

**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 DAS TÉCNICAS DE NEBULIZAÇÃO E IMERSÃO COM
SANITIZANTES QUÍMICOS NA INATIVAÇÃO DE PATOGÊNICOS EM
SUPERFÍCIE DE AÇO INOX**

**Autora: Jordana dos Santos Alves
Orientador: Dr. Leandro Pereira Cappato
Coorientador: Dr. Celso Martins Belisário**

**Rio Verde - GO
Dezembro, 2022**

**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 DAS TÉCNICAS DE NEBULIZAÇÃO E IMERSÃO COM
SANITIZANTES QUÍMICOS NA INATIVAÇÃO DE PATOGÊNICOS EM
SUPERFÍCIE DE AÇO INOX**

Autora: Jordana dos Santos Alves
Orientador: Dr. Leandro Pereira Cappato
Coorientador: Dr. Celso Martins Belisário

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
Dezembro, 2022**

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

A474a Alves, Jordana dos Santos
AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS DE NEBULIZAÇÃO E IMERSÃO
COM SANITIZANTES QUÍMICOS NA INATIVAÇÃO DE
PATOGENICOS EM SUPERFÍCIE DE AÇO INOX / Jordana dos
Santos Alves; orientador Dr Leandro Pereira Cappato;
co-orientador Dr Celso Martins Belisário. -- Rio
Verde, 2022.
45 p.

Dissertação (Mestrado em Mestrado Profissional em
Tecnologia de Alimentos) -- Instituto Federal
Goiano, Campus Rio Verde, 2022.

1. Aerossolização. 2. descontaminação. 3.
hipoclorito de sódio. 4. patógenos. 5. ácido
peracético. I. Cappato, Dr Leandro Pereira, orient.
II. Belisário, Dr Celso Martins, co-orient. III.
Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 nº2376

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, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, 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 (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <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 |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Jordana dos Santos Alves

Matrícula:

2020202330740052

Título do trabalho:

AValiação das técnicas de nebulização e imersão com sanitizantes químicos na inativação de patógenos em superfície de aço inox



RESTRITÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: 06 / 02 / 2023

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;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, 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;
- Que 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

Local

06 / 02 / 2023

Data

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)



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 das técnicas de nebulização e imersão com
sanitizantes químicos na inativação de patógenos em
superfície de aço inox.**

Autora: Jordana dos Santos Alves
Orientador: Leandro Pereira Cappato

**TITULAÇÃO: Mestre em Tecnologia de Alimentos – Área de Concentração
em Tecnologia de Alimentos**

APROVADA em 07 de dezembro de 2022.

Dr. Rogério Favareto
Avaliador interno
IF Goiano/RV

Dr. Wilson José Fernandes Lemos Junior
Avaliador externo
AIT - Austrian Institute of Technology

Dr. Leandro Pereira Cappato
Presidente da Banca
IF Goiano/RV

Documento assinado eletronicamente por:

- **Wilson José Fernandes Lemos Junior**, Wilson José Fernandes Lemos Junior - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10658417002500), em 12/12/2022 14:44:41.
- **Rogério Favareto**, PROFESSOR ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, em 12/12/2022 14:24:14.
- **Leandro Pereira Cappato**, PROFESSOR ENSINO BÁSICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, em 09/12/2022 18:55:10.

Este documento foi emitido pelo SIAPE em 05/12/2022. Para confirmar sua autenticidade, faça o link de QRCode ao lado ou acesse https://sua.ifgoiano.edu.br/validar_documento.html e insira os dados a seguir.

Código Verificador: 445557
Código de Autenticação: 96c5254093



Sumário

	Páginas
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 OBJETIVOS	4
2.1. Geral	4
2.2. Específico	4
3 REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. CAPÍTULO I –Nebulização na descontaminação ambiental e de superfícies para indústria de alimentos: Uma abordagem sobre os desafios e perspectivas da técnica	5
3.2. INTRODUÇÃO	7
3.3. Processo de higienização	8
3.4. A tecnologia de nebulização	12
3.5. Desafios no gerenciamento das medidas de descontaminação ambiental	17
3.6. Perspectivas para a área da sanitização de alimentos por meio da nebulização	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
4 CAPÍTULO II – Avaliação dos efeitos de sanitizantes comerciais na inativação de patógenos em superfície de inox através das técnicas de nebulização em imersão	25
4.1. INTRODUÇÃO	27
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.2.1. Preparo e padronização do inóculo	29
4.2.2. Preparação dos cupons de aço inox	29
4.2.3. Aplicação das soluções sanitizantes nos processos de nebulização e imersão	30
4.2.4. Determinação da concentração dos persistentes	31
4.3. RESULTADOS	31
4.4. DISCUSSÕES	35
4.5. CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
5. CONCLUSÃO GERAL	44
6. ANEXO	45

AGRADECIMENTO

A Deus, por sempre me conceder providência.

A minha avó, Luzia Maria Alves, que junto com minha tia, Carlita Alves me apoiaram durante todo esse período.

Aos meus amigos, por sempre serem os seres humanos mais incríveis que pude e ainda posso contar na vida.

Ao meu orientador, o professor Dr. Leandro Pereira Cappato, que sempre me auxiliou, em meio a época mais difícil para ciência que se pode enfrentar, sua paciência e calma me ajudaram para a realização e concretização do nosso projeto, são profissionais como você que eu quero me espelhar.

Ao meu coorientador professor Dr. Celso Martins Belisário e a Dra. Marilene Silva Oliveira, pela disposição em me esclarecer dúvidas, prestando o auxílio a este trabalho.

Aos Professores que compõem o programa de pós-graduação que contribuíram na minha formação para obtenção do título de mestre.

Agradeço aos alunos de graduação e de mestrado do instituto, em especial Matheus Barp Pierozan, Maria Siqueira de Lima e Josiane Estéfany Pereira Dos Santos, obrigado por experienciar essa etapa com vocês colegas.

Ao Instituto Federal Goiano Campus Rio Verde, por ter me propiciado o suporte necessário.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Jordana dos Santos Alves, nasceu em Rio Verde - GO, estado de Goiás, em 05/06/1994. Em Rio Verde, cursou ensino fundamental, médio e superior. Graduada em Engenharia de Alimentos (2013 - 2019) pelo IF- Goiano - Campus Rio Verde-Goiás, em que foi aluna de iniciação científica (PIBIC e PIVIC), foi monitora de ensino em Bioquímica e Bioquímica de alimentos. Em 2020 ingressou no Mestrado em Tecnologia de Alimentos no IF- Goiano - Campus Rio Verde-Goiás.

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

Figura 1 - Diferença entre as paredes celulares de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (A) e o mecanismo de ação dos óleos essenciais (B).....11

CAPÍTULO II

Figura 1 - Cupom inoculado para nebulização antes (A) e depois (B) do processamento, aplicação dos Tratamentos de nebulização (C) e de imersão (D).....30

Figura 2 - População de persistentes (Log UFC/ml) de *Estafilococos aureus*, *Salmonella* e *E.coli* nos cupons de aço inox, após a aplicação de diferentes sanitizados (Hipoclorito de sódio e Ácido peracético), sob os processos de nebulização (A) e imersão (B).....33

Figura 3 - População de persistentes (Log UFC/ml) de *Estafilococos aureus*, *Salmonella* e *E.coli* nos cupons de aço inox, após o uso de Hipoclorito de sódio (A) e ácido peracético (B), sob os processos de nebulização e imersão.....34

RESUMO

ALVES, JORDANA DOS SANTOS. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, dezembro de 2022. **Avaliação das técnicas de nebulização e imersão com sanitizantes químicos na inativação de patógenos em superfície de aço inox.** Orientador: Dr. Leandro Pereira Cappato. Coorientador: Dr. Celso Martins Belisário.

A tecnologia de nebulização apresenta-se como técnica útil para o combate do surgimento de contaminações ambientais que devem ser rapidamente combatidas de forma complexa. Podendo ser utilizada com ampla gama de soluções desinfetantes para descontaminação superficial, consistindo na difusão do agente sanitizantes no estado líquido na forma de névoa, possibilitando que haja a cobertura de descontaminação em 3D. A técnica pode ser usada em conjunto com outros métodos de descontaminação e se destaca por usar baixas quantidades de água e sanitizantes em relação a dispersão destes recursos na forma líquida. Com o surgimento de microrganismos resistentes e doenças emergentes, os métodos de descontaminação dentro da indústria precisam garantir a segurança dos produtos alimentícios e dos colaboradores que a mantêm em operação. A nebulização atua, sendo um método de descontaminação que ajuda a remover as cargas microbianas transportadas pelo ar do ambiente, superfícies de equipamento e alimentos. Os bioaerossóis constituídos por bactérias, fungos e vírus podem, em condições favoráveis de temperatura e umidade, causar uma série de problemas, desde a redução do prazo de validade a surtos de intoxicação alimentar. Embora ainda haja poucos relatos de estudos usando ou simulando um espaço real da indústria alimentícia, a nebulização pode ser um aliado fundamental na desinfecção desses ambientes e surgindo como forma estratégica de controle na propagação de microrganismos. Este trabalho teve como objetivo expor a nebulização apontando sua versatilidade, foi empregada a descontaminação em superfície de aço inox via nebulização e imersão de desinfetantes comerciais (à base de Hipoclorito de sódio - 200 ppm e de ácido peracético - 108 ppm), utilizando *S. Typhimurium*, *E. coli* (tempos de 1, 3, 5 e 15 minutos) e *Estafilococos aureus* (tempos de 3, 5, 7 e 15 minutos), para a verificação do comportamento da inativação microbiana. O efeito da inativação destes agentes patogênicos foi relatado e observado na redução da contaminação microbiana analisada pelo presente estudo.

Palavras-chave: Aerossolização, descontaminação, hipoclorito de sódio, patógenos, ácido peracético.

ABSTRACT

ALVES, JORDANA DOS SANTOS. Goiano Federal Institute – Rio Verde Campus – GO, December de 2022. **Evaluation of the combined effect of nebulization and immersion with chemical sanitze on the pathogenic microorganisms inactivation.** Advisor: Dr. Leandro Pereira Cappato. Co- advisor: Dr. Celso Martins Belisário.

Nebulization technology presents itself as a useful technique for avoid the appearance of environmental contaminations that must be quickly combated in a complex manner. It can be used with a wide range of disinfectant solutions for surface decontamination, consisting of the sanitizing agent diffusion in a liquid state in the form of a mist, enabling a 3D decontamination coverage. The technique can be used in conjunction with other decontamination methods, and its notable because of the use of low water and sanitizers quantities compared to dispersing these resources in liquid form. With the emergence of resistant microorganisms and emerging diseases, decontamination methods within the industry need to ensure the safety of food products and the employees that keep it running. Nebulization acts as a decontamination method that helps remove airborne microbial loads from the environment, equipment surfaces, and food. Bioaerosols consisting of bacteria, fungi, and viruses can, under favorable temperature and humidity conditions, cause a host of problems, from reduced shelf life to food poisoning outbreaks. Although there are few reports of studies using or simulating a real food industry space, nebulization can be a fundamental to disinfection of these environments and emerge as a strategic way to control the spread of microorganisms. The objective of this work was to expose the nebulization technique pointing out its versatility. The decontamination of the stainless-steel surface by nebulization and immersion of commercial disinfectants (based on sodium hypochlorite - 200 ppm and peracetic acid - 108 ppm) was used, using *S. Thyphimurium*, *E. coli* (times of 1, 3, 5 and 15 minutes) and *Staphylococcus aureus* (times of 3, 5, 7 and 15 minutes), to verify the microbial inactivation behavior. The inactivation effect of these pathogens was reported and observed in the reduction of microbial contamination analyzed by the present study.

Keywords: Aerosolization, decontamination, sodium hypochlorite, pathogens, peracetic acid.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A inocuidade dos alimentos e do ambiente de processamento são cruciais para que não haja contaminações por microrganismos de origem alimentar. A má higienização na área industrial pode gerar a formação de biofilmes que são microrganismos aderidos a equipamentos ou ao espaço fabril como paredes, teto e ralos, assim, o ambiente pode ficar sujeito a contaminações pelo ar interno de circulação. Toda a linha de produção deve ser observada rigorosamente a fim de evitar o surgimento de poeiras, o controle de temperatura e umidade também são detalhes primordiais que garantem a segurança microbiológica dos produtos (BAGGE-RAVN *et al.*, 2003).

O desenvolvimento de tecnologias adicionais as técnicas convencionais de higienização vêm sendo desenvolvidas e aprimoradas ao longo do tempo, com intuito de garantir maior eficiência. A nebulização, também conhecida por aerossolização, é uma tecnologia de desinfecção bastante versátil para indústria de alimentos, podendo ser usada para descontaminação ambiental, em equipamentos e na superfície de alimentos.

A técnica consiste na dispersão de agentes desinfetantes líquidos em forma de névoa fina no ar ($\leq 5 \mu\text{m}$), possibilitando a distribuição volumétrica e homogênea da solução no ambiente, alcançando assim, áreas de difícil acesso. Devido a dispersão em névoa fina, a técnica possibilita a redução do volume da solução, além de atuar contra a recontaminação do ambiente na produção. Recentes publicações nesta área demonstram seu uso para a descontaminação superficial e de vegetais, utilizando sanitizantes químicos já amplamente utilizados como o ácido peracético, solução de hipoclorito de sódio e também tendências atuais como o uso de ácidos orgânicos e óleos essenciais (MASOTTI *et al.*, 2019a; MASOTTI *et al.*, 2019b; OLIVEIRA *et al.*, 2018; BATTERSBY *et al.*, 2017).

