

## Potencial microbicida da água ozonizada em hortaliças

Camila Gaiarin de Avelar, Centro universitário Integrado, Brasil,  
camilagaiarin@hotmail.com

Jaqueline Aparecida Oliveira dos Santos, Centro universitário Integrado, Brasil,  
jaquesantos546@gmail.com

Thaynara Oliveira Bagini, Centro universitário Integrado, Brasil,  
thayyounit11@gmail.com

**Resumo:** As doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA), causadas pela ineficiente higienização dos alimentos e água, afetam cerca de 600 milhões de pessoas por ano no Brasil, das quais 420.000 vêm a óbito. O hipoclorito de sódio é atualmente usado como alternativa sanitizante de alimentos, porém o fato de formar resíduos tóxicos e ter características organolépticas desagradáveis acabam fazendo com que a possibilidade de uso de um novo microbicida seja adotada. Com base nisso, o presente trabalho visa comparar o potencial bactericida da água ozonizada sobre *Escherichia coli* em comparação ao hipoclorito de sódio. Para isso, amostras de morango e alface foram contaminados com a bactéria *Escherichia coli* e posteriormente deixados de molho em água ozonizada e solução de hipoclorito de sódio para fins de comparação. A solução de hipoclorito de sódio foi 100% eficaz na remoção microbiana do morango e do alface. A água ozonizada apresentou taxa de descontaminação de 18,1% com 5 minutos de molho e de 47,4% para 15 minutos no morango. Quanto ao alface, não houve redução bacteriana aos 5 minutos e 59,53% aos 15 minutos. Com base nisso, foi possível evidenciar a eficácia da água ozonizada como alternativa sanitizante de alimentos quando em contato com os mesmos por um tempo igual ou superior a 15 minutos. Conclui-se que a água ozonizada apresenta elevado poder microbicida contra *E. coli* e pode ser uma opção para a sanitização de alimentos por suas vantagens com relação à ausência de resíduos.

**Palavras-chave:** Bactéria; Ozônio; Hipoclorito; Alimentos.

**Resumo em inglês:** Food and water-borne diseases (WBTD), caused by inefficient food and water sanitation, affect about 600 million people per year in Brazil, of which 420,000 die. Sodium hypochlorite is currently used as an alternative food sanitizer, but the fact that it forms toxic residues and has unpleasant organoleptic characteristics end up causing the possibility of using a new microbicide. Based on this, the present work aims to compare the bactericidal potential of ozonated water on *Escherichia coli* in comparison to sodium hypochlorite. To this end, strawberry and lettuce samples were contaminated with *Escherichia coli* bacteria and subsequently soaked in ozonated water and sodium hypochlorite solution for comparison purposes. The sodium hypochlorite solution was 100% effective in removing microbial from strawberry and

lettuce. The ozonated water showed a decontamination rate of 18.1% with 5 minutes of soaking and 47.4% for 15 minutes on the strawberry. As for lettuce, there was no bacterial reduction at 5 minutes and 59.53% at 15 minutes. Based on this, it was possible to evidence the efficacy of ozonated water as a sanitizing alternative for foods when in contact with them for a time equal to or greater than 15 minutes. It can be concluded that ozonated water has a high microbicidal power against *E. coli* and may be an option for sanitizing food because of its advantages regarding the absence of residues.

**Keywords:** Bacteria; Ozone; Hypochlorite; Foods.

## INTRODUÇÃO

As doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) afetam cerca de 600 milhões de pessoas por ano no Brasil, das quais 420.000 podem vir a óbito (1). Um dos grandes responsáveis pelo aumento de casos desse tipo de infecção é a má higiene no momento de preparo dos alimentos, o que propicia a permanência e a proliferação de microrganismos, refletindo em episódios de surtos gastrointestinais. Devido a forma de contaminação, a Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que 37,7% dos casos acontecem dentro da própria residência e que 25,2% provém da água mal tratada (2).

Mesmo ainda sendo consideradas doenças de caráter negligenciado, devido a sintomatologia leve e a falta de encaminhamento médico, é notável a importância do diagnóstico precoce e do tratamento correto das DTHA's, uma vez que podem gerar consequências de alta severidade e pelo seu aumento anual da incidência (3). Entre os principais sinais e sintomas presentes nessas doenças, destacam-se cólicas abdominais, febre, náuseas, vômitos e diarreia, os quais podem causar desidratação (4).

