RESSALVA

Atendendo solicitação da
autora, o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 14/04/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS-MICROBIOLOGIA APLICADA

AVALIAÇÃO DE NOVOS SANITIZANTES DE AÇÃO ANTIMICROBIANA

CAROLINA ROSAI MENDES

Rio Claro – SP
2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – MICROBIOLOGIA APLICADA

AVALIAÇÃO DE NOVOS SANITIZANTES DE AÇÃO ANTIMICROBIANA

CAROLINA ROSAI MENDES

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas-Microbiologia Aplicada.
Orientador: Dr.Renato Nallin Montagnolli
Coorientador: Dr.Ederio Dino Bidoia

Rio Claro – SP
2024

M538a

Mendes, Carolina Rosai
Avaliação de novos sanitizantes de ação antimicrobiana / Carolina Rosai Mendes. -- Rio Claro, 2024
75 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Renato Nallin Montagnolli
Coorientador: Ederio Dino Bidoia

1. Bactericida. 2. Microbiologia. 3. Patogenicidade. 4. Cloro-livre. 5. Sanitização. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Rio Claro

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AVALIAÇÃO DE NOVOS SANITIZANTES DE AÇÃO ANTIMICROBIANA

AUTORA: CAROLINA ROSAI MENDES
ORIENTADOR: RENATO NALLIN MONTAGNOLLI
COORIENTADOR: EDERIO DINO BIDOIA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada), pela Comissão Examinadora:

gov.br Documento assinado digitalmente
EDERIO DINO BIDOIA
Data: 16/10/2024 10:19:32-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. EDERIO DINO BIDOIA (Participaçao Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / Unesp - IB Rio Claro

gov.br Documento assinado digitalmente
CRISTIAN BERTO DA SILVEIRA
Data: 15/10/2024 08:51:05-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. CRISTIAN BERTO DA SILVEIRA (Participaçao Virtual)
Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas / Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof. Dr. MATEUS DE SOUZA TERCETI (Participaçao Virtual)
Cmal / Universidade Federal do Oeste do Pará

gov.br Documento assinado digitalmente
MATEUS DE SOUZA TERCETI
Data: 18/10/2024 12:13:04-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. MÁRCIO VARGAS RAMELLA (Participaçao Virtual)
Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas / Universidade do Estado de Santa Catarina

gov.br Documento assinado digitalmente
MARCIO VARGAS RAMELLA
Data: 16/10/2024 11:13:46-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. JONAS CONTIERO (Participaçao Virtual)
Departamento de Bioquimica e Microbiologia / Unesp - IB Rio Claro

gov.br Documento assinado digitalmente
JONAS CONTIERO
Data: 16/10/2024 13:29:27-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Rio Claro, 14 de outubro de 2024

DEDICATÓRIA

Dedico aos que estão profundamente em meu coração e me fizeram ser quem sou.

Ao meu Pai, Mãe e Esposo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço com sinceridade a oportunidade de realizar meu doutorado com o apoio do meu amor Guilherme Dilarri que esteve ao meu lado durante a jornada de aprendizado, reflexões, fé, amor e gratidão. Obrigado por estar sempre ao meu lado e tornar a vida mais doce e iluminada.

Aos meus amados pais Antônio Eduardo Wolff Mendes e Paula Rosai Wolff Mendes que serão sempre luz em minha vida. Ao Benjamin, Amelie e Samuel pelo carinho e amor verdadeiro.

Ao meu mentor e amigo Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia por todo o apoio e confiança durante a realização desse doutorado, assim como ao Prof. Dr. Renato Nallin Montagnolli pela oportunidade de aprendizagem.

A equipe técnica e professores do Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP, Rio Claro/SP.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Você não pode mudar o vento,
mas pode ajustar as velas do barco
para chegar onde quer.”

Confúcio (Período das Primaveras e Outonos)

RESUMO

Alimentos frescos são frequentemente vetores para surtos de doenças como intoxicação alimentar com vômitos, diarreias e desidratação. Essa categoria de alimentos não usa processamento convencional de esterilização. Portanto, a sanitização desses alimentos são constantemente uma preocupação de saúde publica. Atualmente, novas categorias de sanitizantes são aplicadas em alimentos de consumo humano, cujos compostos são moléculas alternativas ao cloro. Esses sanitizantes livre de cloro foram estabelecidos após a organização mundial da saúde (OMS) divulgar os efeitos negativos da molécula de cloro no organismo, como problemas endócrinos. As nanopartículas de óxido de zinco (NPsZnO) é um sanitizante versátil com aplicações promissoras na categoria de sanitizantes alternativos. As NPsZnO é um antimicrobiano ativo contra um amplo espectro de microrganismos patogênicos. Outra categoria é a sanitização eletrolitica, cuja produção de cloro residual depende exclusivamente do tipo de sais adicionado à solução para produção de uma água eletrolítica com atividade bactericida. Se os parâmetros do processo forem adequadamente controlados, o tratamento elimina as principais bactérias patogênicas. Compostos sanitizantes extraídos de extratos naturais são estudados em destaque para os óleos essenciais. Essa categoria, apresenta atividade bactericida, fungicida; Além de alguns óleos essenciais apresentarem ação antioxidante na superfície do alimento, sendo vantajoso para o desenvolvimento de compostos de ação antimicrobiana para uso como sanitizante. Portanto, nesse estudo foram avaliados diferentes sanitizantes alternativos com potencial antimicrobiano contra cepas patogênicas de interesse.

