

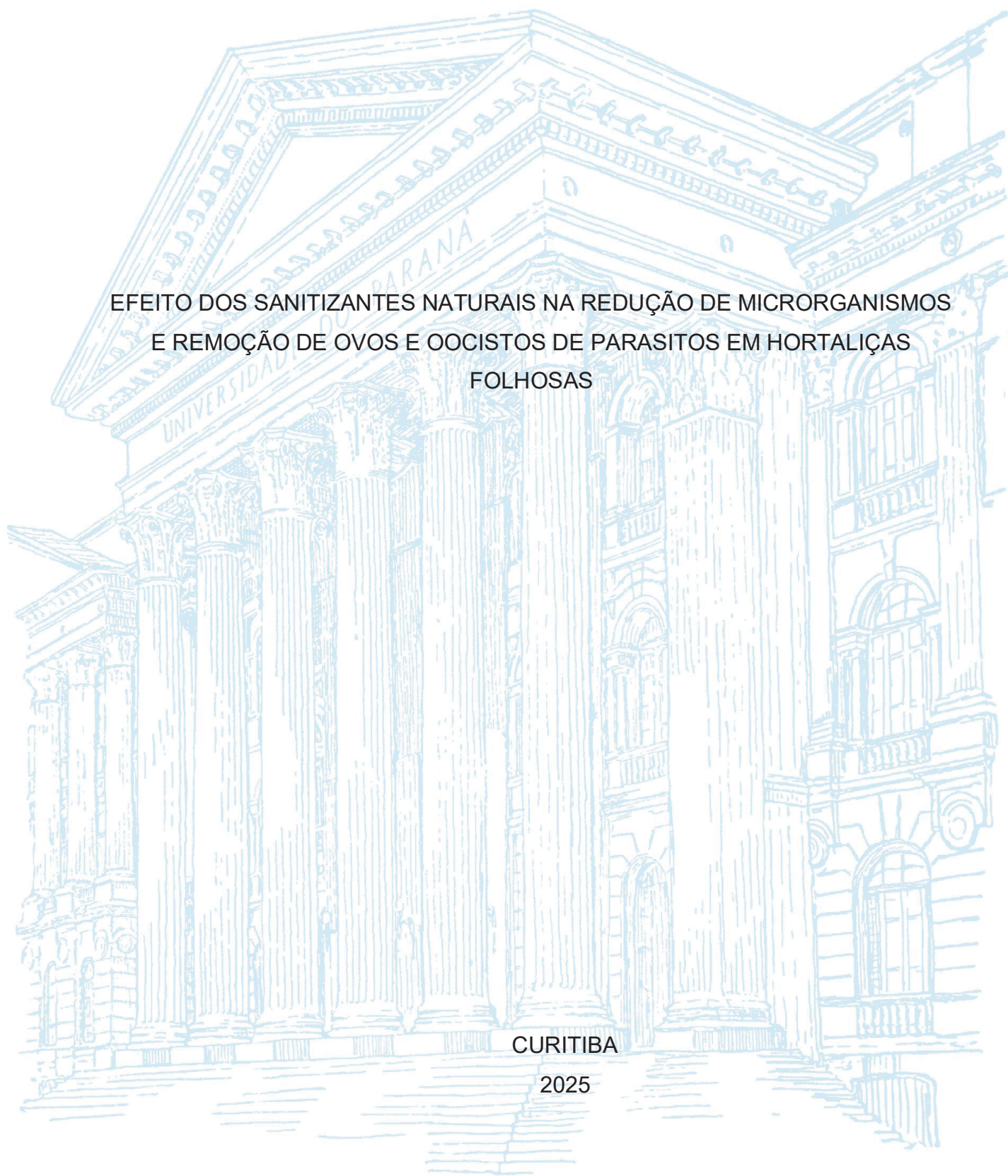
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANA DA SILVEIRA

EFEITO DOS SANITIZANTES NATURAIS NA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS  
E REMOÇÃO DE OVOS E OOCISTOS DE PARASITOS EM HORTALIÇAS  
FOLHOSAS

CURITIBA

2025



JULIANA DA SILVEIRA

EFEITO DOS SANITIZANTES NATURAIS NA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS  
E REMOÇÃO DE OVOS E OOCISTOS DE PARASITOS EM HORTALIÇAS  
FOLHOSAS

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito à obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel

Coorientadora: Profa. Dra. Sila Mary Rodrigues  
Ferreira

CURITIBA

2025

Silveira, Juliana da

Efeito dos sanitizantes naturais na redução de microrganismos e remoção de ovos e oocistos de parasitos em hortaliças folhosas [recurso eletrônico] / Juliana da Silveira. – Curitiba, 2025.

1 recurso online : PDF

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2025.

Orientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel

Coorientador: Profa. Dra. Sila Mary Rodrigues Ferreira

1. Lamiaceae. 2. Origanum. 3. Sálvia. 4. Óleos voláteis. 5. Helmintos. 6. *Chenopodium quinoa*. 7. Saponinas. I. Miguel, Obdulio Gomes. II. Ferreira, Sila Mary Rodrigues. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 583.96



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
FARMACÉUTICAS - 40001016042P8

## TERMO DE APROVAÇÃO


Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **JULIANA DA SILVEIRA**, intitulada: **Efeito dos sanitizantes naturais na redução de microrganismos e remoção de ovos e oocistos de parasitos em hortaliças folhosas.**, sob orientação do Prof. Dr. **OBDULIO GOMES MIGUEL**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 22 de Agosto de 2025.

  
OBdulio GOMES MIGUEL  
Presidente da Banca Examinadora

  
LUCIANA GIBBERT  
Avaliador Externo (DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO)

  
JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

  
LUCIANE DALARMI  
Avaliador Externo (CENTRO DE ENSINO SUPERIOR DE MARINGÁ -  
CURITIBA)

Dedico este trabalho à minha irmã, Jamille da Silveira, à minha mãe, Giovania Wozniak, e ao meu namorado, Guilherme Oliveira Santos, pelo amor e apoio irrestritos em cada etapa desta jornada. Ao meu amado filho e alegria da minha vida, Nicolas da Silveira Santos, que chegou ao mundo no ano em que defendo esta tese e me encheu de energia para concluí-la. E ao meu querido pai, Damasio da Silveira (in memoriam), cuja sua lembrança me guia todos os dias.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me guiar em cada etapa desta jornada. Ao Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel, meu orientador, pela generosidade em compartilhar milhões de conhecimentos, pela calma nos conselhos e pela paciência em nunca desistir de mim. Saía de cada reunião com a mente mais clara e o coração tranquilo; sempre serei eternamente grata ao senhor.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sila Mary Rodrigues Ferreira, minha coorientadora, pelos quase oito anos de ensinamentos precisos, pelos momentos certos de cobrança e de elogio, e por inspirar-me com sua trajetória acadêmica fascinante. Se eu iniciasse outra pós-graduação, certamente a senhora seria minha escolha.

Ao Prof. Dr. Diego Averaldo Guiguet Leal, agradeço por todo o aprendizado ao longo destes anos e, em especial, durante o estágio de docência, que se transformou, em apenas um semestre, numa experiência equivalente a anos de estudos. Muito obrigada também pelo auxílio nos experimentos parasitológicos: sem seu apoio, este trabalho não teria sido possível.

À professora Suelen Ávila Berthier, que estava sempre disposta a ajudar, independentemente da atividade, com a extraordinária capacidade de transformar 24 h em 48 h e pela incrível habilidade de escrever artigos com agilidade. Obrigada por toda a ajuda.

À minha amiga e parceira de laboratório Natália Alfredo, desde 2017, pelas risadas, fofocas, refeições compartilhadas, caronas de Uber, tristezas e felicidades divididas. Sua presença tornou cada desafio mais leve e cada conquista mais especial.

Aos colegas Aline, Schaina, Jonathan Vieira, Marcelly e Daniel, agradeço a ajuda incansável nos experimentos que pareciam intermináveis. Vocês foram fundamentais para a conclusão desta pesquisa e jamais esquecerei o apoio de cada um.

À amiga Letícia Santos, pelo apoio e incentivo nas madrugadas em que finalizei a escrita da tese.

À minha irmã Jamille da Silveira, à minha mãe Giovana Wozniak e ao meu namorado Guilherme Oliveira Santos, pelo amor incondicional e pelo incentivo diário.

Ao povo brasileiro, à Universidade Federal do Paraná e à CAPES, pelo financiamento e pelos recursos indispensáveis à minha formação.

## RESUMO

Desinfetantes à base de cloro, amplamente empregados na higienização de hortaliças, formam subprodutos de desinfecção, como trihalometanos (THMs) e ácidos haloacéticos (HAAs), pela reação do cloro com a matéria orgânica da matriz vegetal e da água. Evidências epidemiológicas associam a exposição crônica a esses compostos ao aumento do risco de câncer, sobretudo de bexiga e de neoplasias relacionadas ao sistema endócrino. Diante desse cenário, este estudo teve por objetivo sintetizar evidências científicas e avaliar a eficácia de soluções naturais, menos agressivas à saúde humana, na descontaminação microbiana e parasitológica de hortaliças folhosas. A tese foi organizada em três capítulos: (I) no primeiro, realizou-se uma revisão integrativa sobre a eficácia de sanitizantes naturais à base de extratos e óleos essenciais na redução de *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* sp em folhas de alface; (II) no segundo, realizou-se uma revisão integrativa sobre a eficácia da glicina na recuperação de parasitos em hortaliças folhosas; (III) e, no terceiro, avaliou-se o efeito da combinação de óleos essenciais de alecrim e orégano com extrato da semente de quinoa (OEs + EQ) na redução de bactérias e remoção de ovos de helmintos em folhas de alface. As revisões integrativas seguiram as diretrizes do PRISMA, com buscas realizadas nas bases de dados PubMed, Scopus e literatura cinzenta, incluindo artigos em português, inglês ou espanhol, independentemente do desfecho. Para o experimento do terceiro capítulo, folhas de alface *in natura* e inoculadas com *E. coli*, *Salmonella* e ovos de *Toxocara canis* foram lavadas por 5 minutos com OEs + EQ, sendo comparadas a controles como hipoclorito de sódio, OEs + Tween 20, Tween 20, extrato da semente de quinoa, glicina e água potável. Os resultados mostraram que OEs + EQ reduziram mais de 2,5 logs UFC/g de aeróbios mesófilos e *E. coli*, e mais de 3 logs UFC/g de *Salmonella Typhimurium*, além de remover aproximadamente 50% dos ovos de *Toxocara canis*. A redução microbiana foi estatisticamente semelhante à obtida com hipoclorito de sódio e OEs + Tween 20, enquanto a eficácia na remoção de ovos de helmintos foi comparável aos tratamentos com Tween 20, glicina e extrato da semente de quinoa. Em adição, os resultados obtidos com OEs + EQ estão alinhados com a revisão integrativa realizada (Capítulo I), que demonstrou que os sanitizantes naturais apresentam eficácias semelhantes ao hipoclorito de sódio. Ademais, a eficácia global da glicina, evidenciada na revisão integrativa do Capítulo II, foi de 38,05%, valor inferior ao alcançado pelo extrato da semente de quinoa, que apresentou eficácia de 58,7% (Capítulo III). Conclui-se, portanto, que OEs + EQ representam uma alternativa viável para a higienização de hortaliças, destacando-se o extrato da semente de quinoa isolado como uma solução promissora para a remoção de ovos de helmintos e a redução dos riscos de contaminação parasitária.

Palavras-chave: óleos essenciais; *Origanum vulgare*; *Salvia rosmarinus*; helmintos; *Chenopodium quinoa*; saponinas.

## ABSTRACT

Chlorine-based disinfectants, widely employed in the sanitization of vegetables, form disinfection by-products, such as trihalomethanes (THMs) and haloacetic acids (HAAs), through the reaction of chlorine with organic matter in the plant matrix and in water. Epidemiological evidence associates chronic exposure to these compounds with an increased risk of cancer, especially bladder cancer and neoplasms related to the endocrine system. In view of this scenario, this study aimed to generate scientific evidence and to evaluate the efficacy of natural solutions, less aggressive to human health, in the microbial and parasitological decontamination of leafy vegetables. The thesis was organized into three chapters: (I) in the first, an integrative review was conducted on the efficacy of natural sanitizers based on extracts and essential oils in reducing *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on lettuce leaves; (II) in the second, an integrative review was conducted on the efficacy of glycine in the recovery of parasites in leafy vegetables; (III) and, in the third, the effect of combining rosemary and oregano essential oils with quinoa extract (OEs + EQ) on the reduction of bacteria and the removal of helminth eggs on lettuce leaves was evaluated. The integrative reviews followed PRISMA guidelines, with searches carried out in the PubMed and Scopus databases and the grey literature, including articles in Portuguese, English, or Spanish, regardless of outcome. For the experiment in the third chapter, lettuce leaves *in natura* and inoculated with *E. coli*, *Salmonella*, and *Toxocara canis* eggs were washed for 5 minutes with OEs + EQ, being compared with controls such as sodium hypochlorite, OEs + Tween 20, Tween 20, quinoa extract, glycine, and potable water. The results showed that OEs + EQ reduced aerobic mesophiles and *E. coli* by more than 2.5 log CFU/g, and *Salmonella Typhimurium* by more than 3 log CFU/g, in addition to removing approximately 50% of *Toxocara canis* eggs. The microbial reduction was statistically similar to that obtained with sodium hypochlorite and OEs + Tween 20, while the efficacy in the removal of helminth eggs was comparable to treatments with Tween 20, glycine, and quinoa extract. In addition, the results obtained with OEs + EQ are in line with the integrative review carried out (Chapter I), which showed that natural sanitizers present efficacies similar to sodium hypochlorite. Moreover, the overall efficacy of glycine, evidenced in the integrative review of Chapter II, was 38.05%, a value lower than that achieved by quinoa extract, which presented an efficacy of 58.7% (Chapter III). It is concluded, therefore, that OEs + EQ represent a viable alternative for the sanitization of vegetables, with isolated quinoa extract standing out as a promising solution for the removal of helminth eggs and the reduction of the risks of parasitic contamination.