A bactéria mais envolvida nas DTHA's é a *Escherichia coli*, sendo muitas vezes resistente a antimicrobianos. De 2012 a 2021, 29,6% dos surtos de DTHA's no Brasil foram causados por *E. coli*; esse bacilo pode estar presente em água e alimentos contaminados com dejetos fecais, uma vez que essa bactéria está presente na microbiota intestinal de diversas espécies animais, incluindo os humanos. Entre 2009 e 2019 foram notificados 148 casos de síndrome hemolítica uremica (SHU) no Brasil, uma DTHA causada pela *E. coli* produtora da toxina shiga, com 1.795 internações (5).

Um dos métodos sanitizantes atualmente utilizado para minimizar as contaminações bacterianas em alimentos é a lavagem com hipoclorito de sódio. O hipoclorito de sódio é produzido a partir de uma reação entre o cloro no estado gasoso e uma solução aquosa de soda cáustica, resultando em um composto líquido, com coloração amarela, ph próximo de 12 e odor pungente e irritante. Devido à fácil obtenção e baixo custo, é muito utilizado como solução esterilizadora de superfícies, microbicida em alimentos e purificadora da água. Ainda que tenha sua eficácia confirmada, por meio de estudos como no artigo de revisão "Desinfecção com hipoclorito de sódio em superfícies ambientais hospitalares na redução de contaminação e prevenção de infecção: revisão sistemática" existem evidências de que vários microrganismos apresentam

diferentes graus de resistência ao hipoclorito de sódio, além de que seu odor característico é considerado um empecilho para sua utilização. Diante do exposto, o ozônio tem sido considerado uma alternativa para a substituição do uso do hipoclorito de sódio (6-8).

O ozônio (O<sub>3</sub>) vem sendo usado como sanitizante hídrico desde 1893, sendo declarado como uma substância geralmente reconhecida como segura (GRAS) em 1982 pelo Food and Drug Administration (FDA). Pode ser produzido industrialmente pelo método de descarga elétrica no oxigênio, tendo um excelente potencial oxidativo (2,07 mV), superior ao do hipoclorito de sódio (1,49 mV) (9). O O<sub>3</sub> é parcialmente solúvel em água, dispensa manuseio e armazenamento específicos, não gera resíduos nos alimentos tratados e apresenta capacidade de remover um alto número de microrganismos. O fato de apresentar maior segurança no uso, maior sucesso na remoção de microrganismos e menor formação de subprodutos e resíduos tóxicos, torna o O<sub>3</sub> uma opção mais vantajosa quando se prioriza a saúde e a qualidade da desinfecção dos alimentos (10).

Considerando os altos índices de DTHAs causadas pela *E. coli* e suas consequências para os acometidos, torna-se necessária a análise comparativa da eficiência dos métodos sanitizantes atualmente utilizados em alimentos. Com base nisso, o presente estudo teve como objetivo comparar o potencial bactericida da água ozonizada sobre *Escherichia coli* em comparação ao hipoclorito de sódio.

## MÉTODO

Uma cepa padrão de *Escherichia coli* (Newprov) foi ativada em caldo Brain Heart Infusion (BHI) conforme as recomendações do fabricante. A partir da cultura pura, diluições seriadas utilizando solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%) foram realizadas até a concentração 1:1000, a qual foi a concentração do inóculo utilizada para todos os testes microbiológicos.

Amostras de morango e alface foram contaminadas por imersão durante cinco minutos em cada um dos inóculos previamente preparados. Tais alimentos posteriormente foram submetidos à descontaminação por molho em solução contendo hipoclorito de sódio ou água ozonizada durante cinco e quinze minutos.

A solução de hipoclorito de sódio foi preparada na concentração de 2% de cloro ativo. Para a ozonização da água, 18.000 G de ozônio foi aplicado em 120mL de água purificada. Alíquotas de cada um dos alimentos contaminados ficaram de molho na solução de hipoclorito de sódio ou água ozonizada por cinco e quinze minutos. Transcorrido esses tempos, alíquotas foram coletadas para análise microbiológica.