Palavras-chave: Livre de cloro; Antimicrobiano; Patogênico.

ABSTRACT

Fresh foods are often vectors for disease outbreaks such as food poisoning with vomiting, diarrhea, and dehydration. This category of foods does not use conventional sterilization processing. Therefore, the sanitization of these foods is a constant public health concern. Currently, new categories of sanitizers are applied to foods for human consumption, whose compounds are alternative molecules to chlorine. These chlorine-free sanitizers were established after the World Health Organization (WHO) disclosed the negative effects of the chlorine molecule on the body, such as endocrine problems. Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) are a versatile sanitizer with promising applications in the category of alternative sanitizers. ZnO NPs is an antimicrobial active against a broad spectrum of pathogenic microorganisms. Another category is electrolytic sanitization, whose production of residual chlorine depends exclusively on the type of salts added to the solution to produce electrolytic water with bactericidal activity. If the process parameters are adequately controlled, the treatment eliminates the main pathogenic bacteria. Sanitizing compounds extracted from natural extracts are studied, with emphasis on essential oils. This category presents bactericidal and fungicidal activity; in addition, some essential oils present antioxidant action on the surface of the food, which is advantageous for the development of compounds with antimicrobial action for use as sanitizers. Therefore, this study evaluated different alternative sanitizers with antimicrobial potential against pathogenic strains.

Keywords: Chlorine free; Antimicrobial; Pathogenic

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO JUSTIFICADA	p.10-20
CAPÍTULO 1: Água eletrolítica como sanitizante alternativo ao cloro livre	p.21-30
CAPÍTULO 2: Óleo essencial de neem como fungicida	p.31-41
CAPÍTULO 3: Nanopartícula metálica com atividade antimicrobiana	p.42-52
CAPÍTULO 4: Síntese e avaliação da ação antimicrobiana das MPsQTO	p.53-68
BIBLIOGRAFIA	p.69-75

INTRODUÇÃO JUSTIFICADA

A busca por alimentos frescos, minimamente processados, livres de produtos químicos tem influenciado na disponibilidade de mercado e na regulamentação do uso de vários produtos agrícolas fitossanitários. Produtos frescos e minimamente processados possuem um maior valor agregado quando comparados aos produtos processados e industrializados (Cossu et al. 2017). Apesar disso, o perfil do consumidor avalia as vantagens de escolher essa categoria de produtos.

O crescente interesse por alimentos naturalmente ricos em proteínas, minerais, vitaminas e cuja produção agrária valoriza práticas orgânicas ou de livre adição de químicos, levou a formação de um nicho de mercado saudável e consumidores conscientes.

Os alimentos frescos e minimamente processados têm grande aceitação no mercado internacional, entretanto anualmente cresce o mercado de consumidores interno. São produtos frescos, embalados e de consumo imediato que priorizam as características nutricionais, sensoriais, qualidade e segurança alimentar (Zamuner et al., 2020). Portanto, o produto deve ser limpo, higienizado, desprovido de partes com danos mecânicos ou biológicos e embalado de modo, a facilitar seu consumo e transporte.

Outra vantagem para essa categoria de alimentos é a redução de desperdícios, visando um maior aproveitamento do alimento (Aayush et al., 2022). Entretanto, os alimentos frescos e minimamente processados apresentam maiores desafios de conservação devido aos riscos de contaminação por microrganismos patogênicos ou que podem reduzem a qualidade do produto e principalmente o tempo de prateleira (Raffo & Paoletti., 2022).

Para garantir uma produção de frutos frescos seguros para o consumidor, o pós colheita segue para packing-house, uma instalação mecanizada que prevê a redução do contado humano direto com o alimento e realiza os processos de sanitização e embalagem em atmosfera modificada (Dilarri et al. 2021). Vários países incluindo o Brasil, utilizam produtos à base de cloro na forma de hipoclorito de sódio (NaOCl) em processos de sanitização de alimentos.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelecem legislações para o uso de substâncias biocidas em alimentos destinados ao consumo humano ou animal. De acordo com o Código da Regulação Federal n° 21 da Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA) Art. 49 adotado no Brasil pela ANVISA e compartilhado pelo MAPA, a concentração permitida do cloro em solução para uso em alimentos deve estar entre 50 ppm e 200 ppm (MAPA, 2018). Entretanto, a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou dados sobre o efeito cumulativo do cloro livre, sendo responsável por problemas endócrinos como insuficiência renal, deficiência na absorção de iodo e aterosclerose (OMS, 2017).

O uso do cloro livre, quando em contato com a matéria orgânica leva à formação de compostos halógenos com potencial carcinogênico como os trihalometanos e os ácidos haloacéticos (EFSA 2015; Gil et al., 2019). Portanto, o Conselho da União Europeia (UE) adotou o novo regulamento (UE) 2018/605 (Regulamentação da Comissão Delegada da União Européia, 2018) com a categoria “Desreguladores Endócrinos” (DEs) em produtos sanitizantes para uso em alimentos destinados ao consumo humano. Essa categoria lista a proibição do uso de substâncias como o cloro livre produzido a partir do hipoclorito de sódio e eletrólise do cloreto de sódio, que são

nocivos à saúde em longo prazo (European Commission, 2018).