Keywords: essential oils; *Origanum vulgare*; *Salvia rosmarinus*; helminths; *Chenopodium quinoa*; saponins.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE SELEÇÃO DE ARTIGOS.....	48
FIGURA 2 – COMPARAÇÃO DA REDUÇÃO MICROBIANA ENTRE DIFERENTES TRATAMENTOS COM DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL POR FAIXAS LOGARÍTMICAS.....	51
FIGURA 3 – COMPARAÇÃO DA REDUÇÃO MICROBIANA ENTRE DIFERENTES MICRORGANISMOS COM DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL POR FAIXAS LOGARÍTMICAS.....	53
FIGURA 4 – COMPARAÇÃO DA REDUÇÃO MICROBIANA ENTRE CLASSES DE SANITIZANTES (ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS VEGETAIS) COM DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL POR FAIXAS LOGARÍTMICAS.....	54
FIGURA 5 – COMPARAÇÃO DA REDUÇÃO MICROBIANA ENTRE SANITIZANTES INDIVIDUAIS COM DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL POR FAIXAS LOGARÍTMICAS.....	56
FIGURA 6 – EFICÁCIA DE SANITIZANTES NATURAIS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NA REDUÇÃO MICROBIANA (LOG UFC/G)...	57
FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE SELEÇÃO DOS ARTIGOS.....	72
FIGURA 8 – REMOÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5) POR CLASSE DE PARASITOS (PROTOZOÁRIOS VS. HELMINTOS).....	76
FIGURA 9 – RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM USO DE SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5), POR TIPO DE VEGETAL E POR CLASSE DE PARASITOS.....	78
FIGURA 10 – REMOÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5), POR FAIXAS DE CONCENTRAÇÃO DO INÓCULO.....	80
FIGURA 11 – REMOÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM USO DE SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5), POR TÉCNICA DE EXTRAÇÃO.....	82
FIGURA 12 – REMOÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM USO DE SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5), POR TÉCNICA DE DETECÇÃO/VISUALIZAÇÃO.....	84

FIGURA 13 – AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS ÍNCLUIDOS NA REVISÃO .....	85
FIGURA 14 – SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS APLICADAS EM ALFACE PARA AVALIAÇÃO DA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS E REMOÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS .....	94
FIGURA 15 – FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL DA AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DE BACTÉRIAS EM FOLHAS DE ALFACE (EXPERIMENTO MICROBIOLÓGICO) .....	99
FIGURA 16 – FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL DA AVALIAÇÃO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REMOÇÃO DE HELMINTOS EM FOLHAS DE ALFACE.....	102
FIGURA 17 – ASPECTO VISUAL DAS FOLHAS DE ALFACE APÓS DIFERENTES TRATAMENTOS COM AS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/ OU ELUENTES.....	111

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – PARASITAS DE MAIOR IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA IDENTIFICADOS PELA FAO/OMS EM PRODUTOS FRESCOS: DOENÇAS, RESERVATÓRIOS, PERÍODOS DE INCUBAÇÃO E SINTOMAS.....	22
QUADRO 2 – FREQUÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO DE HORTALIÇAS FOLHOSAS POR PARASITAS EM DIFERENTES PAÍSES .....	25
QUADRO 3 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS EM DIFERENTES ESTUDOS COMO SANITIZANTES DE ALIMENTOS.....	31
QUADRO 4 – INFORMAÇÕES E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA GLICINA .....	40
QUADRO 5 – ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	46
QUADRO 6 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS COMO SANITIZANTES EM VARIEDADES DE ALFACE .....	49
QUADRO 7 – DEFINIÇÃO DAS PALAVRAS-CHAVE A PARTIR DO ACRÔNIO SPIDER .....	68
QUADRO 8 – ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	68
QUADRO 9 – MÉTODO DE AVALIAÇÃO DO RISCO DE VÍES DOS ARTIGOS INCLUIDOS NA REVISÃO .....	70
QUADRO 10 – EFICÁCIA DA GLICINA NA RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS EM VEGETAIS FOLHOSOS.....	73
QUADRO 11 – NÍVEIS DE CONCENTRAÇÕES DE INÓCULOS UTILIZADOS COMO REFERÊNCIA PARA A ANÁLISE DOS ARTIGOS.....	79
QUADRO 12 – AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DO RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS ÍNCLUIDOS NA REVISÃO .....	85
QUADRO 13 – CONCENTRAÇÃO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES UTILIZADAS NOS EXPERIMENTOS MICROBIOLÓGICOS E PARASITOLÓGICOS.....	97

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CONTAGEM EM LÂMINAS DE OVOS DE <i>Toxocara canis</i> PARA O PREPARO DO INÓCULO .....	95
TABELA 2 – CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E DO EXTRATO DE SEMENTE DE QUINOA .....	104
TABELA 3 – EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/ OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DA FLORA NATIVA DE FOLHAS DE ALFACE.....	106
TABELA 4 – EFEITO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS NA REDUÇÃO DE <i>E. coli</i> E <i>S. typhimurium</i> CONTAMINADAS ARTIFICIALMENTE EM FOLHAS DE ALFACE .....	107
TABELA 5 – EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REMOÇÃO DE OVOS DE <i>Toxocara canis</i> EM FOLHAS DE ALFACE.....	109
TABELA 6 – PARÂMETROS CROMÁTICOS OBTIDOS NA ANÁLISE DA COR DE FOLHAS .....	110

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ATCC	- American Type Culture Collection
atm	- Pressão atmosférica
CIM	- Concentração inibitória mínima
cm	- Centímetros
DTA	- Doença transmitida por alimento
EX	- Extrato
EQ	- Extrato de quinoa
g	- Grama
h	- Hora
ISO	- International Organization for Standardization
L	- Litro
Log	- Logaritmo
M	- Concentração molar
min	- Minutos
mg	- Miligrama
mL	- Mililitro
NaClO	- Hipoclorito de sódio
NI	- Não informado
nm	- Nanômetro
OE	- Óleo essencial
OEA	- Óleo essencial de alecrim
OEO	- Óleo essencial de orégano
pI	- Ponto isoelétrico
pH	- Potencial hidrogeniônico
ppm	- Partes por milhão
QE	- Equivalente de quercetina
PR	- Paraná
spp	- Espécies
UFC	- Unidades formadoras de colônias
UFPR	- Universidade Federal do Paraná

## LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

< - Menor

X g - Força gravitacional

® - Marca registrada

µg - Micrograma

µL - Microlitro

mL - Mililitro

≅ - Aproximadamente igual

°C - Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
1.1	OBJETIVOS .....	18
1.1.1	Objetivo geral .....	18
1.1.2	Objetivos específicos .....	18
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>19</b>
2.1	DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS: CONTAMINAÇÃO POR MICROORGANISMOS E PARASITOS EM HORTALIÇAS .....	19
2.1.1	Bactérias frequentemente encontradas em Hortaliças e sua capacidade de sobrevivência .....	20
2.1.1.1	Parasitos frequentemente encontrados em hortaliças e implicações na saúde pública 21	
2.2	CONTROLE HIGIENICO-SANITÁRIO DE HORTALIÇAS NO BRASIL E FATORES A SEREM CONSIDERADOS NOS PROCESSOS DE HIGIENIZAÇÃO .	27
2.3	SANITIZANTES NATURAIS DE APLICAÇÃO EM ALIMENTOS .....	30
2.3.1	Óleos essenciais de orégano e alecrim: Propriedades farmacológicas, uso culinário e potencial antimicrobiano .....	38
2.4	SOLUÇÕES DE DISSOCIAÇÕES, ELUENTES /. E BIOSURFACTANTES	40
2.4.1	Glicina .....	40
2.4.2	Extratos ricos em saponinas e seu efeito biosurfactante. ....	41
2.4.2.1	Extrato de Quinoa .....	41
<b>CAPÍTULO I: EFEITO DOS SANITIZANTES NATURAIS NA REDUÇÃO DE <i>E. COLI</i> E <i>SALMONELLA</i> EM FOLHAS DE ALFACE</b> .....		<b>43</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>45</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>47</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>58</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>64</b>
<b>CAPÍTULO II: EFICÁCIA DO USO DA GLICINA COMO LÍQUIDO EXTRATOR EM ANÁLISE PARASITOLÓGICAS DE VEGETAIS FOLHOSOS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA</b> .....		<b>65</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>66</b>
<b>2</b>	<b>MÉTODO</b> .....	<b>67</b>

<b>3</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>72</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>86</b>
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>90</b>
	<b>CAPÍTULO III: EFÍCACIA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ALECRIM E ORÉGANO COMBINADOS COM EXTRATO DE QUINOA NA REDUÇÃO DE BACTÉRIAS E REMOÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS EM FOLHAS DE ALFACE .....</b>	<b>91</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>92</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>93</b>
2.1	OBTENÇÃO E PREPARO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS, SURFACTANTES.....	93
2.2	OBTENÇÃO E PREPARO DAS SUSPENSÕES BACTERIANAS E DE OVOS DE HELMINTOS.....	95
2.3	OBTENÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS DE FOLHAS DE ALFACE .....	96
2.4	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA .....	96
2.5	AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DE BACTÉRIAS EM FOLHAS DE ALFACE (EXPERIMENTO MICROBIOLÓGICO) .....	97
2.5.1	Avaliação do efeito de soluções antimicrobianas e/ou surfactantes na redução da flora nativa de folhas de alface.....	97
2.5.2	Avaliação do efeito das soluções antimicrobianas e/ou surfactantes na redução de <i>E. coli</i> e <i>S. typhimurium</i> contaminadas artificialmente em folhas de alface.....	100
2.6	AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REMOÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS EM FOLHAS DE ALFACE (EXPERIMENTO PARASITOLÓGICO).....	101
2.7	AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/ OU SURFACTANTES NA COLORAÇÃO DAS FOLHAS DE ALFACE .....	103
2.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	103
<b>3</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>104</b>
3.1	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM).....	104
3.2	AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DE BACTÉRIAS EM FOLHAS DE ALFACE .....	105

3.3	EFEITO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DE <i>E. COLI</i> E <i>S. TYPHIMURIUM</i> CONTAMINADAS ARTIFICIALMENTE EM FOLHAS DE ALFACE .....	107
3.4	AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REMOÇÃO DE OVOS DE <i>TOXOCARA CANIS</i> EM FOLHAS DE ALFACE .....	108
3.5	AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA COLORAÇÃO DAS FOLHAS DE ALFACE .....	110
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>111</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>115</b>
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>116</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>117</b>
	<b>ANEXO 1 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO</b> .....	<b>136</b>
	<b>ANEXO 2 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM</b> .....	<b>139</b>
	<b>ANEXO 3 – CARTA DE ACEITE DE MANUSCRITO</b> .....	<b>143</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A higienização de hortaliças deve ser uma prática recorrente uma vez que diminui o risco de contaminação por bactérias, vírus e ou parasitos (Ramos et al., 2013; Mir et al., 2018; Hajipour et al., 2021). Entretanto, é reconhecido que a higienização de hortaliças com o hipoclorito de sódio (NaClO), não é eficiente para remover ou inativar parasitos de hortaliças devido aos ovos ou oocistos serem resistentes a condições adversas e apresentarem estrutura adesiva e robusta (Aladawi et al., 2006; Papajová et al., 2008; Dold; Holland; 2014; Fldjeland et al., 2015; Amoah et al., 2018).

Em adição, tem sido reportado que as soluções cloradas, quando utilizadas de forma inadequada, podem gerar subprodutos nocivos à saúde humana, como os trihalometanos (THMs) (Meireles et al., 2016). A ingestão ou inalação desses compostos está associada ao desenvolvimento de cânceres de bexiga e colorretal (Shi et al., 2024; Helte et al., 2025). Devido a esses riscos, países como Alemanha, Bélgica, Dinamarca, Holanda e Suíça proíbem o uso de substâncias à base de cloro na lavagem de alimentos (Shen et al., 2016).

Portanto, é de extrema importância a busca por sanitizantes menos agressivos ao organismo e ao meio ambiente, e que sejam efetivos para diminuir a contaminação das hortaliças por diferentes tipos de patógenos. Um exemplo, é o desenvolvimento de um sanitizante a base de extrato de própolis e a glicina, que quando combinados possuem a capacidade de reduzir a quantidade de microrganismos indicadores e remover ovos de *Ascaris suum* (*A. suum*) de folhas de alface (Silveira, 2019). Isso é possível, uma vez que os compostos bioativos presente na própolis possui propriedades antimicrobianas e a glicina ação eluente (Féas et al., 2014; Cook et al., 2006; ISO, 2016; Matosinhos et al., 2016; Pineda et al., 2021; Silveira et al., 2023).

Entretanto, fatores a serem considerados na formulação de novos sanitizantes são custo/efetividade e a manutenção dos aspectos sensoriais do alimento. Desse modo, o uso da própolis se torna um problema para essa finalidade, devido ser oneroso e possuir gosto amargo e adstringente (Pobiega et al., 2019; Seibert et al., 2019). Além disso, a glicina quando em contato com as folhas de alface modifica a propriedades sensoriais principalmente relacionadas à aparência e a textura dos vegetais (Cook et al., 2006a). Logo, óleos essenciais e extratos

vegetais que possuem atividade antimicrobiana e/ou surfactantes podem ser potenciais substitutos ao extrato de própolis e a glicina respectivamente (Kregiel, 2017; Randazzo et al., 2017).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Sintetizar evidências científicas e avaliar a eficácia de soluções naturais, menos agressivas à saúde humana, na descontaminação microbiana e parasitológica de hortaliças folhosas.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) Realizar revisão integrativa do efeito dos sanitizantes naturais na redução de microrganismos em folhas de alface.
- b) Realizar revisão integrativa da eficácia da glicina na remoção de parasitos em vegetais folhosos.
- c) Avaliar a eficácia do óleo essencial de alecrim (*Salvia rosmarinus*) e orégano (*Origanum vulgare*) combinado a extratos de quinoa na redução de microrganismos e remoção de helmintos em folhas de alface.
- d) Avaliar a qualidade físico-química das folhas de alface após o tratamento com óleos essenciais de alecrim (*Salvia rosmarinus*) e orégano (*Origanum vulgare*) combinados a extratos da semente de quinoa.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS: CONTAMINAÇÃO POR MICRORGANISMOS E PARASITOS EM HORTALIÇAS

Hortaliças e frutas são fontes essenciais de nutrientes, minerais, vitaminas, fibras e fitoquímicos que promovem saúde e bem-estar, contribuindo para a prevenção de doenças crônicas, como as cardiovasculares, obesidade, câncer e diabetes (Balali et al., 2020; Noopur et al., 2023; Owushi e Asanga, 2024). Nos últimos anos, a produção global de frutas e vegetais frescos aumentou em 30% (Balali et al., 2020). Entretanto, esse crescimento na produção e no consumo está associado a um maior número de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), especialmente vinculadas a produtos consumidos crus, como frutas e hortaliças folhosas (Ghimire et al., 2020).

A contaminação microbiológica e parasitológica desses produtos pode ocorrer em diversas etapas da cadeia produtiva, desde o cultivo até o consumo. Fatores como o uso de água contaminada para irrigação e aplicação de defensivos agrícolas, a presença de animais nas áreas de produção, o manejo inadequado de esterco, a falta de higiene dos trabalhadores e erros no manuseio e preparo dos alimentos estão entre as principais causas (Balali et al., 2020; Mohanapriya et al., 2024).

Além disso, a crescente demanda por frutas e vegetais frescos, aliada ao aumento das importações e exportações, levou produtores de todo o mundo a priorizarem métodos de produção mais baratos e rápidos, muitas vezes em detrimento da segurança alimentar. Essa busca resultou no uso intensivo de fertilizantes, fontes alternativas de água e cultivos de alta densidade, fatores que têm contribuído significativamente para o aumento dos riscos de contaminação microbiológica e parasitológica (Balali et al., 2020; Eslahi et al., 2024; Priya et al., 2024).

Embora o aumento na notificação de surtos associados ao consumo de produtos frescos possa ser, em parte, atribuído aos avanços nos sistemas de monitoramento, a complexidade da cadeia produtiva desses alimentos ainda apresenta desafios para a produção sustentável e segura de frutas e hortaliças (Calejon et al., 2015).

### 2.1.1 Bactérias frequentemente encontradas em Hortaliças e sua capacidade de sobrevivência

Entre as principais bactérias encontradas e isoladas de produtos frescos podem ser citadas *Aeromonas* sp, *Bacillus cereus*, *Brucella* spp, *Campylobacter* spp, *Clostridium* spp, *Enterobacter* spp, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas* spp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Staphylococcus* spp, *Vibrio* spp e *Yersia* spp (Balali et al., 2020). Entre esses microrganismos, *E. coli* e *Salmonella* spp estão entre os agentes mais comumente responsáveis por surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) em humanos (WHO, 2015) e que estão associados a surtos relacionados ao consumo de vegetais contaminados (Yang et al., 2020; Corredor-García, García-Pinilla; Blanco-Lizarazo, 2021; Bolivar et al., 2023).

