

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO-CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DA NEBULIZAÇÃO COM
CURCUMINA E LUZ DE LED NA INATIVAÇÃO DE PATÓGENOS EM
PRESUNTO FATIADO**

Autora: Larissa Garcias de Assunção
Orientador: Dr. Leandro Pereira Cappato
Coorientador: Dra. Letícia Fleury Viana

**Rio Verde - GO
Maio, 2021**

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO-CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DA NEBULIZAÇÃO COM
CURCUMINA E LUZ DE LED NA INATIVAÇÃO DE PATÓGENOS EM
PRESUNTO FATIADO**

**Autora: Larissa Garcias de Assunção
Orientador: Dr. Leandro Pereira Cappato
Coorientador: Dra. Letícia Fleury Viana**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, no Programa de Pós-Graduação e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Linha de Pesquisa: Caracterização, desenvolvimento e inovação de produtos de origem animal.

**Rio Verde - GO
Maio, 2021**

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

C247a Assunção, Larissa Garcias de Assunção
Avaliação do efeito combinado da nebulização com curcumina e luz de led na inativação de patógenos em presunto fatiado / Larissa Garcias de Assunção Assunção; orientadora Dr. Leandro Pereira Cappato Cappato; co-orientadora Dra. Leticia Fleury Viana Viana. -- Rio Verde, 2021.
55 p.

Dissertação (Mestrado em Mestrado em Tecnologia de Alimentos) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2021.

1. nebulização. 2. tratamento fotodinâmico. 3. fotossensibilizadores. 4. patógenos. I. Cappato, Dr. Leandro Pereira Cappato, orient. II. Viana, Dra. Leticia Fleury Viana, co-orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Larissa ~~Carvalho~~ ~~Carvalho~~ de Assunção

Matrícula: 2019102330740085

Título do Trabalho: AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DA NEBULIZAÇÃO COM CURCUMINA E LUZ DE LED NA INATIVAÇÃO DE PATÓGENOS EM PRESUNTO FATIADO

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano:

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde – GO, 15 / 07 / 2021



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 41/2021 - NREPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO

ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Unidade do IF Goiano:	Campus Rio Verde	
Programa de Pós-Graduação :	Tecnologia de Alimentos	
Defesa de:	Dissertação	Defesa de número: 73
Data: 27/05/2021	Hora de início: 08:00h	Hora de encerramento: 11:00h
Matrícula do discente:	2019102336740085	
Nome do discente:	Larissa Garcias de Assunção	
Título do trabalho:	Avaliação do efeito combinado da nebulização com curcumina e luz de LED na inativação de patógenos em presunto fatiado.	
Orientador:	Leandro Pereira Cappato	
Área de concentração:	Tecnologia e Processamento de Alimentos	
Linha de Pesquisa:	Caracterização, desenvolvimento e inovação de produtos de origem animal	
Projeto de pesquisa de vinculação	Avaliação do efeito combinado da nebulização com curcumina e luz de LED na inativação de patógenos em presunto fatiado.	
Titulação:	Mestre em Tecnologia de Alimentos	

Nesta data, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora, Dr. Leandro Pereira Cappato (Orientador), Dr^a. Priscila Alonso dos Santos (Avaliadora interna) e Dr. Wilson José Fernandes Lemos Junior (Avaliador externo) sob a presidência da primeira, em sessão pública realizada por vídeo conferência via Google Meet à distância, para procederem a avaliação da defesa de dissertação, em nível de Mestrado, de autoria de **LARISSA GARCIAS DE ASSUNÇÃO**, discente do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pelo presidente da Banca Examinadora, Leandro Pereira Cappato, que fez a apresentação formal dos membros da banca. A palavra, a seguir, foi concedida o(a) autor (a) da dissertação para, em 40 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu o(a) examinado(a), tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, e procedidas às correções recomendadas, a dissertação foi **APROVADA**, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGTA da versão definitiva da dissertação, com as devidas correções. Assim sendo, esta ata perderá a validade se não cumprida essa condição, em até **60** (sessenta) dias da sua ocorrência. A Banca Examinadora recomendou a publicação dos artigos científicos oriundos dessa dissertação em periódicos de circulação nacional e/ou internacional, após procedida as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação de mestrado, e foi lavrada a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Decisão da banca: Aprovada

Esta defesa é parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna do IF Goiano.

Documento assinado eletronicamente por:

- Wilson José Fernandes Lemos Junior, Wilson José Fernandes Lemos Junior - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (100514179085048), em 25/05/2021 11:54:28.
- Priscila Alonso dos Santos, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/05/2021 11:48:27.
- Leandro Pereira Cappato, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/05/2021 11:55:29.

Este documento foi emitido pelo SISP em 25/05/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse https://sisp.ifgoiano.edu.br/autenticar_documento/ e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 272064

Código de Autenticação: 585882470e



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus Rio Verde

Rodovia Sul-Goiano, Km 01, Zona Rural, Riacho, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970

(64) 3636-5600



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DA NEBULIZAÇÃO COM CURCUMINA E
LUZ DE LED NA INATIVAÇÃO DE PATÓGENOS EM PRESUNTO FATIADO**

Autora: Larissa Garcia de Assunção
Orientador: Leandro Pereira Cappato

TITULAÇÃO: Mestre em Tecnologia de Alimentos – Área de Concentração em Tecnologia e Processamento de Alimentos.

APROVADA em 27 de maio de 2021.

Dr^a. Priscila Alonso dos
Santos
Avaliadora interna
IF Goiano/Rio Verde

Dr. Wilson José Fernandes
Lemos Junior
Avaliador externo
Libera Università di Bolzano

Dr. Leandro Pereira
Cappato
Presidente da banca
IF Goiano/Rio Verde

Documento assinado eletronicamente por:

- Wilson José Fernandes Lemos Junior, Wilson José Fernandes Lemos Junior - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (11065141.1000560), em 21/05/2021 12:24:05.
- Priscila Alonso dos Santos, PROFESSOR ENS BASICO TECH TECNOLOGICO, em 26/05/2021 21:58:32.
- Leandro Pereira Cappato, PROFESSOR ENS BASICO TECH TECNOLOGICO, em 27/05/2021 11:27:23.

Este documento foi emitido pelo SISP em 25/05/2021. Para comprovar sua autenticidade, siga a leitura do QRCode ao lado ou acesse http://sisp.ifgoiano.edu.br/autenticar_documento/ e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 172073
Código de Autenticação: 71502a71ee



AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela sua infinita bondade e grandiosa providência em minha vida durante esse processo formativo, me iluminando e guiando em cada etapa.

Ao meu esposo Gabriel Maia, meu baby Benjamim, aos meus pais Iron Assunção e Juscelina Garcias, meu irmão Willian Garcias e irmã Maria Clara Assunção, e toda minha família base dos meus princípios e porto seguro onde encontro refúgio nos momentos difíceis e felizes.

Agradeço ao apoio da minha supervisora Tais Donato e colegas de trabalho, Hesio, Flavio, Larissa, Luciana, Helena, Claudemir, Andreia, Solange, Deybiane, Ana Paula, Maria, Ester, as devidas ausências, sem vocês este sonho não seria completo.

Agradeço ao apoio de todos meus amigos, os amigos de infância, colegial, faculdade, os quais me entendem e me aceitam, sempre me motivam a continuar, saibam que muitas vezes só persisto no caminho pois vocês me impulsionam a sempre caminhar.

Aos colegas de mestrado, Raissa, Liliane, Isaac, Cristiane, Erica, Itatiane, Simone, Tatiane, Igor, Iaquine, Jordana, Bruno, Geiza, e todo Instituto Federal de Rio Verde - GO, agradeço por permitirem fazer desta Instituição uma escola de vida e profissional. Em especial aos meus colegas da turma 2019, horas de trabalho, horas de fracasso, mas também de vitórias, mesmo em período pandemia, com pesquisas e análises interrompidas.

Em especial meu generoso orientador Prof. Dr^o. Leandro Pereira Cappato, que mesmo sem me conhecer apostou em mim, a confiança, seus ensinamentos, suas orientações, sua paciência, enfim meu pai da ciência, a você minha eterna gratidão, de hoje colhemos o fruto de nossos esforços, obrigada pelas marcas deixadas em minha vida.

A minha coorientadora Prof^a. Dr^a. Letícia Fleury Viana, que tive a honra de estar juntas na matéria de microbiologia, meu real foco de pesquisa, obrigada por contribuir.

Aos Professores Doutores que contribuíram direta ou indiretamente para meu crescimento acadêmico.

Meu MUITO OBRIGADA!!!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Larissa Garcias de Assunção, nasceu em Rio Verde-GO, estado de Goiás, em 15/11/1991. Filha de Iron Assunção Ferreira e Juscelina Garcias de Assunção. Em Rio Verde, cursou ensino fundamental, médio e superior. Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade de Rio Verde – UniRV (2010-2013), em que foi aluna de iniciação à docência (PIBID). Pós-graduada em Gestão Ambiental pelo Centro Universitário Claretiano de Batatais-SP (2014-2015), em 2019 ingressou no Mestrado em Tecnologia de Alimentos-Campus Rio Verde-Goiás.

Sumário

1	INTRODUÇÃO GERAL	15
3	OBJETIVOS	19
3.1.	Geral.....	19
3.2.	Específico.....	19
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
4.1.	CAPÍTULO I – DESINFECÇÃO POR NEBULIZAÇÃO NO PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS: TENDÊNCIAS ATUAIS E OS PRINCIPAIS PARÂMETROS RELATIVOS A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS	20
4.2.	INTRODUÇÃO	22
4.3.	Fundamentos e parâmetros de processo.....	23
4.4.	Aplicação de nebulização na indústria de alimentos.....	26
4.5.	Vantagens e Desvantagens.....	35
4.6.	Perspectivas e desafios.....	36
4.7.	Conclusão.....	37
4.8.	REFERÊNCIAS	38
5	CAPÍTULO II – AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DA NEBULIZAÇÃO E O TRATAMENTO FOTODINÂMICO COM CURCUMINA E LUZ DE LED NA INATIVAÇÃO DE PATÓGENOS EM PRESUNTO FATIADO	42
5.1.	INTRODUÇÃO	44
5.2.	MATERIAIS E MÉTODOS	45
5.2.1.	Preparo do inóculo	45
5.2.2.	Preparação da solução mãe	46
5.2.3.	Preparo solução teste de 50 mg/L	46
5.2.4.	Higienização do nebulizador.....	47
5.2.5.	Processo de Nebulização em combinação ao tratamento fotodinâmico.....	47
5.2.6.	Determinação da concentração dos sobreviventes	48
5.3.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	49
5.4.	CONCLUSÃO	52
5.5.	REFERÊNCIAS	53
6	CONCLUSÃO GERAL	56
7	ANEXO 1	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Páginas

CAPÍTULO II

Figura 1- Caldo BHI turvado.....	42
Figura 2- Presunto cortado circularmente em placa de Petri.....	44
Figura 3- Caixa de acrílico com nebulizador.....	44
Figura 4- Curva de sobreviventes (UFC/ml) do pool de <i>Salmonella spp</i> para nebulização da curcumina com e sem tratamento fotodinâmico com LED azul.....	46
Figura 5- Curva de sobreviventes (UFC/ml) do <i>Staphylococcus aureus</i> para nebulização da curcumina com e sem tratamento fotodinâmico com LED azul.....	46

ÍNDICE DE TABELAS

Páginas

CAPÍTULO I

Tabela 1. Principais parâmetros da Nebulização aplicados para descontaminação ambiental, dos equipamentos e dos alimentos.....	20
Tabela 2. Efeitos da Nebulização na inativação microbiana e/ou parâmetros de qualidade dos alimentos.....	23
Tabela 3. Efeitos da nebulização química na descontaminação de salas, equipamentos e redução de biofilmes microbianos.....	27

RESUMO

ASSUNÇÃO, LARISSA GARCIAS DE. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, maio de 2021. **Avaliação do efeito combinado da nebulização com curcumina e luz de LED na inativação de patógenos em presunto fatiado.** Orientador: Dr. Leandro Pereira Cappato. Coorientador: Dra. Letícia Fleury Viana

A tecnologia de nebulização se apresenta como uma técnica bastante versátil para produção de alimentos seguros, podendo ser utilizada tanto para descontaminação superficial de alimentos, quanto como técnica complementar de higienização. A nebulização consiste na dispersão de sanitizantes líquidos na forma de uma névoa fina no ar, que possibilita uma cobertura 3D do ambiente e o alcance dos sanitizantes em pontos específicos em equipamentos. Contudo, além de promover uma descontaminação ambiental e dos equipamentos, a técnica pode ser utilizada na descontaminação superficial de alimentos, através da nebulização direta de sanitizantes químicos, ou ser utilizada em conjunto com o tratamento fotodinâmico. O tratamento fotodinâmico consiste em uma tecnologia emergente não térmica promissora para produção de alimentos seguros e se baseia na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), através da excitação de um fotossensibilizador na presença de luz, resultando na oxidação e degradação da célula bacteriana. A curcumina é o principal componente ativo extraído do óleo essencial de *Curcuma longa* L. apresentando diversos benefícios, como propriedades antioxidante e antimicrobiana, além de ser um fotossensibilizador com grande potencial para uso no tratamento fotodinâmico. Alimentos pronto para o consumo, como o presunto fatiado, constitui uma importante alternativa de produto, devido sua facilidade uma vez que já vem pronto para serem consumidos. Contudo, por não apresentarem tratamento antes do consumo, estes produtos apresentam grande risco de contaminação por patógenos, como *Salmonella spp.* e *Staphylococcus aureus*. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito combinado da curcumina nebulizada com o tratamento fotodinâmico com luz de LED, na inativação da *Salmonella spp.* e o *Staphylococcus aureus* em presunto fatiado. Porém, apesar de estudos similares relatarem efeito na inativação desses patógenos utilizando estas tecnologias, não foi observado efeito na redução da contaminação microbiana analisada neste presente estudo.

Palavras-chave: Nebulização, tratamento fotodinâmico, fotossensibilizadores, patógenos, *Curcuma longa* L.

ABSTRACT

ASSUNÇÃO, LARISSA GARCIAS DE. Goiano Federal Institute – Rio Verde Campus – GO, may of 2021. **Evaluation of the combined effect of nebulization with curcumin and LED light on the inactivation of pathogens in sliced ham.** Advisor: Dr. Leandro Pereira Cappato. Co- advisor: Dra. Letícia Fleury Viana

Nebulization technology presents itself as a very versatile technique to produce safe food, which can be used both for superficial decontamination of food and as a complementary cleaning technique. Nebulization consists in the dispersion of liquid sanitizers as a fine mist in the air, which allows 3D coverage of the environment and the reach of sanitizers at specific points in equipment. However, in addition to promoting environmental and equipment decontamination, the technique can be used in food superficial decontamination, through the direct nebulization of chemical sanitizers, or in conjunction with photodynamic treatment. Photodynamic treatment consists of a promising emerging non-thermal technology to produce safe foods and is based on the generation of reactive oxygen species (ROS), through the excitation of a photosensitizer in the light presence, resulting in the bacterial cell oxidation and degradation. Curcumin is the main active component extracted from the essential oil of *Curcuma longa* L. with several benefits, such as antioxidant and antimicrobial properties, in addition to being a photosensitizer with great potential to use in photodynamic treatment. Ready-to-eat foods, such as sliced ham, are an important product alternative, since they are already ready to be consumed. However, as they do not undergo treatment before consumption, these products present a high risk of contamination by pathogens, such as *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. In this context, the objective of this study was to evaluate the combined effect of nebulized curcumin with the photodynamic treatment with LED light, in the inactivation of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* in sliced ham. However, although similar studies report an effect on the inactivation of these pathogens using these technologies, there was no effect on reducing the microbial contamination analyzed in this study.