Além do uso voltado para descontaminação na cadeia produtiva de alimentos, recentemente com o surto de Covid-19, a nebulização passou a ser utilizada na descontaminação de áreas e pessoas. A pandemia levou ao fechamento de fábricas e à escassez de produtos, resultando em prejuízo econômico de 13,6 bilhões de dólares nos Estados Unidos durante o mês de abril de 2020. Neste cenário, a nebulização ganha mais destaque, podendo auxiliar na redução de propagação do vírus dentro do ambiente de processamento de alimentos. A criação de práticas de segurança alimentar é de responsabilidade dos pesquisadores, é fundamental manter a saúde dos trabalhadores,

montando estratégia para prevenir a disseminação de microrganismos pelas instalações (ZIMMERMAN *et al.*, 2021).

Portanto, este estudo teve como objetivo realizar a revisão bibliográfica do uso da nebulização na indústria de alimentos, com intuito de promover o uso da técnica, dando destaque para o uso da técnica para descontaminação de equipamentos e do ambiente de processamento. Concomitante, a pesquisa visou avaliar a persistência de microrganismos comumente encontrados em contaminações de origem alimentar *Estafilococos aureus*, *S.Typhimurium* e *E.coli*, através dos processos de nebulização e imersão com sanitizantes comerciais à base de ácido peracético (108 ppm) e outro à base de hipoclorito de sódio (200 ppm), em superfícies de aço inox.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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**, v. 66, n. 4, p. 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**, v. 64, p. 1-6, 2017.

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**, v. 90, p. 147-156, 2019. (a)

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**, v. 97, p. 32-38, 2019. (b)

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**, v. 114, p. 133-139, 2018.

ZIMMERMAN, T.; SIDDIQUI, S. A; BISCHOFF, W.; IBRAHIM, S. A. Tackling airborne virus threats in the food industry: A proactive approach. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 8, p. 4335, 2021.

2 OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar o efeito da nebulização e da imersão de soluções sanitizantes comerciais na inativação da *Salmonella spp.*, *E. coli* e *Estafilococos aureus* em superfície de aço inox.

2.2. Específico

- Elaborar um artigo de revisão sobre o uso do processo de Nebulização na indústria de alimentos, mostrando o potencial desta tecnologia para descontaminação ambiental e de superfícies;
- Avaliar a efetividade de nebulização com os sanitizantes comerciais na inativação dos *pools* de cepas de *Estafilococos aureus* (ATCC® 25923™ e cepa isolada a campo proveniente de aves comerciais), *Escherichia coli* (NEWP® 0022, ATCC® 25922™ e cepa isolada a campo proveniente de aves comerciais) e *S. Thyphimurium* (ATCC® 13311™ e ATCC® 14028™)
- Comparar a dinâmica de inativação dos microrganismos utilizados (gram-negativo e gram-positivo), os sanitizantes aplicados da forma líquida e em nebulização.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. CAPÍTULO I – Nebulização na descontaminação ambiental e de superfícies para indústria de alimentos: Uma abordagem sobre os desafios e perspectivas da técnica.

RESUMO

A nebulização é uma tecnologia de descontaminação que auxilia na eliminação das cargas microbianas existentes no ar, nas superfícies e de equipamentos. Os bioaerossóis disseminados no ar de circulação são constituídos por bactérias, fungos e vírus, em condições de temperatura e umidade favoráveis podem causar diversos problemas, podendo acarretar desde o encurtamento da vida de prateleira dos produtos a casos de DTAs (Doenças Transmitidas por Alimentos). Ainda pouco estudada na área alimentícia, a nebulização poderá ser uma aliada fundamental na desinfecção do ambiente industrial, sendo um método estratégico para a contenção da disseminação de microrganismos, abrangendo todas as localidades de forma homogênea. A humanidade está enfrentando nesses últimos anos sequência de casos de contaminações ocasionadas por doenças emergentes e microrganismos resistentes, e a higienização industrial eficaz garante a inocuidade microbiológica dos produtos e a segurança dos colaboradores. O presente artigo faz breve revisão sobre a nebulização na indústria de alimentos em superfícies e ambientes, trazendo abordagem dos desafios encontrados na atualidade.

Palavras-chave: Nebulização, Aerossolização, Descontaminação industrial e Higienização.

ABSTRACT

Nebulization is a decontamination technology that helps to eliminate microbial loads in the air, surfaces and equipment. The bioaerosols disseminated in the circulation air are composed of bacteria, fungi and viruses, in favorable temperature and humidity conditions can cause various problems, ranging from shortening the shelf life of products to cases of foodborne diseases. Still little studied in the food area, nebulization may become fundamental in the industrial environments disinfection, being a strategic method to contain the microorganisms spread, covering all locations in a homogeneous way. Humanity has been facing in recent years a sequence of contamination cases caused by emerging diseases and resistant microorganisms, where effective industrial hygienization guarantees the microbiological safety of final products and the safety of employees. This paper briefly reviews the use of fogging in the food industry on surfaces and environments, addressing the challenges encountered today.

Keywords: Nebulization, Aerosolization, Industrial decontamination and Sanitization.

3.2. INTRODUÇÃO

A disseminação de cargas microbianas na área de processamento de alimentos pode ser causada por diversos meios, desde a contaminação cruzada entre o produto acabado e a matéria-prima, até a má higienização de espaços de difícil acesso como ralos, ou sistema de circulação de ar. Além do risco de formação de biofilmes na estrutura fabril, podendo disseminar DTA's (Doenças transmitidas por Alimentos), atualmente está em voga o combate às doenças infecciosas emergentes como a COVID-19 e o surgimento de microrganismos resistentes. Este fato, está fazendo com que os protocolos de desinfecção sejam cada vez mais exigentes a fim de evitar transtornos por conta do número de contaminações (ARYAL & MURIANA, 2019; FILIPE *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2018a).

Neste cenário, a nebulização ou aerossolização destaca-se como importante método de descontaminação ambiental e de superfícies. A técnica baseia-se no uso de equipamento nebulizador para gerar a névoa a partir de sanitizante líquido, difundindo pelo ambiente. Assim, a névoa distribui-se em todo ambiente fazendo a cobertura 3D, agindo, principalmente nas áreas de difícil acesso no local de fabricação, promovendo a descontaminação do ar, superfícies, produtos e equipamentos presentes no ambiente. Além disso, por utilizar o sanitizante em forma de névoa, a nebulização favorece a redução do uso de desinfetantes químicos e de água, contribuindo para que os recursos hídricos e gastos com o tratamento de efluentes sejam poupados. É necessário frisar que durante a aplicação o ambiente deve ser isolado e que seja realizado a verificação da natureza oxidativa do desinfetante, pois a sua dispersão pode causar problemas relacionados à corrosão de alguns materiais (OLIVEIRA *et al.*, 2018b; SKÅRA & ROSNES, 2016; KAKURINOV, 2014).

Existem vários sistemas que estão disponíveis para a entrega da solução desinfetante em névoa (BROWN & WRAY, 2014). De forma geral, pode-se encontrar dois tipos de nebulização, sendo ambas dependentes da condição da solução sanitizante a ser empregada, podendo ser da forma úmida ou seca. A solução úmida a frio, forma uma névoa que se espalha em gotículas pela área, o nevoeiro disperso de forma térmica e seca se comporta como gás fazendo com que o desinfetante não se deposite sobre as superfícies, formado por gotículas menores que 2 µm, possuindo teor mínimo de umidade (KAKURINOV, 2014; OH *et al.*, 2005b).

O processo de nebulização tem sido amplamente utilizado por fabricantes de alimentos refrigerados, saladas, sanduíches, pratos prontos e no processamento de

laticínios. Vale ressaltar que a técnica não deve ser considerada como substituto na etapa usual de limpeza, atuando, portanto, como técnica adicional aos processos convencionais. São poucos os trabalhos publicados nesta área e mais pesquisas sobre a nebulização se fazem necessárias para avaliar o efeito dos parâmetros para cada tipo de produto químico, umidade relativa e temperatura (MASOTTI *et al.*, 2019 a).

Esta revisão demonstra o avanço dos estudos sobre a nebulização descrevendo os principais fatores e parâmetros necessários para a aplicação desta tecnologia no combate a contaminação ambiental, trazendo abordagem do cenário atual, e está se tornando imprescindível o reforço da segurança frente aos microrganismos resistentes e às doenças infecciosas emergentes.

3.3 PROCESSO DE HIGIENIZAÇÃO

A higienização é composta pela limpeza e sanitização, e na etapa de limpeza, ocorre a remoção das sujidades orgânicas e inorgânicas através do uso de detergentes, já na sanitização, ocorre a redução dos níveis de microrganismos presentes, por meio do uso de agentes químicos ou físicos. É importante salientar que os sanitizantes químicos ao entrarem em contato com matéria orgânica sofrem a minimização no seu potencial de ação, por isso, deve-se realizar limpeza eficaz do equipamento, visando garantir a sanitização eficiente (KAKURINOV, 2014).

Contaminações dentro da fábrica podem ser compostas por diversos tipos de microrganismos, tendo aumento em áreas com a presença de restos de matéria orgânica e umidade elevada e a secagem é de difícil execução. Alguns exemplos desses locais de potencial contaminação são: os ralos, as rodas de carrinhos de transporte e pontos de acúmulo de condensados de refrigeradores. (SKÅRA & ROSNES, 2016). Desta forma, o processo de higienização é fundamental para que os alimentos fabricados sejam seguros para o consumo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu higiene alimentar como quaisquer condições e medidas tomadas durante a produção, processamento, armazenamento e distribuição dos alimentos que possam garantir a sua integralidade. A carência de higiene alimentar pode gerar casos de doenças, alguns dados apontam que contaminações cruzadas, armazenamento e o reaquecimento inadequado são as fontes da propagação de DTA 's (KAMBOJ *et al.*, 2020).

Em relação a escolha do desinfetante, é determinante que seus compostos não sejam associados a formação de substâncias inoportunas de potencial tóxico, este aspecto

é uma condição que pode influenciar fortemente o mercado a adotar ou não uma tecnologia de descontaminação. Alguns desinfetantes são largamente usados, como as soluções cloradas, ácido peracético, peróxido de hidrogênio e quaternário de amônio (SKÅRA & ROSNES, 2016).

As soluções cloradas são os sanitizantes mais baratos e os mais frequentemente usados nas indústrias, sendo a eficiência dos outros sanitizantes sempre testados e comparados aos de à base de cloro, mesmo não sendo tão eficientes ao combate de bactérias Gram-negativas, endósporos e bacteriófagos, os compostos clorados apresentam reatividade podendo gerar substâncias carcinogênicas. Por esse motivo, a utilização do cloro tem sido reduzida, principalmente na União Europeia e nos Estados Unidos da América, onde foram criados limites máximos para a quantidade de cloro livre nos resíduos industriais (ARYAL & MURIANA, 2019).

Outro sanitizante de destaque é o ácido peracético, um agente oxidante mais forte que o cloro, este ácido orgânico se desassocia em componentes inócuos como ácido acético e água. É um desinfetante comumente utilizado pelas indústrias de processamento de alimentos sendo eficiente contra bactérias, leveduras e fungos. As regulamentações federais fazem a proibição da utilização de ácido peracético superior a 200 ppm em superfícies de contato com alimentos, o uso de concentrações mais altas, só podem ser aplicadas mediante ao enxágue posterior (HORN & NIEMEYER, 2020; ORTH, 1998; KOIVUNEN & HEINONEN-TANSKI, 2005; ARYAL & MURIANA, 2019).

Em seu modo de ação o ácido peracético é um oxidante inespecífico de ligações dupla C-C e átomos reduzidos. Neste mecanismo as chances de desenvolvimento de resistência de microrganismos ao sanitizante são baixas. A resistência acontece quando o microrganismo não é eliminado ou inibido, dada a concentração do agente antimicrobiano que era atuante na maioria das células. Os pedidos para a aprovação do uso de novos desinfetantes devem crescer na União Europeia e é fundamental que a documentação sobre a sua ação faça parte dos trâmites (WESSELS & INGMER, 2013).

O quaternário de amônio e o peróxido de hidrogênio são sanitizantes com uso mais específicos, sendo utilizados em frigoríficos (sistema lava botas e higienização do chão, paredes) e para descontaminação de embalagens cartonadas no processo UHT, respectivamente. O quaternário amônio é surfactante, as cargas catiônicas ligam-se às proteínas da membrana bacteriana acarretando a sua ruptura e escoamento do material intracelular. É um sanitizante de baixa toxicidade e tem melhor atividade em bactérias gram-positivas, leveduras, fungos e vírus. Possuindo efetividade de eliminação fraca

frente a bactérias Gram-negativas, endósporos e bacteriófagos (ARYAL & MURIANA, 2019).

Já os peróxidos, são comumente usados como desinfetantes e apresentam baixa toxicidade. O peróxido de hidrogênio não produz compostos carcinogênicos ao reagir com substâncias orgânicas decompondo em água e oxigênio. Atuando contra grande gama de microrganismos, o principal modo de ação desse desinfetante é pela oxidação e produção de radicais livres que atacam os lipídios presentes na membrana rompendo-as e levando a atingir o DNA e outros componentes celulares (SKÅRA & ROSNES, 2016; ARYAL & MURIANA, 2019).

Dentre os sanitizantes citados, o ácido peracético possui algumas vantagens como não reagir com proteínas para a geração de substâncias nocivas à saúde, ter baixo impacto ambiental e ser mais ativo contra biofilmes. Porém, para a adoção do sanitizante sempre deve ser ponderada frente aos benefícios em relação a custos e a sua eficiência (ROSSONI & GAYLARDE, 2000).