O regulamento permite que a UE proíba o uso do cloro livre em contato com alimentos e a entrada de produtos de destino alimentar no mercado interno com base na identificação do perigo à saúde, em vez de uma avaliação de risco considerando sua exposição.

No Brasil, a nova regulamentação da UE tem influenciado diretamente na escolha dos produtos sanitizantes usados em processos de higienização em frutos frescos e minimamente processados destinados exclusivamente à exportação para UE. Apesar disso, a ANVISA não apresentou qualquer retificação nas diretrizes de lei para o cloro livre destinados ao uso de produtos alimentares do mercado interno. Mesmo assim, os produtores junto as instalações de packing-house tiveram que se adequar as novas leis da UE para continuar com as exportações.

Em 2018 o Brasil ocupou a 23º posição no ranking dos exportadores de frutos frescos, segundo a Associação Brasileira dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados (Abrafutas, 2018). No mesmo ano, as exportações de frutos frescos e minimamente processados tiveram aumento de 9% que ultrapassaram os US$ 150 milhões na balança comercial do agronegócio (Abrafrutas, 2018). Embora ainda ocupe a mesma posição no primeiro trimestre de 2020, o país é o terceiro maior produtor de frutos do mundo, com 2,5 milhões de hectares cultivados. No entanto, apenas 3% da produção nacional de frutos frescos foram exportados no ano de 2019 (Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2019).

Esse setor está em ascensão entre acordos comerciais com o Mercosul e a Associação Europeia de Livre-Comércio (EFTA), formado por Suíça, Noruega, Islândia e Liechtenstein, a qual beneficiam a balança comercial do agronegócio brasileiro

(Mercosul-EFTA, 2019). O acordo garante benefícios fiscais imediatos como tarifa zero, os quais, ficam totalmente livres de sobre taxa de importação ou dependendo do produto recebem os benefícios com período de carência que podem variar entre quatro edez anos.

O ano de 2019 marcou a fruticultura brasileira que alcançou a marca de 21% de aumento em volume exportado, cerca de 980 milhões de toneladas de frutos frescos comparados a 848 milhões em 2018, a qual gerou uma expectativa para alcançar a marca de US$ 1 bilhão no futuro (Abrafrutas, 2020). Isso representa um aumento de16% em valor na balança comercial do agronegócio cerca de US$ 173,19 milhões em comparação a US$ 158,86 milhões no mesmo período do ano de 2018 (Abrafrutas, 2019).

No entanto, a crise decorrente do vírus da Covid-19 tornou o ano de 2020 com baixa na balança comercial brasileira de exportação de frutos frescos.

A interrupção das atividades de importação no mercado interno da China durante o período de quarentena afetou diretamente os acordos comerciais no mesmo ano.Apesar da China nunca ter sido um grande comprador de frutos frescos brasileiro dentro do quadro de mercado internacional, gerou uma preocupação voltado aos países exportadores concorrentes que abasteciam anteriormente o mercado chinês. E novos acordos comerciais são considerados concorrentes diretos do Brasil nas exportações para novos destinos como a UE. Esse quadro reforça a necessidade de estabelecermos uma posição de maior confiança no mercado de exportadores para UE.

A meta é exportar produtos com a mesma qualidade e seguros a saúde, dentro das novas normativas vigentes da EU que impedem o uso de cloro livre como sanitizante de frutas frescas e minimamente processadas.

O MAPA incentiva a participação do Brasil nas exportações mundiais no setor

de alimentos. Entretanto, ocorre uma disparidade entre os regulamentos para o uso de sanitizantes e biocidas aprovados no Brasil e a UE, e ajustar essas diferenças são a maior preocupação.

O uso de produtos sanitizantes não aceitos pela UE pode gerar uma instabilidade no mercado de exportação, o que reflete na economia do segmento de fruticultura no Brasil.

O processo de sanitização do pós colheita é considerado a principal etapa para reduzir o número de micro-organismos a nível de segurança alimentar (Cossu, 2017).

Os substituintes alternativos ao cloro livre são peróxido de hidrogênio, ácido peroxiacético, ozono, extratos de origem orgânica e ultrassom para serem usados como sanitizantes em packing-house (Caccalano et al., 2021).

A substituição, também significa aumento no valor da produção que deve ser repassado no produto final para o consumidor. Portanto, é de extrema prioridade encontrar novos compostos com ação antimicrobiana que sejam aceitos pela UE de baixo custo e seguros à saúde do consumidor para garantir a contínua ascensão do mercado de exportação.

Alternativas ao uso de sanitizantes a base de cloro livre

A busca por produtos naturais que possam substituir produtos químicos como uma fonte alternativa verde tem sido adotada na UE, a ideia vai ao encontro com as práticas ambientais e renováveis. É um nicho de novas pesquisas para criação de produtos e aplicações.

Ácidos gálicos (galatos) sintetizados de matrizes orgânicas naturais têm sido estudados e aplicados como agentes inibidores de micro-organismos (Kubo et al., 2022).

Esse composto possui a vantagem de inibir bactérias Gram-positivas e Gram- negativas, podendo ser utilizados como um agente efetivo no combate de bactériaspatogênicas humanas formadoras de biofilmes, como relatado por Kang et al. (2018).

Esses compostos apresentam também atividade anticarcinogênica, tendo potencial de uso para combate de células tumorais (Locatelli et al., 2023). No entanto, o uso dos galatos em produtos sanitizantes ainda não é aplicável pois a sua produção tem elevado custo e necessita de um composto ancorador estável.