Keywords: Nebulization, photodynamic treatment, photosensitizers, pathogens, *Curcuma longa* L.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Falhas durante o processamento do alimento juntamente com um tratamento ineficiente durante a higienização, constituem em um dos maiores problemas relacionados com a contaminação dos alimentos. podem resultar na formação de biofilmes, que corresponde a adesão de microrganismos, incluindo patogênicos, em superfícies de equipamentos (FAILLE *et al.*, 2001; ZHAO *et al.*, 2007). A higienização (limpeza e sanitização) é uma etapa crucial na produção de alimentos seguros, que está diretamente ligado à redução dos riscos biológicos na cadeia produtiva de alimentos, certificando a segurança de produtos alimentícios de qualidade (KAKURINOV, 2014a).

Além da higienização, um fator preocupante para garantia da segurança microbiológica está relacionado às condições do processamento dos alimentos. Neste cenário, alimentos prontos para o consumo (conhecidos também como Ready to Eat – RTE), constituem grande desafio, pois não necessitam ser aquecidos ou processados antes do consumo, e tem aumentado muito sua comercialização. Apesar da facilidade e da comodidade, a contaminação neste tipo de produto pode ocorrer a qualquer momento durante os procedimentos de processamento, podendo ser amplificada por uma longa vida útil dos produtos RTE (HYUN *et al.*, 2020).

O Presunto fatiado constitui um importante alimento pronto para consumo. Apesar de ser um produto cozido, a etapa de fatiamento apresenta grande perigo para o presunto, pois a higienização inadequada da fatiadora, pode resultar na formação de biofilme e conseqüentemente, ocasionar a contaminação do produto por microrganismos patogênicos, como a *Salmonella ssp*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (FAI *et al.*, 2011; JOSEPH, 2001).

Neste contexto, a nebulização, conhecida também como aerossolização, apresenta uma tecnologia promissora para produção de alimentos seguros, podendo ser utilizada tanto na desinfecção ambiental e de equipamentos, quanto para a descontaminação superficial de produtos. Esta tecnologia consiste na dispersão de líquido, geralmente sanitizantes químicos, como uma névoa fina no ar, como tamanho $\leq 5 \mu\text{m}$, possibilitando a redução do volume de solução química, por sua grande difusão e dispersão no ambiente (OH *et al.*, 2005b; MASOTTI *et al.*, 2019a).

A tecnologia de Nebulização tem obtido grande destaque na descontaminação ambiental, principalmente pela cobertura 3D do espaço, evitando assim, recorrentes contaminações nos equipamentos e alimentos (MASOTTI *et al.*, 2019b). Além da

descontaminação ambiental, recentes pesquisas têm demonstrado seu potencial para descontaminação superficial de frutas e vegetais minimamente processados, tanto com o uso de sanitizantes químicos (ácido peracético e solução clorada), mas também, com a aplicação de ácidos orgânicos e óleos essenciais, como a curcumina (OLIVEIRA *et al.*, 2018; OH *et al.*, 2005b; BATTERSBY *et al.*, 2017).

O uso de compostos naturais com ação antimicrobiana, apresenta um importante alternativo ao uso de produtos químicos, pela atual demanda por produtos naturais e mais saudáveis. Além disso, o processo de nebulização pode ser utilizado em combinação com outras tecnologias inovadoras, como a luz UV e o tratamento fotodinâmico, sendo mais uma barreira para inibir/reduzir a contaminação microbiana nos alimentos (GHATE *et al.*, 2013)

O tratamento fotodinâmico é uma tecnologia emergente não térmica em que ocorre a formação de espécies reativas ao oxigênio (ROS) produzidas por um composto fotoativo (fotossensibilizador) após irradiação de luz visível, como o LED, causando danos irreversíveis as células microbianas. Além da ação antimicrobiana, a curcumina é importante fotossensibilizador natural, que absorve comprimento de ondas entre 400 – 500 nm, tendo seu efeito potencializado durante o tratamento fotodinâmico com luz LED azul (470 nm) (JIANG *et al.*, 2013).

Pesquisas envolvendo tratamento fotodinâmico com a curcumina, tem obtido bastante destaque na literatura, apesar de os estudos ainda serem escassos (GHATE *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2015). Neste cenário, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da curcumina nebulizada em combinação com luz de LED azul (470 nm), na inativação da *Salmonella spp.* e *Staphylococcus aureus* em presunto.

2 REFERÊNCIAS

BATTERSBY, T., WALSH, D., WHYTE, P., BOLTON, D. Evaluating and improving terminal hygiene practices on broiler farms to prevent *Campylobacter* cross-contamination between flocks. **Food Microbiology** 64, 1-6,2017.

FAILLE, C., FONTAINE, F., BÉNÉZECH, T. Potential occurrence of adhering living *Bacillus* spores in milk product processing lines. **Journal of Applied Microbiology** 90, 892-900.2001.

FAL, A. E. C.; *Salmonella spp* e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s.l.], v. 16, n. 2, p.657-662, fev. 2011.

GHATE, VINAYAK S. Antibacterial effect of light emitting diodes of visible wavelengths on selected foodborne pathogens at different illumination temperatures. **International journal of food microbiology**, v. 166, n. 3, p. 399-406, 2013.

HYUN, JEONG-EUN; LEE, SUN-YOUNG. Blue light-emitting diodes as eco-friendly non-thermal technology in food preservation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 284-295, 2020.

JOSEPH B.; OTTA S.K.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Biofilm formation by *Salmonella spp.* on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. **International Journal of Food Microbiology** v.64, n.3, p.367-72, 2001.

KAKURINOV, V. **Food safety assurance systems: cleaning and disinfection**.2014a

KUMAR, A., GHATE, V., KIM, M. J., ZHAOU, W., KHOO, G. H., & YUK, H. G. Antibacterial efficacy of 405, 460, and 520 nm light emitting diodes on *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus aureus*, and *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of Applied Microbiology**, 120, 49-56.2015.

LIANG, JI-YUAN. A luz azul induziu radicais livres da riboflavina em danos ao DNA de *E. coli*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 119, p. 60-64, 2013.

MASOTTI, F., CATTANEO, S., STUKNYTĖ, M., DE NONI, I. Airborne contamination in the food industry: An update on monitoring and disinfection techniques of air. **Trends in Food Science & Technology** 90, 147-156.2019.

MASOTTI, F., VALLONE, L., RANZINI, S., SILVETTI, T., MORANDI, S., BRASCA, M. Effectiveness of air disinfection by ozonation or hydrogen peroxide aerosolization in dairy environments. **Food Control** 97, 32-38.2019b.

OLIVEIRA, E. F.; TIKEKAR, R.; NITIN, N. Combination of aerosolized curcumin and UV-A light for the inactivation of bacteria on fresh produce surfaces. **Food Research International**, [s.l.], v. 114, p.133-139, dez. 2018.

OH, S.W., GRAY, P.M., DOUGHERTY, R.H., KANG, D.H. Aerosolization as novel sanitizer delivery system to reduce food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology** 41, 56–60.2005b.

ZHAO, Q., WANG, C., LIU, Y., WANG, S. Bacterial adhesion on the metal-polymer composite coatings. **International Journal of Adhesion and Adhesives** 27, 85-91.2007.

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar o efeito combinado da nebulização com curcumina e o tratamento fotodinâmico com luz de LED azul, na inativação da *Salmonella spp.* e *Staphylococcus aureus* em presuntos cozido fatiados.

3.2. Específico

- Elaborar uma revisão de literatura sobre o uso do processo de Nebulização na indústria de alimento, no tocante ao potencial desta tecnologia para descontaminação ambiental e da superfície de equipamento e dos alimentos;
- Avaliar a efetividade de nebulização com curcumina na inativação do pool de cepas de *Salmonella* (*Salmonella* Typhimurium ATCC14028, *Salmonella* Enteritidis ATCC13076) e do *Staphylococcus aureus* ATCC25923;
- Comparar se existe efeito sinérgico entre a nebulização e a luz LED azul na inativação pool de cepas de *Salmonella* (*Salmonella* Typhimurium ATCC14028, *Salmonella* Enteritidis ATCC13076) e do *Staphylococcus aureus* ATCC25923;

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1. CAPÍTULO I – DESINFECÇÃO POR NEBULIZAÇÃO NO PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS: TENDÊNCIAS ATUAIS E OS PRINCIPAIS PARÂMETROS RELATIVOS À SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

MANUSCRITO ENVIADO PARA TRENDS IN FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

RESUMO:

Experimento: As técnicas convencionais de higienização são eficazes na descontaminação de equipamentos, porém, não resultam em descontaminação completa do ambiente de processamento, e pode resultar em recontaminação recorrente dos equipamentos e comprometer a segurança dos alimentos. Nesse cenário, a tecnologia de nebulização se apresenta como uma técnica complementar aos processos convencionais. A nebulização consiste na dispersão de sanitizantes líquidos na forma de uma névoa fina no ar, possibilitando a cobertura 3D do ambiente e o alcance dos sanitizantes em pontos específicos. Diversos sanitizantes podem ser utilizados, sendo as soluções de cloro, ácido peracético e peróxido de hidrogênio as mais utilizadas. Além da descontaminação de ambientes e equipamentos, essa técnica tem sido utilizada para descontaminação superficial de alimentos, e o uso de antimicrobianos naturais tem ganhado grande destaque. Escopo e abordagem: Esta revisão de literatura visa descrever os principais parâmetros da nebulização, suas vantagens e desvantagens e os efeitos da sua aplicação na descontaminação de salas, equipamentos, redução de biofilmes microbianos, inativação microbiana de alimentos e nos parâmetros de qualidade dos alimentos. Principais descobertas e conclusões: A tecnologia de nebulização se apresenta como uma tecnologia de descontaminação versátil, podendo ser importante ferramenta complementar aos processos de sanitização de equipamentos e ambiente de processamento, ou para descontaminação superficial de alimentos. O sucesso do processo depende de diversos parâmetros: tamanho das partículas dispersas, tempo e concentração de ação dos sanitizantes, umidade relativa e tamanho do ambiente a ser descontaminado na descontaminação ambiental, e do projeto do equipamento. Pesquisas futuras devem ser desenvolvidas para definir e otimizar os parâmetros do processo, a fim de tornar seu uso cada vez mais frequente.

Palavras-chave: Nebulização, sanitização, descontaminação ambiental, método de desinfecção.

ABSTRACT:

Background: Conventional sanitation techniques are effective in decontaminating equipment; however, they do not result in a complete decontamination of the processing environment, which can result in recurrent recontamination of equipment and compromise food safety. In this scenario, fogging technology presents as a complementary technique to conventional processes. Fogging consists in the dispersion of liquid sanitizers as a fine mist in the air, enabling the reach of sanitizers at specific points and a 3D coverage of the environment. Several sanitizers can be used, with chlorine solutions, peracetic acid and hydrogen peroxide being the most used. In addition to the decontamination of environments and equipment, this technique has been used for superficial decontamination of foods, where the use of natural antimicrobials has gained great prominence. *Scope and approach:* This review aims to describe the main parameters of fogging, its advantages and disadvantages and the effects of its application in the decontamination of rooms, equipment, microbial biofilms reduction, microbial food inactivation and on food quality parameters. *Key findings and conclusions:* The fogging technology presents as a versatile decontamination technology and can be an important complementary tool to the equipment cleaning processes and processing environment, or for superficial food decontamination. The success of process depends on different parameters: dispersed particle size, time and concentration of the sanitizers, relative humidity volume of the environment to be decontaminated and the design of the equipment. Future research must be developed to define and optimize the process parameters, to make its use more and more frequently.

Keywords: Aerosolization, sanitation techniques, Airborne decontamination, disinfection method.

4.2. INTRODUÇÃO

A limpeza e desinfecção, ou mais precisamente a higienização, é vista como precedente mais importante na linha de proteção para segurança dos alimentos. Este método está diretamente ligado ao manejo de riscos biológicos na cadeia de produção de alimentos, certificando a segurança de produtos alimentares de qualidade (KAKURINOV, 2014.)

Na fabricação de alimentos, as principais rotas de recontaminação por microrganismos são por meio de contato com a superfície dos equipamentos, com a exposição ambiental (via ar) e/ou através da manipulação. A relação entre essas fontes amplifica significativamente a disseminação da contaminação microbiana nos alimentos, afetando a segurança microbiológica dos alimentos (MASSOTTI *et al* 2019; DEN AANTREKKER, *et al.*, 2003).

Alguns microrganismos têm correlação natural com as superfícies, sendo capaz de se originar na produção de biofilmes (FAILLE *et al.*, 2001; ZHAO *et al.*, 2007). Biofilmes são formados através da deposição e adesão dos microrganismos nas superfícies dos equipamentos. Esse fenômeno, condiz grande obstáculo para indústrias de alimentos e para segurança dos alimentos, visto que a sua retirada é difícil, tornando importante fonte de contaminação (JEFFERSON, 2004).

As técnicas convencionais de higienização, se forem realizadas da forma correta e logo após a produção, são suficientes para eliminar contaminações nos equipamentos e evitar, conseqüentemente, a formação de biofilmes. Contudo, não elimina necessariamente todos os microrganismos presentes no ambiente de processamento, podendo resultar em alguns casos, em uma recontaminação recorrente nas superfícies dos equipamentos e alimentos (CAMPANA, FAGIOLI, CESPI, BONACUCINA, 2017).

Neste cenário, o processo de nebulização (conhecido também como aerossolização), apresenta-se como uma tecnologia promissora para produção de alimentos seguros, podendo ser utilizada como uma técnica adicional aos processos de higienização convencionais. Devido a versatilidade, a nebulização pode auxiliar tanto na descontaminação de equipamentos, de ambientes industriais e no controle de biofilme, mas também, na descontaminação superficial de alimentos (OH, 2005; MASOTTI *et al.*, 2019).

Esta tecnologia consiste na dispersão de sanitizantes líquidos, sendo o ácido peracético e o peróxido de hidrogênio os mais utilizados, na forma de névoa fina no ar

(MASOTTI *et al.*, 2019). A dispersão de névoas finas possibilita a redução do volume de solução química por sua grande difusão e dispersão no ambiente, resultando na cobertura 3D do espaço, sem promover aumento na umidade relativa do ambiente (MASOTTI *et al.*, 2019; BURFOOT *et al.* 1999). Além de desinfetantes químicos, a aerossolização com óleos essenciais e ácidos orgânicos tem ganhado grande destaque para descontaminações superficiais de alimentos, sendo uma alternativa ao uso de produtos químicos (OLIVEIRA *et al.*, 2018; CHOI *et al.*, 2012).

Os usos de desinfetantes químico sob nebulização são conhecidos e muito aplicado na área da saúde para descontaminação de ambientes hospitalares, equipamentos médicos e ambulâncias (ANDERSEN *et al.*, 2016; FU *et al.*, 2012). Recentemente, este processo tem sido estudado e utilizado em câmaras de desinfecção humana, mostrando ser importante alternativa para o combate a COVID – 19 (WICKRAMATILLAKE AND URUKULARATNE, 2020). Além da área da saúde, a nebulização tem se mostrado com uma técnica bastante versátil, sendo utilizada em diferentes setores, para descontaminação: de bibliotecas e arquivos (RAKOTONIRAINY *et al.*, 1999), ambientes laboratoriais (KRISHNAN *et al.*, 2012), sistemas de ar-condicionados (LÓPEZ-GÓMEZ *et al.*, 2013) e no vagão do metrô e materiais relacionados (RICHTER *et al.*, 2018).

Nas indústrias de alimentos, a nebulização tem sido aplicada em ambientes de processamento de alimentos, como em salas de processamento de salada, sanduíche, refeições prontas e em laticínios. Recentemente, pesquisas têm relatado benefícios da tecnologia na descontaminação superficial em alimentos, como frutas e legumes crus ou minimamente processados, sendo importante ferramenta para segurança dos alimentos (OH *et al.* 2005; KIM *et al.*, 2008; KARABULUT *et al.*, 2009).