Além da escolha correta do sanitizante para o combate do microrganismo alvo, fatores como pH, temperatura, tempo de tratamento, dureza da água e concentração da solução são os influenciadores no desempenho dos sanitizantes. É possível ocorrer a resistência natural nas células, pelas trocas genéticas ou mutações, isso pode ser ocasionado pela exposição a componentes biocidas. As bactérias Gram-negativas e Gram-positivas são da mesma forma capazes de ampliar a resistência aos antibióticos quando submetidos ao uso de biocida (ARYAL & MURIANA, 2019).

As bactérias Gram-negativas possuem uma camada de peptidoglicano e uma membrana externa constituída de lipopolissacarídeos e proteínas (Porina), as Gram-positivas, nas quais a maioria da parede celular é formada por peptidoglicano (NAZZARO *et al.*, 2013). Para melhor compreensão da diferença das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas a **figura 1** aponta os componentes de cada uma, demonstrando como ocorrem as alterações celulares sobre efeito da ação de óleo essencial.

A estrutura das bactérias Gram-positivas permite que as moléculas hidrofóbicas penetrem facilmente na membrana celular provocando o declínio na célula bacteriana. O lipopolissacarídeo é um glicolípido composto pelo lipídio A, o oligossacarídeo central e o antígeno O. As bactérias Gram-negativas são mais resistentes aos óleos essenciais do que as bactérias Gram-positivas por causa dos lipopolissacarídeos. A parte acila do lipídio A confere natureza hidrofóbica aos lipopolissacarídeos, enquanto o oligossacarídeo central e o antígeno O são de natureza hidrofílica. Sendo assim, os lipopolissacarídeos

tornam a membrana externa impermeável a esses tipos de moléculas (hidrofílicas e hidrofóbicas) (ROJAS *et al.*, 2018; VASCONCELOS *et al.*, 2018). Porém, a membrana externa é praticamente impermeável a moléculas hidrofóbicas sendo que algumas delas a depender da estrutura química podem passar pelas porinas (NAZZARO *et al.*, 2013).

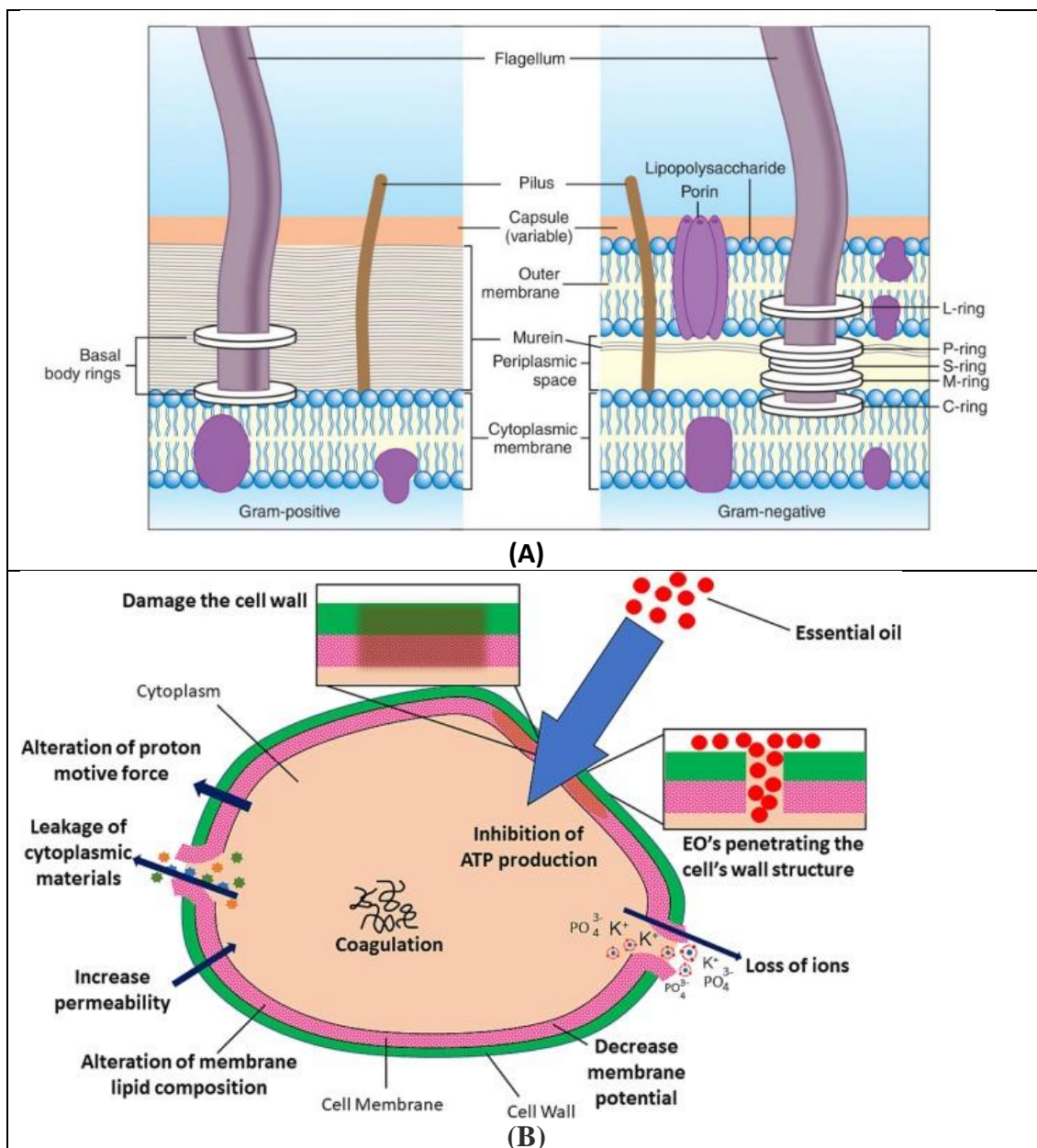


Figura 1 - Diferença entre as paredes celulares de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e o mecanismo de ação dos óleos essenciais. Fonte: Tille, 2015 (A); Pizzo *et al.* 2023 (B).

O efeito antimicrobiano dos óleos essenciais se dá pelas reações que as substâncias (principais e secundárias) presentes no meio provocam, agindo de forma associada. Na atuação dos óleos essenciais o tipo da bactéria interfere no resultado da atividade antimicrobiana, pois, as bactérias Gram-negativas são mais persistentes do que bactérias Gram-positivas (HYLDGAARD *et al.*, 2012; NAZZARO *et al.*, 2013)

Os óleos essenciais são incorporados aos alimentos pelas suas funções aromatizantes, flavorizantes e se apresentam como ótimos conservantes naturais, as pesquisas mostram que estes compostos são capazes de reduzir demanda por aditivos, controlando a contaminação presente nos alimentos, consequentemente melhorando a extensão da vida de prateleira, satisfazendo a busca atual dos consumidores por produtos mais “naturais” (REIS *et al.*, 2020).

Atualmente, a indústria tem sido pressionada para entregar produtos minimamente processados, mais frescos em sabor e na aparência, com menos conservantes e de vida útil prolongada, tornando o processo de higienização ainda mais importante dentro da produção de alimentos (MASOTTI *et al.*, 2019a). É notável a busca por comodidade pelo consumidor, os alimentos que possuem soluções de facilidade para o dia a dia, como os alimentos prontos para comer chamados *ready to eat* – RTE que não passarão por qualquer preparo prévio, como por exemplo o aquecimento (HYUN & LEE., 2020). Outra tendência é o consumo de produtos *clean label* que possuem componentes comuns do conhecimento do consumidor, contam com o uso de ativos naturais e excluem a demanda por aditivos, como por exemplo os conservantes (ASIOLI *et al.*, 2017). Neste contexto, a busca de novas tecnologias adicionais às técnicas convencionais, como a Nebulização que apresenta grande destaque para a garantia da segurança dos alimentos.

3.4 TECNOLOGIA DA NEBULIZAÇÃO

A técnica de nebulização apresenta grande destaque para descontaminação ambiental de equipamentos e da superfície de alimentos, mostrando ser a técnica versátil. Na produção de alimentos a nebulização pode ser usada na descontaminação da superfície de vegetais, áreas de embalagem, armazenamento, linhas de processo e câmaras de resfriamento. Em geral, o sistema pode ser constituído de equipamentos que são formados por bicos fixados ou por uma unidade móvel (KAKURINOV, 2014).

Em comparação com a aplicação de desinfetantes gasosos, a aerossolização possui vasto espectro de sanitizantes que podem ser aplicáveis (PARK *et al.*, 2012). Nos

trabalhos sobre a nebulização na indústria de alimentos, pode-se observar pesquisas na sanitização das superfícies da fábrica e estudos voltados a aplicação direta em alimentos. Foram utilizados agentes como o ácido peracético, soluções cloradas, peróxido de hidrogênio, quaternário de amônio e os óleos essenciais (OLIVEIRA *et al.*, 2018b; OH *et al.*, 2005a; BATTERSBY *et al.*, 2017; CHOI *et al.*, 2012b; SALUSTIANO *et al.*, 2004).

Um parâmetro de importância para efetividade da técnica é o diâmetro das gotículas nebulizadas, influenciando diretamente, na distribuição e permanência da neblina pelo ar. Partículas menores contribuem para a formação de nevoeiro seco e as maiores geram rápida deposição de solução levando a formação de fase líquida sobre as superfícies (MASOTTI *et al.*, 2019a). De acordo com SALUSTIANO *et al.* (2004), a névoa com gotículas menores ($< 2\mu\text{m}$) tem semelhança com a dispersão da fumaça, isto é, proporciona uniformidade de suspensão por todo o ambiente.

Segundo Burfoot *et al.* (1999), para a fixação em superfícies verticais e voltadas para baixo as gotículas em suspensão precisavam ter entre 10 e 20 μm , favorecendo a névoa formada para que fique por maior tempo dispersa na área, e o projeto da disposição dos bicos próximos aos alvos auxilia a solução a chegar em locais específicos. Desinfetantes oxidantes mais fortes como ácido peracético ou aldeído colaboram para maior redução dos microrganismos.

Park *et al.* (2012) e Choi *et al.* (2012a) estudaram o efeito da nebulização com desinfetantes à base de hipoclorito de sódio (100 ppm), ácido peracético (100, 200 e 400 ppm) e peróxido de hidrogênio (0,25% e 0,5%) em biofilmes maduros de *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocytogenes*. Em geral, os resultados demonstraram que a técnica foi capaz de exercer reduções microbianas, e tempo de exposição e concentração das soluções influenciaram nos níveis de eficácia do método. Compreender os efeitos da redução microbiana em biofilmes maduros pode revelar como o método interage na resistência sobre a estrutura destes complexos (PARK *et al.*, 2012).

Em relação a descontaminação ambiental, a implementação de um tratamento programado para desinfecção do ar constitui estratégia auxiliar de grande importância, principalmente para alimentos mais suscetíveis a contaminações, como RTE e *clean label*. A higienização convencional direciona as ações, basicamente a desinfecção de superfícies de equipamentos, chão, parede, entre outros, contudo muitas vezes negligencia a questão ambiental. Um ambiente contaminado pode resultar em recontaminações recorrentes em equipamentos e alimentos, pela deposição de

microrganismos presentes no ar, podendo comprometer a segurança durante a produção (KHAN & YADAV, 2020).

Neste contexto, a nebulização apresenta grande destaque, possibilitando a cobertura 3D do ambiente, realizando a descontaminação em todo ambiente aplicado. Além disso, a técnica favorece a redução da quantidade de volume de rejeitos gerados durante a sanitização, comparado aos métodos convencionais (IÑIGUEZ-MORENO *et al.*, 2018; MASOTTI *et al.*, 2019a). Contudo, apesar do potencial da técnica, o uso da nebulização para a desinfecção do ar de ambientes na indústria de alimentos é tema ainda pouco estudado (MASOTTI *et al.*, 2019a). Pesquisas que reportem o efeito da nebulização na descontaminação ambiental são fundamentais para que o método se consolide comercialmente na proporção do seu potencial.

Wood *et al.* (2013), avaliaram o efeito da nebulização com uma mistura de 22% de peróxido de hidrogênio e 4,5% de ácido peracético, na desinfecção ambiental de uma câmara piloto (24 m³) de aço inoxidável, usando esporos de *Bacillus anthracis*. Os autores observaram a redução de 4,78 log de esporos viáveis, demonstrando a efetividade da técnica.

Em outra pesquisa, MASOTTI *et al.* (2019b) investigaram o ar interno de uma indústria de laticínios, observando as suas atuações como fonte ou veículo de contaminação microbiana. Foram realizadas as avaliações dos efeitos da desinfecção do ar por ozonização e aerossolização química por peróxido de hidrogênio. O resultado das análises verificou que a microbiota consistia em 11 espécies de fungos isolados que consistiram principalmente de *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp. e *Penicillium* spp.; as leveduras foram representadas principalmente por *Cryptococcus* spp., *Debaryomyces* spp., *Bulleromyces* spp. e *Sporobolomyces* sp.. Ambos os tratamentos de desinfecção foram eficazes no combate aos microrganismos presentes no ar. A pesquisa concluiu que a ocorrência de contaminação foi promovida por um processo de recontaminação ambiental e dos equipamentos, despertando o interesse de implementação da técnica para prevenção destes casos.

Em um fumeiro de salmão, oito cepas de *L. monocytogenes* se mostram persistentes no ambiente de fatiamento, foi verificado que os drenos formaram um nicho e que a exposição a espuma de hipoclorito utilizada rotineiramente não eliminou os microrganismos efetivamente, mas o tratamento de ácido peracético nebulizado mostrou melhor desempenho para a eliminação das cargas microbianas. A pesquisa concluiu que o *L. monocytogenes* em biofilmes consegue mostrar resistência a alguns sanitizantes

como o hipoclorito e que analisar o impacto na ação dos sanitizantes para determinados microrganismos pode corroborar para o sucesso da operação (BAGGE-RAVN *et al.*, 2003).