A *Salmonella* spp. está amplamente presente no ambiente, sendo os humanos e animais seus principais reservatórios. Este patógeno está associado a doenças como gastroenterite, febre entérica (incluindo febre tifoide) e septicemia. Globalmente, estima-se que a *Salmonella* seja responsável por 94 milhões de casos de gastroenterite e 155.000 mortes a cada ano (Yang et al., 2020). Os sintomas em humanos podem incluir diarreia, febre, dores abdominais, náuseas e vômitos, variando de leves a graves, dependendo do sorotipo da bactéria e da condição do hospedeiro (Ehuwa; Jaiswal; Jaiswal, 2021). A transmissão ocorre principalmente pela via fecal-oral, através do consumo de alimentos ou água contaminados com fezes de animais ou humanos infectados. Durante a produção, hortaliças e frutas podem ser contaminadas por água de irrigação, solo, insetos ou contato direto com animais portadores da bactéria. No preparo dos alimentos, a contaminação pode ocorrer por meio de equipamentos, superfícies ou manipuladores previamente contaminados (WHO, 2015; Ehuwa; Jaiswal; Jaiswal, 2021).

*E. coli* é uma bactéria gram-negativa e anaeróbia facultativa presente no sistema gastrointestinal de animais de sangue quente e humanos. Embora muitas cepas de *E. coli* sejam inofensivas, algumas são patogênicas e representam risco à saúde (CDC, 2014; Zhao et al., 2024). A transmissão das cepas patogênicas ocorre também pela via fecal-oral, e a dose infecciosa varia conforme o subtipo. Atualmente, são reconhecidos seis grupos patogênicos de *E. coli*: enteropatogênica

(EPEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregativa (EAEC), enterotoxigênica (ETEC) e difusamente aderente (DAEC) (CDC, 2014).

Dentre esses, o grupo enterohemorrágico (EHEC), que inclui cepas produtoras de toxina Shiga (STEC) ou verocitotoxina (VTEC), está associado a casos graves de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (WHO, 2015; Zhao et al., 2024). Ruminantes, especialmente bovinos, são os principais reservatórios dessa bactéria, podendo contaminar produtos frescos durante a produção, por meio de água contaminada com fezes de animais infectados, ou durante a manipulação, devido à contaminação cruzada. O sorotipo *E. coli* O157:H7, um dos mais prevalentes transmitidos por alimentos, é frequentemente relacionado a surtos de gastroenterite associados ao consumo de alface em países industrializados, como os da Europa e Estados Unidos (WHO, 2015; Hoff et al., 2021).

#### 2.1.1.1 Parasitos frequentemente encontrados em hortaliças e implicações na saúde pública

Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) identificaram os parasitas transmitidos por alimentos que possuem maior impacto global na saúde pública. Entre os frequentemente associados a produtos frescos, destacam-se *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*, *Ascaris* spp., *Giardia duodenalis*, *Fasciola* spp., *Cyclospora cayetanensis*, *Trichuris trichiura*, *Balantidium coli* e *Toxocara* spp (WHO, 2015). As principais características de cada um desses parasitas, incluindo as doenças que causam, seus reservatórios, períodos de incubação e sintomas, estão descritas no QUADRO 1.

QUADRO 1 – PARASITAS DE MAIOR IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA IDENTIFICADOS PELA FAO/OMS EM PRODUTOS FRESCOS: DOENÇAS, RESERVATÓRIOS, PERÍODOS DE INCUBAÇÃO E SINTOMAS

Parasito	Doença envolvida	Fonte, reservatório e epidemiologia	Período de incubação	Sintomas
<i>Fasciola</i> spp	Fasciolose	Água contaminada por ovos de fezes humanas, carneiros, bovinos ou outros herbívoros e vegetais aquáticos contaminados com cercárias.	Vários meses	Lesões em vias biliares, tosse, vômito, icterícia, rigidez abdominal, diarreia, febre irregular, eosinofilia, intoxicação sistêmica.
<i>Echinococcus granulosus</i>	Hidatidose	Cães, raposas e outros canídeos são os hospedeiros definitivos; humanos são hospedeiros acidentais ao ingerirem ovos presentes em alimentos ou água contaminados. Endêmica em áreas rurais com criação de ovinos e canídeos infectados.	Vários meses a anos	Os sintomas são variáveis e dependem da localização do cisto. Podem estar envolvidos fígado, pulmões, rins, pelve, coração, ossos ou sistema nervoso central.
<i>Echinococcus multilocularis</i>	Doença hidática alveolar		Vários meses a anos	Icterícia, ascite, esplenomegalia. Frequentemente é fatal.
<i>Cryptosporidium</i> spp	Criptosporidiose	Humanos, animais domésticos e silvestres; transmissão ocorre pela ingestão de oocistos em água ou alimentos contaminados. Comum em áreas com saneamento básico inadequado.	2 a 10 dias	Diarreia aquosa, dor abdominal, náuseas e febre; mais grave em indivíduos imunocomprometidos.
<i>Entamoeba histolytica</i>	Disenteria amebiana	Fezes humanas contendo cistos. É mais comum nos trópicos em áreas subdesenvolvidas	5 dias a várias semanas	Desconforto abdominal, diarreia, constipação, e dores de cabeça. Sangue e muco podem ser encontrados nas fezes e pode haver abscessos no fígado. A maioria das infecções é assintomática.
<i>Ascaris</i> spp	Ascariíase	Humanos e suínos são os reservatórios principais. Infecção ocorre pela ingestão de ovos em alimentos ou água contaminados. Alta prevalência em regiões com higiene inadequada	Aproximadamente dois meses	Os sintomas são vagos ou ausentes. Mas pode ocorrer distúrbios digestivos, dores abdominais, irritabilidade, presença de parasitos adultos nas fezes. Pode ocorrer envolvimento pulmonar e nas

QUADRO 1 – PARASITAS DE MAIOR IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA IDENTIFICADOS PELA FAO/OMS EM PRODUTOS FRESCOS: DOENÇAS, RESERVATÓRIOS, PERÍODOS DE INCUBAÇÃO E SINTOMAS

Parasito	Doença envolvida	Fonte, reservatório e epidemiologia	Período de incubação	Sintomas
<i>Trichuris trichiura</i>	Tricuríase	Humanos infectados e o solo, uma vez que os ovos demoram de 10 a 21 dias para se desenvolverem a terra	Longo e variável. Vários meses	infecções maciças pode ocorrer obstrução intestinal. Sem sintomas ou desconforto abdominal, anemia, edema, constipação, perda de apetite, vômito
<i>Giardia duodenalis</i>	Giardiase	Fezes humanas	Uma a seis semanas	Diarreia, fezes mucosas e gordurosas, dores abdominais, náusea, fraqueza, vômito, desidratação e febre. Pode ser assintomático.
<i>Balantidium coli</i>	Balantidiose	Fezes de suínos e homem	Poucos dias	Diarreia, sangue, pus, constipação, necrose e ulcerações.
<i>Toxocara</i> spp.	Larva migrans visceral e Larva migrans ocular	Fezes de gatos e cães	1 a 2 semanas	Na larva migrans visceral os principais sintomas são: febre, hepatomegalia, esplenomegalia, anemia, manifestações pulmonares, pneumonias, manifestações neurológicas, edema nos membros inferiores e manifestações cutâneas. Na larva migrans ocular, o quadro clínico é restrito ao olho, com diminuição da acuidade visual, hiperemia ocular e estrabismo.

FONTE: Adaptado de Riedel (2005).

Esses parasitas representam uma significativa ameaça à saúde pública devido à elevada prevalência e aos danos causados (WHO, 2015; Franssen et al., 2019). Em 2010, estimou-se que as infecções parasitárias causaram, no mundo, 91,1 milhões de casos de doenças humanas e 51.909 mortes, refletindo sua importância epidemiológica (Franssen et al., 2019). Diferentemente das bactérias, esses parasitas possuem ciclos de vida mais complexos, frequentemente envolvendo múltiplos hospedeiros intermediários, além de períodos de incubação mais longos. Essa característica dificulta o diagnóstico precoce, especialmente em casos assintomáticos ou com manifestações clínicas inespecíficas, como febre, diarreia e dores abdominais (WHO, 2014).

Além disso, muitos desses parasitas, como por exemplo *Giardia* e *Cryptosporidium* spp requerem uma dose infecciosa mínima (de 1 a 10 cistos ou oocistos) para causar a doença, o que significa que mesmo pequenas quantidades de alimentos contaminados podem ser suficientes para gerar infecções (Silva; Sabogal-Paz, 2021). A resistência dos estágios infectantes, como ovos, cistos ou oocistos, no ambiente contribui ainda mais para sua disseminação. Esses estágios podem sobreviver por longos períodos sob condições adversas, aumentando o risco de contaminação de alimentos e água e agravando o impacto dessas infecções na saúde pública (Silva; Sabogal-Paz, 2021)

Estudos realizados em diversas regiões do mundo, conforme evidenciado no QUADRO 2, mostram uma elevada prevalência de helmintos e protozoários em hortaliças folhosas. Esse dado destaca a importância de medidas preventivas robustas, como melhorias no saneamento básico, a adoção de boas práticas agrícolas e a implementação de métodos eficazes de higienização de alimentos. Essas estratégias são essenciais para reduzir os riscos de transmissão de parasitas por alimentos frescos e, conseqüentemente, proteger a saúde da população global (WHO, 2015; Silva; Sabogal-Paz, 2021).

QUADRO 2 – FREQUÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO DE HORTALIÇAS FOLHOSAS POR PARASITAS EM DIFERENTES PAÍSES

Localização	Tipo de vegetal folhoso	Parasitas encontrados	Amostras contaminadas com alguma forma parasitária (%)	Autor
Brasil	Alface e salsa	Ancilostomídeos, <i>Balantidium coli</i> , <i>Isospora belli</i> , <i>Ascaris</i> sp. e <i>Entamoeba</i> sp..	83,3	Antonino et al., 2024
Jauja (Peru)	Alface manteiga	<i>Balantidium coli</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Entamoeba dispar</i> <i>Entamoeba moshkovskii</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp..	42,5	Lucas et al., 2023
	Alface crespa	<i>Balantidium coli</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>Isospora belli</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Entamoeba dispar</i> , <i>Entamoeba moshkovskii</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp..	45	
	Alface Iceberg	<i>Isospora belli</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp..	53,3	
Tripoli (Líbano)	Rúcula	<i>Entamoeba</i> spp, <i>Ascaris</i> spp, <i>Blastocystis</i> spp, Ancilostomídeos e <i>Giardia</i> .	11,7	Safadi et al., 2023
	Alface	<i>Blastocystis</i> spp., <i>Ascaris</i> spp. e <i>Toxocara</i> spp	23,3	
Chimborazo (Equador)	Alfafa	<i>Blastocystis</i> sp, <i>Entamoeba</i> spp., <i>Endolimax nana</i> , <i>Giardia</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Eimeria</i> spp. <i>Balantidium</i> spp., <i>Ascaris</i> spp., <i>Strongylida</i> .	90,2	González-Ramirez et al., 2023
	Alface	<i>Blastocystis</i> sp., <i>Entamoeba</i> spp., <i>Entamoeba coli</i> , <i>Giardia</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Cyclospora</i> spp., <i>Eimeria</i> spp., <i>Balantidium</i> spp., <i>Strongylida</i> .	74,1	
	Acelga	<i>Blastocystis</i> sp., <i>Entamoeba</i> spp, <i>Giardia</i> spp., <i>Chilomastix</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Cystoisospora</i> spp., <i>Eimeria</i> spp. <i>Balantidium</i> spp <i>Strongylida</i>	60	
Salsinha		<i>Blastocystis</i> sp., <i>Entamoeba</i> spp., <i>Entamoeba coli</i> , <i>Endolimax nana</i> , <i>Giardia</i> spp., <i>Chilomastix</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Cyclospora</i> spp., <i>Eimeria</i> spp. <i>Balantidium</i> spp, <i>Strongylida</i> .	82,4	
	Coentro	<i>Blastocystis</i> sp, <i>Entamoeba</i> spp, <i>Endolimax nana</i> , <i>Giardia</i> spp. <i>Cryptosporidium</i> spp, <i>Cyclospora</i> spp., <i>Eimeria</i> spp. <i>Balantidium</i> spp, <i>Strongylida</i>	62	
	Salsão	<i>Blastocystis</i> sp., <i>Entamoeba</i> spp, <i>Entamoeba hartmanni</i> , <i>Giardia</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp..	78	

QUADRO 2 – FREQUÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO DE HORTALIÇAS FOLHOSAS POR PARASITAS EM DIFERENTES PAÍSES

Localização	Tipo de vegetal folhoso	Parasitas encontrados	Amostras contaminadas com alguma forma parasitária (%)	Autor
		<i>Cyclospora spp.</i> , <i>Eimeria spp.</i> , <i>Balantidium spp.</i> , <i>Ascaris spp.</i> , <i>Strongylida</i>		
	Agrião	<i>Blastocystis sp.</i> , <i>Entamoeba spp.</i> , <i>Giardia spp.</i> , <i>Cryptosporidium spp.</i> , <i>Eimeria spp.</i> , <i>Balantidium spp.</i> , <i>Strongylida</i>	66,7	
Distrito Federal (Brasil)	Alface e Agrião	<i>Entamoeba coli</i> , <i>Endolimax nana</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Balantidium</i> , <i>Enterobius vermicularis</i> , <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Taenia</i> , <i>Hymenolepis nana</i> , <i>Strongyloides sp.</i> , <i>Diphilobothrium latum</i> , <i>Hymenolepis nana</i> .	100	Araujo et al., 2022
Belém (Brasil)	Alface	<i>Endolimax nana</i> , <i>blastocystis hominis</i> , <i>Entamoena coli</i> , <i>Hokworms</i> , <i>Trichuris trichiura</i> , <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Strongyloides stercularis</i> , <i>Taenia sp.</i> ,	89	Rodrigues et al., 2020
	Coentro	<i>Endolimax nana</i> , <i>blastocystis hominis</i> , <i>Entamoena coli</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>Trichuris trichiura</i> , <i>Strongyloides stercularis</i> , <i>A. lumbricoides</i>	86	
Tarcha (Etiópia)	Alface	<i>Lumbricoides</i> , <i>Toxocara spp.</i> , <i>Hymenolepis nana</i> , <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> , <i>Giardia intestinalis</i> , <i>H. diminuta</i> , <i>Cytoisospora belli</i> ,	44,4	Bekele; Shumbel, 2019
Khartoum (Sudão)	Alface	<i>E.coli</i> , <i>G. lamblia</i>	36,4	Mohamed et al., 2016
	Agrião	<i>E.coli</i> , <i>G. lamblia</i> , <i>S. stercoralis</i> , ancilóstomo	30,4	

FONTE: A autora (2025)

## 2.2 CONTROLE HIGIENICO-SANITÁRIO DE HORTALIÇAS NO BRASIL E FATORES A SEREM CONSIDERADOS NOS PROCESSOS DE HIGIENIZAÇÃO

Para o controle higiênico-sanitário de hortaliças, a Resolução RDC nº 724 (Brasil, 2022) estabelece que as hortaliças in natura, sanitizadas, preparadas e prontas para o consumo, devem apresentar perfis microbiológicos com até  $10^2$  coliformes a  $45^\circ\text{C/g}$  e ausência de *Salmonella spp.* em 25g do alimento. Em relação aos parasitos, a Resolução RDC nº 623 (Brasil, 2022b) determina que "alimentos em geral" não devem conter "matérias estranhas indicativas de riscos à saúde humana", o que inclui helmintos e protozoários, em qualquer fase de seu desenvolvimento.

Logo, essas regulamentações e legislações relacionadas a segurança sanitária de hortaliças desempenham um papel fundamental ao tornar a higienização desses alimentos um requisito obrigatório tanto para estabelecimentos de alimentos como para a indústria alimentícia. Contudo, é nas residências que se observa o maior número de casos relatados de doenças transmissão hídrica e alimentar (DTHA) (Brasil, 2024). Portanto, torna-se crucial adotar práticas de higienização eficazes, também nos domicílios a fim de reduzir o risco de ocorrência de DTA nesses ambientes (Dixon, 2016).