Contudo, apesar de ser uma técnica conhecida pelo seu potencial de descontaminação, estudos envolvendo a aplicação da nebulização nas indústrias de alimentos ainda são escassos, tendo o seu uso muito aquém do seu potencial. Assim, esta revisão tem como objetivo difundir o processo de nebulização, destacando os principais fatores e parâmetros da tecnologia e seus efeitos na descontaminação de ambientes, equipamentos e alimentos.

4.3. Fundamentos e parâmetros de processo

Na tabela 1 estão apresentados os principais parâmetros inerentes a aplicação da nebulização na descontaminação de equipamento/redução biofilme, da superfície de alimentos e do ambiente de processamento em indústrias de alimentos.

Durante a aplicação da nebulização na descontaminação de equipamento, equipamento/redução biofilme e do ambiente, certas medidas devem ser adotadas principalmente para assegurar a saúde e eficiência da técnica. Antes da aplicação da técnica, deve-se validar os parâmetros do processo de modo a garantir a eficiência desejada (GIBSON *et al.*, 1999; VAID *et al.*, 2010).

Deve-se isolar a área não permitindo a entrada de pessoas, devido ao uso substâncias químicas que podem causar problemas respiratórios e na pele. Além disso, a produção deve ser parada para evitar perigos químicos ao alimento. Outro ponto, é garantir o tempo de aplicação correto para garantir a eficácia da ação química dos sanitizantes nebulizados. O tempo de aplicação é variado e dependente de diferentes fatores, como: o tamanho do ambiente a ser processado, o nível de descontaminação desejada, do design do equipamento e do tipo de sanitizante e a concentração utilizada (NAKATA *et al.*, 2001; THORN *et al.*, 2013). Após a aplicação da nebulização, deve-se aguardar a sedimentação das gotículas dos sanitizantes nebulizados para liberação da área e retorno das atividades no setor. Segundo MASOTTI *et al.*, (2019), a aplicação da técnica geralmente dura entre 15 e 45 minutos, enquanto o período de sedimentação dura a cerca de 45 e 60 minutos.

A eficácia da tecnologia de nebulização depende dos sanitizantes nebulizados (concentração x tempo) e de seu contato com bioaerossóis microbianos do meio ambiente, portanto o diâmetro da partícula é um parâmetro importante, pois afeta a dispersibilidade e permanência dos desinfetantes no meio ambiente. O tamanho irá influenciar na dispersibilidade e permanência dos sanitizantes no ambiente. Assim, os aerossóis produzidos não podem ser muito pequenos, pois permaneceria muito tempo no ambiente acarretando problemas de saúde aos manipuladores e contaminação química nos alimentos, em contrapartida, se as gotículas forem grandes demais, rapidamente se decantariam reduzindo o tempo de permanência no ambiente e a eficácia da técnica. Segundo (KAKURINOV, 2014; BURFOOT *et al.*, 1999) o diâmetro das partículas deve estar entre 10 – 20 μm para obter maior eficácia, contudo Masotti *et al.*, 2019, o diâmetro geralmente utilizado é menor que 5 μm . Na tabela 1, as pesquisas tanto para reduzir os microrganismos aerotransportados viáveis, quanto para descontaminação dos alimentos, o diâmetro de partícula aplicado variou entre 0,5 e 42 μm .

Tabela 1. Principais parâmetros da Nebulização para descontaminação de alimentos, de equipamentos e ambientes de processamento.

Alvo de descontaminação	Diâmetro de partícula (μm)	Produto de concentração (mg.L^{-1})	Tempo (min)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Humidade relativa (%)
Alimento	0,5 – 42 μm	<ul style="list-style-type: none"> - Ácido peracético: 10 – 40 ppm - Peroxido de hidrogênio: 40 ppm - Curcumina acidificada: 100 mg.L^{-1} - Hipoclorito de sódio: (0, 750 - 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$) - Dióxido de cloro: 100 -400 ppm - Etanol: (20 - 40 %) - Ácido málico: (0.25, 0.5, 1 and 2%) - Ácidos fenólicos: 1% 	5 – 100 min	Temperatura ambiente ($<30^{\circ}\text{C}$)	—
Equipamento/Redução biofilme	5,42 – 11, 42 μm	<ul style="list-style-type: none"> - Ácido peracético: (100 - 400 ppm) - Peroxido de hidrogênio: (0,25 - 5%) - Hipoclorito de sódio: (100 ppm) 	0 – 60 min	$\geq 24^{\circ}\text{C}$	$> 70\%$
Ambiente de processamento	2 - 15 μm	<ul style="list-style-type: none"> - Ácido peracético: (45 – 100.000 mg.L^{-1}) - Peroxido de hidrogênio: (8800 – 50.000 ppm) - Peroxido de hidrogênio com 0,005 % de prata: (35 – 90 ppm) - Digluconato de clorexidina: (1.000 - 2.000 mg.L^{-1}) - Quaternário de amônio: (700 and 1200 mg.L^{-1}) 	10 – 1020 min	$\geq 25^{\circ}\text{C}$	68 - 90 %

4.4. Aplicação de nebulização na indústria de alimentos

Os procedimentos de higienização são considerados uma etapa crucial na produção de alimentos seguros, por isso devem ser rigorosamente monitorados, pois são essenciais para o sucesso da implementação de sistemas de qualidade, como o HACCP. No entanto, um alimento ainda pode representar risco para o consumidor, mesmo com as melhores medidas de controle implementadas (DEN AANTREKKER *et al.*, 2003). Assim, a nebulização constitui uma técnica complementar aos métodos convencionais de desinfecção, visando reduzir e/ou prevenir a contaminação dos alimentos, garantindo a segurança microbiológica do alimento. Diversos estudos relatam a utilização do processo de nebulização em diferentes setores produtivos, tais como: indústrias de bebidas e laticínios, culinária e produtos hortícolas, visando à descontaminação de superfícies de aço inoxidável, ambientes de processamento e superfícies de alimentos.

Na tabela 2 são apresentados estudos publicados sobre a inativação de cepas bacterianas em diferentes hortifrúteis, sobre nebulização de sanitizantes. Enquanto na tabela 3 estão apresentadas pesquisas envolvendo a aplicação da nebulização na desinfecção de equipamentos e de ambientes. Nas tabelas, podem ser observados os principais destaques na aplicação desta tecnologia nos diferentes objetivos, como: o tempo utilizado sobre nebulização, sanitizantes empregados, a eficácia na redução de log dos microrganismos, microrganismos analisados, diâmetro de partícula dos sanitizantes aplicados, umidade relativa, e principais resultados obtidos.

Nas tabelas, podem ser observados que os principais sanitizantes químicos utilizados foram o dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e hipoclorito de sódio. De forma geral, esses sanitizantes demonstraram resultados interessantes para a redução de diversos microrganismos, como em microrganismos indicadores (bactérias mesofílicas totais, *Enterobacteriaceae*, bolores e leveduras), patógenos importantes (*E. coli* O157: H7, *S. Typhimurium.*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus* e *Campylobacter* spp) entre outros. Além do uso de sanitizantes químicos, pesquisas recentes relataram que antimicrobianos naturais, como ácido málico, ácido láctico, óleos essenciais e solução de curcumina acidificada, apresentam como alternativa eficaz para desinfetantes químicos na descontaminação da superfície de alimentos (CHOI *et al.*, 2012; COSSU *et al.*, 2018; SEONG *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.* 2018).

É importante ressaltar que, esta tecnologia é eficaz em regiões de superfícies voltadas para cima, mas, não em vertical ou superfícies voltadas para baixo, uso de desinfetantes mais agressivos, por exemplo formulações de ácido peracético ou aldeído conseguem também somar o efeito de desinfecção em superfícies verticais (BURFOOT *et al.*, 1999). Materiais de alumínio puro, aço inoxidável e ferro estanhado são resistentes ao ácido peracético; no entanto, aço comum, ferro galvanizado, cobre, latão e bronze são suscetíveis à corrosão (SCHRODER, 1984).

Tabela 2. Efeitos da nebulização na inativação microbiana e/ou nos parâmetros de qualidade dos alimentos.

Inativação de microrganismos alvo	Parâmetros de qualidade	Alvo alimentar	Condições de ensaios e processos	Principais resultados e conclusões	Referência
- <i>Erwinia carotovora</i> subspecies <i>Carotovora</i> **	-----	Batata-doce e batata	Avaliação da nebulização (3 - 7 µm) com 1% de iprodione, na prevenção de deterioração microbiana após 5 meses de armazenamento (13°C e 90% RH).	Os resultados mostraram que esta técnica pode ser eficaz para culturas adicionais e contra outros patógenos.	Afek <i>et al.</i> (1999)
- <i>E. coli</i> O157:H7 ATCC (35150; 43889; 43890), - <i>S. Typhimurium</i> ATCC (19585; 43174; 363755), - <i>L. monocytogenes</i> ATCC (19114; 19113; 7644)	-----	Folhas de alface americana	Avaliação da aerossolização (5,42 a 11,42 µm; 22°C) com PAA (40 ppm) por 10, 30 ou 60 min	Os resultados demonstraram eficiência do processo, em que a aerossolização promoveu reduções de 0,8, 0,3, 3,5 logs (10 min); 2,2, 3,3, 2,7 logs (30 min); 3,4, 4,5, 3,8 logs (60 min) para cepas de <i>E. coli</i> O157: H7, <i>S. Typhimurium</i> e <i>L. monocytogenes</i> , respectivamente.	Oh <i>et al.</i> (2005)
- <i>L. monocytogenes</i> (ATCC 7644, ATCC 19114, ATCC 19115) - <i>S. Typhimurium</i> (ATCC 19585, ATCC 43971, ATCC 363755) - <i>E. coli</i> O157:H7 (ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43890)	-----	Alface de folhas	Avaliação da influência do tamanho da partícula da nebulização (10, 30, 60 min; 22°C) com NaClO (200 ppm) na redução de patógenos de origem alimentar em folhas de alface. A nebulização foi realizada utilizando 2 frequências (1,6 e 2,4 MHz), e o diâmetro médio das partículas foram 12,77 e 8,21 µm, respectivamente.	O tamanho da partícula influenciou diretamente na redução microbiana. A nebulização com 1,6 MHz a 60 min, resultou na redução de 1,7, 0,6, 0,8 log para <i>E.coli</i> , <i>L.monocytogenes</i> e <i>S. Typhimurium</i> , enquanto com 2,4 MHz a 60 min, a redução foi de 1,8, 0,9, 1,1 log, respectivamente.	Kim <i>et al.</i> , (2008)
- Bactérias totais - Fungos	Qualidade visual e sabor	Figo preto	Avaliação da nebulização com ClO ₂ , sob diferentes condições (1,2 µm; 0, 300, 500, 1000 µL.L ⁻¹ com 1,5 L ClO ₂ por 60 min a temperatura ambiente) para o controle de doenças pós-colheita de figo preto.	Todos os tratamentos reduziram significativamente a população de fungos e bactérias no ar da estocagem e nos frutos. Não foram observadas alterações na qualidade dos frutos. Reduções de, pelo menos 1 log foi	Karabulut <i>et al.</i> (2009)

				observado para nebulização com 1000 $\mu\text{L.L}^{-1}$ de ClO_2).	
- Bactérias totais e Fungos	Qualidade visual do sabor	Doce 'Charlie' e Cultivares de morango 'Yalova-9';	Avaliação da nebulização (60 min; 1.2 μm) com diferentes sanitizantes sob diferentes concentrações (20, 30, 40 % para ET e 0, 750, 1000, 1500 e 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$ para ClO_2 , NaClO , H_2O_2 e ácido cítrico) para o controle microbiológico de morangos estocados (1 °C por 5 dias, crescidos de 2 dias a 20 °C).	A nebulização com os sanitizantes foram eficazes na redução de doenças pós-colheita. Os melhores resultados foram obtidos com o H_2O_2 e NaClO a 2000 $\mu\text{L.L}^{-1}$, e os danos foram reduzidos para 14,5% e 32,5%, respectivamente, quando comparado ao controle (83,2 % de dano). Nenhum dos tratamentos afetou a qualidade visual e o sabor da fruta (via escala hedônica).	Vardar <i>et al.</i> (2012)
- <i>L. monocytogenes</i> (ATCC 7644, ATCC 19114, ATCC 19113) - <i>S. Typhimurium</i> (ATCC 19585, ATCC 43971, DT 104) - <i>E. coli</i> O157:H7 (ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43890)	Cor	Espinafre e Alface	Avaliação da eficiência do ácido málico nebulizado (5.42 - 11.42 μm), sob diferentes condições (0.25, 0.5, 1 e 2% (w/v); 10, 30, 50, e 100 min; 22 °C), para inativação de patógenos de origem alimentar.	Aerossolização com ácido málico (2% por 100 min), mostrou-se eficaz na redução da contaminação. Para o espinafre, a redução foi de 3.35, 4.10, 3.67, enquanto para a alface foi de 3.85, 5.02, 3.35 logs, para <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. Typhimurium</i> , and <i>E. coli</i> O157:H7, respectivamente. Não houve diferença significativa na cor para as amostras aerossolizadas e a controle.	Choi <i>et al.</i> , (2012)
- <i>E. coli</i> O157:H7*	-----	Folhas de espinafre	Avaliação da eficiência da aerossolização (protótipo e sistema de aumento de escala) de antimicrobianos (AIT; H_2O_2 ; AA; LA) na redução microbiana, aplicados isoladamente ou em combinação (sob diferentes concentrações) após a lavagem 3 % de H_2O_2 em baby espinafre sob armazenamento de refrigeração (4°C/10 dias).	Os resultados demonstraram que após a lavagem com 3% de H_2O_2 , a aerossolização (sistema de protótipo) por 2 minutos com 2,5% LA + 1% AIT ou 2,5% LA + 2% AIT, resultaram, respectivamente, na redução de 4,7 e > 5 log UFC/g da <i>E. coli</i> O157: H7, após 10 dias de estocagem. No sistema de scale-up, foi observada redução de até 4 log, sem causar efeito visual adverso nas folhas.	Huang <i>et al.</i> (2012)