Além do uso no ambiente de processamento de alimentos, a nebulização tem sido estudada em outros ambientes, apresentando resultados promissores. Estudos em ambientes de forma geral, podem ser parâmetro para o uso na área de processamento de alimentos. Battersby *et al.*, 2017 avaliaram o efeito da nebulização sob *Enterobacteriaceae* e *Campylobacter* sp, em pontos estratégicos dentro de um aviário, como comedouros, bebedouros e paredes. Os autores constataram que a nebulização térmica com a combinação de peroximonossulfato de potássio, ácido sulfâmico e cloreto de sódio (5%, v/v) ou o complexo glutaraldeído e amônio quaternário (0,3%, v/v) foram eficazes no controle microbiano. Porém, o estudo alerta para a possível revisão no sistema de descontaminação, pois o procedimento pode manter um ciclo de contaminação cruzada por *Campylobacter* entre os lotes. Essas localidades escolhidas como ponto de coleta chamam a atenção para o desempenho dos sanitizantes em áreas que contêm altas taxas de resíduos orgânicos por serem locais não efetivamente limpos e desinfetados.

Krishnan *et al.* (2012) avaliaram a aplicação da nebulização a seco de uma solução comercial de ácido peracético na descontaminação laboratorial, através de cupons de aço inox contendo *Escherichia coli*, *Estafilococos aureus*, esporos de *Bacillus atropheus* e o adenovírus humano. Paralelamente a descontaminação, foi avaliada a compatibilidade do método diante de equipamentos eletrônicos. O experimento obteve sucesso na redução dos microrganismos e após seis rodadas de aplicação não comprometeu funcionalmente os eletrônicos. Estes resultados apontam para a possibilidade de utilização da tecnologia em ambientes equipados com componentes eletrônicos sensíveis a aplicação de desinfetantes líquidos, sendo a solução de descontaminação nestes casos, mostrando uma alternativa ao uso de peróxido de hidrogênio vaporoso e a fumigação com formaldeído frequentemente usados na descontaminação de laboratórios.

A desinfecção de ambientes na área de saúde foi estudada por Andersen *et al.* (2006). Os autores utilizaram um sistema de descontaminação usando o aerossol seco de peróxido de hidrogênio em superfícies internas de salas, ambulâncias e diferentes tipos de equipamentos médicos, e obteve bons resultados. O uso do vapor de peróxido de hidrogênio já era conhecido por ter bom desempenho na erradicação de *Estafilococos aureus* resistente à meticilina. Porém, muitos vapores usados para este fim não são eliminados pela breve aeração. O desenvolvimento de equipamentos de controle de

infecção ambiental é de extrema importância, esses locais são frequentemente contaminados com esporos de antraz, *Legionella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, vírus da síndrome respiratória aguda grave, Marburg, Lassa, Ebola e entre outros.

Recentemente com o cenário de COVID-19, a sanitização no setor de varejo de alimentos e serviços de alimentação passou a ter grande destaque, como a desinfecção periódica de superfícies de alto toque (FRASER *et al.*, 2021). Em resposta a propagação da doença foram desenvolvidas diversas medidas para minimizar a propagação, como o uso da nebulização em câmara de desinfecção humana e para objetos, como carrinho de supermercado. Contudo, para humano, alguns cuidados são exigidos para a aplicação segura, uma vez que a pulverização ou a aerossolização podem ocasionar toxicidade por inalação ou absorção dos componentes (WICKRAMATILLAKE & KURUKULARATNE, 2020).

Mesmo para a classe de serviços e varejo de alimentos a higienização pode apresentar alguns desafios na sua implementação, dentre os empecilhos apresentados alguns são frequentemente apontados, como: o uso de diferentes produtos com instruções específicas, tempo limitado para o ciclo de limpeza e a alta rotatividade de colaboradores implica na falta de pessoal treinado para completar a etapas adequadamente em menor tempo. Sem sombra de dúvidas a simplificação dos mecanismos é muito desejável, assim com a reabertura das lojas no período de pandemia a procura por procedimentos de higienização de grandes áreas se tornou popular como os métodos de nebulização, misting e spray eletrostático. Porém a eficácia e riscos de métodos como estes devem ser ponderados criteriosamente, servindo como tecnologia potencialmente de apoio na rotina de higienização (FRASER *et al.*, 2021).

3.5 DESAFIOS NO GERENCIAMENTO DAS MEDIDAS DE DESCONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

A pandemia da SARS-CoV-2 teve grande impacto na vida das pessoas, oscilando os mercados internacionais e atingindo as indústrias. De acordo com o Fundo Monetário Internacional (FMI), o resultado da pandemia na economia provocou a redução de cerca de 3% no ano de 2020 (VLASCEANU & TIGU, 2021). Dentro das empresas a carência de um projeto higiênico dos sistemas de circulação de ar e procedimentos de limpeza e desinfecção adequados podem causar perdas significativas a economia e acarretar doenças epidêmicas (LÓPEZ-GÓMEZ *et al.*, 2013).

A crise de COVID-19 ilustra os perigos inseridos em uma pandemia de vírus transmitido pelo ar, constituindo risco para a saúde de todos os colaboradores, para a economia e para a segurança alimentar. Nos últimos anos pode-se presenciar um número crescente de surtos virais como a de SARS, MERS-COV, H1N1 e o Ebola. O cenário atual aponta que os futuros surtos pandêmicos precisam ser tratados através de um plano de ação ativo, que consiga rapidamente resposta efetiva a estes problemas. É indispensável para os avanços tecnológicos, dentro da etapa de sanitização, aprimorar os protocolos de segurança alimentar, considerando a descontaminação de superfícies e do ambiente. Neste contexto, torna-se fundamental a execução de estudos que simulam ambientes reais, facilitando a limpeza e desinfecção manual da qual pode ser trabalhosa e demorada (ZIMMERMAN *et al.*, 2021; FU *et al.*, 2012).

A propagação de bioaerossóis podem ter diferentes origens, como: em matérias-primas *in natura*, na falta do controle pragas, água contaminada, condições de processamento inadequados, zoneamento ineficiente, drenos abertos, bem como operações de limpeza úmida e seca por escovação, formando gotículas úmidas ou de poeira seca. A composição dos bioaerossóis envolve associação de partículas e microrganismos sobrevivendo no ar, e as bactérias patogênicas podem desenvolver um ambiente favorável para a produção de biofilme em superfícies. Podem-se encontrar vasta mistura de espécies de microrganismo dentro das indústrias alimentícias, como endósporos e exósporos de bactérias, células vegetativas em maioria de bactérias Gram-positivas, fungos e leveduras (MASOTTI *et al.*, 2019a).

O conhecimento sobre as fômites que interagem na dinâmica de transmissão são importantes para a determinação da sobrevivência do microrganismo em superfícies. Em relação aos vírus, a ventilação, temperatura ambiental e o fluxo de ar, regulam o comportamento da sua ocorrência. Os danos da SARS-CoV-2 na indústria de alimentos envolvem a transmissão pelo contato na área de trabalho na interação dos colaboradores, pelo ar ou de forma indireta em superfícies externas das embalagens. As pesquisas indicam que manobras de desinfecção superficiais em embalagens não causam redução se não estiverem aliadas a higienização das mãos e o uso de máscaras de proteção. Para os consumidores a contaminação pela ingestão de alimentos com o vírus é improvável, pois o recebimento de vários processos como a acidificação e o tratamento térmico podem reduzir significativamente estes níveis (BAKER & GIBSON, 2022).

O ataque bioterrorista do 11 de setembro de 2001 mostrou que a operação de desinfecção emergencial deve incluir uma série de pontos para a mitigação de riscos de

propagação microbiológica. Incluindo a descontaminação volumétrica, ou seja, a liberação gases, vapores ou névoa que possam permear todo o ambiente, em que os operadores possam executar o método de maneira simples sem a necessidade de treinamentos, podendo ser feito a utilização de agente sanitizante que extermine grande gama de microrganismos e que seus componentes não tragam alterações indesejadas aos variados tipos de superfícies que podem ser encontradas na estrutura do ambiente (RICHTER *et al.*, 2018).

3.6 PERSPECTIVAS PARA A ÁREA DA SANITIZAÇÃO DE ALIMENTOS POR MEIO DA NEBULIZAÇÃO

É irrefutável que haja a necessidade da criação de protocolos que visem a segurança dos alimentos em caráter emergencial, principalmente abordando esses casos atuais de contaminação por doenças emergentes. A inocuidade dos produtos industrializados e o varejo da área alimentícia são altamente impactados pela falta de gestão proativa das contaminações microbiológicas, prejudicando a saúde de trabalhadores e consumidores, causando graves danos à economia, fazendo com que ocorra o fechamento de indústrias e acarrete na escassez da oferta de produtos. Mais tecnologias de descontaminação precisam ser implementadas com o intuito de induzir o uso principalmente nestes casos de eventualidade, garantindo que os procedimentos ocorram de forma rápida e facilitada. A nebulização já se mostra uma tecnologia de desinfecção interessante para problemas recorrentes como a incidência de biofilmes, descontaminação do ar de circulação e locais de difícil acesso. Porém, mais estudos devem ser elaborados a fim de definir parâmetros para estabelecer o uso da tecnologia, como:

- ❖ Verificar a existência de mudanças indesejadas na estrutura industrial ao receber o tratamento, incluindo a parte eletrônica presente na área;
- ❖ Estabelecer desinfetantes adequados para serem usados nas superfícies, em que seus resíduos ao entrarem em contato com os alimentos não provoquem alterações físico-químicas ou sensoriais;
- ❖ Desenvolver padrões de tempo x dosagens eficazes, abrangendo as mais diversas exigências de contaminação que possam ocorrer no ambiente, inclusive em indústrias com produtos *clean label* e RTE;

- ❖ Elaborar padrões para que a desinfecção possa ser facilitada, e os colaboradores consigam aplicar o método de maneira rápida em condições emergências;
- ❖ Avaliar a aplicação em superfícies de embalagens para a verificação da integridade dos materiais após o método.

Embora os estudos relacionados ao uso da nebulização sejam escassos, os resultados das pesquisas apontam resultados promissores no campo da microbiologia, sendo alternativa que gera menores quantidades de resíduos e consome menos recursos hídricos, sendo a solução para os processos de limpeza com baixa umidade apresentando uma opção viável a ser adotada como complemento das rotinas de higienização das empresas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, B. M., 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**, v. 62, n. 2, p. 149-155, 2006.

ARYAL, M., & MURIANA, P. M. Efficacy of commercial sanitizers used in food processing facilities for inactivation of *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157: H7, and *Salmonella* biofilms. **Foods**, v. 8, n. 12, p. 639, 2019.

ASIOLI, D., ASCHEMANN-WITZEL, J., CAPUTO, V., VECCHIO, R., ANNUNZIATA, A., NÆS, T., & VARELA, P. Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. **Food Research International**, v. 99, p. 58-71, 2017.

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**, v. 66, n. 4, p. 592-598, 2003.

BAKER, C. A.; GIBSON, K. E. Persistence of SARS-CoV-2 on Surfaces and Relevance to the Food Industry. **Current Opinion in Food Science**, p. 100875, 2022.

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**, v. 64, p. 1-6, 2017.

BROWN, K. L., & WRAY, S. Control of airborne contamination in food processing. In: **Hygiene in Food Processing**. Woodhead publishing, p. 174-202. 2014.

BURFOOT, D., HALL, K., BROWN, K., XU, Y. Fogging for the disinfection of food processing factories and equipment. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, n. 6-7, p. 205-210, 1999.

CHOI, NY, BAEK, SY, YOON, JH, CHOI, MR, KANG, DH, & LEE, SY. Efficacy of aerosolized hydrogen peroxide-based sanitizer on the reduction of pathogenic bacteria on a stainless steel surface. **Food Control**, v. 27, n. 1, p. 57-63, 2012.(a)

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**, v. 24, n. 1-2, p. 171-176, 2012.(b)

FILIPPE, H. A., FIUZA, S. M., HENRIQUES, C. A., & ANTUNES, F. E. Antiviral and antibacterial activity of hand sanitizer and surface disinfectant formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 609, p. 121139, 2021.

FRASER, AM ; ANDERSON, J .; GONÇALVES, J .; BLACK, E .; STAROBIN, A .; BUCKLEY, D .; GRINSTEAD, D .; MANOEL, C .; HOLLINGSWORTH, J. Sanitizers and disinfectants: a retail food and foodservice perspective. **Food Protection Trends**, v. 41, n. 3, p. 358-367, 2021.

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**, v. 80, n. 3, p. 199-205, 2012.

HORN, H., & NIEMEYER, B. Aerosol disinfection of bacterial spores by peracetic acid on antibacterial surfaces and other technical materials. **American Journal of Infection Control**, v. 48, n. 10, p. 1200-1203, 2020.

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

HYUN, J. E., & LEE, S. Y. Blue light-emitting diodes as eco-friendly non-thermal technology in food preservation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 284-295, 2020.

IÑIGUEZ-MORENO, M., GUTIÉRREZ-LOMELÍ, M., GUERRERO-MEDINA, P. J., & AVILA-NOVOA, M. G. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. under mono and dual-species conditions and their sensitivity to cetrimonium bromide, peracetic acid and sodium hypochlorite. **brazilian journal of microbiology**, v. 49, p. 310-319, 2018.

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

KAMBOJ, S., GUPTA, N., BANDRAL, J. D., GANDOTRA, G., & ANJUM, N. Food safety and hygiene: a review. **International Journal of Chemical Studies**, v. 8, n. 2, p. 358-368, 2020.