Existe um interesse crescente nas propriedades antimicrobianas de óleos essenciais como alternativas aos produtos químicos biocidas para uso em packing-house. Óleos essenciais são descritos como líquidos hidrofóbicos de cadeia aromática que podem ser obtidos de praticamente de partes de vegetais como flores, raízes, folhas, frutos (Lira et al., 2020)

As substâncias que compem o óleo essencial são consideradas, em geral, como GRAS (*Generally Recognized As Safe*,ou Geralmente Reconhecido como Seguro) pelo órgão de regulação americano (*Food and Drug Administration* – FDA), por não apresentarem efeitos de tolerância quando usados como aditivos alimentares. Estas características, associadas ao amplo espectro de atividades, como anti-inflamatória, antioxidante,antifúngica e antibacteriana, colocam os óleos essenciais como candidatos viáveis a serem explorados no desenvolvimento de compostos de ação antimicrobiana para uso em sanitizantes alimentares.

Alguns óleos essenciais já são utilizados na agricultura orgânica e outros descritos na literatura devido à ação bactericida, como o óleo de *Lippia gracilis*, *Unonopsis guatterioides*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* (Aziz & Almasi, 2018; Santos et al., 2019; Yoshida et al., 2019; Hać-Szymańczuk et al., 2019).

Recentemente Zayed et al. (2019) descreveu as propriedades antioxidantes do óleo essencial de *Pimpinella anisum* (anis), o que aumentou o interesse para novas pesquisas e aplicações. Além disso, foi descrito a atividade antimicrobiana devido à presença do composto fenólico trans-anetol encontrado na proporção de 80% da composição do óleo (Kasouda et al., 2019).

O trans-anetol é um composto aromático de origem vegetal formado por trans-1-metoxi- 4-(prop-1-enil)benzeno, também encontrado em menor concentração nos óleos de *Foeniculum vulgare* (Funcho), *Illicium veru* (anis estrelado), *Cuminum cyminum* (cominho) e *Salvia officinalis* (sálvia) (Anastasopoulou et al., 2019).

A capacidade antimicrobiana dos óleos essenciais depende principalmente da composição molecular do óleo, já que cada composto apresenta um mecanismo de ação específico.

Avaliar o tipo de molécula que compõe o óleo permite compreender melhor os mecanismos de ação antimicrobiana e a região de atuação na célula alvo.

Alguns compostos presentes nos óleos essenciais podem interagir na permeabilidade da bicamada lipídica, desse modo o composto leva ao desequilíbrio e lise celular; outros compostos podem atuar negativamente no sistema enzimático, o que desencadearia uma série de alterações na síntese de produtos considerados essenciais para a sobrevivência da célula ou inativação do material genético (Oliveira et al., 2011).

Compreender os mecanismos de ação das drogas antimicrobianas é parte essencial para desenvolver novas pesquisas com aplicabilidade, visando à segurança da saúde humana e ambiental. Apesar da capacidade antimicrobiana de vários óleos essenciais, sua aplicação pode ser restrita, devido à composição apolar do óleo que impede sua solubilidade em sistemas aquosos e à degradação e evaporação de alguns

compostos. Portanto, a encapsulação do óleo essencial em matriz biopolimérica é uma alternativa para aumentar a sua solubilidade, impedir a evaporação, reduzir a fotodegradação e oxidação do composto.

Matrizes biopoliméricas de fontes renováveis como a quitosana têm chamado muita atenção para o uso em sistemas de dispersão de medicamentos e encapsulação de compostos orgânicos na forma de hidrogéis, micro ou nanomateriais (Boardman et al., 2017). A quitosana é um biopolímero formado a partir da desacetilação da quitina o segundo polímero mais abundante na natureza, depois da celulose (Kou, 2020). É um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável.

A molécula de quitosana é um copolímero composto por N-acetil-2-amino-2-desoxiD-glucopiranose e 2-amino-2- desoxi-D-glucopiranose, onde os dois tipos de unidades de repetição estão ligadas por (1→4)-β-glicosídica, estas unidades estão distribuídas em diferentes graus, dependendo do grau das porções acetiladas (Fleet, 1985). Assim como a maioria dos polissacarídeos e proteínas, a quitosana é constituída de cadeias poliméricas individuais que são mantidas juntas por ligações dipolo-dipolo e forças de van der Waals.

A quitosana possui cargas positivas na estrutura da cadeia do biopolímero principalmente pelos grupamentos amina NH_2 que estão presentes em grande quantidade e são facilmente protonados a NH_3^+. Este biopolímero possui uma estrutura molecular quimicamente similar à da quitina, diferenciando-se somente nos grupos funcionais. A principal diferença entre eles é a presença de grupos amino na estrutura da quitosana. Suas propriedades são desejáveis devido à estrutura do polissacarídeo que permite biocompatibilidade, biodegradabilidade e não toxicidade (Bhattacharjee et al., 2020).

A encapsulação do óleo essencial pode ser realizada por meio da reticulação

intermolecular entre o grupo amino protonado e o agente reticulante fosfato aniônico do tripolifosfato (Samrot et al., 2020). Esse método cria redes de ligações cruzadas na matriz do biopolímero e aprisiona o composto orgânico de interesse.