<p>- Mesofilos - Contagem de leveduras e bolores</p>	<p>-Antocianinas totais - Fenólicos totais - Vitamina C - Capacidade antioxidante</p>	<p>Morango</p>	<p>A Metodologia de Superfície de Resposta foi usada para otimizar as condições de desinfecção por nebulização (0.5–8 µm; 3.4, 20.0, 60.0, 100.0 e 116.6 mL sanitizante .L⁻¹ câmara de ar -16 L; for 5.7, 15, 37.5, 60 e 69.3 min) com uma mistura de santizantes (5% de PAA + 20% de H2O2), sem afetar a qualidade de morango. Os frutos foram analisados no dia 0 (imediatamente após a nebulização) e após 7 dias de estocagem a 2°C.</p>	<p>Dependendo da condição da nebulização, modificações indesejáveis, em diferentes intensidades, são observadas. A otimização das condições (10.1 mL sanitizante.L⁻¹ câmara de ar por 29.6 min) foi determinada com base em reduções microbiológicas apropriada (2 log), retenções máximas de compostos bioativos e mudanças mínimas de cor parâmetros.</p>	<p>Velde <i>et al.</i> (2016)</p>
<p>-----</p>	<p>- Sólidos solúveis (°Brix) - Perfil de compostos fenólicos</p>	<p>Morango</p>	<p>A Metodologia de Superfície de Resposta foi usada para avaliar o impacto da nebulização (0.5–8.0 µm; 24°C; 3.4, 20, 60, 100 e 116.6 mL L⁻¹ câmara de ar com -16L; 5,7, 15,0, 37,5, 60,0 e 69,3 min) com mistura de sanitizantes (5% de PAA + 20% de H₂O₂) no perfil de compostos fenólicos.</p>	<p>A nebulização com PAA afetou o perfil de compostos fenólicos dos morangos. Em relação a intensidade, as antocianinas são mais vulneráveis à oxidação, seguido pelo Proanthocyanidins, derivados do ácido hidroxicinâmico e a elagitanina Sanguin H-6.</p>	<p>Velde <i>et al.</i> (2016)</p>
<p>-<i>E. coli</i> O157: H7 (ATCC 43895, ATCC 35150, ATCC 43894) -<i>S. Typhimurium</i> (ATCC 19585, ATCC 6994, ATCC 14028) -<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 7644, ATCC 19111, ATCC 19115)</p>	<p>-----</p>	<p>Alface</p>	<p>Avaliação do ácido málico (2%) em aerossol (5,42-11,42 µm) por 20 min e UV-C (15W, 254 nm) por 30 min, em alface (10g) que foram inoculados com três cepas de cada patógeno, temperatura de 22 ± 2°C.</p>	<p>Os resultados (ácido málico nebulizado após UV-C) foi o mais eficaz na redução de <i>E. coli</i> O157: H7, <i>S. Typhimurium</i> e <i>L. monocytogenes</i> e resultaram em redução de 2,89, 1,38 e 2,95 log₁₀ UFC / g.</p>	<p>Seong <i>et al.</i>, (2017)</p>
<p>- <i>E. coli</i> O157:H7 (ATCC 43895) - <i>S. Typhimurium</i> (KCTC 2515) - <i>L. monocytogenes</i> (ATCC 4244)</p>	<p>Cor</p>	<p>Cenouras lavadas</p>	<p>Avaliação da efetividade de ClO₂ nebulizado sob diferentes condições (100, 200, 300, e 400 ppm for 5, 10, e 30 min) na redução e determinação do valor D de microrganismos, em cenouras lavadas.</p>	<p>ClO₂ nebulizado (400 ppm/30 min) resultou na redução de patógenos em até 2,4 log. For 400 ppm, o valor D foi 13, 14, e 15 min para <i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. Typhimurium</i>, and <i>L. monocytogenes</i>, respectivamente. Para todas as condições tratadas, nenhum defeito na aparência e descoloração foram observados</p>	<p>Cho <i>et al.</i> (2017)</p>

- <i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 700728, - <i>L. innocua</i> ATCC 33090	Cor e Textura	Superfície de espinafre, alface e tomate	Avaliação do efeito combinado da curcumina acidificada (AC - 100 mg.l ⁻¹ ; pH 3.0) depositada (via aerossolização x spray atomization) com a luz UV-A (20,4 kJ m ⁻² after 5 min). Primeiramente, as amostras foram pré-expostas a deposição da AC por 10 min e, em seguida, expostas à combinação da deposição com a luz UV-A por 5 min a 25 °C.	Os resultados mostraram que a combinação de AC depositada (via aerossolização x spray) e luz UV-A, resultou na inativação, de aproximadamente, 3 log para ambos alvos microrganismos, sem afetar significativamente a cor e a textura dos produtos.	Oliveira <i>et al.</i> (2018)
- <i>E. coli</i> O157: H7 (ATCC 700728) - <i>L. innocua</i> (ATCC 33090)	Textura, cor	Produtos frescos	Avaliação da interação sinérgica de ácidos fenólicos (ácido gálico 1% e ferúlico 1%) por aerossolização e luz UV-A, descontaminação de duas cepas inoculadas (7 × 10 ⁸ UFC/mL e 1,5 × 10 ⁹ UFC/mL para <i>E. coli</i> e <i>L. Innocua</i>) em produtos frescos (espinafre).	Resultados mostram que a combinação da deposição de ácidos sobre aerossolização com a exposição à luz UV-A, resulta na redução de 1,5–2 log UFC / cm ² .	Cossu <i>et al.</i> , (2018)
_____	Antibrowning	Cogumelo s	Avaliação da atuação da nebulização e imersão em cogumelos na inibição do escurecimento durante o armazenamento, com ácido ascórbico a 5%, metabissulfito de sódio 1%, L-cisteína a 5%, durante 10 min, em temperatura ambiente (25°C), produzindo neblina gotículas com diâmetro de 1,5 a 5,7µm.	A nebulização alcançou a inibição de escurecimento do que a imersão. Exigindo quantidade significativamente menor de solução nos cogumelos.	Ojeda <i>et al.</i> ,(2019)
- <i>S. Typhimurium</i> (ATCC 53647,53648) - <i>L. innocua</i> (ATCC 33090, ATCC 51742, ATCC BAA680)	_____	Tomate, Maçã, Melão, Alface	Avaliação da ativação do plasma frio, atinge o peróxido de hidrogênio (7,8%) em aerossol, contra duas cepas (0,27 ± 8 log UFC), inoculadas em superfícies de hortifrúti	Resultados de aerossóis de H ₂ O ₂ , reduziram as populações de <i>Salmonella</i> (1,54–3,17 log UFC), enquanto H ₂ O ₂ com plasma frio alcançou reduções de <i>Salmonella</i> (2,35–5,50 log UFC), <i>Listeria</i> (5 log UFC)	Song <i>et al.</i> , (2020)

* *Isolado de surto de broto, courtesy of Dr. Kniel, University of Delaware; DD 3795, Dupont culture collection, courtesy of Dr. Joerger, University of Delaware*

** *Microrganismo isolado e identificado a partir da própria pesquisa*

AIT, AA, LA, PAA, H₂O₂, NaClO, ClO₂, ET, DGCL, QA representam, respectivamente, o isotiocianato de alilo, ácido acético, Ácido lático, ácido peracético, peróxido de hidrogênio, hipoclorito de sódio, dióxido de cloro, Etanol, digluconato de clorexidina e quaternário de amônio

Tabela 3. Efeitos da nebulização química na descontaminação de ambientes, equipamentos e redução de biofilmes microbianos.

Inativação de microrganismos alvo	Alvo de descontaminação	Condições de ensaio e processos	Principais resultados e conclusões	Referências
- <i>Listeria monocytogenes</i> -Bactérias totais (isolada)	Áreas de processamento do Salmon (equipamentos e ambiente)	Avaliação dos efeitos da higienização sobre aerossolização (15mm) com; peróxido de hidrogênio (15-30%), ácido peracético(5%) e ácido acético (5-15%) em comparação a higienização convencional, em sala fechada. Placas de Petri foram expostas por 2h, para contagem de colônias.	Os resultados após a higienização, paralelamente, as porcentagens de amostras com 104 UFC por local de amostragem diminuiu para 1 a 29% sobre aerossolização.	Bagge-Ravn <i>et al.</i> ,(2002)
-Bactérias aeróbicas mesofílicas - Leveduras e bolores	Áreas de processamento de Laticínio (fabricação de queijo; manteiga e doce de leite, embalagem de leite)	Avaliação da pulverização (Para cada 30 m ² , 0.5 L de soluções desinfetantes em 9 Kgf.cm ⁻¹ in 10 min; 25 °C) com DGCL (1.000 e 2.000 mg.L ⁻¹ ; pH = 5,2 e 5,3), PAA (45 e 75 mg.L ⁻¹ , pH = 4.2 e 3.8), QA (700 e 1200 mg.L ⁻¹ , pH = 9.2 e 9.3) no controle microbiológico em áreas de processamento de leite após 0.5, 12 e 24 h.	Para fungos e leveduras, foi observado a redução de 1,5 log para 0,45 log com aplicação de DGCL (2000 mg.L ⁻¹) e de 1,3 log para 0,5 log, para o QA (700 mg.L ⁻¹). Para contagem de bactérias, a aplicação com 45 mg.L ⁻¹ of PAA foram eficazes reduzindo 2.1 log for 0.55 log.	SALUSTIAN O <i>et al.</i> (2004)
- <i>B. cereus</i> W-2, - <i>L. innocua</i> (ATCC 33090), - <i>S. Typhimurium</i> (ATCC 363755) - <i>S. aureus</i> (ATCC 49444)	Comercial semitrailer (14.6 x 2.6 x 2.8 m)	Avaliação da eficiência da aerossolização (1 h; < 2 µm) com PAA (1800 ppm) e H ₂ O ₂ (8800 ppm), em placas de Petri contaminadas com diferentes culturas, sob diferentes orientações espaciais no semi-trailer.	Reduções microbianas, em média, de 3.09; 7.69; 6.93; 8.18 logs para <i>B. cereus</i> , <i>L. innocua</i> , <i>S. aureus</i> , e <i>S. Typhimurium</i> , respectivamente.	Oh <i>et al.</i> (2005)
-Bactérias totais	Áreas de processamento de Laticínio (paredes, tetos, equipamentos, ventilação)	Avaliação da desinfecção por nebulização com alquilamina (0-5%) / ácido peracético (0-2%), nas áreas de processamento laticínio, por suspensão bacteriana em placa.	Os resultados do estudo caracterizaram os microrganismos presentes após a limpeza a nebulização desinfecção. A fixação e a resistência aos desinfetantes.	Bore <i>et al.</i> , (2005)

<p>- <i>E. coli</i> O157:H7 (ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43890), - <i>S. Typhimurium</i> (ATCC 19586, ATCC 43174, DT104), - <i>L. monocytogenes</i> (ATCC 7644, ATCC 19114, and ATCC 19115)</p>	<p>Superfície de aço (tipo 304, 5 x 2 cm, n.º. 4)</p>	<p>Investigação do efeito da aerossolização (5.42 - 11.42 µm) com H₂O₂ (0,25% e 0,5%; 0-60 min) nas taxas de sobrevivência de microrganismos em superfícies de aço inoxidável</p>	<p>A aerossolização com H₂O₂ foi eficaz na redução contaminação. Para todos os patógenos, o limite de detecção (1 log) foi atingido após 60 min de processo a 0,25%, enquanto para 0,5 %, os limites foram atingindo após: 15 min para <i>E.coli</i> O157:H7; 20 min para <i>S. Typhimurium</i> e 30 min para <i>L. monocytogenes</i>.</p>	<p>Choi <i>et al.</i> (2012)</p>
<p>- <i>E. coli</i> O157:H7 (ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43890) - <i>S. Typhimurium</i> (ATCC 19586, ATCC 43174, DT 104) - <i>L. monocytogenes</i> (ATCC 7644, ATCC 19114, ATCC 19115)</p>	<p>Biofilme em superfície de aço inoxidável (no. 4 grade) e PVC</p>	<p>Determinação do efeito da aerossolização (5.42 - 11.42 µm; 22°C) com NaClO (100ppm), PAA (100, 200 e 400 ppm) por 5, 10, 30, e 50 min, na redução do biofilme bacteriano (10⁷- 10⁸ CFU/ml - mix de culturas) formados em aço inoxidável e PVC.</p>	<p>Para aplicação com 200 e 400 ppm de PAA as células de biofilme foram reduzidas para abaixo do limite de detecção (1,48 log; redução de pelo menos 5 log), após 10 para cepas de <i>E. coli</i> O157:H7 e <i>S. Typhimurium</i> e 30 min para <i>L. monocytogenes</i>, em comparação ao controle.</p>	<p>Park <i>et al.</i> (2012)</p>
<p>- <i>B. atrophaeus</i> (ATCC 9372) - <i>G. stearothermophilus</i> (ATCC 12980)</p>	<p>Pilot-scale (24 m³) stainless steel chamber</p>	<p>Avaliação da eficácia esporicida da nebulização do H₂O₂/PAA (PAA - 22% H₂O₂/4.5% PAA; 24°C) sob diferentes condições: Quantidade de PAA aerossolização (30 – 80 mL), tempo (2 – 17 h) e umidade relativa (68 – 88%).</p>	<p>A nebulização com PAA se mostrou eficaz na esporicida do ambiente, obtendo a redução de 2.64 e 4.78 logs, para parede e piso da câmara, respectivamente.</p>	<p>Wood <i>et al.</i> (2013)</p>
<p>- <i>Enterobacteriaceae</i> - <i>Campylobacter spp.</i> (Isolados)</p>	<p>Granja de Frangos</p>	<p>Avaliação peroximonossulfato de potássio, ácido sulfâmico e cloreto de sódio (5%, v/v) ou glutaraldeído e amônio (0,3%, v/v), por nebulização, realizando contagem de <i>Enterobacterias</i> e isolamento de <i>Campylobacter spp.</i></p>	<p>A Nebulização de peroximonossulfato de potássio, ácido sulfâmico e cloreto de sódio (5%, v/v) ou glutaraldeído e amônio (0,3%, v/v) foram os tratamentos mais eficazes na limpeza e desinfecção.</p>	<p>Battersby <i>et al.</i> (2017)</p>

<p>- <i>Total bacteria</i> - * <i>Cladosporium spp.</i>, <i>Alternaria spp.</i>, <i>Penicillium spp.</i>, <i>Cryptococcus spp.</i>, <i>Debaryomyces spp.</i>, <i>Bulleromyces spp.</i>, <i>Sporobolomyces spp.</i></p>	<p>Ar interno da indústria de laticínios (fabricação, armazenamento e embalagem de queijo)</p>	<p>Comparação do efeito da sanitização por ozonização (quociente de vazão= 40 L min⁻¹ - 1.5 g ozone/h) e aerossolização (<15 µm) com H₂O₂ (5-15%; 1 mL.m⁻³) na carga microbiana do ambiente fábrica de laticínios.</p>	<p>Tanto a aerossolização quanto a ozonização foram técnicas eficazes na inativação de microrganismos presentes no ar.</p>	<p>Masotti <i>et al.</i> (2018)</p>
<p>- <i>L. monocytogenes</i>**</p>	<p>Whole room simulando uma sala de processamento de alimentos (36 m³)</p>	<p>Avaliação da nebulização com 5 % de H₂O₂ contendo 0,005 % de prata, sob diferentes condições (35-90 ppm H₂O₂; 53-123 min; 13.5-18.5 °C; máx 90% RH) para controle da <i>L. monocytogenes</i> (em superfícies de aço inoxidável secas - AISI 304) presente em uma sala simulando um ambiente industrial.</p>	<p>Os resultados a eficiência da nebulização no controlar <i>L. monocytogenes</i>. Para todas as combinações do processo (H₂O₂ %, time, temperature) foi observada a redução > 5 log da <i>L. monocytogenes</i> em queda surface, enquanto para <i>L. monocytogenes</i> em superfície seca, a redução variou em 3,5 e >5 logs, dependendo da combinação utilizada</p>	<p>Møretrø <i>et al.</i> (2019)</p>

* *Bolores e leveduras isolados de fábrica de laticínios de ar interno*

** 4 cepas de *L. monocytogenes*: MF4536 (ST9) and MF5634 (ST121) de indústria de carne e MF5259 (ST7) e MF3949 (ST8) da indústria de salmão. Todas as cepas eram de Møretrø *et al.* (2017) e anteriormente havia sido encontrado para persistir em fábricas de processamento de alimentos PAA, H₂O₂, NaClO, DGCL, QA representam, respectivamente, ácido peracético, peróxido de hidrogênio, hipoclorito de sódio, digluconato de clorexidina e quaternário de amônio.