Desse modo, tanto na indústria alimentícia quanto em ambientes domésticos, é aconselhável seguir um processo de limpeza somado a sanitização das hortaliças. Isso ocorre porque a etapa inicial de limpeza remove apenas cerca de metade dos ovos de helmintos e reduz o número de bactérias em 1 a 2 logs. Portanto, é fundamental recorrer, além da lavagem, outros métodos que auxiliem na redução, remoção ou inativação desses microrganismos ou parasitos (Amoah et al., 2007; Banach et al., 2017; De Medeiros et al., 2023).

Atualmente, o método de higienização mais utilizado em domicílios e indústrias alimentícias é o que emprega produtos químicos, sendo o hipoclorito de sódio o mais comum, devido sua acessibilidade econômica, facilidade de uso e rápida ação antimicrobiana (Ramos et al., 2013; Meireles et al., 2016; Mir et al., 2018). A aplicação ocorre em concentrações que variam de 100 a 250 ppm (ABNT, 2015). Entretanto, para esse produto ter eficácia, diversos fatores devem ser considerados no uso além da concentração adequada como a temperatura (Finten; Agüero; Jagus,

2017), o nível de carbono orgânico total (Banach et al., 2017) e principalmente o pH da água de lavagem (Shen et al., 2016; CHEN; Hung; 2017).

O pH ideal para soluções de lavagem com cloro deve ser mantido entre 6,0 e 7,5 (FDA, 1998). Em condições mais ácidas, pode ocorrer a liberação de gases, enquanto em ambientes mais básicos, pode haver corrosão dos vegetais. Logo, manter o pH das soluções dentro da faixa neutra ajuda a minimizar a concentração de cloro livre e as reações desse íon com a matéria orgânica presente na água, prevenindo a formação de subprodutos clorados (Shen et al., 2016; Chen; Hung, 2017).

A ingestão e a inalação de subprodutos da cloração, como trialometanos (THMs) e ácidos haloacéticos (HAAs), têm sido associadas ao desenvolvimento de cânceres de bexiga e colorretal (Shi et al., 2024; Helte et al., 2025). A legislação da União Europeia e dos Estados Unidos estabelece limites máximos de 100 e 80  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, para a concentração de trialometanos na água utilizada para a fabricação de alimentos prontos para consumo. Em avaliação realizada com vegetais prontos para o consumo lavados com água clorada, foram identificadas concentrações médias de 76,7  $\text{ng g}^{-1}$  de THMs, com predominância de clorofórmio (Coroneo et al., 2017). Em adultos em Taiwan, estimou-se que a exposição diária por meio da ingestão desses produtos alcança 28,53  $\mu\text{g}$  para THMs e 77,83  $\mu\text{g}$  para HAAs, evidenciando um potencial risco à saúde (Lin; Tsai, 2022). Diante desses dados, o uso de alternativas não cloradas para higienização de alimentos deve ser incentivado.

Entretanto, antes das etapas de lavagem e sanitização dos vegetais, outros fatores influenciam o resultado da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos. Entre esses fatores, destacam-se as características da superfície e o tipo de cultivo (convencional, hidropônico ou orgânico), além do microrganismo ou parasita alvo da descontaminação (Deering et al., 2012; Neto et al., 2012; SAID, 2012; Bermúdez-Aguirre; Barbosa-Cánovas, 2013).

Hortalças folhosas, por exemplo, em comparação com outros vegetais e legumes apresentam menor redução e remoção de bactérias e parasitos após a higienização, devido apresentarem superfície irregular, porosa e rugosa que facilitam o deslocamento e a ligação desses organismos para esses sítios dificultando a ação da lavagem e dos produtos sanitizantes (Said, 2012; Bermúdez-Aguirre; Barbosa-Cánovas, 2013; Banach et al., 2017). Além disso, cepas de *Escherichia coli*

O157:H7 e *Salmonella typhimurium*, assim como oocistos de *Cryptosporidium* podem invadir ou ficar retidos no estômato de vegetais folhosos, como de rúculas, alfaces, e espinafres impedindo a ação do sanitizante sobre esses patógenos ou a remoção mecânica dos mesmos após os processos de higienização (Macasarín; Bauchan; Fayer, 2010; Golberg et al., 2011; Deering et al., 2012).

A eficácia do saneante em relação aos microrganismos também depende da característica da ligação existente entre as bactérias e a superfície do alimento, que pode ser fraca ou forte. A primeira ocorre em segundos após a contaminação, e são consideradas reversíveis. Porém, após longos períodos realizam-se ligações mais fortes em consequências de reações covalentes ou hidrofóbicas, que dificultam a remoção das cepas bacterianas pelos sanitizantes (Banach et al., 2017).

Da mesma forma, o meio de cultivo dos produtos frescos interfere no resultado da higienização, isso porque vegetais de sistema orgânico, e convencional possuem, após a colheita, maior contaminação por microrganismos em comparação aos produtos hidropônicos devido à utilização de esterco contendo fezes de animais contaminadas e pelo maior contato com o solo. Como resultado, hortaliças que apresentam maior carga bacteriana e parasitária após a colheita, conseqüentemente terão um maior número de microrganismos presentes após os procedimentos de higienização (Neto et al., 2012). Em adição, a relação hortaliça/ solução sanitizante (p/v) deve permitir uma adequada submersão das hortaliças. Usualmente recomenda-se a lavagem de hortaliças na proporção 1:10 (hortaliça/ solução sanitizante), entretanto a proporção de 1:20 demonstrou ser mais favorável para a lavagem de folhosos (Ssemanda et al., 2018).

Além disso, alguns patógenos apresentam diferentes níveis de resistência aos antimicrobianos. Sorotipos de *Salmonella* demonstram alta resistência a condições adversas, como variações de temperatura e ambientes ácidos, o que dificulta os processos de desinfecção e aumenta o risco de persistência da bactéria nas cadeias de produção e consumo (Elias et al., 2019). Da mesma forma, ovos de parasitos como o de *Ascaris* spp, podem permanecer viáveis por longos períodos e fixos a matriz vegetal mesmo após a higienização devido apresentarem estrutura adesiva e robusta que impedem a ação dos sanitizantes (Adenusi, Abimbola e Adewoga, 2015; Fallah; Makhtuml; Pirali-Kheirabadi, 2016; Caradonna et al., 2017; Gerard et al., 2019).

Logo, todos os fatores anteriormente mencionados devem ser considerados para que novos métodos e ou soluções higienizantes sejam mais eficientes e menos agressivas ao meio ambiente e a saúde humana.

### 2.3 SANITIZANTES NATURAIS DE APLICAÇÃO EM ALIMENTOS

Compostos bioativos provenientes de produtos naturais, como extratos de vegetais e óleos essenciais (OE), vêm ganhando a atenção de consumidores e pesquisadores e indústrias alimentícias, principalmente porque oferecem atividade antimicrobiana para diferentes tipos de patógenos e por serem substâncias Geralmente Reconhecidas como Seguras (GRAS) (Athayde et al., 2016; Randazzo et al., 2017; FDA, 2018; Ju et al., 2019; Lima; Souza, 2020).

Alguns produtos naturais já testados para a higienização de hortaliças folhosas incluem extratos de chá verde, frutas noni secas, sementes de açafreão-javanês, pele e casca de amendoim, casca de nozes, sementes de toranja e tamarindo; óleos essenciais de tomilho, cominho preto, sálvia, alecrim, folhas de louro, orégano, canela, hortelã, melissa e capim-limão; além de sucos/molhos de limão, romã e cranberry, conforme descrito no QUADRO 3.

QUADRO 3 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS EM DIFERENTES ESTUDOS COMO SANITIZANTES DE ALIMENTOS

Produto natural	Informações sobre o sanitizante natural				Tempo (min)	Microorganismos avaliados	Alimento utilizado nos estudos	Método utilizado para higienizar os alimentos	Conclusão do estudo	Autor
	Família botânica	Tipo	Concentração (ppm)							
Folhas de murta	Myrtaceae	OE	100, 500 e 750		5, 10, 15 e 20	<i>Salmonella Typhimurium</i> (cepa resistente ao ácido nalidixico)	Alface iceberg	Imersão	O OE de folhas de murta pode ser utilizada como alternativa ao uso de cloro, em frutas e vegetais	Gunduz; Gonul; Karapinar, 2009
Orégano	Lamiaceae	OE	25, 40 e 75		5, 10, 15 e 20	<i>S. Typhimurium</i>	Alface iceberg e alface romana	Imersão	As reduções de <i>S. typhimurium</i> pelo OE de orégano não excederam 1,92 log. Em adição, os resultados sugerem que o OE de orégano pode ser utilizado como alternativa ao cloro para a higienização de alface.	Gunduz; Gonul; Karapinar, 2010
Cravo-da-índia, malaleuca e alecrim	Myrtaceae (cravo-da-índia e malaleuca) e <i>Lamiaceae</i> (alecrim)	OE	250, 500 e 600		3	Bactérias mesófilas e psicrotróficas, bolores e leveduras e bactérias ácido lácticas	Alface romana	Spray, cápsula e imersão	Os OE de cravo da Índia, malaleuca, e alecrim podem controlar o crescimento de diferentes microrganismos em folhas de alface.	Ponce; Roura; Moreira, 2011
Manjerição e	Lamiaceae	OE	10, 32 e 80		10 e 15	<i>S. Typhimurium</i> e	Alface e	NI	<i>S. typhimurium</i>	Karagözi;

QUADRO 3 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS EM DIFERENTES ESTUDOS COMO SANITIZANTES DE ALIMENTOS

Produto natural	Informações sobre o sanitizante natural				Microorganismos avaliados	Alimento utilizado nos estudos	Método utilizado para higienizar os alimentos	Conclusão do estudo	Autor
	Família botânica	Tipo	Concentração (ppm)	Tempo (min)					
hortelã					<i>E. coli</i> O157: H7	beldroegas		<i>demonstrou ser mais resistente ao OE de manjerição em amostras de alface quando comparada à sua resistência ao OE de manjerição em amostras de beldroegas, enquanto E. coli</i> O157: H7 foi mais resistente ao óleo de menta em amostras de beldroegas quando comparada à sua resistência ao óleo de menta em amostras de alface.	Ergönül e Özcan, 2011
Capim-limão	Poaceae ( <i>Graminea</i> )	OE	1000, 3000 e 5000	1 e 2	<i>S. enterica</i> (cepa multirresistente a drogas)	Alface americana e espinafre maduro	Imersão	O OE apresentou potencial para ser utilizado na descontaminação de <i>S. enterica</i> de verduras orgânicas, sendo que as maiores reduções	Moore-Neibel et al., 2012

QUADRO 3 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS EM DIFERENTES ESTUDOS COMO SANITIZANTES DE ALIMENTOS

Produto natural	Informações sobre o sanitizante natural				Microorganismos avaliados	Alimento utilizado nos estudos	Método utilizado para higienizar os alimentos	Conclusão do estudo	Autor
	Família botânica	Tipo	Concentração (ppm)	Tempo (min)					
Malaleuca e cravo-da-índia	Myrtaceae	OE	1500 a 2700	NI	Contagem de bactérias mesófilas e psicrotróficas, contagem de coliformes totais e contagem total de fungos e leveduras	Alface	Spray	logarítmicas foram observadas na alface americana seguida por espinafre bebê, espinafre maduro e alface romana. Os OE de malaleuca reduziram a contagem microbiana em 2 log após a colheita. Entretanto, a aplicação de cravo-da-índia não reduziu significativamente a contagem microbiana após a colheita.	Goñi et al., 2013
Orégano, tomilho e Cravo	Lamiaceae (cravo e tomilho) e Myrtaceae (cravo)	OE	10.000 e 50.000 para cravo e orégano, 30.000, 50.000 e 10.000 para tomilho	NI	<i>E. coli</i> O157: H7, contagem total de bactérias mesófilas e psicrotróficas, contagem de coliformes totais e contagem de bolores e leveduras <i>S. enterica</i>	Alface (verde e vermelha), rúcula e espinafre	Spray	Os OE foram efetivos na redução de bactérias em folhas bebê de alface	Azizkhani et al., 2013
Canela	Lauraceae	OE	1000, 3000 e	1 e 2		Alface	NI	O OE de canela	Todd et al.,

QUADRO 3 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS EM DIFERENTES ESTUDOS COMO SANITIZANTES DE ALIMENTOS

Produto natural	Informações sobre o sanitizante natural				Microorganismos avaliados	Alimento utilizado nos estudos	Método utilizado para higienizar os alimentos	Conclusão do estudo	Autor
	Família botânica	Tipo	Concentração (ppm)	Tempo (min)					
			5000			romana, alface americana e espinafre		foi eficaz contra <i>S. enterica</i> em folhosos verdes	2013
Orégano	Lamiaceae	OE	500 e 1000	1	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. typhimurium</i> e <i>E. coli</i> O157: H7	Mistura de alface romana e alface americana	Imersão	Os OE isolados ou combinados reduziram a contagem de microrganismos inoculados artificialmente e da flora nativa dos vegetais folhosos	Bhargava et al., 2015
Tomilho	Lamiaceae	OE	250	NI	<i>Salmonella enteritidis</i> E5 e <i>E. coli</i>	Alface cordeiro	NI	O mostraram maior proteção antibacteriana e aceitação de odores em comparação com tratamentos individuais	Siroli et al., 2015
Semente de uva	Vitaceae	EX	1000	5	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>Listeria monocytogenes</i> , aeróbios mesófilos, coliformes, bolores e leveduras	Mix de folhas de beterraba vermelha, folhas de amaranço e folhas de rabanete vermelho	Imersão	O extrato de uva reduziu aproximadamente 1 log dos microrganismos testados. Recomenda-se seu uso para higienização somente quando	Lee et al., 2016

QUADRO 3 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS EM DIFERENTES ESTUDOS COMO SANITIZANTES DE ALIMENTOS

Produto natural	Informações sobre o sanitizante natural				Microorganismos avaliados	Alimento utilizado nos estudos	Método utilizado para higienizar os alimentos	Conclusão do estudo	Autor
	Família botânica	Tipo	Concentração (ppm)	Tempo (min)					
Orégano e alecrim, de forma isolada e combinada	Lamiaceae (orégano) e Lamiaceae (alecrim)	OE	600 para orégano, 10.000 para alecrim, 5300 e 2800 para orégano e alecrim	5 e 10	<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> <i>Enteritidis</i> , contagem de bactérias mesófilas e psicotróficas, contagem de coliformes totais e contagem de bolores e leveduras	Mistura de alface americana e acelga	Imersão	combinado com sobrenadantes livres de células de bactérias ácido lácticas. A aplicação de nanoemulsões de OE foram eficazes no controle das bactérias.	Barbosa et al., 2016
Canela e limão	Lauraceae (canela) e Rutaceae (limão)	OE	20.000 para canela e 10.000 para limão	5	<i>L. monocytogenes</i> , bolores e leveduras	Mistura de alface, salsa e endro	Imersão	As lavagens com OE de limão e canela demonstraram inibição parcial contra <i>Listeria</i> no período de 1 dia.	Ozcan; Zorba, 2016
Chá verde	Theaceae	EX	500 ou 10000mg/ml	15 e 30	Hepatite A e norovirus murino	Alface	NI	O EX de chá verde pode ser utilizado como sanitizante de alimentos e como desinfetantes de superfícies de contato com os alimentos.	Randazzo et al., 2017