O emprego de micropartículas de quitosana é reportado na literatura devido ao potencial uso para aplicações farmacêuticas como o encapsulamento de medicamentos descrito por Divya & Jisha (2018). Podendo ser aplicado em outras áreas como em sanitizantes para o controle microbiológico em frutos frescos, o qual ainda é um desafio, pois o produto deve eliminar os principais microrganismos patogénicos de origem alimentar sem ser prejudicial à saúde humana.

As nanopartículas são candidatas versáteis para combater microorganismos potogênicos devido às suas propriedades físico-químicas únicas e à capacidade de interagir com células microbianas na nano escala (Hetta et al., 2023).

A categoria de nanopartículas metálicas possui propriedade antimicrobiana através do mecanismo de ação que rompe a membrana celular bacteriana ou pela interferência nos processos celulares (Mamun et al., 2021).

As nanopartículas de prata são capazes de romper matrizes de biofilme, inibir a adesão bacteriana e induzir a morte celular microbiana (Bruna et al., 2021).

As nanopartículas de cobre tem efeito antimicrobiano ao liberar íons de cobre que agem no rompemento da membrana celular bacteriana (Ma et al., 2022).

As nanopartículas de óxido de zinco possuem propriedades antimicrobianas fotoativadas com produção de espécies de oxigênio reativo e íons de zinco. Essa capacidade os torna eficazes na interrupção de formação de biofilmes (Puspasari et al., 2022).

Outra categoria de sanitizante alternativo em destaque é a aplicabilidade da água

eletrolítica na contagem de coliformes fecais e outras cepas de interesse clínico (Zhao et al., 2021). A versatilidade das nanopartículas metálicas permitem a incorporação em vários materiais com a finalidade de agente antimicrobiano.

A água eletrolisada resulta da eletrólise de um sal em solução sob influência de corrente elétrica para a formação de novas moléculas com propriedades reativas e antimicrobianas. De acordo com Zhao et al. (2021) existem diferentes categorias de água eletrolisada como águaeletrolisada neutra, água eletrolisada ácida e água eletrolisada alcalina. As diferentes águas eletrolisadas provem do tipo de sal utilizado durante os processos o que interfere no valor de pH da solução.

EUA e o Brasil utilizam a eletrólise da água com NaCl para geração de hipoclorito de sódio em processos industriais de sanitização (Ampiaw et al., 2021). No entanto, o método pode ser aplicável com outros tipos de sais para que não haja a geração de molécula de cloro livre. Portanto, a utilização de sais como Na_2SO_4, $ZnSO_4$, e $CaCl_2$ podem apresentar um potencial uso na sanitização de frutas e legumes frescos sem a molécula de cloro livre produzida.

Os dispositivos de desinfecção eletroquímica podem ser divididos em duas categorias: Os eletrolisadores diretos, a qual interagem diretamente na água com a matéria orgânica; e os eletrolisadores para oxidantes mistos que necessitam de uma solução concentrada de sais para gerar “anólito”, uma mistura de espécies oxidantes fortes que podem incluir a produção de cloro livre, dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio, ozônio e outros radicais de vida curta dependendo do sal adicionado durante os processos de eletrólise (Li et al., 2020).

Água eletrolisada ácida, também conhecida como água oxidante é gerada pela

eletrólise de uma solução diluída de cloreto de sódio (NaCl) em uma câmara com eletrodos anódico e cátodo separados por uma membrana, e essa água é obtida do lado do ânodo. Kim et al. (2020) relatou que seu produto tem forte efeito bactericida contra muitos patógenos de origem alimentar. No entanto, como ponto negativo essa eletrólise tem liberação de gás cloro (Kim et al., 2020).

A água eletrolisada neutra tem pH entre 5,5 a 6,5 e produz uma alta concentração de ácido hipocloroso (HClO) sendo considerado o íon hipoclorito (ClO-) ofator principal da atividade bactericida; Além de uma alternativa no processamento de sanitização de alimentos por não gerar cloro livre (Rahman et al., 2020).

A água eletrolisada alcalina é gerada por um cátodo e tem um valor de pH entre 9 e 11. Além disso, são utilizadas soluções de cloreto de magnésio ($MgCl_2$) ou cloreto de cálcio ($CaCl_2$) de acordo com Sun et al. (2022).

Nesse sentido, podemos avaliar que o controle microbiológico em frutos frescos ainda é um desafio, pois o produto deve eliminar os principais microrganismos patogénicos de origem alimentar, não ser prejudicial à saúde humana e estar dentro das normativas vigentes do destino de exportação. Portanto, nesse estudo foi aplicado diferentes sanitizantes para avaliar a atividade antimicrobiana contra cepas de interesse.

BIBLIOGRAFIA

AAYUSH, K., MCCLEMENTS, D. J., SHARMA, S., SHARMA, R., SINGH, G. P., SHARMA, K., & OBEROI, K. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed Apple. **Food Control**. v.141, p.109-188, 2022.

AGÊNCIA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DOS ESTADOS UNIDOS (EPA) (1996) Conversão de genes mitóticos em Saccharomyces cerevisiae. Documento 870.5575 do Escritório de Prevenção, Pesticidas e Substâncias Tóxicas. Diretrizes de teste de efeitos na saúde. Disponível em: http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/ OPPTS_Harmonized/_Health_Effects_Test_ Guidelines/Drafts/870-5575.pdf - Acesso em 22/03/2022.