4.5. Vantagens e Desvantagens

Conforme demonstrado nas Tabelas 2 e 3, diversos estudos vêm comprovando os benefícios da nebulização como ferramenta adicional para a produção de alimentos seguros. Além disso, a técnica apresenta grande versatilidade de uso, pois pode ser utilizada para diversos fins como, por exemplo, para descontaminação ambiental de áreas de processamento de alimentos, equipamentos e para descontaminação superficial de alimentos (KAKURINOV, 2014b; MASOTTI, CATTANEO, *et al.*, 2019). Dentre essas, podendo citar outras vantagens, como:

- ✓ Possibilidade de utilização de diversos sanitizantes, abrangendo amplo espectro de ação antimicrobiana;
- ✓ Possibilidade de utilização de substâncias antimicrobianas naturais (como óleos essenciais e ácidos orgânicos), ao invés de soluções químicas;
- ✓ Cobertura 3D do meio ambiente, permitindo amplo alcance atingindo locais que o saneamento convencional não consegue;
- ✓ Inativação de Microrganismos do ambiente, reduzindo possibilidades de recontaminação de equipamentos, após higienização, e nas superfícies de alimentos;
- ✓ Baixo consumo de sanitizantes, pela aplicação na forma de névoas finas;
- ✓ Aplicação em diferentes áreas de processamento, se o equipamento for portátil;
- ✓ O calor pode ser utilizado durante a aplicação, podendo ter efeito combinado entre a ação do sanitizante e o calor (observar se o calor não afetará a eficiência da ação do sanitizante);
- ✓ Aerossol seco, evitando aumento da umidade relativa do ambiente

Contudo, a técnica apresenta algumas desvantagens, como:

- ✓ Ser uma técnica complementar às técnicas convencionais, não podendo substituir as técnicas convencionais de higienização (CIP e COP, por exemplo)
- ✓ Durante e após a aplicação da técnica, a área deve ser isolada para evitar riscos à saúde dos manipuladores e agravos químicos aos alimentos, causando paradas na produção;

- ✓ Custo adicional para aquisição do equipamento;
- ✓ Falta de eficácia da técnica na descontaminação de superfícies voltadas para baixo.

4.6. Perspectivas e desafios

A tecnologia de nebulização/aerossolização é uma técnica definida como dispersão de líquido em forma de nevoa fina no ar. Estudos vêm certificando seus benefícios na higienização, afins de reduzir os riscos microbianos voltados para área alimentícia, no qual a higienização convencional de equipamentos e ambientes industriais, não consegue atingir pontos específicos, que as pequenas partículas aerossolizadas conseguem alcançar. No entanto, a higienização por nebulização se torna uma medida complementar a higienização e não uma técnica substituta.

Como abordado acima, vários estudos realizados sobre nebulização, na desinfecção de ambientes industriais (MORETTO *et al.*, 2019; WOOD *et al.*, 2013), superfícies de equipamentos (PARK *et al.*, 2012; CHOI *et al.*, 2012), hortifrúti, morangos, alface, espinafre, batata, figo (VELDE *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2018; KARABULUT *et al.*, 2009; AFEK *et al.*, 1999), apontou a efetividade da técnica em diferentes planos amostral.

O que diz respeito a nebulização, existem vários critérios importantes que devem ser abordados antes de ser submetido a técnica, como: avaliar o desinfetante a ser aplicado, a concentração do desinfetante em questão, a amostra higienizada, podendo ser, um alimento, equipamento/utensílios, ambientes, dentre outras. Importante em ambientes mensurar o tamanho da sala, adaptação dos sistemas de distribuição de nevoa fina, tempo de exposição ao nevoeiro. São múltiplos fatores a serem abordados antes de expor ao nevoeiro.

A nebulização dispõe como vantagens em relação a outras técnicas de higienização antimicrobianas, inclui ser eficaz, pois suas gotículas podem alcançar lugares que a higienização convencional não consegue atingir, como rachaduras e biofilmes que impedem o contato do desinfetante com patógenos, sendo grande preocupação para as indústrias de alimentos.

Aplicável à desinfecção superficial de alimentos, embalagens de alimentos ou instalações de alimentos, eficiente em determinado espaço no menor tempo hábil de desinfecção, e econômico, devido a quantidade significativamente menor de desinfetantes

químicos e naturais, Oliveira *et al.* 2018, indica o uso de curcumina na inativação de microrganismo em hortifrúti. Além disso, a técnica se torna menos agressiva do que a imersão a desinfetantes, não impactando na qualidade alimentar, sendo uma alternativa para procedimentos de descontaminação.

A nebulização é bastante promissora para *ready-to-eat* (RTE) e para produtos de panificação e seus respectivos ambientes de processamento. Apesar dos avanços tecnológicos e na implementação de medidas de prevenção de contaminações, os produtos RTE, principalmente os RTE à base de carnes, apresentam grande perigo por causa dos casos de surtos alimentares, envolvendo esse grupo de alimentos. Desta forma, o controle durante o processamento deve ser rigoroso a fim de evitar contaminações (HYUN *et al.*, 2020).

Produtos de panificação, como bolos e pães, são bastante perecíveis pela contaminação pós-cozimento por bolores, principalmente do ambiente de processamento. Para evitar essa contaminação e aumentar a vida útil do produto, a indústria de panificação utiliza diversos conservantes químicos, como benzoato de sódio, sorbato de potássio e propionato de cálcio. Nesse contexto, com a atual tendência de saudabilidade e a não utilização de aditivos químicos, a nebulização com antimicrobianos naturais, pode ser excelente alternativa para a produção de produtos de panificação sem conservantes e com prazo de validade aceitável. Na área de panificação, a técnica pode ser aplicada tanto para descontaminação ambiental, visando a eliminação de esporos de fungos no ar, quanto para descontaminação superficial dos produtos de panificação antes do empacotamento.

Em grande medida, essa técnica estende novos “caminhos” para as indústrias alimentícias, não exclusivamente higieniza o produto com segurança ou ambiente industrial, mas também garante os atributos de qualidade dos produtos alimentícios, comprovando a efetividade em diversas áreas no setor alimentício.

4.7. Conclusão

A produção de alimentos seguros e com *shelf life* estendido corresponde um dos principais desafios para indústria de alimentos, ainda mais com a atual tendência em produzir alimentos sem uso de conservantes e com o mínimo de processamento. Neste contexto a nebulização apresenta como técnica promissora complementar as técnicas de higienização convencional. Sua versatilidade e eficiência na descontaminação de ambientes, equipamentos e alimentos, constitui uma das suas principais vantagens. Mais

pesquisas são necessárias para avaliar de forma abrangente o impacto de parâmetros como tipo e concentração dos produtos químicos, tempo de aplicação, umidade relativa, temperatura e volume de área processada.

4.8. REFERÊNCIAS

AFEK, U., ORENSTEIN, J., NURIEL, E. Fogging disinfectants inside storage rooms against pathogens of potatoes and sweet potatoes. **Crop Protection** 18, 111-114.1999.

ANDERSEN, B., RASCH, M., HOCHLIN, K., JENSEN, F.-H., WISMAR, P., FREDRIKSEN, J.-E. Decontamination of rooms, medical equipment and ambulances using an aerosol of hydrogen peroxide disinfectant. **Journal of Hospital Infection** 62, 149-155.2006.

BAGGE-RAVN, D., GARDSHODN, K., GRAM, L., VOGEL, B.F. Comparison of sodium hypochlorite-based foam and peroxyacetic acid-based fog sanitizing procedures in a salmon smokehouse: survival of the general microflora and *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection** 66, 592-598.2003.

BATTERSBY, T., WALSH, D., WHYTE, P., BOLTON, D. Evaluating and improving terminal hygiene practices on broiler farms to prevent *Campylobacter* cross-contamination between flocks. **Food Microbiology** 64, 1-6.2017.

BURFOOT, D., HALL, K., BROWN, K., XU, Y. Fogging for the disinfection of food processing factories and equipment. **Trends in Food Science & Technology** 10, 205-210.1999.

CAMPANA, R., CASETTARI, L., FAGIOLI, L., CESPI, M., BONACUCINA, G., BAFFONE, W. Activity of essential oil-based microemulsions against *Staphylococcus aureus* biofilms developed on stainless steel surface in different culture media and growth conditions. **International Journal of Food Microbiology** 241, 132-140.2017.

CHO, J.-L., KIM, C.-K., PARK, J., KIM, J. Efficacy of aerosolized chlorine dioxide in reducing pathogenic bacteria on washed carrots. **Food Science and Biotechnology** 26, 1129-1136. 2017.

CHOI, M.-R., LEE, S.-Y., PARK, K.-H., CHUNG, M.-S., RYU, S., KANG, D.-H. Effect of aerosolized malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, and *Escherichia coli* O157: H7 on spinach and lettuce. **Food Control** 24, 171-176. 2012.

CHOI, N.-Y., BAEK, S.-Y., YOON, J.-H., CHOI, M.-R., KANG, D.-H., LEE, S.-Y. Efficacy of aerosolized hydrogen peroxide-based sanitizer on the reduction of pathogenic bacteria on a stainless steel surface. **Food Control** 27, 57-63. 2012.

COSSU, A., HUANG, K., COSSU, M., TIKEKAR, R.V., NITIN, N. Fog, phenolic acids and UV-A light irradiation: A new antimicrobial treatment for decontamination of fresh produce. **Food Microbiology** 76, 204-208. 2018.

DE OLIVEIRA, E.F., TIKEKAR, R., NITIN, N. Combination of aerosolized curcumin and UV-A light for the inactivation of bacteria on fresh produce surfaces. **Food Research International** 114, 133-139. 2018

DEN AANTREKKER, E.D., BOOM, R.M., ZWIETERING, M.H., VAN SCHOTHORST, M. Quantifying recontamination through factory environments—a review. **International Journal of Food Microbiology** 80, 117-130. 2003.

FAILLE, C., FONTAINE, F., BÉNÉZECH, T. Potential occurrence of adhering living *Bacillus* spores in milk product processing lines. **Journal of Applied Microbiology** 90, 892-900. 2001.

FU, T., GENT, P., KUMAR, V. Efficacy, efficiency and safety aspects of hydrogen peroxide vapour and aerosolized hydrogen peroxide room disinfection systems. **Journal of Hospital Infection** 80, 199-205. 2012.

GHATE, V. S., ZHOU, W., & YUK, H. G. Perspectives and trends in the application of photodynamic inactivation for microbiological food safety. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, 18(2), 402-424. 2019.

GIBSON, H., TAYLOR, J., HALL, K., HOLAH, J. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. **Journal of Applied Microbiology** 87, 41-48. 1999.

HYUN, JEONG-EUN; LEE, Sun-Young. Blue light-emitting diodes as eco-friendly non-thermal technology in food preservation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 284-295, 2020.

HUANG, Y., YE, M., CHEN, H., 2012. Efficacy of washing with hydrogen peroxide followed by aerosolized antimicrobials as a novel sanitizing process to inactivate *Escherichia coli* O157: H7 on baby spinach. **International Journal of Food** 153, 306-313. 2012.

JEFFERSON, K.K. What drives bacteria to produce a biofilm? **FEMS microbiology letters** 236, 163-173. 2004.

KAKURINOV, V. **Food safety assurance systems: cleaning and disinfection**.2014a.

KAKURINOV, V. Food Safety Assurance Systems: Cleaning and Disinfection, **Encyclopedia of Food Safety**, pp. 211-225. 2014b.

KARABULUT, O.A., ILHAN, K., ARSLAN, U., VARDAR, C. Evaluation of the use of chlorine dioxide by fogging for decreasing postharvest decay of fig. **Postharvest Biology and Technology** 52, 313-315. 2009.

KIM, Y.-H., JO, Y.-J., KIM, Y.-J., KOO, M., LEE, J.-K., OH, S.-W. Effects of aerosolized sanitizers of different droplet sizes on foodborne pathogen reduction. **Food Science and Biotechnology** 17, 664-668. 2008.

KRISHNAN, J., FEY, G., STANSFIELD, C., LANDRY, L., NGUY, H., KLASSEN, S., ROBERTSON, C. Evaluation of a dry fogging system for laboratory decontamination. **Applied Biosafety** 17, 132-141. 2012.

LÓPEZ-GÓMEZ, A., CASTANO-VILLAR, A.M., PALOP, A., MARÍN-INIESTA, F. Hygienic design and microbial control of refrigeration and air conditioning systems for food processing and packaging plants. **Food Engineering Reviews** 5, 18-35. 2013.

MASOTTI, F., CATTANEO, S., STUKNYTĖ, M., DE NONI, I. Airborne contamination in the food industry: An update on monitoring and disinfection techniques of air. **Trends in Food Science & Technology** 90, 147-156. 2019.

MASOTTI, F., VALLONE, L., RANZINI, S., SILVETTI, T., MORANDI, S., BRASCA, M. Effectiveness of air disinfection by ozonation or hydrogen peroxide aerosolization in dairy environments. **Food Control** 97, 32-38. 2019.

MØRETRØ, T., FANEBUST, H., FAGERLUND, A., LANGSRUD, S. Whole room disinfection with hydrogen peroxide mist to control *Listeria monocytogenes* in food industry related environments. **International Journal of Food** 292, 118-125. 2019.

MØRETRØ, T., SCHIRMER, B.C., HEIR, E., FAGERLUND, A., HJEMLI, P., LANGSRUD, S. Tolerance to quaternary ammonium compound disinfectants may enhance growth of *Listeria monocytogenes* in the food industry. **International Journal of Food** 241, 215-224. 2017.

NAKATA, S., IKEDA, T., NAKATANI, H., SAKAMOTO, M., HIGASHIDUTSUMI, M., HONDA, T., KAWAYOSHI, A., IWAMURA, Y. Evaluation of an automatic fogging disinfection unit. **Environmental Health and preventive medicine** 6, 160. 2001

OH, S.W., GRAY, P.M., DOUGHERTY, R.H., KANG, D.H. Aerosolization as novel sanitizer delivery system to reduce food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology** 41, 56-60. 2005.

OJEDA, G.A., SGROPPO, S.C., ZARITZKY, N.E. Fogging with antibrowning agents as an alternative to conventional immersion treatments to extend shelf life of mushrooms. **International Journal of Food Science & Technology** 55, 660-668. 2020.

PARK, S.-H., CHEON, H.-L., PARK, K.-H., CHUNG, M.-S., CHOI, S.H., RYU, S., KANG, D.-H. Inactivation of biofilm cells of foodborne pathogen by aerosolized sanitizers. **International Journal of Food** 154, 130-134. 2012.

RAKOTONIRAINY, M.S., FOHRER, F., FLIEDER, F. Research on fungicides for aerial disinfection by thermal fogging in libraries and archives. **International biodeterioration & biodegradation** 44, 133-139. 1999.

RICHTER, W.R., WOOD, J.P., WENDLING, M.Q., ROGERS, J.V. Inactivation of *Bacillus anthracis* spores to decontaminate subway railcar and related materials via the fogging of peracetic acid and hydrogen peroxide sporicidal liquids. **Journal of environmental management** 206, 800-806. 2018.

SALUSTIANO, V.C., JOSÉ DE ANDRADE, N., CARDOSO BRANDÃO, S.C., JUNIOR, W.M., NACIFE, G.P. An assessment of chemical sanitizers on the microbiological profile of air in a milk processing plant. **Journal of food safety** 24, 159-167. 2004.

SEONG, J.Y., KWON, K.H., OH, S.W., 2017. Combined effect of aerosolized malic acid and UV-C for the inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut lettuce. **Journal of food safety** 37, e 12359. 2017.

SONG, Y., FAN, X. Cold plasma enhances the efficacy of aerosolized hydrogen peroxide in reducing populations of *Salmonella* Typhimurium and *Listeria innocua* on grape tomatoes, apples, cantaloupe and romaine lettuce. **Food Microbiology** 87, 103391. 2020.

THORN, R., ROBINSON, G., REYNOLDS, D. Comparative antimicrobial activities of aerosolized sodium hypochlorite, chlorine dioxide, and electrochemically activated solutions evaluated using a novel standardized assay. **Antimicrobial agents and chemotherapy** 57, 2216-2225. 2013.