KHAN, M. H. & YADAV, H. Sanitization during and after COVID-19 pandemic: a short review. **Transactions of the Indian National Academy of Engineering**, v. 5, n. 4, p. 617-627, 2020.

KOIVUNEN, J. & HEINONEN-TANSKI, H. Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments. **Water research**, v. 39, n. 8, p. 1519-1526, 2005.

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**, v. 17, n. 3, p. 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**, v. 5, n. 1, p. 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**, v. 90, p. 147-156, 2019.(a)

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**, v. 97, p. 32-38, 2019.(b)

NAZZARO, F., FRATIANNI, F., DE MARTINO, L., COPPOLA, R., & DE FEO, V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1451-1474, 2013.

OH, S. W., DANCER, G. I., & KANG, D. H. Efficacy of aerosolized peroxyacetic acid as a sanitizer of lettuce leaves. **Journal of food protection**, v. 68, n. 8, p. 1743-1747, 2005.(a)

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**, v. 41, n. 1, p. 56-60, 2005. (b)

OLIVEIRA, D., BORGES, A., & SIMÕES, M. Staphylococcus aureus toxins and their molecular activity in infectious diseases. **Toxins**, v. 10, n. 6, p. 252, 2018. (a)

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**, v. 114, p. 133-139, 2018. (b)

ORTH, R. The importance of disinfection for the hygiene in the dairy and beverage production. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 41, n. 3-4, p. 201-208, 1998.

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 Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 130-134, 2012.

PIZZO, J.S, VISENTAINER, J.V, DA SILVA, A.L, & RODRIGUES, C. Application of essential oils as sanitizer alternatives on the postharvest washing of fresh produce. **Food Chemistry**, v. 407, p. 135101, 2023.

REIS, J. B., DE FIGUEIREDO, L. A., CASTORANI, G. M., & VEIGA, S. M. O. M. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.

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**, v. 206, p. 800-806, 2018.

ROJAS, E. R., BILLINGS, G., ODERMATT, P. D., AUER, G. K., ZHU, L., MIGUEL, A.; HUANG, K. C. The outer membrane is an essential load-bearing element in Gram-negative bacteria. **Nature**, v. 559, n. 7715, p. 617-621, 2018.

ROSSONI, E. M. M.; GAYLARDE, C. C. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitising agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. **International Journal of food microbiology**, v. 61, n. 1, p. 81-85, 2000.

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**, v. 24, n.

3, p. 159-167, 2004.

SKÅRA, T., & ROSNES, J. T. Emerging methods and principles in food contact surface decontamination/prevention. **Innovation and future trends in food manufacturing and supply chain technologies**, p. 151-172, 2016.

TILLE, P. **Bailey & Scott's diagnostic microbiology-E-Book**. Elsevier Health Sciences, 2015.

VASCONCELOS, N. G.; CRODA, J.; SIMIONATTO, S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. **Microbial pathogenesis**, v. 120, p. 198-203, 2018.

VLASCEANU, C. F., & TIGU, G. Cruise industry: Enhanced health and safety protocols. In: **7th BASIQ International Conference on New Trends in Sustainable Business and Consumption**. 2021.

WESSELS, S., & INGMER, H. Modes of action of three disinfectant active substances: a review. **Regulatory toxicology and pharmacology**, v. 67, n. 3, p. 456-467, 2013.

WICKRAMATILLAKE, A., & KURUKULARATNE, C. SARS-CoV-2 human disinfection chambers: a critical analysis. **Occupational Medicine**, v. 70, n. 5, p. 330-334, 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**, v. 250, p. 61-67, 2013.

ZIMMERMAN, T.; SIDDIQUI, S. A; BISCHOFF, W.; IBRAHIM, S. A. Tackling airborne virus threats in the food industry: A proactive approach. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 8, p. 4335, 2021.

4 CAPÍTULO II – Avaliação dos efeitos de sanitizantes comerciais na inativação de patógenos em superfície de inox através das técnicas de nebulização em imersão

RESUMO

A nebulização ou aerossolização é uma técnica que se baseia na difusão de uma névoa fina no ar utilizando desinfetante líquido, possibilitando que a etapa de descontaminação tenha cobertura tridimensional, conseguindo atingir até mesmo locais de difícil acesso. Este trabalho objetivou a avaliar o processo de descontaminação e o comportamento de inativação microbiológica de três microrganismos patogênicos *S. Thyphimurium*, *E.coli* e *Estafilococos aureus* frente aos processos de nebulização e imersão utilizando dois sanitizantes comerciais, sendo um à base de Hipoclorito de sódio (200 ppm) e outro de ácido peracético (108 ppm) em superfície de aço inox. Foram usados para a aplicação do processo de nebulização e imersão os tempos de 1, 3, 5 e 15 minutos para os *pools* de *S. Thyphimurium* e *E.coli*, para o *pool* de *Estafilococos aureus* foram usados os tempos de 3, 5, 7 e 15 minutos. Após o tempo de 15 minutos os tratamentos de nebulização com o desinfetante à base de hipoclorito de sódio conseguiram reduzir 4,4 e até no mínimo 5 logs do *pool* de *Estafilococos aureus*, *S. Thyphimurium* e *E.coli* respectivamente, para os tratamentos com o desinfetante à base de ácido peracético houve a redução de 5,4 e de no mínimo 6 logs do *pool* de *Estafilococos aureus*, *S. Thyphimurium* e *E.coli* respectivamente. Somente a bactéria *E.coli* conseguiu atingir contagens abaixo do limite de detecção (1 log UFC/ml) após 15 minutos para os tratamentos de nebulização de ambos os desinfetantes. Todos os tratamentos de imersão com a solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm atingiram contagens abaixo do limite de detecção (1 log UFC/ml) após 15 minutos de ação, já a solução de ácido peracético a 108 ppm conseguiu atingir o mesmo valor em menores tempos 7 minutos para o *pool* de *Estafilococos aureus*, 5 minutos para os *pools* de *S. Thyphimurium* e *E.coli*. O desinfetante à base de ácido peracético teve melhor desempenho em ambos os métodos. Os resultados deste estudo mostraram que a etapa de descontaminação utilizando a nebulização de sanitizantes comerciais pode ser de grande auxílio no controle microbiológico em fábricas.

Palavras-chaves: Descontaminação, *E.coli*, *S. Thyphimurium*, *Estafilococos aureus* e Aerossolização.

ABSTRACT

The nebulization or aerosolization is a technique based on the diffusion of a fine mist in the air using a liquid disinfectant, this allows the decontamination step to have a three-dimensional coverage, reaching even places of difficult access. This work aimed to evaluate the decontamination process and the microbiological inactivation behavior of three pathogenic microorganisms, *S. Thyphimurium*, *E. coli* and *Staphylococcus aureus*, using two commercial sanitizers, one based on sodium hypochlorite (200 ppm) and the other on peracetic acid (108 ppm) on stainless steel surfaces. The mist and immersion processes were applied in 1, 3, 5, and 15 minutes for the *S. Thyphimurium* and *E. coli* pools, and 3, 5, 7, and 15 minutes for the *Staphylococcus aureus* pool. After the 15 minute time the mist treatments with the sodium hypochlorite-based disinfectant were able to reduce 4, 4 and up to at least 5 logs of the *Staphylococcus aureus*, *S. Thyphimurium* and *E.coli* pool respectively, for the peracetic acid-based disinfectant treatments there was a reduction of 5, 4 and up to at least 6 logs of the *Staphylococcus aureus*, *S. Thyphimurium* and *E.coli* pool respectively. Only *E.coli* bacteria were able to reach counts below the detection limit (1 log CFU/ml) after 15 minutes for the mist treatments of both disinfectants. All immersion treatments with 200 ppm of sodium hypochlorite solution reached counts below the detection limit (1 log CFU/ml) after 15 minutes of action, while the 108 ppm peracetic acid solution reached the same value in shorter times (7 minutes for *Staphylococcus aureus* pool, 5 minutes for *S. Thyphimurium* and *E.coli* pools). The peracetic acid-based disinfectant performed better in both methods. The results of this study showed that the decontamination step using commercial sanitizers spray can be of great help in microbiological control in factories.

Keywords: Decontamination, *E.coli*, *S. Thyphimurium*, *Staphylococcus aureus* and Aerosolization.

4.1. INTRODUÇÃO

A Higienização é o processo que engloba a limpeza e sanitização, sendo uma etapa fundamental para a produção de alimentos seguros. Enquanto a etapa de limpeza consiste na remoção dos resíduos aderidos à superfície, através do uso de detergentes, a etapa de Sanitização busca eliminar microrganismos patogênicos e reduzir a carga microbiana deteriorante, através do emprego de agentes químicos ou físicos. Em ambas as etapas, é fundamental a escolha dos agentes e as respectivas concentrações a serem utilizadas, a fim de evitar danos nas superfícies, como por exemplo, corrosões e alterações estruturais da matéria (KAKURINOV, 2014).

Contaminações microbianas no ambiente de processamento de alimentos podem ser ocasionadas por várias vias, através da contaminação cruzada entre produto acabado e matéria-prima, má higienização de espaços de difícil acesso como ralos, drenos e dutos de circulação de ar, contato com matéria-prima contaminada e através da manipulação inadequada. Nestes casos bactérias como a *E.coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Estafilococos aureus* e *Listeria monocytogenes*, podem se tornar grande problemas, principalmente pela capacidade de formação de biofilmes nas instalações, podendo acarretar a ocorrência de surtos alimentares (ARYAL & MURIANA, 2019).

A *Salmonella* e a *E. coli* são microrganismos Gram-negativos. As infecções por *Salmonella* spp têm casos registrados por todo o mundo sendo um dos patógenos de origem alimentar encontrados com mais frequência em produtos de origem animal que não passaram por aquecimento térmico. De acordo com o CDC (2018), as infecções por Salmonelose representam cerca de 11 % das DTA's, ocasionando aproximadamente, 1.027.561 pessoas doentes a cada ano. Além da *Salmonella*, outro patógeno de importância é a *E. coli* coloniza o corpo humano logo após o nascimento, estando presente naturalmente no trato intestinal, porém algumas cepas microbianas podem causar grande variedade de enfermidades intestinais (MIRSEPASI-LAURIDSEN *et al*, 2019; ENG *et al*, 2015). Já o *Estafilococos aureus* é uma bactéria Gram-positiva sendo um microrganismo facilmente encontrado na pele e mucosa nasal dos humanos, possuindo a capacidade produzir toxinas (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Atualmente com a tendência do consumo de alimentos *clean label* e de alimentos Ready to Eat – RTE, o controle das condições higiênico sanitárias durante o processamento, deve ser realizado de forma ainda mais rigorosa, uma vez que são alimentos mais propensos a contaminações. Neste contexto, técnicas adicionais aos métodos convencionais de higienização, como a nebulização, vêm obtendo grande

destaque, com intuito de melhorar a qualidade e garantir a segurança microbiológica desses alimentos, principalmente (LÓPEZ-GÓMEZ *et al.*, 2013; ASIOLI *et al.*, 2017; HYUN *et al.*, 2020; RAZA *et al.*, 2021). A nebulização ou aerossolização baseia-se na difusão de agentes sanitizantes líquido, em uma névoa fina pelo ar, isso possibilita a cobertura homogênea tridimensional do espaço, proporcionando atingir localidades de difícil acesso nos equipamentos, além de promover a descontaminação ambiental. Essa técnica é um auxílio na eliminação das contaminações que podem persistir nas rotinas tradicionais de limpeza e desinfecção (BROWN & WRAY, 2014).

Além de promover a descontaminação nos equipamentos e no ambiente de processamento, a nebulização também pode ser utilizada para descontaminação superficial de alimentos, demonstrando ser uma tecnologia bastante versátil para indústria de alimentos (MASOTTI *et al.*, 2019). Vale destacar que o uso da nebulização, assim como as demais técnicas utilizadas na higienização convencional, deve ter seus parâmetros de concentração dos agentes e tempo de aplicação, por exemplo, validados para o uso comercial nas indústrias.

Adicionalmente a versatilidade da técnica durante o processamento de alimentos, a nebulização pode ser aliada na redução da propagação de doenças respiratórias emergentes como a COVID – 19 (FILIPE *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Assim, neste cenário, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência da nebulização e da imersão com hipoclorito de sódio (200 ppm) e a um desinfetante comercial (à base de ácido peracético - 108 ppm), na persistência de patógenos (*Estafilococos aureus*, *S.Typhimurium* e *E.coli*), em superfícies de aço inox.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de microbiologia aplicada do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO. As cepas foram gentilmente cedidas pelo INTEGRALAB, Cascavel – PR, Brasil e pela Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, Brasil. Foram utilizadas duas cepas bacterianas de *Estafilococos aureus* (ATCC® 25923™ e cepa isolada a campo proveniente de aves comerciais), *Escherichia coli* (NEWP® 0022, ATCC® 25922™ e cepa isolada a campo proveniente de aves comerciais) e *S. Typhimurium* (ATCC® 13311™ e ATCC® 14028™) para a verificação da influência dos tratamentos de nebulização e imersão frente aos microrganismos. As cepas foram mantidas por transferências mensais em tubos com ágar nutriente sendo acondicionadas em câmara incubadora BOD (Limatec, modelo LT 320 T) a 4°C.