AMPIAW R. E., YAQUB M., LEE W. Electrolyzed water as a disinfectant: a systematic review of factors affecting the production and efficiency of hypochlorous acid. **Water Process Engineering,** v.1, p.13, 2020.

ANASTASOPOULOU E., GRAIKOU K., GANOS C., CALAPAI G., CHINOU L. *Pimpinella anisum* seeds essential oil from Lesvos Island: Effect of hydrodistillation time, comparison of its aromatic profile with other samples of the Greek market. **Food and Chemical Toxicology**, v.110875, p.1-13, 2019.

ANDRADE-OCHOA, S., CHACÓN-VARGAS, K. F., SÁNCHEZ-TORRES, L. E., RIVERA-CHAVIRA, B. E., NOGUEDA-TORRES, B., & NEVÁREZ-MOORILLÓN, G. V. Differential antimicrobial effect of essential oils and their main components: Insights based on the cell membrane and external structure. **Membranes**, v.11(6), p.405, 2021.

AZIZ G. G., ALMASI H. Physical Characteristics, Release Properties, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Whey Protein Isolate Films Incorporated with Thyme (*Thymus vulgaris L.*) Extract-Loaded Nanoliposomes. **Food and Bioprocess Technology**, v.11, p.1552-1565, 2018.

BATTAGIN, T., CACCALANO, M., DILARRI, G., ZAMUNER, C., ALLEONI, N., SALDANHA, L., FERREIRA, H. *Syzygium aromaticum* (clove) essential oil: An alternative for the sanitization of citrus fruit in packinghouses. **Journal of Food**

Processing and Preservation, v.45, p.15496, 2021.

BHATTACHARJEE, M., PRAMANIK, N. B., SINGHA, N. K., HALOI, D. J. Recent advances in RDRP-modified chitosan: a review of its synthesis, properties and applications. **Polymer chemistry**, v.11(42), p.6718-6738, 2020.

BOARDMAN, S. J., LAD, R., GREEN, D. C., THORNTON P. D. Chitosan hydrogels for targeted dye and protein adsorption. **Journal Applied Polymer Science**, v.133, p.40-48, 2017.

BRUNA, T., MALDONADO-BRAVO, F., JARA, P., CARO, N. Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v.22(13), 2021.

CACCALANO, M. N., DILARRI, G., ZAMUNER, C. F. C., DOMINGUES, D. S., & FERREIRA, H. Hexanoic acid: a new potential substitute for agrochemicals against citrus canker. **Journal of Applied Microbiology**, v.131(5), p.2488-2499, 2021.

COMISSÃO REGULADORA (EU) 2018/605 of 19 April 2018 setting out scientific criteria for: The determination of endocrine disrupting and amending Annex II to Regulation (EC) 1107/2009. Official Journal of the European Union, L 101, 20/4/2018, p. 33–36. Disponível em: http:// data.europa.eu/eli/reg/2018/605/oj - Acesso em 10/11/2021.

COSSU, A.; LE, P.; YOUNG, G.M. E NITIN, N. Assessment of sanitation of efficacy against *Escherichia coli* 0157:H7 by rapid measurement of intracelular oxidative stress, membrane damage or glucose active uptake. **Food Control**, v.71, p.293-300, 2017.

DILARRI, G., ZAMUNER, C.F.C., MENDES, C.R., MORAES JR., J.R., MORAO, L.G., MONTAGNOLLI, R.N., BIDOIA, E.D., FERREIRA, H. Evaluating the potential of electrolysed water for the disinfection of citrus fruit in packinghouses**. Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.101, p. 2584-2591, 2021.

DIVYA K., JISHA M. S. Chitosan nanoparticles preparation and applications. **Environmental Chemistry Letters**, v.16, p.101-112, 2018.

EFSA-Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) Risks for public health related to the presence of chlorate in food**. EFSA Journal**, 2015.

ESSAWY A. A., HEFNI H., EL-NGGAR A. M. Biocompatible and Biodegradable Chitosan Composites in Wound Healing Application: In Situ Novel Photo-Induced Skin Regeneration Approach. **Sustainable Polymer Composites and Nanocomposites**, v.1, p.143-183, 2019.

FLEET, G. H. "Composition and structure of yeast cell walls", Current Topics in Medical **Mycology**, v.1, p.24-24, 1985.

GIL M. I., LÓPEZ-GÁLVEZ F., MORENO S. A. M., ALLENDE A. Disinfection by-products generated by sodium hypochlorite and electrochemical disinfection in different process wash water and fresh-cut products and their reduction by activated carbon. **Food Control**. v.100, p.46-52, 2019.

HAĆ-SZYMAŃCZUK E., CEGIEŁKA A., KARKOS M., GNIEWOSZ M., PIWOWAREK K. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of oregano (Origanum vulgare L.) preparations during storage of low-pressure mechanically separated meat (BAADER meat) from chickens. **Food Science and Biotechnology**. v.28, p.449-457, 2019.

HEMBRAM K. C., PRABHA S., CHANDRA R., AHMED B., NIMESH S. Advances in preparation and characterization of chitosan nanoparticles for therapeutics. **Artif Cells Nanomed Biotechnol**. v.44 p.305-314, 2016.