VAID, R., LINTON, R.H., MORGAN, M.T. Comparison of inactivation of *Listeria monocytogenes* within a biofilm matrix using chlorine dioxide gas, aqueous chlorine dioxide and sodium hypochlorite treatments. **Food Microbiology** 27, 979-984. 2010.

VAN DE VELDE, F., GRACE, M.H., PIROVANI, M.É., LILA, M.A., 2016. Impact of a new postharvest disinfection method based on peracetic acid fogging on the phenolic profile of strawberries. **Postharvest Biology and Technology** 117, 197-205. 2010.

VAN DE VELDE, F., VACCARI, M.C., PIAGENTINI, A.M., PIROVANI, M.É. Optimization of strawberry disinfection by fogging of a mixture of peracetic acid and hydrogen peroxide based on microbial reduction, color and phytochemicals retention. **Food Science and Technology International** 22, 485-495. 2016.

VARDAR, C., ILHAN, K., KARABULUT, O.A. The application of various disinfectants by fogging for decreasing postharvest diseases of strawberry. **Postharvest Biology and Technology** 66, 30-34. 2012.

WICKRAMATILLAKE, A., KURUKULARATNE, C. SARS-CoV-2 human disinfection chambers: a critical analysis. **Occupational Medicine** (Oxford, England). 2020.

WOOD, J.P., CALFEE, M.W., CLAYTON, M., GRIFFIN-GATCHALIAN, N., TOUATI, A., EGLER, K. Evaluation of peracetic acid fog for the inactivation of *Bacillus anthracis* spore surrogates in a large decontamination chamber. **Journal of hazardous materials** 250, 61-67. 2013.

ZHAO, Q., WANG, C., LIU, Y., WANG, S. Bacterial adhesion on the metal-polymer composite coatings. **International Journal of Adhesion and Adhesives** 27, 85-91. 2007.

5 CAPÍTULO II – AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DA NEBULIZAÇÃO E O TRATAMENTO FOTODINÂMICO COM CURCUMINA E LUZ DE LED NA INATIVAÇÃO DE PATÓGENOS EM PRESUNTO FATIADO

RESUMO

Alimentos pronto para o consumo, como o presunto fatiado, constitui uma importante alternativa de produto, por sua facilidade uma vez que já vem pronto para serem consumidos. Contudo, durante seu fatiamento, pode ocorrer contaminações, resultando em risco microbiológico ao produto, como por *Salmonella spp.* e *Staphylococcus aureus*. Visando a prevenção da ocorrência destas contaminações, o uso de tecnologias não térmicas tem ganho grande destaque, uma vez que reduz os efeitos deletérios dos tratamentos térmicos convencionais, resultando em um produto de melhor qualidade. Neste cenário, o tratamento fotodinâmico consiste em uma tecnologia emergente não térmica promissora para produção de alimentos seguros. Seu mecanismo de ação, se baseia na fotoativação do fotossensibilizador através de um comprimento de onda emitido pela Luz, resultando na formação de espécies reativas ao oxigênio (ROS), causando oxidação e degradação da célula bacteriana. A curcumina apresenta como importante fotossensibilizador, além de possuir propriedades antimicrobianas, podendo ser utilizadas no tratamento fotodinâmico como LED azul. Desse modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito combinado da curcumina nebulizada com o tratamento fotodinâmico com luz LED, na inativação da *Salmonella spp.* e o *Staphylococcus aureus* em presunto fatiado. Contudo, apesar de estudos semelhantes relatarem efeito na inativação desses patógenos, não foi observado efeito na redução da contaminação microbiana analisada neste presente estudo.

Palavras-chaves: Nebulização, inativação microbiana, tratamento fotodinâmico, *Curcuma longa* L.

ABSTRACT

Ready-to-eat foods, such as sliced ham, are an important product alternative, since they are already ready to be consumed. However, contamination may occur during slicing, resulting in a microbiological risk to the product, such as *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. In order to prevent the occurrence of these contaminations, the use of non-thermal technologies has gained great prominence, since it reduces the deleterious effects of conventional thermal treatments, resulting in a better quality product. In this scenario, photodynamic treatment consists of a promising emerging non-thermal technology to produce safe foods. Its mechanism of action is based on the photoactivation of the photosensitizer through a wavelength emitted by the Light, resulting in the formation of reactive oxygen species (ROS), causing the bacterial cell oxidation and degradation. Curcumin presents as an important photosensitizer, in addition to having antimicrobial properties, which can be used in the photodynamic treatment as a blue LED. Thus, the objective of this study was to evaluate the combined effect of nebulized curcumin with photodynamic treatment with LED light, in the inactivation of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* in sliced ham. However, although similar studies report an effect on the inactivation of these pathogens, there was no effect on reducing the microbial contamination analyzed in this study.

Keywords: Nebulization, microbial inactivation, photodynamic treatment, *Curcuma longa* L.

5.1. INTRODUÇÃO

A produção de alimentos de qualidade e que sejam seguros aos consumidores representa o maior desafio para os estabelecimentos do setor de alimentação. Fazer frente a esse desafio requer alto grau de comprometimento por parte de todos os envolvidos nos processos de elaboração e oferecimento de alimentos (GONÇALVES, 2014).

A transformação dos hábitos alimentares, tem resultado na busca de alimentos prontos para o consumo (RTE). Além da praticidade, esses alimentos estão relacionados ao alto nível de frescor, boa qualidade, atributos sensoriais e nutricionais desejados e boa aceitabilidade. Desta forma, as indústrias têm desenvolvido grande variedade de (RTE), podendo ser de origem vegetal, como: verduras e frutas minimamente processados e de origem animal, como: presunto cozido. Em geral, os RTE são comercializados em pequenas porções (fatiados, pedaços pequenos etc.) e em pequenas embalagens (CABEZA, 2007; GOMBAS, CHEN, CLAVERO, & SCOTT, 2003).

Dentre esses alimentos, o presunto fatiado apresenta como importante alimento pronto para o consumo, sendo bastante consumido em todo mundo (BRESSAN *et al.*, 2007). Contudo, falhas na higienização de equipamentos e condições de processamento não higiênicas durante o corte, fatiamento, embalagem ou armazenamento desses produtos, afetam diretamente a qualidade dos alimentos (FAI *et al.*, 2011). Dentre as principais doenças transmitidas por alimentos (DTA's), a *Salmonella spp.* e o *Staphylococcus aureus* apresentam como grandes responsáveis por DTA's, sendo um perigo para os alimentos prontos para o consumo.

Para evitar a presença de microrganismos patogênicos em presunto fatiado, várias tecnologias não térmicas têm sido aplicadas, de forma isolada ou não, neste contexto, como, o uso de luz ultravioleta (WAMBURA *et al.*, 2011), alta pressão hidrostática (PEREZ-BALTAR *et al.*, 2019), Pulso elétrico pulsante ou a combinação desses processos (BOOSE *et al.*, 2018). Além dessas tecnologias emergentes, outras técnicas apresentam grande potencial na descontaminação superficial de alimentos, como a Nebulização e o tratamento fotodinâmico (OLIVEIRA *et al.*, 2018; GHATE *et al.*, 2019).

A Nebulização consiste na dispersão fina de uma solução como névoa fina no ar. Essa técnica pode ser utilizada tanto para inativação de microrganismos presente no ambiente, em superfícies de equipamentos ou de alimentos (PARK *et al.*, 2012). Esta técnica apresenta algumas vantagens, como cobertura 3 D do ambiente e redução do uso de sanitizantes (MASOTTI *et al.*, 2019). Diversos estudos recentes têm relatado seu

potencial na descontaminação de alimentos, seja com sanitizantes químicos (como: Ácido peracético, soluções cloradas e peróxido de hidrogênio), ácidos orgânicos (como: ácido málico, cítrico) ou com antimicrobianos naturais (óleos essenciais, como Eugenol, curcumina) (LEE, JUNG, JIN, KIM, & OH, 2007; OH, DANCER, *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Outra tecnologia emergente não térmica que tem sido recente estudada e apresenta grande potencial para descontaminação de alimentos é o tratamento fotodinâmico com (GHATE *et al.*, 2019; TAO *et al.*, 2019). Recentes pesquisas relatam que de óleos essenciais, como a curcumina e o timol, juntamente com LEDs azul apresenta efeito contra patogênicos em alimentos (AURUM & NGUYEN, 2018; TAO *et al.*, 2019; HYUN *et al.*, 2020).

A curcumina é um composto presente no óleo essencial de *Curcuma longa L.* que apresenta poder antimicrobiano, além de atuar como um fotossensibilizador em comprimento de ondas entre 400 – 500 nm (HAUKVIK, BRUZELL, KRISTENSEN, & TONNESEN, 2009). Diversas pesquisas relatam efeito do uso combinado da curcumina com o LED no tratamento fotodinâmico, contudo o mecanismo de inativação ainda não é totalmente compreendido (HYUN *et al.*, 2020; TAO *et al.*, 2019; GAO AND MATTHEWS 2020). A hipótese mais provável, se deve a formação compostos citotóxicos e de ROS (Espécies reativas ao oxigênio) por meio da excitação do fotossensibilizador, ocasionando danos na membrana celular dos microrganismos (HYUN *et al.*, 2020; D'SOUZA *et al.*, 2015).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi verificar a atividade antimicrobiana do tratamento fotodinâmico com Led azul (470 nm) da curcumina nebulizada em presunto fatiado inoculado com *Salmonella spp.* e *Staphylococcus aureus*.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1. Preparo do inóculo

Para a obtenção dos inóculos, foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25823 e de *Salmonella* Typhimurium ATCC14228, *Salmonella* Enteritidis ATCC13096. Cada cepa foi individualmente inoculada em caldo Brain Heart Infusion Broth (BHI) (figura 1) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período, as amostras foram centrifugadas (centrífuga SL-701 da marca Solab), a 3500 x g (5900 rpm) por 10 min a 4°C. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e os pellets foram lavados por 3 vezes

em água salina 0,85% estéril. Após a lavagem, os pellets obtidos foram reidratados em solução salina 0,85% estéril e levados ao vortex na velocidade máxima por 1 minuto, para homogeneização e dissolução desses pellets.

Após a reidratação, as amostras foram padronizadas individualmente em 10^8 UFC/mL, com o auxílio da escala MC Farland, comparar a olho nu os tubos de turvação da escala, com tubo de turvação das respectivas bactérias, enquanto a confirmação foi feita com plaqueamento ($37^\circ\text{C}/24\text{ h}$), utilizando o Ágar SS (marca Ionlab) e Sal Manitol (marca Ionlab), para enumeração da população de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

Para o inóculo de *Salmonella*, foi realizado um pool utilizando as cepas *Salmonella* Typhimurium ATCC14228 e *Salmonella* Enteritidis ATCC13096. Para a formação do pool de cepas foi feita uma mistura de proporções iguais de ambas as espécies.

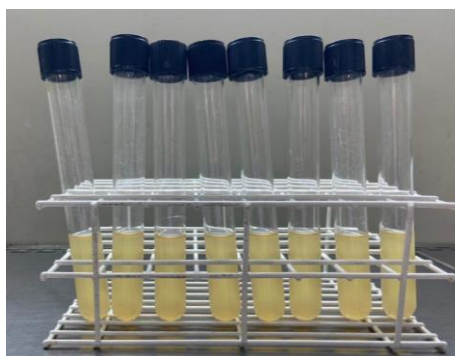


Figura 1- Caldo BHI turvado. Fonte: Própria autora

5.2.2. Preparação da solução mãe

Para o preparo da solução mãe, pesou-se 737 mg de curcumina e avolumou para 1 Litro com álcool (99% v/v), para obter a solução em líquido. Esta solução foi preparada em balão volumétrico previamente higienizado com álcool 70% e submetido a luz UV (fluxo laminar) por 15 min, para secagem e desinfecção física. Após o preparo da solução mãe, foi armazenada em geladeira por 4°C , enrolada em papel laminado, sob proteção da luz.

5.2.3. Preparo solução teste de 50 mg/L

A partir da solução mãe, foi preparado 2 L de solução teste contendo 50 mg/L, e 136 mL da solução mãe foram diluído em 1864 mL de água destilada esterilizada em frasco estéril e sob abrigo da luz. O cálculo para preparo da solução foi realizado de acordo com a equação abaixo (Eq.1): A concentração da solução teste foi baseada na pesquisa de Oliveira *et al.*, 2018.

$$C_1V_1=C_2V_2 \quad \text{Eq. 1}$$

$$737 \text{ mg/L} \times V_1 = 50 \text{ mg/L} \times 2000 \text{ mL}$$

$$V_1 = 135,68 \text{ mL} \sim 136 \text{ mL da solução mãe}$$

5.2.4. Higienização do nebulizador

Para higienização do nebulizador, toda a superfície foi limpa e sanitizada com álcool 70 %. Após o aparelho foi seco e descontaminado no fluxo laminar na presença da luz UV por 15 min.

5.2.5. Processo de Nebulização em combinação ao tratamento fotodinâmico

Para avaliação do efeito combinado entre a nebulização e a luz LED na inativação microbiana, o presunto fatiado embalado (Marca comercial), foi cortado circularmente com auxílio de um bisturi, de forma asséptica no fluxo laminar, cabendo em uma placa de Petri (a cerca de 90 mm de diâmetro; ~ 10 g), conforme a figura 2.

Após a inserção das amostras de presunto nas placas previamente estéreis, foi inoculado 0,1 mL do pool de cepas de *Salmonella* e 0,1 mL da cepa *Staphylococcus aureus* na superfície do presunto (no centro), atingindo a concentração de 10^6 UFC de ambos os microrganismos, por grama de presunto. Após a inoculação, as alíquotas foram espalhadas por toda a superfície do presunto, com o auxílio da alça de Drigalski previamente estéril. Em seguida, as amostras foram deixadas no fluxo laminar por 20 min para secar/fixar as alíquotas no presunto.

Para avaliação do efeito combinado, foi realizado o processamento com a presença da luz LED e sem a luz (somente com a curcumina nebulizada), para verificar o efeito combinado entre os tratamentos. Para ambos os processamentos (com e sem a luz Led), 5 placas contendo as amostras de presunto inoculadas, foram dispostas no interior de uma caixa de acrílico, previamente higienizada e coberta com papel laminado, para evitar a entrada de luz. Na parte superior foi inserida uma mangueira, previamente higienizada,

permitindo a saída da solução de curcumina do nebulizador até as amostras de presunto, conforme a figura 3.

Primeiramente, em ambos os tratamentos, a nebulização da curcumina foi aplicada por 30 s antes do início do tratamento, para permitir a saturação da solução no ambiente. Para avaliação da inativação no tratamento sem a luz Led, as 5 amostras foram retiradas e analisadas no tempo 0, 5, 10, 15 e 20 min de tratamento, respectivamente. Já no tratamento com luz LED, as 5 luzes LED (18 W cada) foram direcionadas no centro da caixa e dispostas a distância de 30 cm das amostras, e foram ligadas após os 30s de nebulização. A intensidade da luz LED incidida foi de $236 \mu\text{l mol/m}^2.\text{s}$ (medindo com aparelho da marca Quantum Flux). Para avaliação do efeito combinado na inativação microbiana nos tempos pré-determinados (0, 5, 10, 15 e 20 min), as amostras foram retiradas da caixa e analisadas para determinação da concentração dos sobreviventes. Para ambos os tratamentos, com e sem LED, a quantificação foi realizada em duplicatas.