4.2.1. Preparo e padronização do inóculo

Inicialmente, as cepas de *Estafilococos aureus*, *E.coli* e *S. Thyphimurium* foram cultivadas, separadamente, em tubos Falcon com caldo Brain Heart Infusion Broth (BHI) e incubadas em estufa bacteriológica (Thelga, modelo TE64CB) a 37°C/24 horas. Após este período, realizou-se a centrifugação (Solab, modelo SL-701 da marca) a 3500 X g (5190 rpm) por 10 minutos a 4°C, e em seguida, foram retirados os sobrenadantes e realizado a lavagem dos pellets por 3 vezes seguidas utilizando solução salina 0,85%. Após, os pellets foram reidratados com água salina 0,85% para ajuste da concentração através da escala de McFarland. As cepas foram individualmente padronizadas em $1,5 \times 10^8$ UFC/ml (Tubo 0,5), em seguida foi feita a mistura para a formação dos *pools* de *Estafilococos aureus*, *S. Thyphimurium*, *E.coli*. Para confirmação da concentração, foi utilizado 0,1 ml em superfície do ágar PCA para quantificação das células, sendo incubado em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

4.2.2. Preparação dos cupons de aço inox

Os cupons de aço inox 304 foram padronizados em 5 x 2 cm de acordo com o trabalho de Choi *et al.* (2012), com modificações. Para remoção de sujidades foi realizado a limpeza dos cupons com detergente neutro e após a secagem eles foram colocados em solução alcalina de hidróxido de sódio (NaOH) a 1% sendo sonificados (Cristófoli, modelo cuba de ultrassom cristófoli) por 20 minutos. Após esta etapa os cupons foram rinsados com água destilada, sendo adicionado uma gota de fenolftaleína nessa água para a conferência da retirada da solução alcalina dos cupons. Após a secagem, os cupons foram imergidos em solução de ácido fosfórico (H₃PO₄) a 15 % e sonificados novamente por 20 minutos, e foram rinsados com água destilada novamente conferindo a retirada da solução ácida. Os cupons secos foram colocados individualmente nas placas de Petri, contendo papel filtro (para nebulização somente), seguindo todo material para esterilização 121°C/15 min (BS equipamentos indústria e comércio ltda, modelo 1 .2). Após a secagem em estufa as placas com os cupons foram identificadas, e posteriormente foram inoculados 0,1 ml de cada pool nos diferentes cupons. Com auxílio da alça de inoculação descartável previamente estéril, foram espalhadas as alíquotas por toda a superfície do cupom. Para auxiliar na fixação dos microrganismos ao inox, aguardou-se 30 minutos para a secagem dos cupons no Fluxo Laminar (Filterflux, modelo SBIIA1) com ventilação de ar. Para nebulização, após a secagem das placas de Petri (90 cm²) contendo os cupons contaminados, seguiu-se para a pesagem em balança analítica (BEL,

modelo M214Ai) antes e depois da aplicação do processo, para posterior conferência do volume utilizado em cada tratamento (Figura 1a e 1b).

4.2.3. Aplicação das soluções sanitizantes nos processos de nebulização e imersão

Para o preparo da solução comercial à base de ácido peracético (VortexxTM ES ECOLAB - 13,5% p/p ácido peracético), foi utilizada a diluição recomendada no rótulo de 0,8 ml para 1 L de água destilada estéril, resultando em concentração de 108 ppm. Para o preparo da solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm foi utilizada água sanitária comercial (considerando a concentração de no mínimo de 2,0 % p/p cloro ativo), e foi diluído 10 ml em 1 L de água destilada estéril.

O compartimento do nebulizador (VENTISOL, modelo U-04), mangueira plástica e caixa de acrílico (30 L) usados para a aplicação da técnica foram previamente limpos com água e detergente neutro, sendo posteriormente descontaminados com álcool 70% e exposição a luz UV por 30 minutos. Após essa etapa foi colocado no nebulizador a 500 ml de solução sanitizante. Foi acoplado ao nebulizador uma mangueira que conduzia a névoa a caixa de acrílico (**figura 1c**). Para o processo de imersão foi utilizado 25 ml de cada sanitizante para cada placa de Petri contendo os cupons Figura 1d.

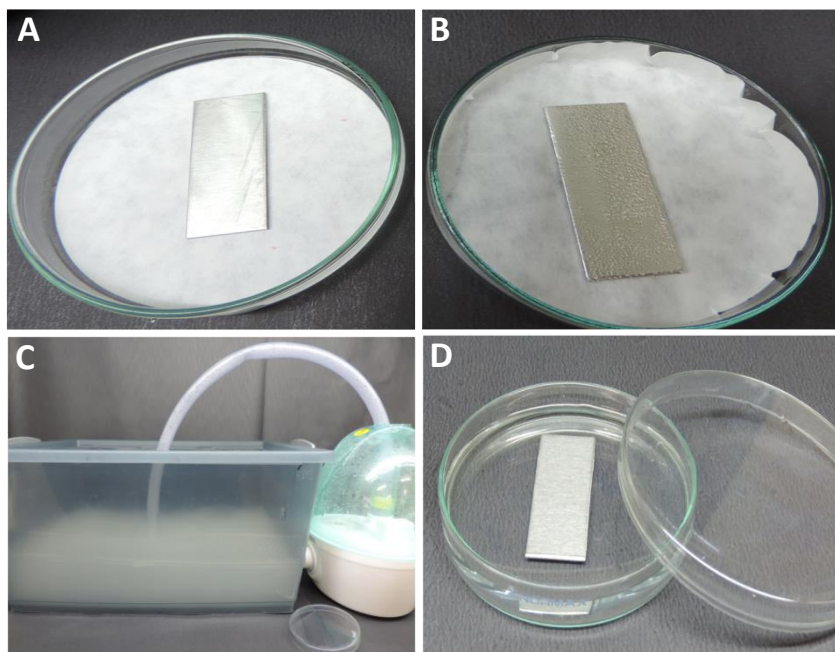


Figura 1 - Cupom inoculado para nebulização antes (A) e depois (B) do processamento, aplicação dos Tratamentos de nebulização (C) e de imersão (D). Fonte: Própria autora.

Em relação aos tempos de cada processamento, foram aplicados para os *pools* de *S. Thyphimurium* e *E.coli*, os tempos de 0, 1, 3, 5 e 15 minutos, enquanto para o *pool* *Estafilococos aureus* foram usados os tempos de 0, 3, 5, 7 e 15 minutos para ambos os tratamentos. Todas as placas receberam os tratamentos com o lado contaminado do cupom de inox voltado para cima.

4.2.4. Determinação da concentração dos persistentes

Após a aplicação do tratamento, os cupons foram colocados com o auxílio de uma pinça estéril em tubos Falcon de 50 ml, contendo solução de 30 ml de água peptonada tamponada com 0,25% de tiosulfato de sódio, para neutralizar a ação dos sanitizantes, e com 1,5 g de pérolas de vidro, para facilitar o desprendimento dos microrganismos dos cupons. Além disso, do uso de pérolas de vidro, foi utilizado um *swab* para auxiliar no desprendimento dos microrganismos. Os tubos foram levados ao vórtex na velocidade máxima por 30 segundos. Após o vórtex, 1 ml de amostra foi retirado do tubo Falcon e realizado a técnica da diluição seriada e o plaqueamento em superfície em ágar PCA. As análises foram feitas para as amostras de cupons de cada tratamento, em duplicatas, e as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas.

4.3. RESULTADOS

Os resultados da inativação microbiana para os *pools* de *E.coli*, *S. Thyphimurium* e *Estafilococos aureus*, nos diferentes tratamentos e tempos realizados, estão relatados nas **figuras 2 e 3**. A figura 2 mostra a dinâmica da aplicação da nebulização (Figura 2A) e imersão (Figura 2B) em relação à contagem dos persistentes expressos na base em log UFC/ml ao longo do tempo em minutos, enquanto a Figura 3 apresenta os persistentes em relação aos sanitizantes aplicado.

Para os experimentos de nebulização no tempo de 15 minutos (Figura 2A), a solução de hipoclorito de sódio conseguiu reduzir cerca de 3, 4 e no mínimo 5 logs para os *pools* de *Estafilococos aureus*, *S. Thyphimurium*, e *E. coli* respectivamente. Já para o ácido peracético (Figura 2B) houve a redução de 5, 4 e no mínimo 6 logs para os *pools* de *Estafilococos aureus*, *S. Thyphimurium*, e *E. coli* respectivamente.

A **figura 3**, demonstra a comparação de desempenho dos em relação aos microrganismos estudados, sob nebulização e imersão. Em relação aos pHs, os

sanitizantes à base de ácido peracético e de hipoclorito de sódio atingiram valores de 4 e 6 respectivamente.

Independente do sanitizante aplicado, todos os tratamentos de imersão desempenharam melhor performance na redução microbiana nos cupons, em comparação ao processo de nebulização. As contagens dos microrganismos ficaram abaixo do limite de detecção (1 log UFC/ml) após 15 minutos para a imersão com hipoclorito de sódio. Os tratamentos de imersão utilizando o sanitizante à base de ácido peracético, reduziram as contagens abaixo do nível de detecção (1 log UFC/ml) em 7 min para o *pool* de *Estafilococos aureus* e de 5 minutos, para o *pool* de *S. Thyphimurium*, e de *E. coli*.

De maneira geral, pode-se observar que a bactéria *E.coli* se mostrou mais sensível do que as outras, sendo a única a atingir contagens abaixo do limite de detecção (1 log UFC/ml) após 15 minutos do tratamento de nebulização para ambos os desinfetantes. O *Estafilococos aureus* foi a bactéria que obteve as menores reduções, sendo a mais persistente em comparação com as demais.

O sanitizante comercial à base de ácido peracético alcançou as maiores reduções microbianas em menor tempo, exceto o tratamento de nebulização com hipoclorito de sódio para a bactéria *E. coli*. A diferença dos valores na contagem de *E.coli* para o método de nebulização entre os sanitizantes ficaram próximos no tempo de 5 minutos. Os métodos de nebulização e imersão com hipoclorito de sódio para a redução da contagem da *E.coli* nos cupons de inox tiveram comportamentos semelhantes, atingindo quase os mesmos níveis na descontaminação ao longo do tempo de aplicação.

O *Estafilococos aureus* nos tratamentos de nebulização obteve a maior diferença dos níveis de contaminação para o tempo de 15 minutos comparando os desinfetantes, cerca de 1,54 logs UFC/ml, sendo neste caso, a solução de ácido peracético tendo o melhor efeito antibacteriano. Comparando o desempenho dos sanitizantes para o método de nebulização, os níveis de contaminação nos minutos finais ficaram próximos, *S. Thyphimurium* e *E. coli*.

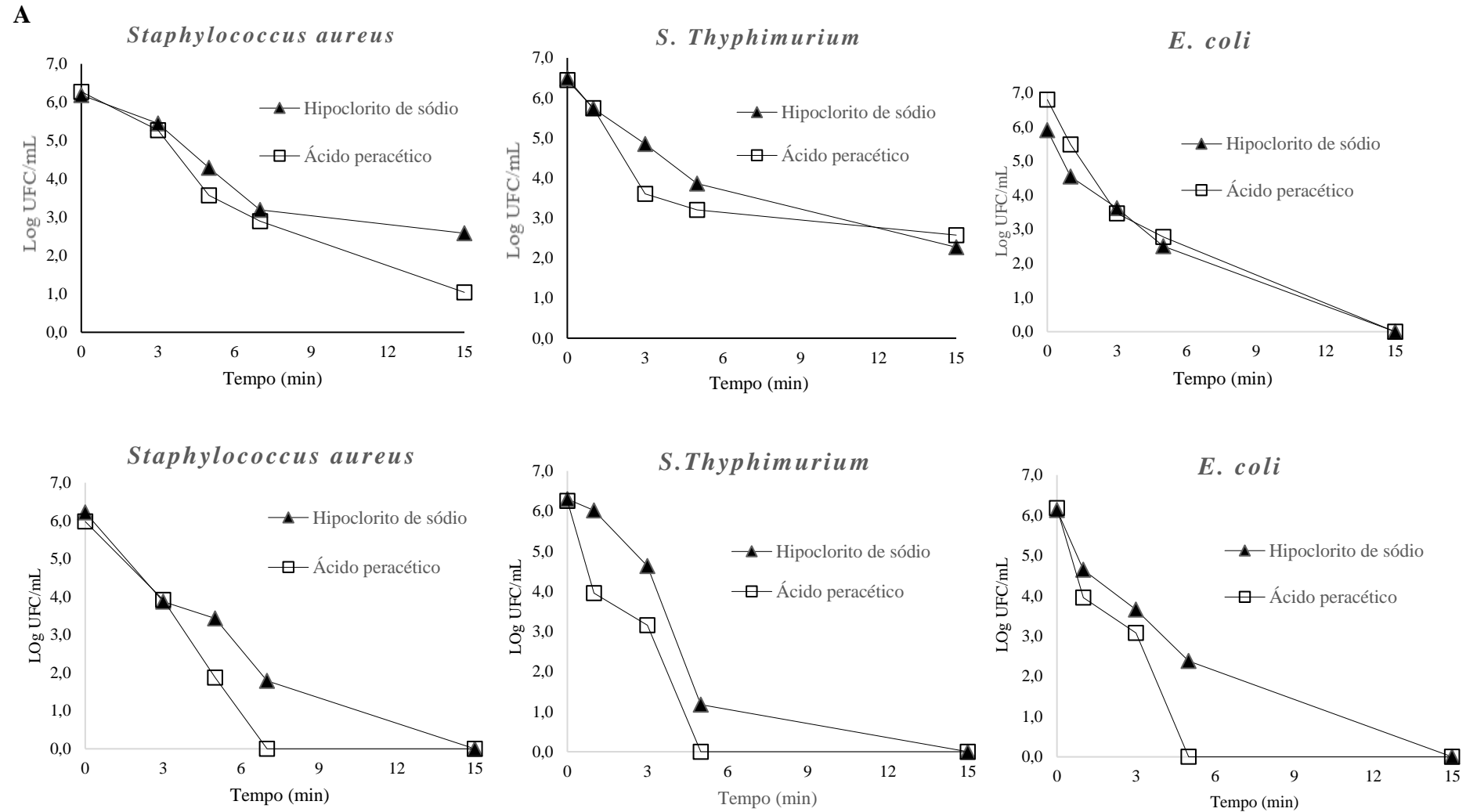


Figura 2 – População de persistentes (Log UFC/ml) de *Estafilococcus aureus*, *Salmonella* e *E.coli* nos cupons de aço inox, após a aplicação de diferentes sanitizantes (Hipoclorito de sódio e Ácido peracético), sob os processos de nebulização (A) e imersão (B).