HETTA, H. F., RAMADAN, Y. N., AL-HARBI, A. I., A. AHMED, E., BATTAH, B., ABD ELLAH, N. H., DONADU, M. G. Nanotechnology as a promising approach to combat multidrug resistant bacteria: a comprehensive review and future perspectives. **Biomedicines**, v.11, p.413, 2023.

KANG, M.; OH, J.; KANG, I.; HONG, S.; CHOI, C. Inhibitory effect of methyl gallate and gallic acid on oral bacteria. **Journal of Microbiology**, v.46, p.744-750, 2018.

KRÓL, E., DE SOUSA BORGES, A., DA SILVA, I., POLAQUINI, C. R., REGASINI, L. O., FERREIRA, H., SCHEFFERS, D. J. Antibacterial activity of alkyl gallates is a combination of direct targeting of *FtsZ* and permeabilization of bacterial membranes. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p.390-406, 2015.

KEAWCHAOON L., YOKSAN R. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.84(1), p. 163-171, 2011.

KIM H., SONG K. B. Combined treatment with chlorine dioxide gas, fumaric acid, and ultraviolet-C light for inactivating *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes* inoculated on plums. **Food Control**, v.71, p.371-375, 2017.

KASOUDA G., SELLIMI S., MERLIER F., FALCIMAIGNE-CORDIN A., THOMASSET B., NASRI M., HAJJI M. Composition, antibacterial and antioxidant activities of *Pimpinella saxifraga* essential oil and application to cheese preservation as coating additive. **Food Chemistry**, v.288(1), p.47-56, 2019.

KOU, S. G., PETERS, L. M., MUCALO, M. R. Chitosan: A review of sources and preparation methods. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.169, p.85-94, 2021.

KUBO, I.; FUJITA, K.; NIHEI, K. Anti-*Salmonella* activity of alkyl gallates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.6692-6696, 2022.

LI H., ZHU X., NI J. Inactivation of *Escherichia coli* in Na2SO4 electrolyte using boron-doped diamond anode. **Electrochim Acta**. v.56, p.448-453, 2020

LIRA, M.H.P.D., ANDRADE JÚNIOR, F.P.D., MORAES, G.F.Q., MACENA, G.D.S., PEREIRA, F.D.O. AND LIMA, I.O. Antimicrobial activity of geraniol: an integrative review. **Journal of Essential Oil Research**, v.32, p.187-197, 20020

LOCATELLI, C.; FILIPPIN-MONTEIROC, F. B.; CRECZYNSKI-PASAC, T. B. Alkyl esters of gallic acid as anticancer agents: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.60, p.233-239, 2023.

MA, X., ZHOU, S., XU, X., DU, Q. Copper-containing nanoparticles: Mechanism of antimicrobial effect and application in dentistry-a narrative review. **Frontiers in Surgery**, v.9, p.1359, 2022.

MAMUN, M. M., SORINOLU, A. J., MUNIR, M., VEJERANO, E. P. Nanoantibiotics: Functions and properties at the nanoscale to combat antibiotic resistance. **Frontiers in chemistry**, v.9, p.687660, 2021.

MENDES, C. R., DILARRI, G., FORSAN, C. F., SAPATA, V. D. M. R., LOPES, P. R. M., DE MORAES, P. B., MONTAGNOLLI, R. N., FERREIRA, H., BIDOIA, E. D. Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens. **Scientific Reports**, v.12, p.2658, 2022.

MENDES, C. R., DILARRI, G., STRADIOTO, M. R., LOPES, P. R. M., BIDOIA, E. D., MONTAGNOLLI, R. N. Zeta potential mechanisms applied to cellular immobilization: A study with Saccharomyces cerevisiae on dye adsorption. **Journal of Polymers and the Environment**, v.29, p.2214-2226, 2021.

MENDES, C. R., DILARRI, G., MONTAGNOLLI, R. N., & BIDOIA, E. D. Different electrolytic treatments for food sanitation and conservation simulating a wash process at the packinghouse. **Journal of Food Science and Technology**, v.7, p.1-9, 2023.

Mercosul e a Associação Europeia de Livre Comércio (EFTA). Disponível em: http://www.itamaraty.gov.br/pt-BR/sem-categoria/20775-acordo-mercosul-efta-editoria- Acesso em 22/07/2019.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **São Paulo**, Brasil. Disponível em: https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-mapa-n-21-de-25-de- abril-de-2018,1152.html - Acesso em 24/03/2021.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brazil-Coordenadoria de Defesa Agropecuaria do Estado de São Paulo, "Instrução normativa MAPA No 21, DE 25 DE Abril DE 2018, **São Paulo**, Brasil" 2018, https://www.defesa.agricultura.sp. gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-mapa-n-21-

de-25-deabril- de-2018,1152.html.

OLIVEIRA T. L. C., PICCOLI R. H., BATISTA N. N., CAMARGO N. G., OLIVEIRA M. M. M. Antimicrobial activity of *Satureja montana L.* essential oil against Clostridium perfringens type A inoculated in mortadella type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. **International Journal of Food Microbiology**, v.144(3), p.546-555, 2011.

Organização Mundial da Saúde (OMS). United Nations Children's Fund (UNICEF). Progress on Drinking Water, Sanitation and Hygiene: Update and SDG Baselines; WHO: Geneva, Switzerland; UNICEF: **New York**, NY, USA, 2017.

PACHECO C., SOUSA F., SARMENTO B. Chitosan-based nanomedicine for brain delivery: Where are we heading?. **Reactive and Functional Polymers**, v.146, p.1-13, 2020.