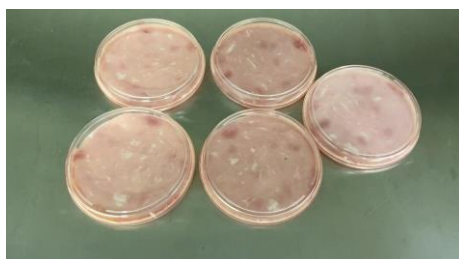


Figura 2- Presunto cortado circularmente em placa de Petri Fonte: Própria autora



Figura 3- Caixa de acrílico com nebulizador. Fonte: Própria autora

5.2.6. Determinação da concentração dos sobreviventes

Para determinação da concentração de sobreviventes, as amostras retiradas nos respectivos tempos, foram adicionadas em sacos estéreis com 90 mL de água peptona (quantidade pré-determinada anteriormente para preparação da diluição 10^{-1}). Para

realização da contagem dos sobreviventes, foram realizadas diluições seriadas e realizado o plaqueamento em Ágar SS e Ágar Sal Manitol, para quantificação dos sobreviventes do pool de *Salmonella spp* e do *Staphylococcus aureus*, respectivamente. As análises foram feitas em duplicatas, e as placas foram incubadas por 37°C/24 h.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No presente trabalho, os experimentos foram projetados para avaliar a atividade antimicrobiana da curcumina nebulizada combinada com o tratamento fotodinâmico com luz de LED azul em presunto fatiado, inoculado com um pool de *Salmonella* (*Salmonella* Typhimurium ATCC14228, *Salmonella* Enteritidis ATCC13096) e de *Staphylococcus aureus* ATCC25823. As condições referentes as concentrações da solução de curcumina, foram baseadas no trabalho de Oliveira *et al.*, (2018), e os pesquisadores aplicaram a curcumina nebulizada em combinação ao tratamento fotodinâmico com luz UV-A na inativação de *E. coli* e *Listeria innocua* na superfície de espinafre, alface e tomate. Diferentemente de Oliveira *et al.*, (2018), o presente estudo utilizou a luz LED ao invés da UV-A, e diversas pesquisas relatam efeito antimicrobiano sobre diferentes microrganismos, em condições similares ao aplicado no presente trabalho (HYUN *et al.*, 2020; D'SOUZA *et al.*, 2015).

Nas Figuras 4 e 5 estão apresentados a curva de sobreviventes para ambos os tratamentos realizados. Contudo não foi observado reduções na contagem microbiana, tanto na ausência de luz de LED, quanto na presença, para ambos os inóculos analisados. Para avaliação da inativação do pool de *Salmonella spp.* sem a presença de luz de LED, a concentração inicial (tempo 0) foi de $6,00 \pm 0,36$ log UFC/mL. Após 5 min de exposição da curcumina, obteve-se $5,91 \pm 0,20$ log UFC/mL, 15 min ($5,65 \pm 0,13$ log UFC/mL), 20 min ($5,61 \pm 0,25$ log UFC/mL). Na presença de luz de LED, os resultados foram: tempo zero ($6,88 \pm 0,5$ log UFC/mL), 10 min ($5,94 \pm 0,62$ log UFC/mL) e 15 min ($5,95 \pm 0,34$ log UFC/mL). Para inativação de *Staphylococcus aureus* sem luz de LED, os resultados obtidos foram: 0 min ($6,19 \pm 0,12$ log UFC/mL), 15 min ($6,28 \pm 0,85$ log UFC/mL), e 20 min ($6,45 \pm 0,45$ log UFC/mL). Enquanto para presença de luz de LED, foram de: 0 min ($6,04 \pm 0,32$ log UFC/mL), em 15 min ($6,32 \pm 0,42$ log UFC/mL), já para 20 min ($5,89 \pm 0,19$ log UFC/mL).

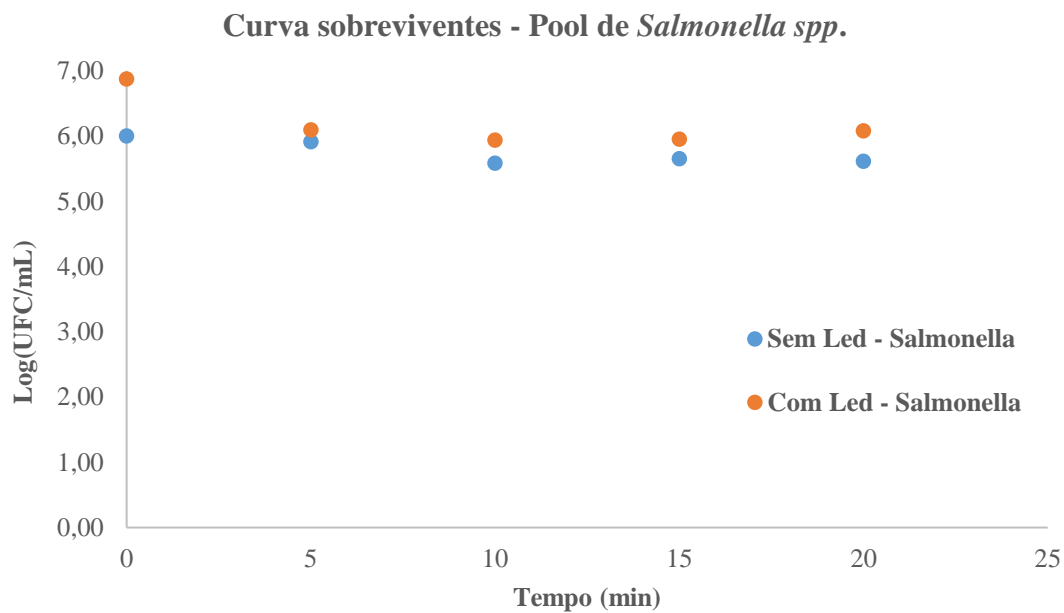


Figura 4 – Curva de sobreviventes (UFC/mL) do pool de *Salmonella spp.* para nebulização da curcumina com e sem tratamento fotodinâmico com LED azul (470 nm)

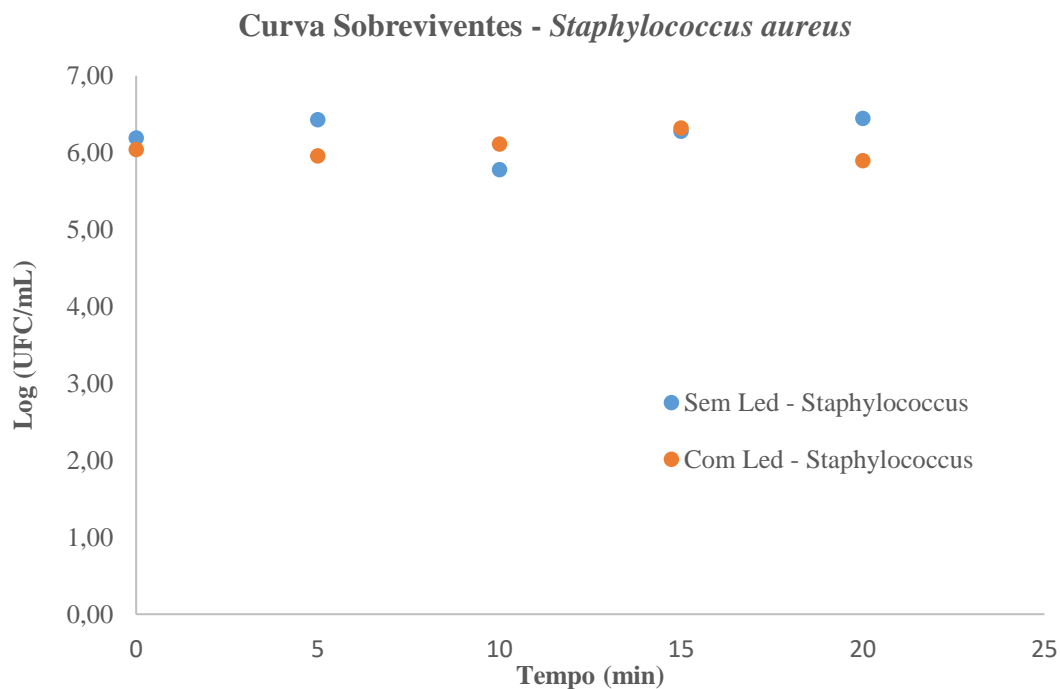


Figura 5- Curva de sobreviventes (UFC/mL) do *Staphylococcus aureus* para nebulização da curcumina com e sem tratamento fotodinâmico com LED azul (470 nm)

Apesar de não ter resultado em reduções, diversas pesquisas demonstram que o tratamento fotodinâmico com Led azul (400 – 500 nm) e curcumina resultam na inativação de patógenos, tanto *in vitro*, quanto em alimentos. HAUKVIK *et al.*, (2009), observaram reduções de 3 logs para *E. faecalis*, *S. intermedius* e *E. coli* em PBS, aplicando uma concentração de curcumina 25 µM por 30 min, com luz de LED 430 nm. PENHA *et al.*, (2017), observaram reduções maiores de 3,5 logs para *S. Typhimurium* e reduções > 6 logs para *S. Aureus*, *A. hydrophila* e *E. coli*, utilizando Led (470 nm) e uma solução de curcumina a 75 µM/10 min em PBS. HUANG *et al.*, (2020), observaram redução de 4 logs e 8 logs para *L. monocytogenes* em PBS, utilizando Led (455 – 460 nm), com solução de curcumina de 0,2 µM/5 min e 1 µM /20 min, respectivamente. Em relação ao efeito do tratamento na inativação do fungo *A. flavus*, foi observado a redução de 2,4 log de redução, quando aplicado a solução de curcumina a 50 µM, na faixa de pH de 1,5–9,0 (TEMBA *et al.* 2019).

Já em relação ao efeito do tratamento na inativação microbiana na superfície dos alimentos, Tortik *et al.* (2014), observaram redução de 2,6 log UFC de *S. aureus* em pepino japonês, 2,5 Logs em pimenta e 1,7 logs para carne de frango após 24 h de processamento, quando aplicado a solução de curcumina a 100 µM. LIN *et al.* (2019), avaliaram o efeito antimicrobiano do tratamento fotodinâmico com Led azul e curcumina (50 µmol/L por 60 min) na preservação de melões Hami recém-cortados e constataram redução de 2,59 (log UFC/g) em relação ao grupo controle de 3,97 (log UFC/g) em corte fresco Melões Hami, para *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*. AURUM e NGUYEN, (2018) observaram redução de 2,4 Logs UFC/mL de *E. coli* na superfície de uvas, quando aplicado a solução de curcumina de 1,6 mM/60 min. TAO *et al.*, (2019), observaram a redução de 0,95 Log para *E.coli* em maçãs cortadas, aplicando a solução de 2 µM/5 min.

O mecanismo de ação do tratamento fotodinâmico com LED utilizando fotossensibilizadores, como a curcumina, ainda não é totalmente elucidado. Contudo a hipótese mais provável é atribuída à produção de oxigênio reativo espécie (ROS) por excitação do fotossensibilizador intracelular, por sua vez ROS podem atacar componentes dentro da célula como, em lipídios e proteínas, na membrana plasmática, provocar lixiviamento de material intracelular por alteração na permeabilidade celular, alteração no DNA (oxidá-lo), alteração na conformação celular, causando a morte bacteriana (LUKSIENÉ E ZUKAUSKAS, 2009; HYUN *et al.*, 2020). Em relação ao efeito do tratamento fotodinâmico em bactérias Gram + e -, alguns autores postulam que bactérias

gram-positivas, são mais suscetíveis do que as espécies gram-negativas (MACLEAN *et al.*, 2009; BIRMPA *et al.*, 2014), contudo essa relação ainda não é totalmente elucidada (GHATE *et al.*, 2013).

Em relação aos resultados encontrados no presente estudo, diferentes hipóteses podem estar relacionadas a não efetividade do tratamento. A 1^o hipótese pode estar relacionada a formação dos ROS, responsáveis pela oxidação da membrana celular, ter sido gerada imediatamente quando a curcumina nebulizada foi exposta ao LED, antes da solução entrar em contato com alimento. Devido a nebulização resultar em uma névoa fina, essa solução necessita de um intervalo de tempo para entrar em contato com o alimento, assim, esse tempo pode ter sido relativamente longo, formando os ROS antes da solução entrar em contato com alimento. Na literatura, foi encontrado apenas a pesquisa de OLIVEIRA *et al.*, (2018), no tocante a nebulização de um fotossensibilizador. Em geral, as demais pesquisas em alimentos, utilizam o fotossensibilizador inoculado no próprio alimento (GHATE *et al.*, 2013; DOS SANTOS *et al.*, 2019). Talvez, se a curcumina fosse inoculada no presunto, seria observado reduções na concentração dos patógenos analisados. Contudo, além da questão do tempo reduzido de análise, devido ao cenário pandêmico vivido, essa hipótese não seria conveniente, pois alteraria a umidade do alimento, resultando em problemas tecnológicos e microbiológicos.

Outra hipótese, pode estar relacionada as condições do tratamento aplicado. Como dito anteriormente, as condições foram baseadas na pesquisa de OLIVEIRA *et al.*, (2018), contudo, os microrganismos analisados e o tipo de Luz utilizados foram diferentes. Apesar da luz ser diferente, diversos trabalhos relatam a eficácia do tratamento fotodinâmico com Led azul, utilizando a curcumina como fotossensibilizador, na inativação microbiana *in vitro* e em alimentos (BHAVYA *et al.*, 2019; PENHA *et al.*, 2017; DOS SANTOS *et al.*, 2019; BONIFÁCIO *et al.*, 2018). Nessas pesquisas, a concentração da curcumina foi de: 20 μ M (0,0074 mg/L) (BHAVYA *et al.*, 2019), 75 mM (0,028 mg/L) (PENHA *et al.*, 2017), 750 mg/L (DOS SANTOS *et al.*, 2019), 3,7 mg/L (BONIFÁCIO *et al.*, 2018).

A 3^o Hipótese, pode estar relacionada a solução de curcumina utilizada ser diferente das marcas utilizadas nas pesquisas realizadas. Já a 4^o e última hipótese, está relacionada a resistência microbiana ao processamento, pode ser que as cepas testadas foram resistentes ao tratamento, e não resultou em reduções nas condições utilizadas.

5.4. CONCLUSÃO

O tratamento fotodinâmico com LED e curcumina, apresenta grande destaque nas recentes literaturas, contudo não foi observado resultado na redução da população de *Salmonella spp.* e do *Staphylococcus aureus* em presunto, sendo necessário mais estudos para averiguar quais os motivos desses resultados. Além disso, novas pesquisas devem ser realizadas para divulgar e comprovar seus benefícios, ampliando assim novos "caminhos" para a produção de alimentos seguros.

5.5. REFERÊNCIAS

AURUM, F. S., & NGUYEN, L. T. Efficacy of photoactivated curcumin to decontaminate food surfaces under blue light emitting diode. **Journal of Food Process Engineering**, 42, 1–9, 2018.

BRESSAN, M. C. Influência da embalagem na vida útil de presuntos fatiados. **Ciência e Agrotecnologia.**, v. 31, p. 433-438, 2007.

BOSSE, RAMONA. Recent advances in cured raw ham manufacture. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 4, p. 610-630, 2018.

BIRMPA A, VANTARAKIS A, PAPPARODOPOULOS S, WHYTE P, LING J. Efficacy of three light technologies for reducing microbial populations in liquid suspensions. **BioMed Research International**, 9pp. 2014.

BHAVYA, M.L.; HEBBAR, H. Umesh. Efficacy of blue LED in microbial inactivation: effect of photosensitization and process parameters. **International Journal Of Food Microbiology**, [S.L.], v. 290, p. 296-304, fev. 2019.

BONIFÁCIO, D. Photodynamic inactivation of *Listeria innocua* biofilms with food-grade photosensitizers: a curcumin-rich extract of *Curcuma longa* vs commercial curcumin. **Journal of applied microbiology**, v. 125, n. 1, p. 282-294, 2018.

BURT, S. Essential oils—their antibacterial properties and potential applications in food. **International Journal of Food Microbiology**, 94, 223–253, 2004.