QUADRO 3 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS EM DIFERENTES ESTUDOS COMO SANITIZANTES DE ALIMENTOS

Produto natural	Informações sobre o sanitizante natural				Microorganismos avaliados	Alimento utilizado nos estudos	Método utilizado para higienizar os alimentos	Conclusão do estudo	Autor
	Família botânica	Tipo	Concentração (ppm)	Tempo (min)					
Capim-limão e cebola, de forma isolada e combinada	Poaceae/ Gramínea (Capim-limão) e Amaryllidaceae (cebola)	OE	2210 para limão e 5130 para cebola	2	<i>L. monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E. coli</i> O157: H7 e <i>Salmonella choleraesuis</i>	Espinafre e alface romana	Imersão	Os OEs combinados mostraram maior ação antibacteriana e melhor aceitação sensorial em comparação com os tratamentos individuais	Ortega-Ramirez et al., 2017
Folha e casca de canela	Lauraceae	OE	125, 625 e 2500	3	<i>E. coli</i> O157: H7 e <i>S. Typhimurium</i>	Manjeriço	Imersão	Nanoemulsões de OE de casca e folhas de canela podem garantir a segurança microbiológica dos de vegetais minimamente processados e podem ser utilizados como alternativa as soluções cloradas.	Park; Kang; Song, 2018
Folha de canela, casca de canela e orégano	Lauraceae (canela) e Lamiaceae (orégano)	OE	200	3	<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> O157: H7, <i>S. Typhimurium</i>	Mostarda vermelha	Imersão	Nanoemulsões dos OE podem ser uma alternativa ao sanitizantes clorados, como o NaClO.	Kang; Song, 2018
<i>Cyclopia</i>	Fabaceae	EX	6000	3	<i>L. monocytogenes</i> ,	Acelga	Imersão	O extrato de	Kang; Song,

QUADRO 3 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS EM DIFERENTES ESTUDOS COMO SANITIZANTES DE ALIMENTOS

Produto natural	Informações sobre o sanitizante natural			Microorganismos avaliados	Alimento utilizado nos estudos	Método utilizado para higienizar os alimentos	Conclusão do estudo	Autor
	Família botânica	Tipo	Concentração (ppm)					
<i>intermedia</i> (parte utilizada não foi informada)					suiça		<i>Cyclopi</i> <i>intermedia</i> (6 mg/mL) demonstrou reduzir 2,31–2,67 logs de <i>L. monocytogenes</i> e <i>E. coli</i> , sugerindo sua eficácia como agente de lavagem alternativo ao NaClO.	2021

FONTE: Modificado de Siveira (2019) e Lima e Souza (2020).

LEGENDA: EX = extrato; OE = óleo essencial; NI = não informado.

Segundo a literatura, a atividade antimicrobiana dos sanitizantes naturais é proveniente da ação sinérgica entre os diferentes compostos bioativos presentes nos óleos essenciais e extratos, que possuem a capacidade de alterar a permeabilidade da membrana e penetrar nas células, alterando diferentes funções celulares (Moore-Neibel et al., 2012; Lima; Souza, 2020).

Uma revisão sistemática demonstrou que óleos essenciais, utilizados como sanitizantes naturais, promoveram redução média de  $1,48 \pm 1,21$  log UFC/g em microrganismos presentes em vegetais folhosos. Além disso, verificou-se que esses compostos foram eficazes tanto na redução de microrganismos inoculados artificialmente quanto na microbiota natural dos alimentos (Lima; Souza, 2020). Contudo, as reduções obtidas para a microbiota natural foram, em geral, inferiores às observadas nos ensaios com inoculação artificial, independentemente do tipo de vegetal folhoso ou do método de sanitização empregado (Lima; Souza, 2020).

### 2.3.1 Óleos essenciais de orégano e alecrim: Propriedades farmacológicas, uso culinário e potencial antimicrobiano

Os óleos essenciais são compostos complexos presentes em plantas aromáticas, formados por hidrocarbonetos e derivados oxigenados, e contêm uma variedade de substâncias químicas, como ésteres, fenóis, aldeídos e álcoois (Leyva-López et al., 2017). As plantas sintetizam esses compostos para se protegerem de pragas e microrganismos, para atrair seres ou em processos de sinalização. Geralmente, esses óleos são obtidos por técnicas como destilação a vapor ou prensagem a frio. Eles podem ser extraídos de diferentes partes das plantas, incluindo folhas, cascas, flores, frutos e sementes. Os óleos essenciais são amplamente utilizados pelas propriedades terapêuticas e pelo grande papel na culinária mundial (Pizzo et al., 2023).

Entre as plantas cujos óleos essenciais apresentam propriedades antimicrobianas e culinárias, destacam-se o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e o orégano (*Origanum vulgare*) (Nieto; Ros; Castillo, 2018). O alecrim é uma planta aromática e arbustiva, nativa da região do Mediterrâneo, que pode atingir até 2 metros de altura. Suas folhas, finas e alongadas, de coloração verde-acinzentada, possuem um sabor amargo e adstringente (Borges et al., 2019; Oliveira; Camargo; Oliveira, 2019).

Amplamente valorizado na medicina tradicional, o alecrim é reconhecido pelas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antidiabéticas, neuroprotetoras e anticancerígenas (Jiang et al., 2011; Borges et al., 2019; Eid et al., 2022). O óleo essencial extraído do alecrim contém monoterpenos como 1,8-cineol, cânfora,  $\alpha$ -pineno, limoneno,  $\alpha$ -terpineol, eucaliptol, borneol e canfeno (Jiang et al., 2011; Borges et al., 2019).

De forma similar, o orégano, também originário da região do Mediterrâneo, é uma planta herbácea perene cultivada mundialmente. Com altura variando de 20 a 90 cm, caracteriza-se por folhas pequenas e de cor verde-escura, que exalam um aroma forte e característico (Skoufogianni; Solomou; Danalatos, 2019). O orégano é essencial na culinária, especialmente em pratos mediterrâneos, sendo utilizado como tempero para molhos, carnes e vegetais. Além de seu uso culinário, o orégano é conhecido por conter compostos que atuam como agentes antioxidantes, antidiabéticos, anti-inflamatórios e supressores de câncer (Leyva-López et al., 2017). Alguns dos principais componentes extraídos do óleo essencial de orégano são o carvacrol e o timol (Skoufogianni; Solomou; Danalatos, 2019; Pizzo et al., 2023).

Além disso, estudos demonstram que os óleos essenciais de alecrim e orégano possuem atividade antimicrobiana contra patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris* e *Pseudomonas aeruginosa*. Muitos desses microrganismos estão associados a doenças transmitidas por alimentos (Jiang et al., 2011; Eid et al., 2022; Yang, Goksen e Zhang, 2023).

Logo, esses fatores tornam os óleos essenciais de alecrim e orégano uma opção natural e eficaz para serem utilizados como conservantes e ou sanitizantes na indústria alimentícia (Tornuk et al., 2011; Pizzo et al., 2023). No entanto, quando se trata de patógenos que demonstram resistência aos compostos antimicrobianos, como os ovos de parasitas, a utilização de eluentes como a glicina ou de extratos ricos em saponinas com propriedades surfactantes parece ser a abordagem mais promissora (Cook et al., 2006a; Cook et al., 2006b; Matosinhos et al., 2016; Kregiel et al., 2017; Pineda et al., 2021).

## 2.4 SOLUÇÕES DE DISSOCIAÇÕES, ELUENTES / . E BIOSURFACTANTES

### 2.4.1 Glicina

A glicina, também conhecida como ácido aminoacético, representa o aminoácido mais simples dentre todos, constituindo aproximadamente 7,2% das proteínas presentes no organismo humano, sendo superada apenas pela alanina, que compõe cerca de 7,8% (Nelson; Cox, 2006).

Para o funcionamento do corpo humano, a glicina é categorizada como um aminoácido não essencial, podendo ser sintetizada a partir de precursores como serina, treonina, colina e pela transaminação do glioxilato. Além disso, desempenha funções cruciais como neurotransmissor inibitório, sendo vital para a síntese de proteínas e a formação de ácidos biliares (Kohlmeier, 2003). Além disso, quando presente em níveis adequados, a glicina oferece citoproteção ao prevenir a necrose celular (Weinberg; Bienholz; Venkatachalam, 2016)

No que se refere às suas características físicas e sensoriais, a glicina possui um sabor adocicado, é inodora e, em condições normais de temperatura e pressão (25°C e 1 atm), apresenta-se como um pó de coloração branca. Além disso, embora apresente um grupo R apolar, este aminoácido demonstra comportamento globalmente polar, o que explica sua baixa solubilidade em solventes orgânicos como etanol e éter etílico, e sua elevada solubilidade em água, conforme demonstrado no QUADRO 4 (Nelson; Cox, 2006; Mehta et al., 2017).

QUADRO 4 – INFORMAÇÕES E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA GLICINA

<b>Estado físico</b>	Sólido (25° e 1 atm.)
<b>Cor</b>	Branca (25° e 1 atm.)
<b>Odor</b>	Inodoro
<b>Massa molecular</b>	75,07 g/mol
<b>Densidade relativa</b>	1.595g/cm <sup>3</sup>
<b>Solubilidade em água</b>	225g/L em 20°C
<b>Ponto de fusão</b>	225g/L em 20°C
<b>pH</b>	5,9 - 6,4 em 50g/L 25°C
<b>Ponto isoelétrico (pI)</b>	6,06
<b>Toxicidade aguda LD50 (oral, rato)</b>	7.930 mg/kg

FONTE: Modificada de Nelson; Cox (2006) e Silveira (2019).

No que diz respeito às aplicações tecnológicas, a glicina apresenta diversas utilidades, como por exemplo conservante de alimentos, ingrediente para a

formulação de medicamento anti-helmíntico e solução de dissociação em análises parasitológicas (Novaes; Araujo, 1998; Cook et al., 2006; Pineda et al., 2021).

No contexto do emprego direto da glicina na composição de alimentos, sua utilização é condicionada à submissão de uma petição, por parte do produtor, que comprove a ausência de toxicidade e a segurança do consumo alimentar, em conformidade com as diretrizes estabelecidas pela FDA (Food and Drug Administration, agência reguladora dos Estados Unidos responsável pelo controle de alimentos e medicamentos) em 1971.

Na esfera da análise parasitológica, a glicina emerge como um solvente de escolha, demonstrando superior eficácia na recuperação/ remoção de ovos de parasitos em comparação a outras soluções empregadas, como evidenciado por Cook et al. (2006) e Matosinhos et al. (2016). Por exemplo, após a inoculação de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em folhas de alface, a utilização deste aminoácido a uma concentração de 1M com pH ajustado a 5,5 resultou na recuperação de aproximadamente  $85,4\% \pm 14,0$  dos oocistos (Cook et al., 2006).

Além disso, Matosinhos et al. (2016) e Silveira et al. (2023), ao utilizarem solução de glicina nas mesmas condições (1M, pH 5,5) e para a mesma hortaliça, relataram taxas de recuperação de ovos de *Ascaris suum* de 62,6% ( $\pm 20,2$ ) e 41,9%, respectivamente. Por fim, Pineda et al. (2021), em análises interlaboratoriais, demonstrou que o método de recuperação que emprega glicina como solução de dissociação (1M, pH 5,5) apresentou uma taxa média final de recuperação de 57,1% para ovos de *Ascaris* sp. em folhas de alface e 50,7% em folhas de rúcula.

A remoção de patógenos utilizando solução de glicina (1M, pH 5,5) e soluções surfactantes ocorre devido à redução da tensão superficial da solução aquosa, além da diminuição da carga presente na superfície dos microrganismos (Hsu; Huang, 2002).

## 2.4.2 Extratos ricos em saponinas e seu efeito biosurfactante.

### 2.4.2.1 Extrato de Quinoa

A quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) é uma planta anual nativa dos Andes, na América do Sul, cultivada há milhares de anos em países como Bolívia, Peru e Equador (Hazzam et al., 2020). Reconhecida também como um pseudocereal, uma

vez que suas sementes são usadas como grão de cereais, a quinoa é amplamente consumida em diversas preparações culinárias, como substitutos de cereais, saladas, massas, pães, bolos, farinhas, cervejas e rações para animais, devido ao seu alto valor nutricional e versatilidade (Zhu et al., 2002; Kuljanabhagavad; Wink, 2009).

As sementes de quinoa possuem alto teor de proteínas (12 a 15%) de excelente qualidade, fibras, lipídios, vitaminas e minerais, ômega-6, vitamina E e ácidos graxos como linoleico, oleico e palmítico, além de compostos bioativos como polifenóis, fitoesteróis e flavonoides (Zhu et al., 2002; kuljanabhagavad; Wink, 2009; Hazzan et al., 2020). Esses compostos conferem à planta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e até antidiabéticas, tornando-a uma aliada na prevenção e no tratamento de doenças crônicas. O consumo regular de quinoa está associado à redução de inflamações e ao controle de fatores de risco metabólicos, como obesidade e dislipidemia (Zhu et al., 2002).

Ainda nas camadas externas das sementes e nos extratos de semente de quinoa são encontradas um dos compostos mais característicos dela, a saponina. Além de serem responsáveis pelo sabor amargo da quinoa apresentam múltiplas propriedades farmacológicas, como atividades antifúngica, antiviral, antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora, citotóxicas e antitumoral. Entretanto, as saponinas, em altas concentrações, podem ser consideradas tóxicas e atuar como fator antinutricional, pois podem interferir na absorção de alguns minerais e vitaminas (Kuljanabhagavad; Wink, 2009; Hazzan et al., 2020).

Até o momento, mais de 40 saponinas já foram encontradas e caracterizadas a partir de sementes de quinoa, sendo as saponinas triterpênicas as mais comuns (Hazzan et al., 2020). A estrutura anfifílica das saponinas, composta de agliconas hidrofóbicas e resíduos de açúcar hidrofílicos, confere a elas propriedades surfactantes, ou seja, a capacidade de reduzir a tensão superficial entre líquidos ou entre líquidos e sólidos. Isso faz com que as saponinas sejam amplamente utilizadas na indústria cosmética, na produção de detergentes e como emulsificantes em diferentes formulações (Hazzan et al., 2020; Bustos et al., 2024).

**CAPÍTULO I: EFEITO DOS SANITIZANTES NATURAIS NA REDUÇÃO  
DE *E. coli* E *Salmonella* EM FOLHAS DE ALFACE**

## 1 INTRODUÇÃO

No contexto da alimentação cotidiana, é fundamental considerar a qualidade dos alimentos consumidos. Uma dieta saudável deve ser composta por vitaminas, minerais, fibras e compostos bioativos, tendo as hortaliças e frutas como uma das principais fornecedoras desses nutrientes. É recomendável, para adultos, a ingestão de um mínimo de 400g ou 5 porções por dia desses alimentos (WHO, 2020). Entretanto, se esses não dispõem de qualidade higiênico-sanitária satisfatória podem oferecer riscos biológicos à saúde como o desenvolvimento de doenças transmitidas por alimentos (Ramos et al., 2013; Mogren et al., 2018).

Desse modo, a higienização de produtos hortifrutícolas é de grande importância, principalmente para aqueles que são consumidos crus e/ou apenas minimamente processados, como é o caso das hortaliças folhosas (Lima; Souza, 2020). A prática da higienização nesses vegetais, é de extrema importância uma vez que além de promover a redução da flora nativa e de microrganismos deteriorantes também auxilia na descontaminação de bactérias patogênicas (Mogren et al., 2018; Lima; Souza, 2020).