A coleta se deu por meio da fricção de um swab estéril no alimento e posterior inoculação, por estria superficial, em ágar macconkey. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 24 a 48 horas. Todos os experimentos foram realizados em triplicada e para cada um, foram preparadas placas

controle negativo (CN) e controle positivo (CP), a partir do alimento contaminado e não submetido à nenhuma solução descontaminante.

Decorrido o tempo de incubação as unidades formadoras de colônia (UFC) foram quantificadas e os resultados expostos em média  $\pm$  desvio padrão. Os dados foram comparados por meio do teste de análise de variância (ANOVA) com Tukey como pós-teste utilizando o software GraphPad Prisma. Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05 (95% de significância).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média de crescimento do CP foi  $199 \pm 43,8$  UFC e esse foi o valor utilizado para comparação entre os grupos. Todas as placas CN não apresentaram crescimento microbiano.

Para o experimento com o morango verificou-se que a aplicação do ozônio por 5 minutos reduziu em 18,10% a carga microbiana e aos 15 minutos a redução foi de 47,74%, esta significativa ( $p < 0,05$ ) em relação do CP. O hipoclorito eliminou 100% das formas microbianas viáveis (Figura 1).

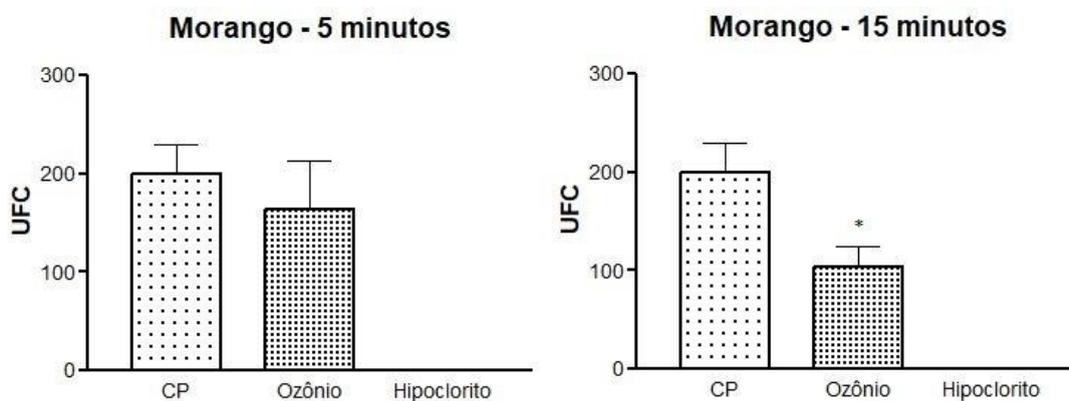


Figura 1 – Crescimento microbiano em UFC para as amostras de morango contaminadas e expostas ao ozônio e hipoclorito por 5 e 15 minutos. Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*Diferença significativa em relação ao CP.

Em relação a alface, a média de crescimento do CP foi  $196,5 \pm 57$  UFC, sendo esse o valor utilizado para comparação entre os métodos sanitizantes. As placas de CN não apresentaram crescimento microbiano.

A utilização do ozônio para a descontaminação da alface no tempo de 5 minutos não apresentou redução microbiana, entretanto aos 15 minutos a redução foi de 59,53%. A solução de hipoclorito de sódio eliminou 100% das formas microbianas (Figura 2).

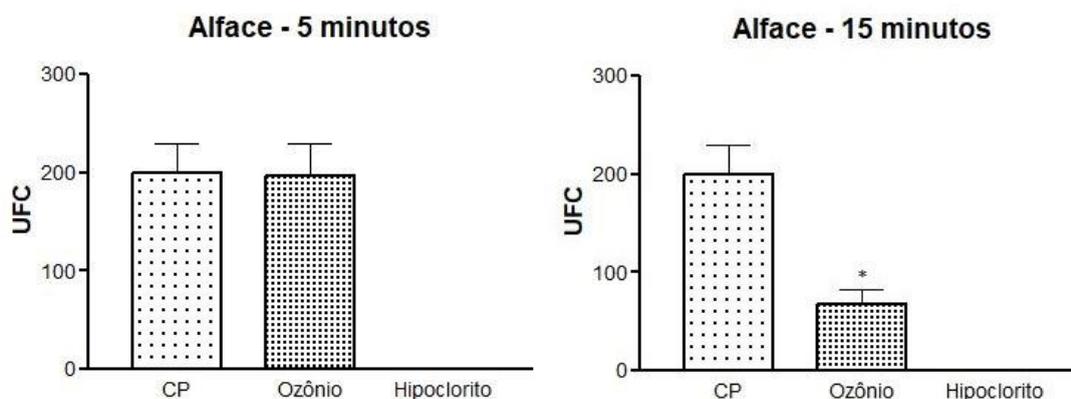


Figura 2 – Crescimento microbiano em UFC para as amostras de alface contaminadas e expostas ao ozônio e hipoclorito por 5 e 15 minutos. Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*Diferença significativa em relação ao CP.