CABEZA, M. Concepción. Optimization of E-beam irradiation treatment to eliminate *Listeria monocytogenes* from ready-to-eat (RTE) cooked ham. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.299-305, jun. 2007.

D'SOUZA, CRAIG; YUK, HYUN-GYUN; KHOO, GEK HOON; ZHOU, WEIBIAO. Application of Light-Emitting Diodes in Food Production, Postharvest Preservation, and Microbiological Food Safety. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 719-740, 21 ago. 2015.

DOS SANTOS, ROBENILSON FERREIRA. Photodynamic inactivation of *S. aureus* with a water-soluble curcumin salt and an application to cheese decontamination. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 18, n. 11, p. 2707-2716, 2019.

FAI, A. E. C.; *Salmonella spp* e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s.l.], v. 16, n. 2, p.657-662, fev. 2011.

GHATE, VINAYAK; KUMAR, AMIT; ZHOU, WEIBIAO; YUK, HYUN-GYUN. Effect of organic acids on the photodynamic inactivation of selected foodborne pathogens using 461 nm LEDs. **Food Control**, [S.L.], v. 57, p. 333-340, nov. 2015.

GHATE, V. S., ZHOU, W., & YUK, H. G. Perspectives and trends in the application of photodynamic inactivation for microbiological food safety. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, 18(2), 402-424. 2019.

GONÇALVES, E.; SARMENTO, C.M.P.; FERREIRA, F.A.B.; Diagnóstico do conhecimento das boas práticas de fabricação dos profissionais de alimentação da cidade de Medianeira – PR. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR - Campus Medianeira**, v. 9, n. 18, p 13-17, 2014.

GOMBAS, D. E.; CHEN, Y.; CLAVERO, R. S.; & SCOTT, V. N. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. **Journal of Food Protection**, v.66, p.559–569, 2003.

GAO, J., & MATTHEWS, K. R. Effects of the photosensitizer curcumin in inactivating foodborne pathogens on chicken skin. **Food Control**, 109, 106959, 2020.

HAUKVIK, T.; BRUZELL, E.; KRISTENSEN, S.; TØNNESEN, H. H. Photokilling of bacteria by curcumin in different aqueous preparations. Studies on curcumin and curcuminoids XXXVII. **Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 64, n. 10, p. 666– 673, 1 out. 2009.

HUANG, Y., YE, M., CHEN, H., 2012. Efficacy of washing with hydrogen peroxide followed by aerosolized antimicrobials as a novel sanitizing process to inactivate *Escherichia coli* O157: H7 on baby spinach. **International Journal of Food** 153, 306-313. 2012

HYUN, JEONG-EUN; LEE, Sun-Young. Blue light-emitting diodes as eco-friendly non-thermal technology in food preservation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 284-295, 2020.

LIN, YILIN; HU, JIAMIAO; LI, SHIYANG; HAMZAH, SITI SARAH; JIANG, HUIQIN; ZHOU, ARONG; ZENG, SHAOXIAO; LIN, SHAOLING. Curcumin-Based Photodynamic Sterilization for Preservation of Fresh-Cut Hami Melon. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 13, p. 2374-2384, 27 jun. 2019.

MASOTTI, F., VALLONE, L., RANZINI, S., SILVETTI, T., MORANDI, S., BRASCA, M. Effectiveness of air disinfection by ozonation or hydrogen peroxide aerosolization in dairy environments. **Food Control** 97, 32-38. 2019.

MACLEAN M, MACGREGOR SJ, ANDERSON JG, WOOLSEY G. 2008. High-intensity narrow-spectrum light inactivation and wavelength sensitivity of *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiology Letters** 285:227–32.

OLIVEIRA, ERICK FALCÃO DE; TIKEKAR, ROHAN; NITIN, NITIN. Combination of aerosolized curcumin and UV-A light for the inactivation of bacteria on fresh produce surfaces. **Food Research International**, [S.L.], v. 114, p. 133-139, dez. 2018.

OH, S.W., GRAY, P.M., DOUGHERTY, R.H., KANG, D.H. Aerosolization as novel sanitizer delivery system to reduce food-borne pathogens. **Lett Appl Microbiol** 41, 56-60. 2005.

PARK, S. H.; CHEON, H. L.; PARK, K. H.; CHUNG, M. S.; CHOI, S. H.; RYU, S.; *et al.* Inactivation of biofilm cells of foodborne pathogen by aerosolized sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**, v.154, p.130–134, 2012.

PEREZ-BALTAR, A., SERRANO, A., BRAVO, D., MONTIEL, R., & MEDINA, M.. Combined effect of high pressure processing with enterocins or thymol on the inactivation of listeria monocytogenes and the characteristics of sliced dry-cured ham. **Food And Bioprocess Technology**, 12(2), 288-297, 2019

PENHA, CAMILA BENEDETTI *et al.* Photodynamic inactivation of foodborne and food spoilage bacteria by curcumin. **LWT-Food Science and Technology**, v. 76, p. 198-202, 2017.

TEMBA, B. A., FLETCHER, M. T., FOX, G. P., HARVEY, J., OKOTH, S. A., & SULTANBAWA, Y. Curcumin-based photosensitization inactivates *Aspergillus flavus* and reduces aflatoxin B1 in maize kernels. **Food Microbiology**, 82, 82–88, 2019.

TAO, RAN; ZHANG, FANG; TANG, QING-JUAN; XU, CHUAN-SHAN; NI, ZHI-JING; MENG, XIANG-HONG. Effects of curcumin-based photodynamic treatment on the storage quality of fresh-cut apples. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 274, p. 415-421, fev. 2019.

TORTIK N, SPAETH A, PLAETZER K. Photodynamic decontamination of foodstuff from *Staphylococcus aureus* based on novel formulations of curcumin. **Photochem Photobiol Sci** 13:1402–9. 2014.

WAMBURA, P., & VERGHESE, M. Effect of pulsed ultraviolet light on quality of sliced ham. **Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology**, v.44, p.2173–2179, 2011.

6 CONCLUSÃO GERAL

O tratamento fotodinâmico apresenta grande potencial, contudo as condições de intensidade de luz (5 lâmpadas LED - 18 W cada; 236 $\mu\text{l mol/m}^2\cdot\text{s}$), tempo (0 – 20 min) e concentração da solução de curcumina (50 mg/L), aplicadas nesta pesquisa, não resultaram na redução da população dos microrganismos analisados (*Staphylococcus aureus* ATCC25823 e do pool de cepas *Salmonella* Typhimurium ATCC14228, *Salmonella* Enteritidis ATCC13096). Mais pesquisas são necessárias para avaliar as melhores condições do tratamento fotodinâmico na inativação de microrganismos na superfície de alimentos.

7 ANEXO 1

Artigo Técnico Publicado no BLOG FOOD SAFETY BRASIL

<https://mac1t.foodsafetybrazil.org/aerossolizacao-industria-alimentos-desinfeccao-ambientes-equipamentos/>

Tecnologia de aerossolização na indústria de alimentos: uma alternativa para desinfecção de ambientes, equipamentos e alimentos

Durante a produção, os alimentos podem ser expostos à contaminação microbiológica oriunda de superfícies e do ambiente, resultando em problemas de deterioração e de segurança dos alimentos. As técnicas convencionais de higienização são suficientes para eliminar contaminações nos equipamentos e superfícies, contudo não eliminam necessariamente todos os microrganismos presentes no ambiente, podendo resultar, em alguns casos, em uma recontaminação recorrente do equipamento e consequentemente do alimento.

Neste cenário, o processo de aerossolização (conhecido também como nebulização química), apresenta-se como uma tecnologia promissora para produção de alimentos seguros, podendo ser utilizada tanto na desinfecção de ambientes em diferentes áreas – como armazenamento e em câmaras de resfriamento – quanto para a descontaminação superficial de produtos. Esta tecnologia consiste na dispersão de líquido como uma névoa fina no ar, com partículas de tamanho menor que 5 μm , diferentemente da técnica de atomização na qual as partículas possuem diâmetro $> 30 \mu\text{m}$.

Na indústria de alimentos, a aerossolização apresenta grande destaque na descontaminação de ambientes que requerem alta higiene, como laticínios, produção de vegetais minimamente processados e de refeições prontas. As dispersões de névoas finas possibilitam a redução do volume de solução química pela grande difusão e dispersão no ambiente, resultando na cobertura 3D do espaço, sem promover aumento na umidade relativa do ambiente. Diversas substâncias desinfetantes como soluções cloradas, ácido peracético e a água oxigenada têm sido utilizadas em combinação com esta tecnologia. Além disso, novos estudos têm demonstrado alternativas ao uso de substância química, como a aplicação de óleos essenciais na desinfecção superficial de alimentos.

Durante a aplicação da técnica, deve-se isolar a área não permitindo a entrada de pessoas, uma vez que a aerossolização de substâncias químicas pode causar problemas

respiratórios. Para garantir a eficácia da ação química, em geral, aplica-se o produto por pelo menos 15 a 45 minutos, sendo que após este período, deve-se aguardar a cerca de 45 a 60 minutos para permitir a sedimentação das gotículas e, conseqüentemente, a liberação da área para entrada do pessoal. A diferença no tempo de tratamento é influenciada por diferentes fatores, como: tipo de produto aplicado, a concentração do produto, o tipo de equipamento, volume do ambiente a ser tratado e a qualidade microbiológica desejável.

Como forma de verificar a eficiência da técnica, deve-se realizar o monitoramento por meio de análises microbiológicas, como swabs, técnica de sedimentação em placas, entre outras.

Aplicações da tecnologia na indústria de alimentos Frutas e verduras:

Existe a necessidade crítica não atendida de melhorar a segurança microbiana de frutas e legumes frescos, com intuito de aumentar seu shelf life. Neste sentido, recentes estudos têm sido reportados, obtendo sucesso na utilização da aerossolização de diferentes produtos.

Entre esses estudos, pesquisadores observaram a redução de aproximadamente 3 logs (UFC/cm²) na contagem de cepas de *E. coli* O157: H7 e *Listeria* na superfície de espinafre, alface e tomate, após a aerossolização da curcumina em combinação com a radiação de luz UV-A. Em outro estudo foi observada a efetividade do dióxido de cloro aerossolizado na redução da *E.coli* O157: H7, *Salmonella* Typhimurium e *Listeria monocytogenes* em cenouras lavadas, obtendo a redução entre 1,3 a 1,5 log UFC/g.

Em folhas de alface aerossolizadas com ácido peracético (40 ppm) por 10, 30 ou 60 min foram observadas reduções entre 0,3 e 3,8 log UFC/cm² na população de cepas de *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* Typhimurium. Outro estudo reportou a redução de até 6 log UFC/g na inativação da *Escherichia coli* O157:H7 em espinafre fresco aerossolizado com uma mistura de isotiocianato de alilo, peróxido de hidrogênio, ácido acético e ácido láctico, durante seu armazenamento refrigerado.

Desinfecção de equipamentos e ambientes:

Outro grande potencial de uso desta tecnologia é na desinfecção de superfícies de equipamentos e de ambientes de processamento. Na desinfecção de ambientes e equipamentos, estudos têm observado sucesso quando aplicadas aerossolização de soluções químicas, como peróxido de hidrogênio e ácido peracético.

Em ambientes de laticínios, como salas de processamento de queijo e envase, a aerossolização com peróxido de hidrogênio (5 – 15 % por 20 min) se apresenta como uma técnica eficaz na inativação de microrganismos transportados pelo ar, como fungos e

bactérias. Já em relação à inativação da *Listeria monocytogenes*, a aerossolização com peróxido de hidrogênio (5% contendo 0,005% de prata) em ambiente de 36 m³ mostrou ser eficaz, resultando na redução de 5 logs na população destes microrganismos.

Em superfícies de aço inox (tipo 304, 5 x 2 cm), a aerossolização com peróxido de hidrogênio (0,25 e 0,5%) após 60 min resultou na redução de mais de 3 logs na população de *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium e *Listeria monocytogenes*. Já em biofilmes formados em aço inox, com uma mistura de *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium e *Listeria monocytogenes*, a aerossolização por 50 min usando ácido peracético (200 e 400 ppm) foi mais eficaz (redução de 4-5 logs) quando comparada ao hipoclorito de sódio a 100 ppm (redução de 1-2 logs)

Conclusão:

A partir dos resultados dos recentes estudos sobre a técnica de aerossolização, observa-se que esta tecnologia pode auxiliar na redução da carga microbiana, tanto na superfície de alimentos, quanto para desinfecção de equipamentos e ambientes. Em geral, as soluções mais utilizadas são o ácido peracético e o peróxido de hidrogênio, sendo as concentrações e os tempos dependentes de fatores diversos, como equipamento, volume da área a ser processada, tempo, entre outros. Assim, esta tecnologia pode auxiliar e melhorar a segurança microbiológica dos alimentos processados.

Referências:

OLIVEIRA, Erick Falcão de; TIKEKAR, Rohan; NITIN, Nitin. Combination of aerosolized curcumin and UV-A light for the inactivation of bacteria on fresh produce surfaces. **Food Research International**, [s.l.], v. 114, p.133-139, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.054>.

CHO, Jong-lak; KIM, Chong-kyung; PARK, Jiyong; KIM, Jeongmok. Efficacy of aerosolized chlorine dioxide in reducing pathogenic bacteria on washed carrots. **Food Science And Biotechnology**, [s.l.], v. 26, n. 4, p.1129-1136, 20 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-017-0139-6>.

OH, Se-wook; DANCER, Genisis Iris; KANG, Dong-hyun. Efficacy of Aerosolized Peroxyacetic Acid as a Sanitizer of Lettuce Leaves. **Journal of Food Protection**, [s.l.], v. 68, n. 8, p.1743-1747, 1 ago. 2005. International Association for Food Protection. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-68.8.1743>.

HUANG, Yaixin; YE, Mu; CHEN, Haiqiang. Efficacy of washing with hydrogen peroxide followed by aerosolized antimicrobials as a novel sanitizing process to inactivate *Escherichia coli* O157: H7 on baby spinach. **International Journal Of Food**

Microbiology, [s.l.], v. 153, n. 3, p.306-313, fev. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.018>.

MØRETRØ, Trond; FANEBUST, Helge; FAGERLUND, Annette; LANGSRUD, Solveig. Whole room disinfection with hydrogen peroxide mist to control *Listeria monocytogenes* in food industry related environments. **International Journal Of Food Microbiology**, [s.l.], v. 292, p.118-125, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.015>.

OH, S.-w.; GRAY, P.m.; DOUGHERTY, R.h.; KANG, D.-h.. Aerosolization as novel sanitizer delivery system to reduce food-borne pathogens. **Letters In Applied Microbiology**, [s.l.], v. 41, n. 1, p.56-60, jul. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765x.2005.01711.x>.

MASOTTI, Fabio; VALLONE, Lisa; RANZINI, Silvia; SILVETTI, Tiziana; MORANDI, Stefano; BRASCA, Milena. Effectiveness of air disinfection by ozonation or hydrogen peroxide aerosolization in dairy environments. **Food Control**, [s.l.], v. 97, p.32-38, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.10.022>.

CHOI, Na-young; BAEK, Seung-young; YOON, Jae-hyun; CHOI, Mi-ran; KANG, Dong-hyun; LEE, Sun-young. Efficacy of aerosolized hydrogen peroxide-based sanitizer on the reduction of pathogenic bacteria on a stainless steel surface. **Food Control**, [s.l.], v. 27, n. 1, p.57-63, set. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.027>.

PARK, Sang-hyun; CHEON, Ho-lyeong; PARK, Ki-hwan; CHUNG, Myung-sub; CHOI, Sang Ho; RYU, Sangryeol; KANG, Dong-hyun. Inactivation of biofilm cells of foodborne pathogen by aerosolized sanitizers. **International Journal Of Food Microbiology**, [s.l.], v. 154, n. 3, p.130-134, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.018>.