de produtos derivados de OGM na Lei de Biossegurança (Lei Nº 11.105/2005 da Presidência da República), que no seu Artigo. 3º(I) define "organismo" como "toda entidade biológica capaz de reproduzir ou transferir material genético, inclusive vírus". Isto significa que todos microrganismos geneticamente modificados usados na fermentação de precisão são OGMs. No entanto, o Artigo 3º § 2º exclui da categoria de derivado de OGM as "substâncias puras, quimicamente definidas, obtida por meio de processos biológicos e que não contenha OGM, proteína heteróloga ou DNA recombinante".

(http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11105.htm)

As proteínas obtidas por fermentação de precisão com microrganismos OGM podem ser purificadas para a obtenção de uma substância pura quimicamente definida, mas o significado do termo "proteína heteróloga" não foi estabelecido no texto da Lei de Biossegurança, o que gerou uma discussão na Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), responsável pela liberação comercial de OGMs e seus derivados. Na fermentação de precisão com microrganismos OGM ocorre a expressão de uma proteína que é heteróloga para o microrganismo produtor e homóloga à proteína expressa pelo organismo doador do gene introduzido no OGM produtor. No entendimento da CTNBio o que ocorre neste processo é a produção heteróloga de uma proteína, seguida de sua purificação, não a produção de uma proteína heteróloga. Este entendimento está estabelecido na Resolução Normativa Nº 24/2020 da CTNBio, que no Capítulo I, Parágrafo único dispõe: "Não se considera proteína heteróloga a proteína pura, quimicamente definida, ainda que tenha sido produzida a partir de um OGM"

(https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-normativa-n-24-de-7-de-janeiro-de-2020-237272300)

Desta forma a CTNBio estabeleceu que as proteínas obtidas por fermentação de precisão e posteriormente purificadas não se enquadram na categoria de produtos derivados de OGM. Por conclusão, estes produtos estão abrangidos pela definição de novos alimentos ou ingredientes proposta e sua aprovação não é da competência da CTNBio. Este também é o entendimento colocado pela ANVISA no item 6.1 do "Documento de Base para Discussão Regulatória", mas tal entendimento não está explicitado na definição. Uma opção seria definir "proteína heteróloga" no ato legislativo em que a definição de novos alimentos for estabelecida.

3.13.2. Sobre a extensão de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia para novos alimentos

Informações do *Guia de procedimentos para pedidos de inclusão e extensão de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação na legislação brasileira* vigente a partir de 22/12/2020 - Início do período de contribuições: 22/12/2020 - Fim do período de contribuições: 22/12/2021.

http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6161592/GUIA+DE+PROCEDIMENTOS+PARA+PEDIDOS+DE+INCLUS%C3%83O+E+EXTENS%C3%83O+DE+USO+DE+ADITIVOS+E+COADJUVANTES+091222+%281%29+%281%29.pdf/28e6b54a-92d7-4af5-a045-890ef53bb461

Com base no artigo 24 do Decreto Lei nº. 986/69, a autorização de uso de um aditivo alimentar ou coadjuvante de tecnologia é concedida por meio de listas positivas constantes na legislação sanitária vigente e são específicas para cada categoria de alimento, conforme descrito no Anexo I deste guia.

As petições de que estamos tratando são as do item 4113 - Avaliação de extensão de uso de aditivos alimentares ou 4130 - Inclusão ou extensão de uso de aditivos alimentares ou coadjuvantes de tecnologia com parecer favorável da Anvisa e MAPA.

Estas solicitações são feitas por categoria de alimentos aos quais se deseja incorporar o aditivo. Não há no Anexo I do Guia a categoria "novo alimento" e muito menos a de "alimentos constituídos por microrganismos". A biomassa Quorn™, por exemplo, utiliza gelificantes para obter a textura final do produto. Como pedir a extensão de uso dos gelificantes para este tipo de alimento?

Como serão categorizados os novos produtos que conferem funcionalidade

Há novos produtos obtidos por fermentação cuja aplicação é menos nutricional do que funcional. Por exemplo, vários derivados da levedura *Saccharomyces cerevisiae* no Brasil são usados para conferir certos sabores específicos. Da mesma forma, várias massas celulares de algas verdes ou vermelhas são usadas para conferir cor. As hemoglobinas ou mioglobinas produzidas por microrganismos recombinantes são usadas para conferir sabor, odor e suculência a análogos de carne *plant-based*. Estes produtos serão categorizados como novos aditivos ou como novos ingredientes?