Usualmente nos domicílios e nas indústrias de hortifrutícolas, utiliza-se as soluções coloradas, entre elas o hipoclorito de sódio (100 a 250 ppm) para higienizar vegetais folhosos devido ao custo baixo, fácil uso, boa eficácia e baixo impacto na qualidade final do produto (Allende et al., 2008; Fan; Sokorai, 2015). No entanto, há evidências de que a interação entre o cloro e a matéria orgânica presente nos alimentos ou na água pode originar subprodutos de desinfecção, como trihalometanos, cloraminas e ácidos haloacéticos. Esses compostos são considerados cancerígenos, logo são prejudiciais para humanos e o meio ambiente. Dessa forma, alguns países europeus proibiram o uso do cloro para descontaminar vegetais, como Alemanha, Suíça, Holanda, Dinamarca e Bélgica, e ou limitaram seu uso a 100 mg/L HOCl (pH 6,5, 1 min) como é o caso da Espanha (Fan; Sokorai, 2015; Loan et al., 2016).

Assim, nos últimos anos, a busca por agentes antimicrobianos naturais e menos prejudiciais ao meio ambiente, como substitutos dos sanitizantes à base de cloro, tem recebido crescente interesse. Entre esses agentes antimicrobianos estão os provenientes de óleos essenciais (Lima; Souza, 2020) e extratos vegetais (Kim et al., 2011; Lee et al., 2021; Wong, et al., 2021; Kang; Song, 2021). Esses produtos

naturais, possuem compostos bioativos concentrados, como flavonoides e óleos essenciais, que atuam de maneira sinérgica e têm a capacidade de inibir, inativar e impedir o crescimento e a adesão de microrganismos nos alimentos (Zamuz et al., 2021; Yu, 2021).

Portanto, considerando que *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* O157:H7 estão entre os principais agentes de surtos alimentares associados ao consumo de produtos frescos em todo o mundo (Thomas et al., 2024), e que a alface (*Lactuca sativa*) figura entre as hortaliças folhosas de maior cultivo e consumo global, representando uma cultura de elevada importância socioeconômica (Medina-Lozano et al., 2021; Qin et al., 2025), este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de sanitizantes naturais na redução de *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* spp. em folhas de alface, visando oferecer alternativas seguras e sustentáveis para o processamento pós-colheita.

## 2 METODOLOGIA

Para realizar esta revisão integrativa, foram analisados estudos que investigaram o efeito de sanitizantes naturais, elaborados a partir de extratos vegetais, na redução de *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* spp em variedades de alface (*Lactuca sativa*). Os estudos foram incluídos independentemente do desfecho avaliado, desde que apresentassem as seguintes informações: nome dos produtos naturais utilizados para elaborar os sanitizantes, concentração e tempo de ação do sanitizante natural, modo de inoculação dos microrganismos (na superfície das folhas ou por imersão, método de higienização e dados sobre a redução microbiana em escala logarítmica.

Como critérios de inclusão, foram considerados artigos publicados até abril de 2025, nos idiomas inglês, espanhol ou português. Foram excluídos da revisão os estudos que não apresentaram os dados de contagem microbiana em log UFC/g, utilizaram hortaliças diferentes da espécie *Lactuca sativa* nos experimentos de higienização, empregaram extratos vegetais em combinação com outras substâncias ou associaram o uso a métodos não químicos de sanitização, analisaram microrganismos distintos de *E coli* O157:H7 ou *Salmonella* spp., não utilizaram o método de sanitização por imersão, ou seja, não submergiram as folhas de alface na

solução antimicrobiana, e/ ou não realizaram a inoculação dos patógenos por meio da aplicação de gotículas sobre a superfície das folhas.

As buscas foram realizadas nas bases Pubmed, Sciencedirect, Scielo e EBSCO. A estratégia de busca está descrita no QUADRO 5.

QUADRO 5 – ESTRATÉGIA DE BUSCA

Base de dado	Estratégia de busca	Campos pesquisado
Pubmed	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND (decontamination OR "antimicrobial activities" OR inactivation OR reduction OR "antibacterial effect" OR sanitization) AND (extract OR oil)	Todos os índices
Sciencedirect	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND (decontamination) AND (extract OR oil)	Título, resumo e palavras-chave
	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND ("antimicrobial activities") AND (extract OR oil)	
	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND (inactivation) AND (extract OR oil)	
	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND (reduction) AND (extract OR oil)	
	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND ("antibacterial effect") AND (extract OR oil)	
	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND (sanitization) AND (extract OR oil)	
Scielo	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND (decontamination OR "antimicrobial activities" OR inactivation OR reduction OR "antibacterial effect" OR sanitization) AND (extract OR oil)	Todos os índices
EBSCO	(lettuce OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR " <i>L. sativa</i> ") AND (" <i>Escherichia coli</i> " OR <i>Salmonella</i> ) AND (decontamination OR "antimicrobial activities" OR inactivation OR reduction OR "antibacterial effect" OR sanitization) AND (extract OR oil)	Todos os índices

Fonte: A autora (2025).

Após a primeira triagem, foram excluídos os artigos duplicados, pelo título. Em seguida, foi feita a leitura dos títulos e resumos com a intenção de selecionar os estudos para serem lidos na íntegra. Também foram avaliadas as referências dos artigos selecionados, com o objetivo de incluir novos estudos na revisão.

Para a análise estatística, inicialmente, a normalidade e a homogeneidade das amostras foram avaliadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene (ou teste F), respectivamente. Para a comparação entre os grupos de sanitizantes naturais, controle negativo (água ou água destilada) e controle positivo (cloro ou hipoclorito de sódio), foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de

Dunn com correção de Bonferroni, quando identificadas diferenças significativas. Esse mesmo procedimento foi utilizado para analisar diferentes tipos de sanitizantes e as respectivas concentrações.

As comparações entre as classes de compostos naturais (óleos essenciais e extratos vegetais) e entre os microrganismos alvos (*E. coli* O157:H7 e *Salmonella* spp.) foram realizadas com o teste de Mann-Whitney.

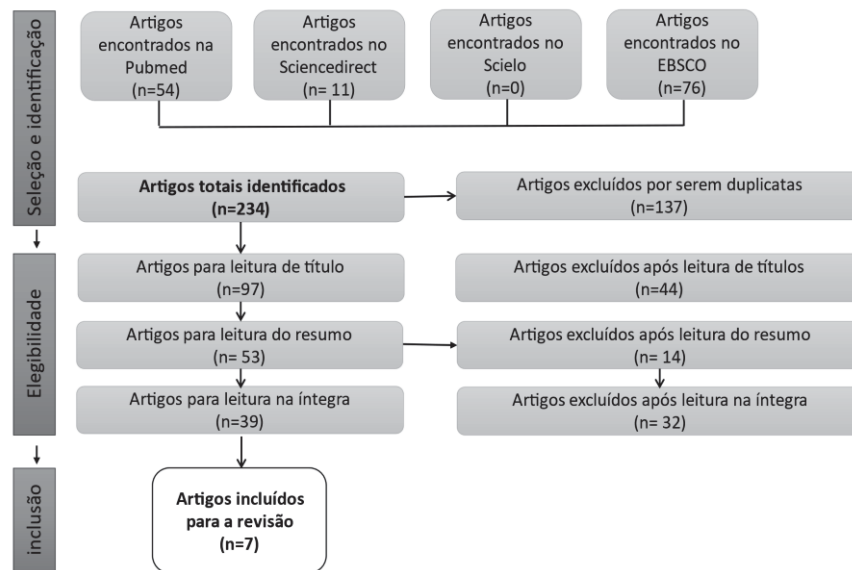
A frequência relativa das faixas de redução logarítmica também foi analisada para identificar padrões predominantes de resposta antimicrobiana. Além disso, possíveis associações entre a redução microbiana e variáveis experimentais como concentração (mg/mL), tempo de ação do sanitizante (min), área do vegetal (cm<sup>2</sup>), proporção vegetal: sanitizante (g:mL) e tempo de secagem após a inoculação (h) foram avaliadas com o coeficiente de correlação de Spearman.

Todas as análises foram realizadas com nível de significância de  $p < 0,05$ . Os dados extraídos dos estudos foram organizados em planilhas no Microsoft Excel 365® (ou atual versão utilizada) e as análises estatísticas foram conduzidas no IBM SPSS Statistics®, versão 21.

### **3 RESULTADOS**

Após estratégia de busca nos bancos de dados Pubmed, Sciencedirect, Scielo e EBSCO foram encontrados respectivamente 54, 11, 0 e 76 artigos, totalizando 234. Entretanto, desses, 97 artigos foram excluídos por serem duplicatas. Portanto, após leitura dos títulos e resumos, 38 foram selecionados para leitura na íntegra e apenas 7 foram incluídos na revisão, como demonstra a FIGURA 1.

FIGURA 1 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE SELEÇÃO DE ARTIGOS



Adaptado de Moher et al. (2010)

Com base nos estudos incluídos nesta revisão, observou-se uma diversidade de metodologias aplicadas na avaliação da eficácia dos sanitizantes naturais sobre microrganismos em folhas de alface (QUADRO 6). Os estudos analisados apresentaram principalmente variações em relação ao produto natural avaliado (extrato ou óleo essencial), a variedade de alface, área do vegetal (entre 9 e 52,5 cm<sup>2</sup>), proporção entre massa de hortaliça e volume de sanitizante (1:100 a 1:8), a concentração do sanitizante natural (0,025 a 1000 mg/mL), tempo de tratamento (de 0 a 20 min) condições de secagem após a aplicação do inóculo bacteriano, condições de incubação antes da realização dos tratamentos, além da espécie do patógeno analisado (*E. coli* O157:H7 e/ ou *Salmonella* spp).

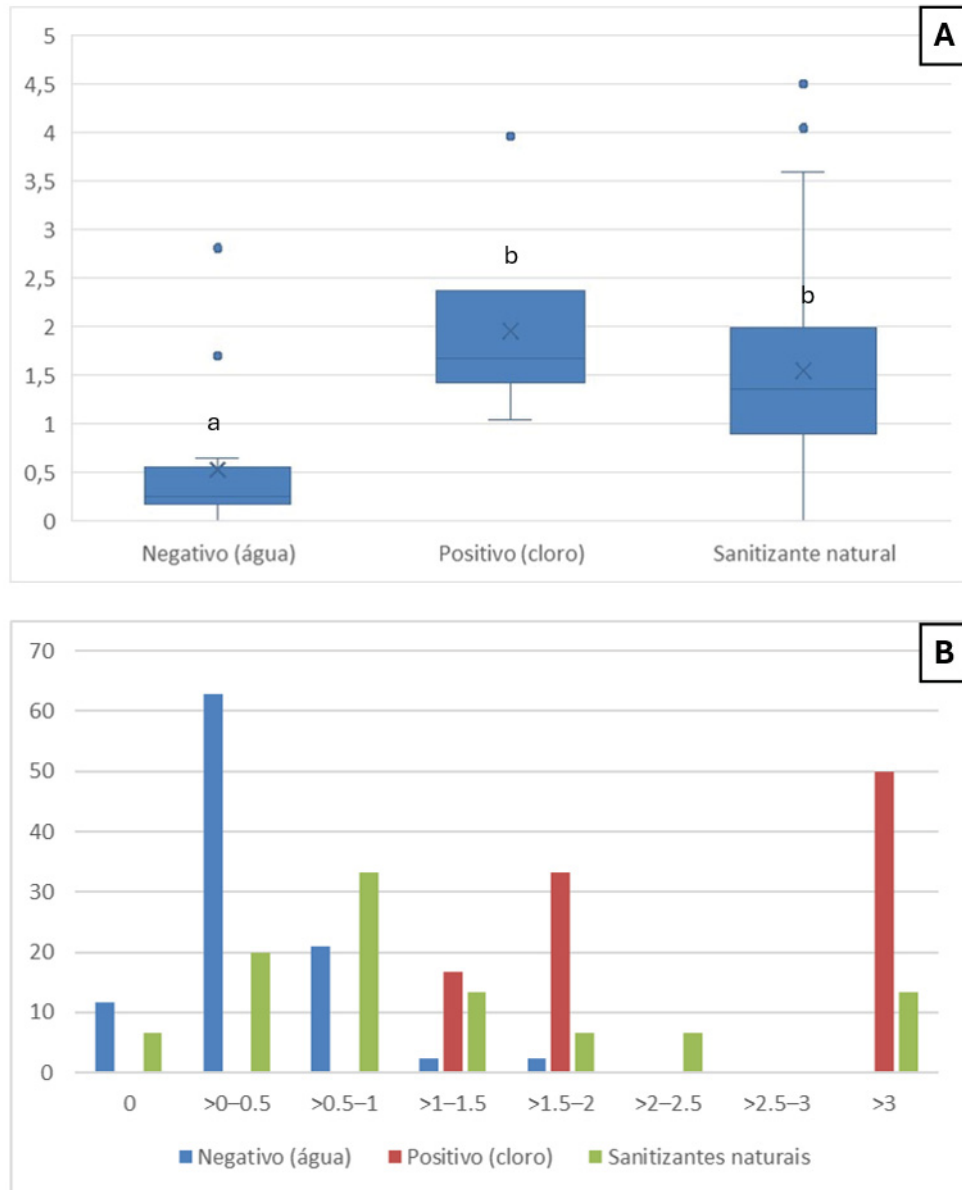
QUADRO 6 – PRODUTOS NATURAIS AVALIADOS COMO SANITIZANTES EM VARIEDADES DE ALFACE

Produto	Concentração (mg/mL)	Tempo de ação (min)	Variedade de alface	Área das folhas (cm <sup>2</sup> )	Hortaliça/sanitizante (g/mL)	Patógeno analisado e concentração do inóculo (UFC/ mL)	Tempo (h) e Temperatura (°C) de secagem após a inoculação	Tempo e Temperatura (°C) de incubação antes do tratamento	Resultado (log UFC/g)
Óleo de tomilho <sup>1</sup>	1	5	Alface romana	9	1:20	<i>E. coli</i> O157:H7	1 h a 22°C	0, 6 e 24h a 5°C	Redução de 3,32 a 4,04
Óleo de folhas de murta <sup>2</sup>	0,5, 0,75 e 1	5, 10, 15 e 20	Alface americana	12	1:20	<i>S. typhimurium</i>	2 h a 22 °C	22 h a 4 °C	Redução de 0,72 a 1,66.
Óleo de orégano <sup>3</sup>	0,025, 0,04 e 0,075	5, 10, 15 e 20	Alface americana e alface romana	12	1:20	<i>S. typhimurium</i>	2 h a 22 °C	22 h a 4°C	Redução 0,68 a 2,26.
Extrato de cravo <sup>4</sup>	10, 50 e 1000	0,1,3,5,10	Não informa a variedade	15	1:8	<i>E. coli</i> O157:H7 e <i>S. typhimurium</i>	2h (Não informa a temperatura)	Não informa	Redução de 0,3 a 4,5
Óleo de orégano <sup>5</sup>	0,5	1, 5 e 10	Alface americana	12	1:100	<i>E. coli</i> O157:H7	0, 0,5, 1 e 2	Não informa	Redução de 1 a 2, 47.
Extrato de casca de amendoim <sup>6</sup>	1, 3, 5 e 8	1, 3, 5 e 8	Alface romana	9	1:100	<i>E. coli</i> O157:H7	1,5	Não informa	Redução de 0,58 a 0,95.
Extrato de Centella asiática <sup>7</sup>	250	5	Não informa a variedade	52,5	NI	<i>E. coli</i> O157:H7	0,5	Não informa	Não houve redução para os experimentos avaliados nessa revisão

Legenda: 1 - Singh et al. (2002); 2 – Gündüz et al., (2009); 3 – Gündüz et al. (2010); 4 - Kim et al. (2011); 5 - Gündüz et al. (2012); 6 - Lee et al. (2021); 7 - Wong, et al. (2021).