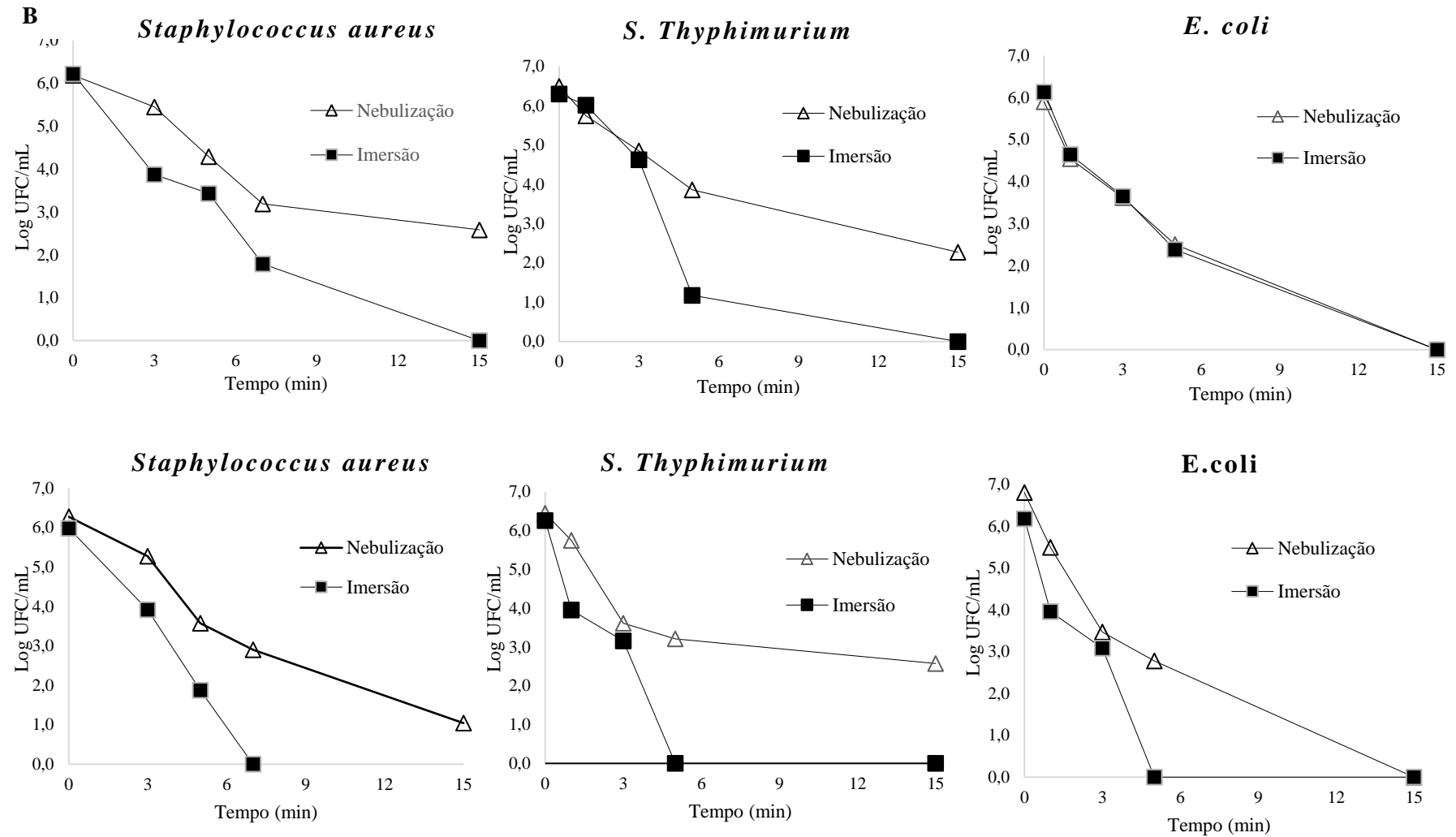


Figura 3 - População de persistentes (Log UFC/ml) de *Estafilococos aureus*, *Salmonella* e *E.coli* nos cupons de aço inox, após o uso de Hipoclorito de sódio (A) e Ácido peracético (B), sob os processos de nebulização e imersão.

4.4. DISCUSSÕES

Contaminações na indústria de alimentos podem ser provenientes de diferentes formas, como: através de bioaerossóis, biofilmes, matéria-prima e água contaminada, entre outros. Os bioaerossóis são partículas microscópicas que circulam nas correntes de ar, provenientes de poeiras e gotículas contaminadas contendo bactérias, fungos e vírus. O controle sobre as transferências microbianas na indústria alimentícia é essencial, uma vez que a disseminação de bioaerossóis pelo ar pode gerar recontaminações no ambiente de processamento, podendo levar o desenvolvimento de biofilmes nas superfícies de equipamentos (MASOTTI *et al.*, 2019 a).

Além de promover contaminações nos alimentos, a formação de biofilme pode resultar trocas genéticas e/ou mutações, fazendo com que os microrganismos passem a ter resistência aos agentes químicos. Existe ainda relatos sugerindo a correlação do uso de compostos biocidas com o desenvolvimento da resistência a antibióticos, tanto em bactérias gram-positivas como gram-negativas. Por isso, os órgãos reguladores chamam a atenção ao emprego de novos desinfetantes e novas técnicas de descontaminação para evitar este problema (ARYAL & MURIANA, 2019).

Os biofilmes podem ser gerados no transporte, processamento ou armazenamento dos produtos, esses microrganismos podem se fixar nas superfícies irregulares e partes hidrofóbicas de alimentos ou dos materiais, isso dificulta o processo de sanitização (OH *et al.*, 2005). Os procedimentos de higienização devem dar ênfase às localidades de maior dificuldade para que haja a eliminação efetiva dos microrganismos.

Neste contexto, a nebulização apresenta como tecnologia de grande versatilidade para a indústria de alimentos, visto que pode ser empregada, tanto para descontaminação superficial de alimentos, mas também para descontaminação de equipamentos e de ambientes em salas de processamento de alimentos. Além da versatilidade, a aerossolização pode ser feita com grande gama de soluções antimicrobianas, como sanitizantes químicos, mas também como ácidos orgânicos e óleos essenciais. Contudo, tanto a nível comercial quanto a nível de pesquisa, o uso desta tecnologia está muito aquém do seu potencial (MASOTTI *et al.*, 2019a).

No processo de nebulização, os principais fatores que devem ser controlados são concentração, tempo de aplicação, temperatura, umidade relativa e tamanho de partícula, além da escolha do desinfetante a ser utilizado (MASOTTI *et al.*, 2019a). O tamanho de partícula apresenta como parâmetro específico de importância da técnica, uma vez que está relacionado a dispersibilidade da solução no meio. Segundo Oh *et al.* (2005),

tamanho das gotículas menores que 2 µm tem o mesmo comportamento dos desinfetantes gasosos, possibilitando o espalhamento da neblina de forma uniforme.

Assim como no presente trabalho, as pesquisas encontradas na literatura, demonstram que a nebulização promove a redução da carga microbiana na superfície de equipamento, consolidando a técnica como promissora para a área de alimentos. Em geral, os estudos existentes avaliam o uso de agentes à base de hipoclorito, ácido peracético e peróxido, por serem os principais sanitizantes utilizados na indústria, em relação aos principais patógenos formadores de biofilme e DTA's, como a *E. coli* O157:H7, *Salmonella spp* e *Listeria spp* e *Estafilococos aureus*.

Resultados similares ao presente estudo, referente ao grau de redução e efetividade do agente sanitizante, foram obtidos por Park *et al.* (2012). Os autores verificaram a eficácia da nebulização na redução de biofilmes de seis dias em cupons de aço inoxidável e PVC, tratados com hipoclorito de sódio (100 ppm) e ácido peracético (100, 200 e 400 ppm) por 5, 10, 30 e 50 minutos. Foi concluído que o tratamento com 100 ppm de ácido peracético foi mais eficaz do que a mesma concentração de hipoclorito de sódio, com o aumento do tempo de tratamento. Para os tratamentos de ácido peracético de 200 e 400 ppm foi alcançada a redução de células abaixo do nível detectável (1.48 log UFC/cupom), após 10 minutos para cepas de *E. coli* O157:H7 e *S. Typhimurium* e 30 minutos para *L. monocytogenes*.

Em outro estudo envolvendo a descontaminação de equipamentos, Choi *et al.* (2012) demonstraram a eficácia para redução de biofilmes de *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocytogenes* em superfície de inox, através da nebulização de peróxido de hidrogênio em duas concentrações de 0,25% e 0,5%. Para todos os patógenos, o limite de detecção (1 log) foi atingido após 60 minutos de processo na concentração de 0,25%, enquanto para a concentração de 0,5 %, os limites foram atingidos após 15 minutos para *E.coli* O157:H7; 20 minutos para *S. Typhimurium* e 30 minutos para *L. monocytogenes*.

Diferentemente dos estudos apresentados em superfície de aço inox, Oh *et al.* (2005), avaliaram o uso sanitizantes à base de ácido peracético (1800 ppm) e de peróxido de hidrogênio (8800 ppm), durante 1 hora de nebulização, em placas de Petri contaminadas com *B. cereus*, *L. innocua*, *S. Typhimurium* e *S. aureus*, sob diferentes orientações espaciais em um semitrailer, simulando ua descontaminação ambiental. Os autores conseguiram comprovar reduções microbianas de 3.09; 7.69; 6.93; 8.18 logs para *B. cereus*, *L. innocua*, *S. aureus* e *S. Typhimurium*, respectivamente. Além disso, os

autores observaram que os esporos de *B. cereus* não foram eliminados tão rapidamente quanto às células vegetativas, devido à resistência a sanitizantes químicos.

A disposição da microbiota pode mudar de acordo com o sanitizante usado, a adoção de mudança do agente sanitizante pode ser um aliado no combate a adaptação dos microrganismos ao sanitizante químico. Mesmo uma limpeza minuciosa não é capaz de propiciar uma linha de produção estéril, porém é possível reduzir significativamente o nível de contaminação. Na presença de matéria orgânica o ácido peracético é mais eficaz que o hipoclorito de sódio. Os estudos em laboratório não levam em consideração o procedimento de limpeza do espaço, cada procedimento deve ser verificado para se adaptar melhor a planta de processamento. As localidades úmidas como os drenos podem alojar biofilmes e dar condições para que ele não consiga sofrer interação com o desinfetante (BAGGE-RAVN *et al.*, 2003).

Este trabalho também demonstrou diferença na efetividade dos sanitizantes, em que os tratamentos de nebulização do desinfetante à base de ácido peracético a 108 ppm tendem a causar maiores reduções microbianas se comparado ao de hipoclorito de sódio a 200 ppm. O sanitizante à base de peróxido de hidrogênio a 0,5% utilizado no trabalho de Choi *et al.* (2012) alcançou a redução limite (1 log) após 15 minutos para *E.coli* mostrando desempenho semelhante aos outros desinfetantes usados no presente estudo.

O procedimento de nebulização é capaz de reduzir cargas microbiana, porém, o método não é capaz de substituir a etapa de higienização convencional. BAGGE-RAVN *et al.* 2003, conduziram um estudo em áreas de processamento de salmão, e foi feita a verificação após a higienização, as porcentagens de amostras com 10^4 UFC por local de amostragem diminuíram para 1 a 29% sob aerossolização de peróxido de hidrogênio (15-30%), ácido peracético (5%) e ácido acético (5-15%) em comparação a higienização convencional com a sanitização por espuma de hipoclorito de sódio (1000 a 1250 ppm); ralos e o tapete de borracha foram apontados como áreas mal limpas, e algumas amostras foram positivas para *L. monocytogenes*.

A *Salmonella* e a *E.coli* constituem os patógenos entéricos mais importantes, a sua sobrevivência fora de um hospedeiro é um parâmetro para a propagação natural, a capacidade dessas bactérias de se perpetuar na cadeia alimentar é em grande parte pela capacidade de adaptação à série de condições ambientais adversas. Sendo capaz de formar biofilmes em variedade de materiais como metal, plástico e borracha (IÑIGUEZ-MORENO *et al.*, 2018).

Neste trabalho as contagens durante a inativação mostram que as bactérias Gram-negativas (*E. coli* e *S. Typhimurium*) tendem a ser mais facilmente eliminadas do que as Gram-positivas (*Estafilococos aureus*) seguindo a mesma tendência relatada pelos estudos de Choi *et al.* (2012) e Park *et al.* (2012). O procedimento com desinfecção com ácido peracético foi melhor em relação ao hipoclorito de sódio, as bactérias Gram-negativas foram dominantes no ambiente, porém, as Gram-positivas foram as sobreviventes, assim como também foi observado no estudo de Bagge-Ravn *et al.* (2003).