Sobre a importação de novos alimentos e ingredientes

Na questão da importação de novos ingredientes para uso na formulação de alimentos no Brasil, a legislação vigente estabelece que o registro dos importados seguirá os mesmos trâmites dos novos produtos fabricados no Brasil. Esta tramitação envolve uma avaliação de segurança com base na análise de risco.

No caso de um produto já aprovado em um ou mais países mediante análise de risco, tal aprovação isenta o importador da necessidade de um dossiê técnico científico com dados obtidos no Brasil? Se sim, a aprovação de quais e quantos países será aceita pela ANVISA? Se não, quais dados e de quais países poderão ser incorporados ao dossiê do importador e quais deverão ser gerados no Brasil?

4 - REFERÊNCIAS

Amorim GM. 2011. *Fermentação de farelo de cacau por Aspergillus niger para obtenção de lipase e biomassa para alimentação animal*. Tese de Mestrado. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB: Itapetinga, BA. 77pp.

Arnau, J.; Yaver, D.; Hjort, C.M., 2020. Strategies and challenges for the development of industrial enzymes using fungal cell factories. In: Nevalainen, H. *Grand Challenges in Fungal Biotechnology*. Switzerland: Springer Nature. ISBN 978-3-030-29541-7 (eBook) https://doi.org/10.1007/978-3-030-29541-7.Chapter 7.

Byrne, J., 2020. Finnish team bringing dormant SPC production process back to life for use in fish feed. *Feed navigator.com* https://www.feednavigator.com/Article/2020/01/02/Team-bringing-dormant-SCP-production-process-back-to-life [acesso em 22/09/2021].

Cardoso, M.B.; Nicoli, J.R., 1981. Single cell protein from the thermotolerant fungus hanerochaete chrysosporium grown in vinasse - 1. Production and composition. *Nutrition Reports International*, 24(2):237-247.

Chen, H., 2013. *Modern Solid State Fermentation - Theory and Practice*. Dordrecht: Springer Science+Business Media. doi: 10.1007/978-94-007-6043-1.

Deckers, M., Deforce, D., Fraiture, M.A. & Roosens, N.H.C, 2020. Genetically Modified Micro-Organisms for Industrial Food Enzyme Production: An Overview. *Foods* 9, 326; doi:10.3390/foods9030326

Desjardins AE. 2006. *Fusarium mycotoxins: chemistry, genetics and biology*. APS Press, Minnesota

Drouliscos, N.J., Macris, B.J. & Kokke, R., 1976. Growyh of *Fusarium moniliforme* on carob aqueous extract and nutritional evaluation of its biomass. *Applied and Environmental Microbiology*, 31:691–694.

Embrapa, 2020. *Comunicado Técnico 457 - Bactérias metanotróficas obtidas de solos florestais utilizando diferentes metodologias para o isolamento*. https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1125663/1/CT-457-1810-final.pdf [acesso em 20/09/2021].

FDA GRN Nº 737/2018. GRAS Notice Inventory https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices [acesso em 20/09/2021].

FDA GRN Nº 863/2020. GRAS Notice Inventory https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices [acesso em 20/09/2021].

FDA GRN 848/2020. GRAS Notice Inventory https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices [acesso em 20/09/2021].

FDA GRN Nº 967. GRAS Notice Inventory https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices [acesso em 20/09/2021].

FDA GRN Nº 1001. GRAS Notice Inventory https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices [acesso em 20/09/2021].

Ferraz, A., 2010. Curso de enzimologia. Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo. http://www.debiq.eel.usp.br/aferraz/public_html/pagguiaE.htm [acesso em 22/09/2021]

Finnigan, T.J.A., Needham, L. & Abbott, C. 2017. Mycoprotein: a healthy new protein with a low environmental impact. In: Nadathur, S., Wanasundara, J. & Scanlin, L. (eds) *Sustainable protein sources*. Amsterdam: Academic Press. pp 305–325.

Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Samson, R.A., Larsen, T.O. & Thrane, U., 2007. Fumonisin B_2 production by *Aspergillus niger*. *J. Agric. Food Chem*., 55:9727-9732.

Frisvad, J.C., Larsen, T.O., Thrane *et al*., 2011. Fumonisin and ochratoxin production in industrial *Aspergillus niger* strains. *PLoS One* 6:e23496.

Garibay, M.G., Ruiz, L.G., Cruz, A. & Bárzana, E., 2014. Single cell protein - Yeasts and bacteria. In: Batt, C.A., Tortorello, M.L. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier. pp.431-438.