PALOMINO J. C., MARTIN A., CAMACHO M., GUERRA H., SWINGS J., PORTAELS F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis.* **Antimicrobiol Agents Chemotherapy**, v.46, p.2720-2722, 2002.

PELLÁ M. C. G., LIMA H. H. C., RINALDI A. W., FAJARDO A. R., TENÓRIO-NETO E. T., GUILHERME M. R., RUBIRA A. F., LIMA-TENÓRIO M. K. Chitosan-Based Hydrogels for Drug Delivery. **Functional Chitosan**, p.163-190, 2020.

PUSPASARI, V., RIDHOVA, A., HERMAWAN, A., AMAL, M. I., KHAN, M. M. ZnO-based antimicrobial coatings for biomedical applications. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v.45(9), p.1421-1445, 2022.

RAFFO, A., & PAOLETTI, F. Fresh-cut vegetables processing: environmental sustainability and food safety issues in a comprehensive perspective. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v.5, p.681459, 2022.

RAHMAN S. M. E., KHAN I., OH D. Electrolyzed water as a novel sanitizer in the food industry: current trends and future perspectives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,** v.15, p.471-490, 2016.

SAMROT A. V., AKANKSHA, JAHNAVI T., PADMANABAN S., PHILIP S., BURMAN U., RABEL A. M. Chelators influenced synthesis of chitosan–carboxymethyl cellulose microparticles for controlled drug delivery. **Applied Nanoscience**, v.6, p.1219-1231, 2016.

SAMROT, A. V., SEAN, T. C., KUDAIYAPPAN, T., BISYARAH, U., MIRARMANDI, A., ABUBAKAR, A., KUMAR, S. S. Production, characterization and application of nanocarriers made of polysaccharides, proteins, bio-polyesters and other biopolymers: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.165, p.3088-3105, 2020.

SANCHEZ, B., BARREIRO-HURLE, J., SOTO EMBODAS, I., RODRIGUEZ-CEREZO, E. The Impact Indicator for Priority Pests (I2P2): A tool for ranking pests according to Regulation (EU) 2019/2031. **Maastricht**: Europen Union, 2019.

SANTOS C. M., TEODORO A. V., MENEZES M. S., PINTO-ZEVALLOS, D. M. Bioactivity of essential oil from *Lippia gracilis* Schauer against two major coconut pest mites and toxicity to a non-target predator. **Journal Crop Protection**, v.125, p.104-113, 2019.

SAVARY, S., WILLOCQUET, L., PETHYBRIDGE, S. J., ESKER, P., MCROBERTS, N., & NELSON, A. The global burden of pathogens and pests on major food crops. **Nature ecology and evolution**, v.3(3), p.430-439, 2019.

SAVIETTO, A., POLAQUINI, C. R., KOPACZ, M., SCHEFFERS, D. J., MARQUES, B. C., REGASINI, L. O., & FERREIRA, H. Antibacterial activity of monoacetylated alkyl gallates against Xanthomonas citri subsp. citri. **Archives of microbiology**, v.200, p.929-937, 2018.

Secretaria de Agricultura e Abastecimento, Instituto de Economia Agrícola (IEA). Disponível em: http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=4574 - Acesso em 20/03/2020.

SUN, J., JIANG, X., CHEN, Y., LIN, M., TANG, J., LIN, Q., & LIN, H. Recent trends and applications of electrolyzed oxidizing water in fresh foodstuff preservation and safety control. **Food Chemistry**, v.369, p.130873, 2022.

TRIPATHY, S. & SAHU, S. K. FtsZ inhibitors as a new genera of antibacterial agents. **Bioorganic Chemistry**. v.91, p.103-169, 2019.

YOSHIDA N. C., SAFFRAN F. P., LIMA W. G., FREIRE, T. V., SIQUEIRA J. M., GARCEZ W. S. Chemical characterization and bioherbicidal potential of the essential oil from the leaves of Unonopsis guatterioides. **Natural Product Research**, v.33, p. 3312-3316, 2019.

ZAJAC, M., KOTYŃSKA, J., ZAMBROWSKI, G., BRECZKO, J., DEPTUŁA, P., CIEŚLUK, M., NAUMOWICZ, M. Exposure to polystyrene nanoparticles leads to changes in the zeta potential of bacterial cells. **Scientific Reports**, v.13(1), p.9552, 2023.

ZAMUNER, C. F. C., Dilarri, G., Bonci, L. C., Saldanha, L. L., Behlau, F., Marin, T. G., Ferreira, H. A cinnamaldehyde-based formulation as an alternative to sodium hypochlorite for post-harvest decontamination of citrus fruit. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, p. 701-709, 2020.

ZAYED M. F., MAHFOZE R. A., EL-KOUSY S. M., EMAD A., ASHKA. In-vitro antioxidant and antimicrobial activities of metal nanoparticles biosynthesized using optimized *Pimpinella anisum* extract. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.124, p.167-176, 2019.

ZHAO L., LI S., YANG H. Recent advances on research of electrolyzed water and its applications. **Current Opinion in Food Science**. v.41, p.180-188, 2021.

ZIMMERMANN F. K., KERN R., RASENBERGER H. Yeast strain for simultaneous detection of mitotic crossing over, mitotic gene conversion, and reverse mutation. **Mutation Research**, v.28, p.381-388, 1975.