*E. coli* é um bacilo gram-negativo anaeróbio facultativo, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, que vive principalmente no intestino de humanos e de animais de sangue quente. Quando ingerida por meio de água ou alimentos contaminados pode causar toxinfecções gastrointestinais, especialmente em indivíduos imunossuprimidos. Existem algumas cepas mais virulentas de *E. coli*, como aquelas produtoras de toxina Shiga, que promovem sérias complicações às DTHAs. De 2012 a 2019 o bacilo foi considerado o principal causador de DTHAs, evidenciando a importância de se testar protocolos sanitizantes com essa bactéria visando a adoção de medidas protetivas para a comunidade (1, 2, 11, 12).

O hipoclorito de sódio é um composto obtido a partir da reação do cloro com uma solução diluída de hidróxido de sódio. Para uso doméstico é comercializado diluído na forma de água sanitária. O mesmo possui ação bactericida por ser um forte agente oxidante que se dissocia facilmente e forma o ânion  $\text{ClO}^-$  (14).

No presente estudo, a solução de hipoclorito de sódio foi totalmente eficiente na eliminação de *E. coli* dos alimentos testados. Apesar da sua elevada eficiência bactericida, as suas características físico-químicas conferem desvantagens para o uso doméstico. Por ser um forte agente oxidante pode ser corrosivo e irritante à pele e aos olhos e também originar substâncias tóxicas quando reage com compostos orgânicos. Ademais, visando a sanitização de alimentos, o hipoclorito de sódio apresenta características organolépticas desagradáveis, como o forte odor residual (6-8, 14)

O ozônio em sua forma gasosa tem capacidade oxidante, embora os mecanismos envolvidos nesse processo ainda não sejam totalmente esclarecidos. O gás provoca a lise da parede celular dos microrganismos por meio da oxidação de seus componentes, resultando em morte celular e por

isso, tem se tornando uma alternativa para a sanitização em geral. A geração do gás ocorre por meio de uma descarga elétrica no oxigênio, assim as moléculas de  $O_2$  se dissociam e produzem radicais livres, os quais são altamente reativos com outras moléculas de oxigênio, resultando na formação do ozônio ( $O_3$ ) (9).

Uma de suas características é que o gás ozônio é parcialmente solúvel em água, a qual é aumentada conforme sua temperatura diminui. Além da temperatura, sua solubilidade depende da composição da matéria orgânica presente na água, já que grandes concentrações de matéria orgânica diminuem o tempo de meia vida do ozônio em água. Sua decomposição em meio aquoso resulta principalmente de radicais hidroxilas (OH) e outros compostos com perfil oxidante. Os mesmos são responsáveis pela ação sanitizante da água ozonizada, o que pode acontecer de maneira direta (envolve o ozônio em forma molecular) ou indireta (resulta da reação dos radicais hidroxilas); essa última não possui seletividade específica, tendo somente um caráter oxidante em todos os compostos orgânicos que tiver contato. A reação direta se qualifica como primeira escolha devido ao seu potencial de descontaminação juntamente com seu caráter oxidativo (9).

A eficácia na desinfecção é uma das principais características do ozônio, aliado ao fato de que o gás não gera odores desagradáveis, seu uso doméstico vem crescendo como uma alternativa eficiente na descontaminação, higienização e purificação do ar, objetos e alimentos. Assim, estão disponíveis no mercado ozonizadores de uso doméstico com fins para preservação e estocagem de alimentos e desodorização de ambientes (12, 13).