A nebulização se destaca se comparada aos outros métodos de descontaminação ambiental como a irradiação de luz ultravioleta (UV) e a ozonização. Pois, não há problemas como: a baixa penetração aos espaços na aplicação de luz UV e a alta reatividade que o ozônio tem com muitos materiais (tintas, metais, materiais orgânicos, plásticos, entre outros). O método se mostra promissor como aliado à descontaminação convencional sem provocar altos custos com água ou sanitizantes, sendo ótima escolha na descontaminação das superfícies e do ar (KAKURINOV, 2014).

Além de patógenos de importante, como os avaliados nesta pesquisa, outros microrganismos de interesse podem ser utilizados como indicadores da efetividade do processo de nebulização, como: a *Campylobacter* spp, grandes contaminantes em granjas e *Geobacillus stearothermophilus* por sua elevada resistência térmica e a produtos químicos. Nos estudos de Battersby *et al.* (2017), os métodos de espuma, spray e termo nebulização foram aplicados no combate a *Campylobacter* spp. em granjas de frango, foram usados diferentes desinfetantes, os resultados mostraram que a termonebulização (peroximonossulfato de potássio, ácido sulfâmico e cloreto de sódio, 5%, v/v; (gluteraldeído e complexo de amônio quaternário, 0,3%, v/v) foi o único método eficaz na sanitização, eliminando efetivamente a bactéria. Espaços como as granjas que possuem alto teor de matéria orgânica a ser removida na limpeza, podem dificultar a obtenção de sucesso na operação de nebulização.

A única pesquisa encontrada na literatura, comparando o processo por nebulização com o processo de imersão foi o estudo conduzido por Hayrapetyan *et al.* (2020). Os autores estudaram a cinética de inativação de esporos de *Geobacillus stearothermophilus* com soluções de ácido peracético a 0,06% e peróxido de hidrogênio a 12% aplicando o agente sanitizante nebulizado e em forma líquida. Ambos os métodos e soluções mostraram efeitos de redução microbiana, e a nebulização de ácido peracético (0,06%) inativou mais de 5 logs em 10 minutos em gabinete de 728 L de volume, enquanto o peróxido de hidrogênio (12%) reduziu 4 Logs em 30 min. Os tratamentos com a aplicação

da solução na forma líquida gastaram menores tempos para a inativação, esta mesma característica foi observada para as soluções neste presente estudo, podendo ser explicado pela necessidade de tempo para atingir a concentração crítica do ativo químico presente nas gotículas que se condensam gradativamente hidratando os esporos depositados nos cupons no gabinete.

Além dos estudos envolvendo o efeito da nebulização em superfícies, o conhecimento da eficácia da técnica na descontaminação ambiental é fundamental para a garantia da segurança na produção de alimentos. Um ambiente contaminado pode promover recontaminações recorrentes em equipamentos, pela deposição de microrganismos e afetar a segurança dos alimentos (KHAN & YADAV, 2020).

MASOTTI *et al.* (2019b) realizaram monitoramento da carga microbiana do ar em áreas selecionadas de uma fábrica de laticínios e avaliaram o efeito da desinfecção por ozonização (5 ppm) e aerossolização química com peróxido de hidrogênio (5-15%). Tanto a ozonização quanto a nebulização com peróxido de hidrogênio foram eficazes na inativação, porém foi percebida a diferença no nível de contaminação em espaços e houve poucas passagens de trocas de ar, com menor fluxo de funcionários e no local de armazenamento. Este resultado demonstra que mesmo com a sanitização efetiva o planejamento da construção pode provocar processo sucessivo de novas contaminações. Além disso, os autores comprovaram a ocorrência de contaminação nos equipamentos devido ao processo de recontaminação ambiental, demonstrando a importância da técnica para descontaminação ambiental.

Outra questão que deve ser levada em conta é o efeito da nebulização sobre equipamentos eletrônicos. Além do efeito sob microrganismos, Fu *et al.* (2012) e Krishnan *et al.* (2012) estudaram a eficácia da nebulização utilizando respectivamente, peróxido de hidrogênio e ácido peracético, em relação a equipamentos eletrônicos. Ambos os autores comprovaram que, além da inativação microbiana, a nebulização não comprometeu o funcionamento dos equipamentos, demonstrando que a técnica pode ser aplicada em ambiente de processamento, laboratórios e áreas comerciais.

Além da questão da descontaminação tanto ambiental, quanto na superfície de equipamentos, a nebulização pode ser reduzir a circulação de surtos virais, como SARS, MERS-COV, H1N1. Somente de 2011 a 2018, a Organização Mundial da Saúde fez a documentação de 1.483 eventos epidêmicos em 172 países. Recentemente a pandemia da SARS-CoV-2 teve grande impacto na vida das pessoas e na cadeia produtiva de alimentos. Por ser um vírus de fácil propagação pelo ar no ambiente de produção, a

indústria alimentícia enfrentou grandes tribulações como o fechamento de fábricas e a escassez na oferta de alimentos. Desta forma, faz-se necessário estudos para identificar o efeito da nebulização na redução da propagação desses vírus pandêmicos, a fim de reduzir prejuízos e garantir a segurança dos alimentos e dos colaboradores (ZIMMERMAN *et al.*, 2021).

Os resultados deste estudo mostraram que a técnica de nebulização com a utilização dos sanitizantes comerciais teve efeito no combate aos microrganismos estudados sobre a superfície de aço inox, promovendo a ação antibacteriana. Mostrando que a conjunção do tratamento da aplicação líquida e de nebulização poderia levar o ambiente a ter níveis de contaminação de microrganismos patogênicos a valores inexpressivos. Mais estudos devem ser elaborados a fim de definir dosagens e tempo de aplicação sobre os diferentes microrganismos que possam ser encontrados no ambiente, apontando a cinética de inativação, podendo ser opção a ser adotada na descontaminação industrial, atendendo às diferentes necessidades encontradas nessa etapa.

4.5. CONCLUSÃO

conclui-se que os desinfetantes comerciais à base de ácido peracético e hipoclorito de sódio são eficazes na redução dos microrganismos patogênicos inoculados nas superfícies de aço inox. Os desinfetantes utilizados podem ser úteis para prevenir o crescimento bacteriano, sendo ótima opção para auxiliar na desinfecção das instalações sem elevar os custos com insumos e água. Para a adoção da técnica pela indústria com o emprego desses sanitizantes estudados, faz-se necessário pesquisas voltadas a outros microrganismos a fim de propiciar que o método garanta a eficiência na etapa de descontaminação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARYAL, M., & MURIANA, P. M. Efficacy of commercial sanitizers used in food processing facilities for inactivation of *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157: H7, and *Salmonella* biofilms. **Foods**, v. 8, n. 12, p. 639, 2019.

ASIOLI, D., ASCHEMANN-WITZEL, J., CAPUTO, V., VECCHIO, R., ANNUNZIATA, A., NÆS, T., & VARELA, P. Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. **Food Research International**, v. 99, p. 58-71, 2017.

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**, v. 66, n. 4, p. 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**, v. 64, p. 1-6, 2017.

BROWN, K. L., & WRAY, S. Control of airborne contamination in food processing. In: **Hygiene in Food Processing**. Woodhead publishing, p. 174-202. 2014.

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**, v. 27, n. 1, p. 57-63, 2012.

ENG, S. K., PUSPARAJAH, P., AB MUTALIB, N. S., SER, H. L., CHAN, K. G., & LEE, L. H. *Salmonella*: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 3, p. 284-293, 2015.

FILIPE, H. A., FIUZA, S. M., HENRIQUES, C. A., & ANTUNES, F. E..Antiviral and antibacterial activity of hand sanitizer and surface disinfectant formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 609, p. 121139, 2021.

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**, v. 80, n. 3, p. 199-205, 2012.

HAYRAPETYAN, H., NEDERHOFF, L., VOLLEBREGT, M., MASTWIJK, H., & GROOT, MN. Inactivation kinetics of *Geobacillus stearothermophilus* spores by a

peracetic acid or hydrogen peroxide fog in comparison to the liquid form. **International journal of food microbiology**, v. 316, p. 108418, 2020.

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.

IÑIGUEZ-MORENO, M., GUTIÉRREZ-LOMELÍ, M., GUERRERO-MEDINA, P. J., & AVILA-NOVOA, M. G. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. under mono and dual-species conditions and their sensitivity to cetrimonium bromide, peracetic acid and sodium hypochlorite. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, p. 310-319, 2018.

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**, v. 5, n. 1, p. 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**, v. 90, p. 147-156, 2019.(a)

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**, v. 97, p. 32-38, 2019. (b)

MIRSEPASI-LAURIDSEN, H. C., VALLANCE, B. A., KROGFELT, K. A., & PETERSEN, A. M. *Escherichia coli* pathobionts associated with inflammatory bowel disease. **Clinical microbiology reviews**, v. 32, n. 2, p. e00060-18, 2019.

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

KHAN, M. H. & YADAV, H. Sanitization during and after COVID-19 pandemic: a short review. **Transactions of the Indian National Academy of Engineering**, v. 5, n. 4, p. 617-627, 2020.

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**, v. 17, n. 3, p. 132-141, 2012.

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**, v. 41, n. 1, p. 56-60, 2005.

OLIVEIRA, D., BORGES, A., & SIMÕES, M. Toxinas de *Staphylococcus aureus* e sua atividade molecular em doenças infecciosas. **Toxinas**, v. 10, n. 6, pág. 252, 2018.

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 Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 130-134, 2012.

RAZA, J., ASMAT, T. M., MUSTAFA, M. Z., ISHTIAQ, H., MUMTAZ, K., JALEES, M. M., SAMAD, A., SHAH, A. A., KHALID, S., REHMAN, H. Contamination of ready-to-eat street food in Pakistan with *Salmonella* spp.: implications for consumers and food safety. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 106, p. 123-127, 2021.

ZIMMERMAN, T.; SIDDIQUI, S. A; BISCHOFF, W.; IBRAHIM, S. A. Tackling airborne virus threats in the food industry: A proactive approach. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 8, p. 4335, 2021

5. CONCLUSÃO GERAL

A produção de alimentos seguros, sem qualquer risco químico, físico ou microbiológico é um desafio que vem sendo enfrentado. A nova tendência imposta pelo mercado consumidor de produtos livres de aditivos alimentares, como por exemplo os conservantes, força a adoção de tecnologias capazes de dirimir as cargas microbianas de patógenos que possam estar presentes na área de processamento.

Os prejuízos ligados a propagação de microrganismos envolvem custos como recall de produtos contaminados, casos de disseminação de DTAs e infelizmente graças a pandemia do vírus da Covid-19 foi observado o afastamento em massa de vários colaboradores nas indústrias pela contaminação contraída no próprio ambiente de trabalho. Neste contexto, a nebulização surge como opção de descontaminação viável, sendo grande aliada na sanitização nas diversas superfícies encontradas no espaço fabril, podendo assim ser mais um meio de garantir a segurança alimentar.

A nebulização se mostra como técnica promissora na complementação e aprimoramento nas técnicas convencionais de higienização ambiental e de equipamentos, servindo como possibilidade em um uso estratégico nos casos de desinfecção de emergência (ataques biológicos e pandemias), podendo ser aplicado sem a exigência de treinamento prévio rigoroso para ser executado.

Os desinfetantes comerciais à base de ácido peracético (108 ppm) e hipoclorito de sódio (200 ppm) foram eficazes na redução nos *pools* de *Estafilococos aureus*, *S. Thyphimurium* e *E.coli* inoculados na superfície de aço inox. Foram observadas reduções na aplicação de ambos os tratamentos para todos os microrganismos envolvidos. As cepas Gram-positivas foram mais resistentes do que as Gram-negativas, sendo o desinfetante à base de ácido peracético com o melhor desempenho em ambos os métodos. Este estudo mostra que o emprego da aplicação na forma líquida mais a nebulização poderiam garantir que todas as superfícies do espaço sejam descontaminadas, sendo essa tática pode ser utilizada a fim de evitar propagação de bactérias patogênicas por erros de aplicação, como áreas em que os colaboradores não depositaram solução.

6. ANEXOS

Artigo Técnico Publicado no Portal e-food <https://portalefood.com.br/artigos/uso-da-nebulizacao-na-industria-de-alimentos>



The screenshot shows the top portion of a web article on the 'e-food' portal. The header includes the 'e-food' logo and a navigation menu with categories like 'Cultura', 'Embalagens', 'Microbiologia', 'HACCP', 'Gestão', 'Leis & Normas', 'BPF', and 'Eventos'. Below the header, the article title 'Uso da nebulização na indústria de alimentos' is displayed in a large, bold font. A subtitle reads 'Uma opção para a descontaminação de ambientes de processamento.' Below the title, there are three author names: 'POR JORDANA DOS SANTOS', 'POR JOSIANE ESTÉFANY PEREIRA DOS SANTOS', and 'POR LEANDRO CAPPATO', along with the date '02/06/2022' and statistics: '912 VIEWS', '6 MINUTE READ', and 'NO COMMENTS'. The main image shows a person in a white protective suit and mask using a spray nozzle to disinfect a surface in an industrial setting.

Artigo Técnico Publicado no Food Safety Brazil

<https://foodsafetybrazil.org/tratamento-fotodinamico-com-led-alternativa-nao-termica-para-conservacao-de-alimentos/>



The screenshot shows the top portion of a web article on the 'Food Safety Brazil' portal. The header includes the 'FOOD SAFETY BRAZIL' logo and a '10' anniversary badge. The navigation menu includes 'Home', 'Sobre', 'Colunistas', and 'Ev'. The article title 'Tratamento fotodinâmico com Led: alternativa não térmica para conservação de alimentos' is displayed in a large, bold font. Below the title, the date '13 de julho de 2021' and statistics '4 min leitura' and '1' are shown. The main image shows a close-up of a grid of red and blue LED lights, likely used for food preservation.