Desse modo, a partir da análise dos experimentos, desconsiderando variáveis como tipo de sanitizante natural, concentração, tempo de tratamento e microrganismo estudado, observou-se que os sanitizantes naturais promoveram uma redução média de 1,55 log UFC/g nos microrganismos (n = 84) (FIGURA 2A). O controle negativo, representado por água ou água destilada, apresentou uma média de redução de 0,5 log UFC/g (n = 17), enquanto o controle positivo, com cloro ou hipoclorito de sódio, atingiu 1,95 log UFC/g (n = 6). A análise estatística indicou diferenças significativas entre os tratamentos quanto à redução microbiana ( $H = 24,41$ ;  $p < 0,001$ ). O controle negativo apresentou reduções significativamente menores em relação aos sanitizantes naturais ( $p < 0,001$ ) e ao controle positivo ( $p = 0,001$ ). Por outro lado, não houve diferença estatística entre os sanitizantes naturais e o controle positivo ( $p = 0,274$ ).

FIGURA 2 – COMPARAÇÃO DA REDUÇÃO MICROBIANA ENTRE DIFERENTES TRATAMENTOS COM DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL POR FAIXAS LOGARÍTMICAS



FONTE: A autora (2025).

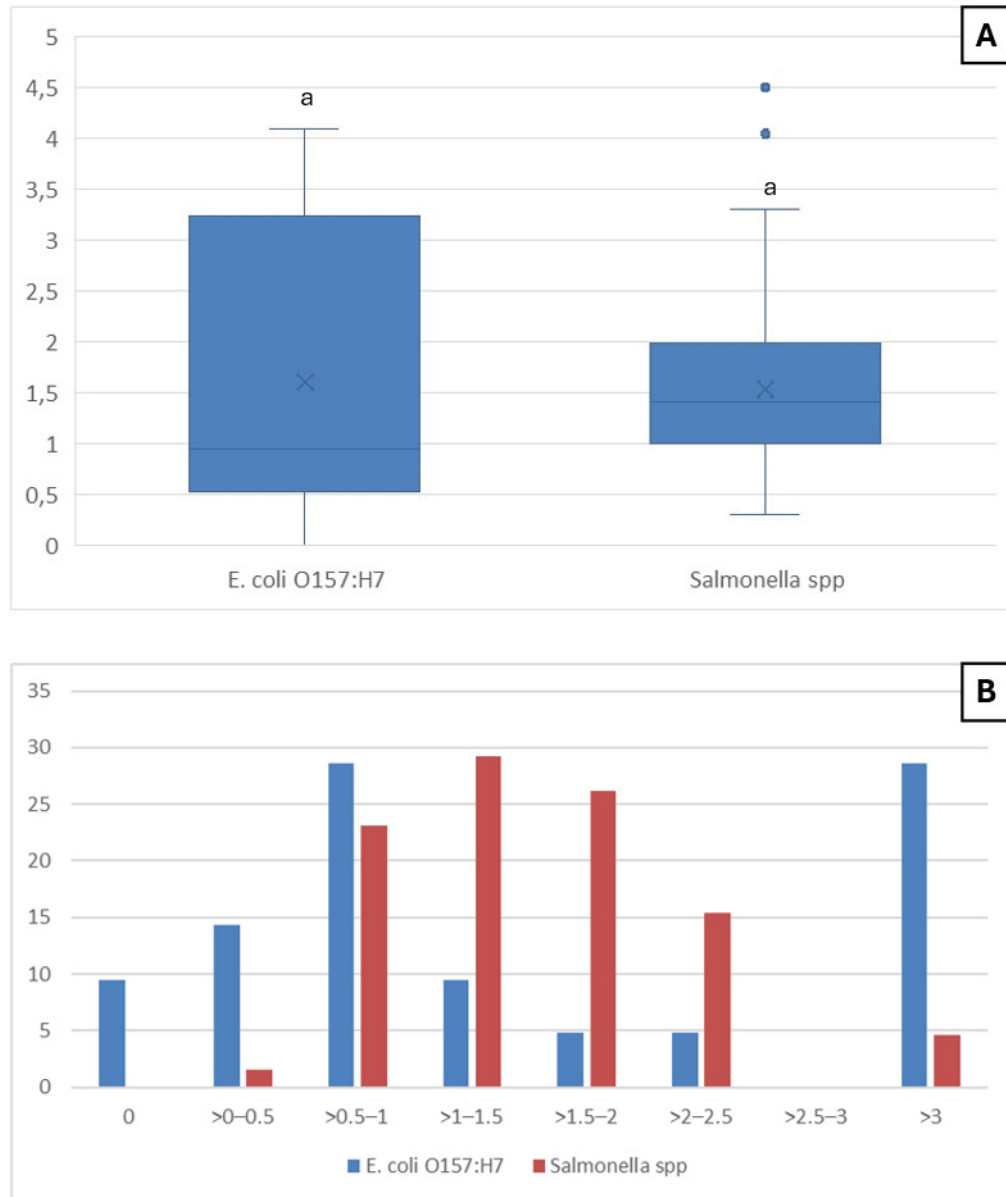
Legenda: (A) Redução logarítmica média (log UFC/g) obtida com diferentes tratamentos: controle negativo (água ou água destilada), controle positivo (cloro ou hipoclorito de sódio) e sanitizantes naturais. Letras distintas indicam diferença estatística significativa entre os grupos (teste de Kruskal-Wallis,  $H = 24,41$ ;  $p < 0,001$ ; seguido de teste de Dunn com correção de Bonferroni;  $p < 0,05$ ); (B) Distribuição percentual das reduções microbianas por faixas logarítmicas, considerando os três grupos experimentais (controle negativo, controle positivo e sanitizantes naturais);

O gráfico de frequência relativa (FIGURA 2B), que apresenta a distribuição percentual das reduções microbianas por faixa logarítmica, indica que os sanitizantes naturais resultaram predominantemente em reduções entre 0,5 e 1,5 log UFC/g, correspondendo a 50% das observações. A frequência de reduções superiores a 3 log, que normalmente é recomendado como ideal para controle

microbiológico, foi observada em aproximadamente 10% dos casos. No grupo de controle positivo, 66,7% das amostras apresentaram reduções entre 1,5 e 2,0 log UFC/g, enquanto 16,7% atingiram reduções superiores a 3 log UFC/g. Já o controle negativo apresentou reduções inferiores a 1 log UFC/g em 88,2% das amostras, com 11,8% demonstrando ausência de redução microbiana (valor nulo).

Na análise da eficácia dos sanitizantes naturais frente a *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* spp. foi verificado uma redução média de 1,60 log UFC/g para *E. coli* e de 1,53 log UFC/g para *Salmonella* (FIGURA 3A). No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos ( $p = 0,2827$ ), indicando que os sanitizantes avaliados apresentaram desempenho comparável em relação aos dois microrganismos.

FIGURA 3 – COMPARAÇÃO DA REDUÇÃO MICROBIANA ENTRE DIFERENTES MICRORGANISMOS COM DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL POR FAIXAS LOGARÍTMICAS



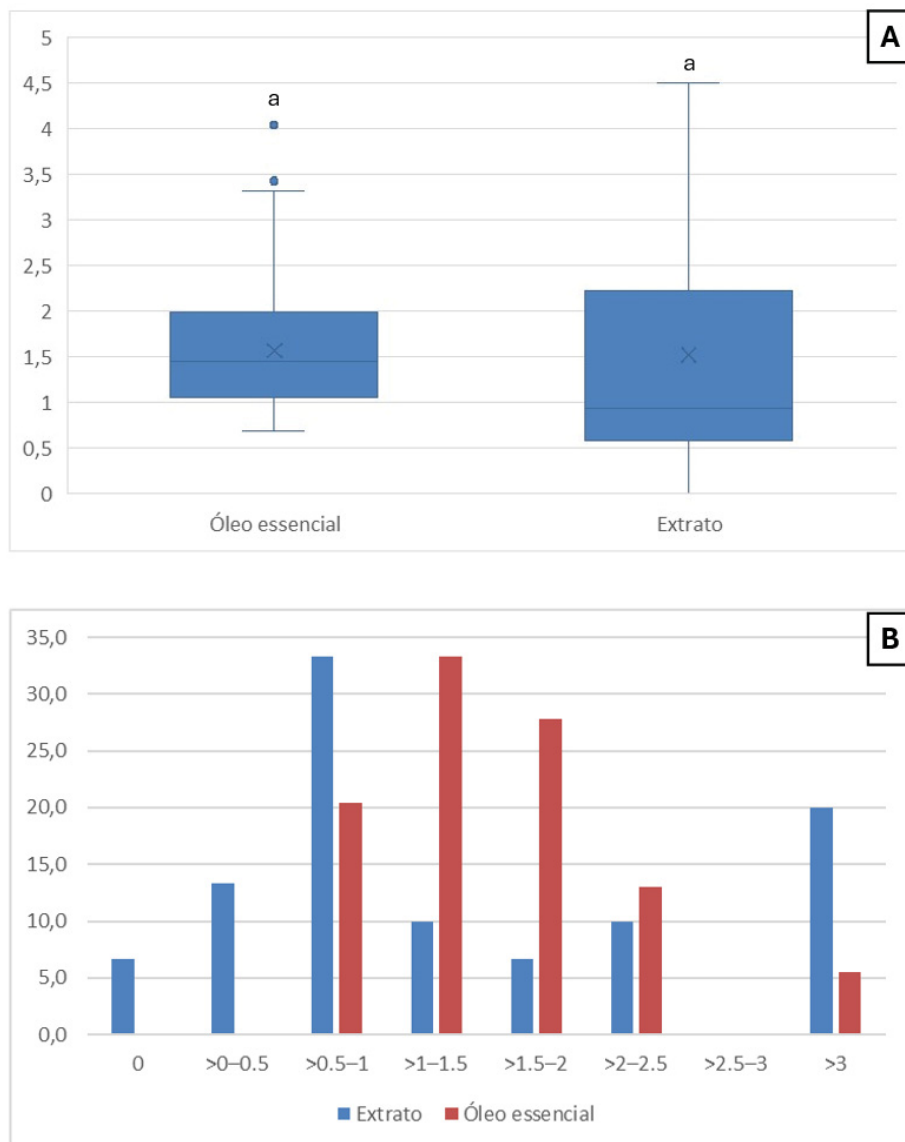
FONTE: A aurora (2025).

LEGENDA: (A) Redução logarítmica média (log UFC/g) para *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* spp.. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa (teste de Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ). (B) Distribuição percentual das reduções microbianas por faixas logarítmicas, considerando os dois microrganismos-alvo (*E. coli* O157:H7 e *Salmonella* spp.)

Com base na distribuição da frequência relativa das reduções logarítmicas em diferentes faixas para *E. coli* e *Salmonella* spp. (FIGURA 3B), observou-se que, para *E. coli*, as reduções mais frequentes ocorreram nas faixas superiores a 0,5–1,0 log UFC/g (28,6%) e superiores a 3,0 log UFC/g (28,6%). Para *Salmonella* spp. as faixas com maior frequência de ocorrência foram entre >1,0–1,5 log UFC/g (29,2%) e >1,5–2,0 log UFC/g (26,2%).

Quando comparada a eficácia dos sanitizantes formulados com óleos essenciais (n= 54) e a dos extratos vegetais (n = 30), observou-se médias de redução de 1,56 log UFC/g e 1,52 log UFC/g, respectivamente (FIGURA 4A). Contudo, essa diferença não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,1033$ ).

FIGURA 4 – COMPARAÇÃO DA REDUÇÃO MICROBIANA ENTRE CLASSES DE SANITIZANTES (ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS VEGETAIS) COM DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL POR FAIXAS LOGARÍTMICAS



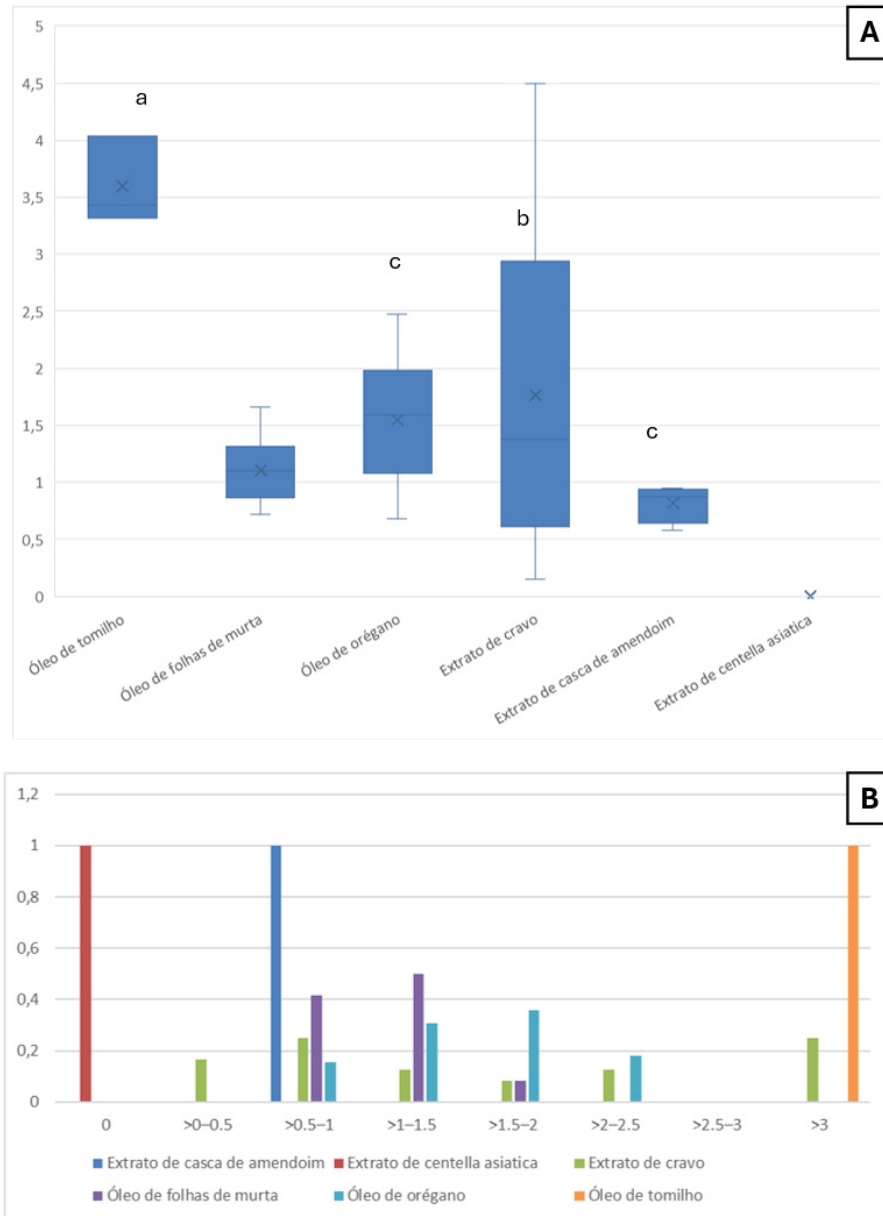
FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: (A) Redução logarítmica média (log UFC/g) obtida para extrato e óleo essencial. As letras distintas indicam diferença estatística significativa entre os grupos (teste de Mann-Whitney,  $p < 0,05$ ). (B) Distribuição percentual das reduções microbianas por faixas logarítmicas, considerando os dois grupos experimentais (para extrato e óleo essencial)

Em adição, a análise da frequência relativa mostrou que os sanitizantes à base de óleo apresentaram maior proporção de reduções nas faixas de  $>1,0-1,5$  log (33,3%) e  $>1,5-2,0$  log UFC/g (27,8%) (Figura 4B). Por outro lado, os extratos concentraram-se nas faixas de  $0,5-1,0$  log (33,3%) e  $>3,0$  log (20,0%). Desse modo, os resultados sugerem que os óleos naturais podem apresentar uma tendência à maior eficácia antimicrobiana em comparação aos extratos.