Gray, W. D., & Abou-El-Seoud, M. O., 1966a. Fungal protein for food and feeds. IV. Whole sugar beets or beet pulp as a substrate. *Economic Botany*, 20(4), 372-376.

Gray, W. D., & Abou-El-Seoud, M. O., 1966b) Fungal protein for food and feeds. III. Manioc as a potential crude raw material for tropical areas. *Economic Botany*, 20(3):251-255.

Grossmann, L., Ebert, S., Hinrichs, J. & Weiss, J., 2018. Production of protein-rich extracts from disrupted microalgae cells: Impact of solvent treatment and lyophilization. *Algal Research*, 36:67-76.

Gutleb, A., Morrison, E. & Murk, A.J., 2002. Cytotoxicity assays for mycotoxins produced by *Fusarium* strains: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol*., 11: 309-320.

Jalasutram, V., Kataram, S., Gandu, B. *et al*., 2013. Single cell protein production from digested and undigested poultry litter by *Candida utilis*: optimisation of process parameters using response surface methodology. *Clean Technology Environmental Policy*, 15:265-273.

King, R., Brown, N.A., Urban, M. & Hammond-Kosack, K.E., 2018. Inter-genome comparison of the Quorn fungus *Fusarium venenatum* and the closely related plant infecting pathogen *Fusarium graminearum. BMC Genomics*, 19:1–19

Khor, G.L., Alexander, J.C., Lumsden, J.H. & Losos, G.J., 1977. Safety evaluation of *Aspergillus fumigatus* grown on cassava for use as an animal feed. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 41:428-434.

Macris, B.J. & Kokke, R., 1978. Continuous fermentation to produce fungal protein. Effect of growth rate on the biomass yield and chemical composition of *Fusarium moniliforme*. Biotechnology & Bioengineering, 20:1027-1035.

Moore, D., Robson, G. & Trinci, A., 2000. Whole organisms biotechnology. In: 21st Century Guidebook to Fungi. 1st edition. Cambridge University Press. pp.451-210. doi: 10.1017/CBO9780511977022.018.

Muniz, C.E.S., Santiago, A.M., Gusmão, T.A.S. *et al*., 2020. Solid-state fermentation for single-cell protein enrichment of guava and cashew by-products and inclusion on cereal bars. *Biocatalysis and Agricultural*

Biotechnology, 25, 101576. doi 10.1016/j.bcab.2020.101576.

Murphy, P.A., Hendrich, S., Landgren, C. & Byrant, C.M., 2006. Food mycotoxins: an update. Journal of Food Science, 71:R51-R65.

Nevalainen, H., 2020. *Grand Challenges in Fungal Biotechnology*. Switzerland: Springer Nature. ISBN 978-3-030-29541-7 (eBook) https://doi.org/10.1007/978-3-030-29541-7.

Perincherry et al., 2019;

Reade, A.E. & Gregory, K.F., 1975. High-temperature production of protein-enriched feed from cassava by fungi. *Applied Microbiology*, 30:897-904.

Renge, V.C., Khedkar, S.V. & Nandurkar, N.R., 2012. Enzyme synthesis by fermentation method: a review. *Scientific Reviews and Chemical Communications*, 2(4): 585-590. https://www.tsijournals.com/articles/enzyme-synthesis-by-fermentation-method--a-review.pdf [acesso em 22/09/2021]

Ritala, A., Häkkinen, S.T., Toivari, M & Wiebe, M.G., 2017. Single Cell Protein—State-of-the-Art, Industrial Landscape and Patents 2001–2016. *Frontiers in Microbiology*,13. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02009.

Rodriguez-Couto, S. & Sanromán, M.A., 2006. Application of Solid-State Fermentation to Food Industry – a Review Article. *Journal fo Food Engineering*, 76(3):291-302. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.05.022

Specht, L., Crosser, N., Almy, J. *et al*., 2020. *State of the Industry Report: Fermentation*. Disponível para download em https://gfi.org/resource/fermentation-state-of-the-industry-report/ [acesso em 22/05/2021].

Thrane, U., 2007. Fungal protein for food. In: Dijksterhuis, J. & Samson, R.A. *Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food*. CRC Press. Chapter 18.

Trinci, A.P., 1992. Myco-protein: A twenty-year overnight success story. *Mycological Research*, 96:1-13.

Wang, X., & Zhang, X., 2012. Optimal extraction and hydrolysis of Chlorella pyrenoidosa proteins. Bioresource technology, 126, 307-313.