No presente estudo o ozônio apresentou considerável efeito bactericida quando em contato com os alimentos por 15 minutos. Por ser um produto que reduz de forma significativa os patógenos do alimento, a água ozonizada já é liberada pela Food and Drug Administration (FDA) como aditivo em alimentos, minimizando a contaminação dos mesmos (7, 9, 13).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as informações e os resultados citados acima, pode-se concluir a existência do potencial microbicida da água ozonizada contra *E. coli* no morango e alface. Todavia, o tempo de descontaminação em molho com a solução deve ser igual ou superior a 15 minutos para maior eficácia. O hipoclorito, apesar do seu efeito na descontaminação, apresenta características organolépticas desagradáveis e possíveis efeitos nocivos à saúde humana. Assim, o ozônio se apresenta como uma opção viável para o ambiente domiciliar, considerando seu potencial de dissipação e ausência de resíduos para os alimentos e ambiente.

## REFERÊNCIAS

- (1) GOV.BR. **Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DDTHA)**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>. Acesso em: 25 de novembro de 2022.
- (2) GOV.BR. **Doenças tropicais negligenciadas**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tracoma/publicacoes/boletim-epidemiologico-doencas-tropicais-negligenciadas>. Acesso em: 25 de novembro de 2022.
- (3) BIBLIOTECA VIRTUAL DE SAÚDE. **Dicas em Saúde**. Disponível em: [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/dicas/220\\_alimentos\\_funcionais.html](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/dicas/220_alimentos_funcionais.html). Acesso em 28 de outubro de 2022.
- (4) UNICAMP. **Aplicação de hipoclorito de sódio para tratamento de água contaminada: avaliação de eficiência de remoção de matéria orgânica e de vírus e bactérias**. Disponível em: <https://www.prp.unicamp.br/inscricao-congresso/resumos/2021P18354A34971O105.pdf>. Acesso em: 25 de novembro de 2022.
- (5) GUERISOLI, D.M.Z.; SILVA, R.S.; PÉCORI, J.D. Evaluation of some physico-chemical properties of different concentrations of sodium hypochlorite solutions. **Braz. Endod. J.** v.3, n.2, p 21-3, 1998.
- (6) JANE MARI CORRÊA BOTH, SOLANGE MENDES LONGARAY, CÉSAR AUGUSTO MARCHIONATTI AVANCINI. O desinfetante hipoclorito de sódio como barreira sanitária: condições de atividade frente à Staphylococcus aureus isolados em alimentos envolvidos em surtos de toxinfecções alimentares. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 68, n. 2, p. 254–258, 2009.
- (7) UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA. **Eficácia da água ozonizada no controle de microrganismos em morango (fragaria x ananassa duch.) e efeito na qualidade físico-química durante o armazenamento**. Disponível em: [https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/23159/1/2017\\_WallasFelippedeSouzaFerreira.pdf](https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/23159/1/2017_WallasFelippedeSouzaFerreira.pdf). Acesso em: 24 de novembro de 2022.
- (8) WOLLHEIM, C., DA SILVA GONÇALVES, E. ., CRISTINA LOPES, K. ., & BEGA, A. (2020). Efeito microbida do ozônio gasoso em Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus e Candida albicans. **Revista ibero-americana de podologia**, v. 2 n. 1, 2022.

- (9) PEDRO PINHEIRO. **Diarreia pela bactéria Escherichia coli (E. coli).** Disponível em: <https://www.mdsaude.com/gastroenterologia/diarreia-escherichia-coli>. Acesso em: 25 de novembro de 2022.
- (10) PUBMED.GOV. **Infecção por Escherichia coli O157:H7 em humanos.** Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7574226/>. Acesso em 24 de novembro de 2022.
- (11) PUBMED. GOV. **Ozônio e sua aplicação atual e futura na indústria alimentícia.** Disponível em: [O ozônio e sua aplicação atual e futura na indústria alimentícia - PubMed \(nih.gov\)](#) . Acesso em: 25 de novembro de 2022.
- (12) ZANZARINI, TJ, & KOZUSNY-ANDREANI, DI. Efeito do gás ozônio da descontaminação de canetas e bisturi. **Revista Ibero-americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 4, 2019.
- (13) VARGAS, Lauro et al. Efeito do tratamento com cloreto de sódio e formalina na ocorrência de ectoparasitas em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) revertidos sexualmente. **Arq. ciênc. vet. zool. UNIPAR**; v. 6, n. 1, p. 39-48, jan. - jun. 2003.