Na avaliação individual da eficácia dos sanitizantes naturais (FIGURA 5A) foi observado que o óleo de tomilho ( $n = 3$ ) promoveu reduções significativamente maiores em comparação à maioria dos demais compostos testados, incluindo o extrato de centella asiática ( $p = 0,004$ ;  $n = 2$ ), o extrato de cravo ( $p = 0,002$ ;  $n = 24$ ) e o óleo de orégano ( $p = 0,000$ ). Além disso, o extrato de cravo apresentou diferença significativa quando comparado ao óleo de orégano ( $p = 0,000$ ;  $n = 39$ ). Embora algumas comparações entre pares tenham revelado variações nas médias de redução, essas diferenças não se mostraram estatisticamente significativas após os ajustes realizados.

FIGURA 5 – COMPARAÇÃO DA REDUÇÃO MICROBIANA ENTRE SANITIZANTES INDIVIDUAIS COM DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL POR FAIXAS LOGARÍTMICAS



FONTE: A autora (2025).

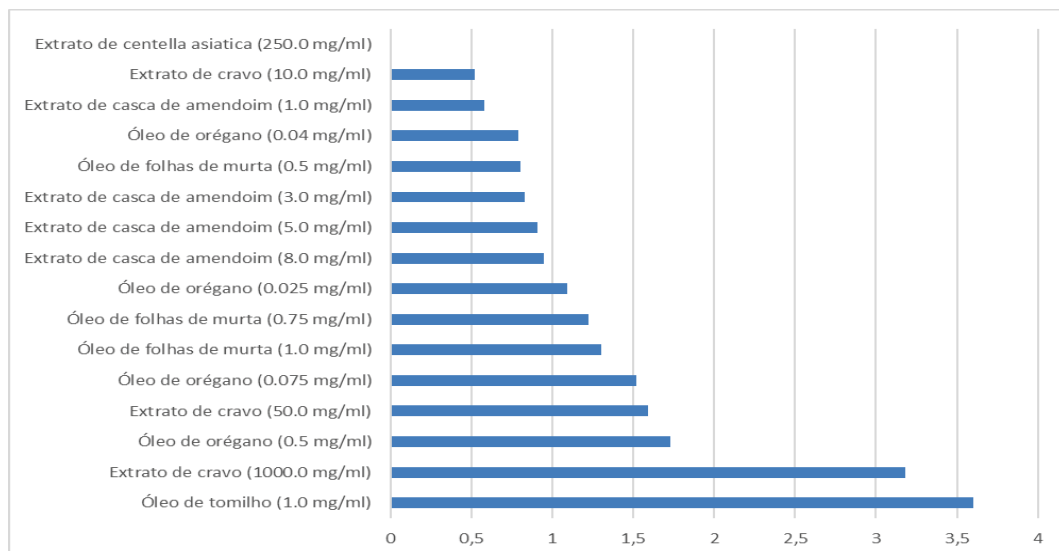
LEGENDA: (A) Redução logarítmica média (log UFC/g) obtida para os diferentes sanitizantes naturais. As letras distintas indicam diferença estatística significativa entre os grupos (teste de Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ; seguido por teste de Dunn com correção de Bonferroni;). (B) Distribuição percentual das reduções microbianas por faixas logarítmicas, considerando seis grupos experimentais (extrato de casca de amendoim, extrato de cravo, óleo de orégano, extrato de centella asiática, óleo de folhas de murta e óleo de tomilho).

Entretanto, na análise da frequência relativa das reduções logarítmicas dos microrganismos (FIGURA 5B), nota-se padrões distintos entre os diferentes sanitizantes naturais. Considerando o conjunto de microrganismos avaliados, o óleo de tomilho concentrou a maior proporção de reduções superiores a 3 log UFC/g

(100%, n=3), o que indica alta eficácia antimicrobiana. O extrato de cravo, o óleo de orégano e o óleo de murta apresentaram distribuições relevantes nas faixas superiores (>2 a 3 log). Por outro lado, os sanitizantes como o extrato de casca de amendoim e a centella asiática demonstraram maior frequência de reduções em faixas inferiores, com destaque para valores abaixo de 1 log. Esses resultados evidenciam a variação significativa na eficácia entre os compostos naturais avaliados.

Por fim, considerando os sanitizantes naturais em diferentes concentrações, a análise estatística revelou diferenças significativas na eficácia dos sanitizantes naturais ( $p < 0,05$ ) (FIGURA 6). O óleo de tomilho a 1,0 mg/mL apresentou a maior redução microbiana, sendo significativamente superior a todas as outras formulações. O óleo de orégano a 0,5 mg/mL e o extrato de cravo a 1000 mg/mL mostraram eficácia semelhante entre si, mas superior à do extrato de centella asiática e ao extrato de casca de amendoim, que não diferiram entre si e apresentaram as menores reduções.

FIGURA 6 – EFICÁCIA DE SANITIZANTES NATURAIS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NA REDUÇÃO MICROBIANA (LOG UFC/G)



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: Redução microbiana média (log UFC/g) obtida com diferentes sanitizantes naturais aplicados em folhas de alface, considerando a concentração utilizada em cada experimento.

Além disso, foram conduzidas análises de correlação de Spearman para investigar possíveis associações entre variáveis experimentais contínuas e a redução microbiana alcançada com o uso dos sanitizantes naturais. As variáveis

avaliadas incluíram: concentração do sanitizante natural (ppm), tempo do tratamento (min), tempo de secagem do vegetal após inoculação para fixação dos microrganismos (h), área da superfície vegetal (m<sup>2</sup>), quantidade de amostra utilizada ( $\rho = -0,059$ ;  $p = 0,5933$ ) e proporção hortaliça/sanitizante ( $\rho = -0,150$ ;  $p = 0,1796$ ). De modo geral, nenhuma dessas variáveis apresentou correlação estatisticamente significativa com a redução microbiana, sugerindo que tais fatores, isoladamente, não são determinantes relevantes para a eficácia dos sanitizantes naturais.

#### 4 DISCUSSÃO

A contaminação de hortaliças folhosas por patógenos como *Salmonella* spp. e *E. coli* O157:H7 pode ocorrer ao longo de toda a cadeia produtiva, desde o cultivo (por meio de solo, fertilizantes orgânicos ou irrigação com água contaminada) até a fase de pós-colheita e armazenamento inadequado (Owade et al., 2024). A *Salmonella* spp., bactéria Gram-negativa da família Enterobacteriaceae, é causadora de salmonelose, que se manifesta principalmente como gastroenterite (febre, mialgia, cefaleia, náusea, vômito) e pode evoluir para septicemia em pacientes imunocomprometidos (Ehuwa et al., 2021). Por sua vez, *E. coli* O157:H7, também pertencente à família Enterobacteriaceae, é uma cepa produtora de toxina Shiga, associada a quadros de colite hemorrágica e, em casos mais graves, à síndrome hemolítico-urêmica (SHU). Caracteriza-se por uma baixa dose infecciosa (inferior a 100 células viáveis) e elevada capacidade de sobrevivência em superfícies vegetais, mesmo sob condições de refrigeração (Leach et al., 2010; Bywater et al., 2023). Nos Estados Unidos, essa cepa é responsável por mais de 63 mil casos de infecções alimentares e cerca de 20 óbitos por ano (Chen et al., 2023). Na União Europeia, representa aproximadamente 22,5% dos surtos alimentares registrados (EFSA e ECDC, 2015; Silva et al., 2017).

Uma revisão sistemática revelou que a prevalência média de *Salmonella* spp em amostras de alface foi de 4,1% (IC 95%: 3,0%–5,2%), sendo essa taxa maior em países em desenvolvimento (6,4%) do que em países desenvolvidos (2,8%). Além disso, os níveis de *Salmonella* detectados variaram significativamente, desde aproximadamente  $0,054 \pm 0,058$  UFC/g até 218,78 NMP/g. No caso da *E. coli* O157:H7, a prevalência média também foi de 4,1% (IC 95%: 0,5%–7,8%), e quando considerado *E. coli* (EHEC), as concentrações oscilaram entre menos de 3,0 NMP/g

e mais de 1 100 NMP/g (Elias; Noronha; Tondo, 2019). Esses dados evidenciam a presença recorrente desses microrganismos em alface, ressaltando a necessidade de métodos de higienização eficazes para reduzir o risco de contaminação e a ocorrência de surtos alimentares.

Nesse contexto, esta revisão teve como objetivo avaliar a eficácia de diferentes sanitizantes naturais na redução de *Salmonella* spp. e *E. coli* O157:H7 em alface, levando em conta variáveis como concentração, tempo de tratamento e método de aplicação. Os resultados sugerem que os sanitizantes naturais podem auxiliar na garantia da segurança do consumo de alface, promovendo reduções logarítmicas de *Salmonella* spp. e *E. coli*, uma vez que apresentaram resultados estatisticamente equivalentes às alcançadas por sanitizantes clorados. Esses achados estão em consonância com estudos que apontam o uso de óleos essenciais e extratos vegetais como alternativas sustentáveis e menos agressivas à saúde humana e ao meio ambiente, especialmente quando comparados a desinfetantes convencionais, como o hipoclorito de sódio, os quais podem gerar subprodutos tóxicos, apresentar alta corrosividade e favorecer o desenvolvimento de resistência microbiana (Lima; Souza, 2020; Zaman et al., 2024).

Quando comparados os microrganismos de modo individual, os sanitizantes naturais demonstraram eficácia de redução semelhante contra *E. coli* O157:H7 (1,60 Log UFC/g) e *Salmonella* spp. (1,53 Log UFC/g), sem diferença estatística entre os grupos ( $p = 0,2827$ ). A distribuição das faixas logarítmicas, no entanto, mostrou padrões distintos de sensibilidade aos sanitizantes entre as espécies, o que reforça a importância da escolha do sanitizante conforme o patógeno alvo ou predominante (Prado-Silva et al., 2015).

A comparação entre classes de compostos naturais indicou uma tendência de maior eficácia dos óleos essenciais em relação aos extratos vegetais, embora sem diferença estatística significativa. Entre os sanitizantes testados, o óleo essencial de tomilho, na concentração de 1,0 mg/mL, apresentou a maior capacidade de redução microbiana em folhas de alface, seguido pelo extrato de cravo (1000 mg/mL) e pelo óleo essencial de orégano (0,5 mg/mL). O óleo essencial de tomilho é composto principalmente por monoterpenos e derivados aromáticos de terpenos, como o timol (um monoterpeno fenólico), o  $\gamma$ -terpineno (um monoterpeno hidrocarboneto cíclico) e o p-cimeno (um monoterpeno aromático do tipo alquilbenzeno) (Borugã et al., 2014; Dong et al., 2023). De maneira semelhante, o óleo essencial de orégano apresenta

como constituintes majoritários o carvacrol (também um monoterpene fenólico), além do p-cimeno e do  $\gamma$ -terpineno. Por sua vez, o extrato de cravo é composto predominantemente por eugenol, um composto da classe dos fenilpropenos fenólicos (Frohlich et al., 2022). Entretanto, cabe destacar que o extrato de *Centella asiatica* foi o único produto natural que, nas condições testadas nesta revisão, não apresentou redução significativa de microrganismos. Esse extrato é rico em flavonoides, como kaempferol, quercetina e rutina (Azmin; Nor, 2020; Wong et al., 2021).

Desse modo, a variação na eficácia de redução microbiana entre os óleos essenciais e os extratos vegetais, bem como entre os sanitizantes avaliados individualmente, pode ser atribuída às diferentes propriedades físico-químicas dos compostos naturais analisados (Álvarez-Martínez et al., 2021). Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis, principalmente terpenos e fenóis, obtidos por destilação ou arraste a vapor, o que lhes confere alta lipofilicidade e capacidade de atravessar a bicamada lipídica das células bacterianas. Em contato com a membrana, terpenos como carvacrol e timol, ou fenóis como o eugenol aumentam a permeabilidade e podem provocar a ruptura completa da barreira lipídica, resultando no vazamento de íons, ATP e outros metabólitos essenciais à manutenção do potencial de membrana e à homeostase celular (Tariq et al., 2019; Álvarez-Martínez et al., 2021). Em contraste, os extratos vegetais, geralmente obtidos com solventes polares como água, etanol ou metanol, são ricos em moléculas hidrofílicas (flavonoides, taninos, alcaloides, glicosídeos). Embora também capazes de interagir com a bicamada lipídica e alterar sua fluidez, essas substâncias tendem a promover fissuras superficiais e desorganização parcial da membrana, com consequente vazamento de componentes intracelulares. No entanto, a menor volatilidade e a distribuição ampla de compostos polares podem limitar a difusão até os alvos intracelulares, reduzindo a eficácia antimicrobiana em comparação aos óleos essenciais (Vidakovic et al., 2024; Zagar et al., 2024). Entretanto, vale ressaltar que o uso combinado, ou em sinergia, de diferentes compostos presentes em óleos essenciais e extratos vegetais pode potencializar a atividade antimicrobiana, oferecendo alternativas mais sustentáveis ao cloro e a outros sanitizantes químicos (Álvarez-Martínez et al., 2021).

Por fim, embora não tenham sido encontradas correlações significativas entre as variáveis experimentais, como a concentração do sanitizante, tempo de

tratamento, tempo de secagem (fixação dos microrganismos nas folhas), área foliar e proporção entre hortalíça e solução sanitizante, e a redução microbiana, esse resultado sugere que, isoladamente, tais fatores não exercem influência determinante sobre a eficácia dos sanitizantes naturais. Outros estudos também não encontraram relação entre algumas dessas variáveis com a redução de microrganismos (Singh et al., 2002; Gündüz et al., 2009; Lima; Souza, 2020).

Em uma revisão sobre a ação de óleos essenciais e de seus constituintes isolados, Lima e Souza (2020) não observaram correlação significativa entre a concentração aplicada e a redução microbiana. Esse achado corrobora a ideia de que o êxito do tratamento depende sobretudo do tipo de sanitizante utilizado (extrato vegetal ou óleo essencial), da composição química e das interações sinérgicas entre os compostos presentes, mais do que da dose empregada.

Em adição, diferentes estudos indicam que o aumento do tempo de exposição ao sanitizante, dentro de determinados intervalos, não necessariamente resulta em maior eficácia microbiológica (Singh et al., 2002; Gündüz et al., 2009). No caso da *Salmonella typhimurium*, tratamentos com óleo de murta aplicados em folhas de alface por 5, 10, 15 e 20 min não apresentaram variações estatisticamente significativas entre si ( $p > 0,05$ ) (Gündüz et al., 2009). De forma semelhante, a inativação de *E. coli* O157:H7 inoculada em alface também não apresentou diferenças significativas quando tratada com óleo essencial de tomilho (1,0 mL/L) pelos tempos de 5, 10 ou 15 min (Singh et al., 2002). Esses achados sugerem que, para determinados compostos naturais, o tempo de contato além de um certo limite pode não ser o principal fator determinante da eficácia antimicrobiana (Singh et al., 2002).

Apesar dos estudos incluídos nesta revisão não terem comparado proporções distintas entre massa de alface e volume de sanitizante (g:mL), a análise conjunta dos dados não indicou influência direta dessas variáveis sobre a eficácia dos tratamentos. Ainda assim, a proporção de 1:20 (massa de vegetal: volume de solução) mostrou-se a opção mais favorável, por garantir completa imersão das folhas e contato uniforme com o sanitizante (Ssemenda et al., 2018).

Em adição, lesões mecânicas, como cortes, rasgos ou contusões ocorridas na colheita ou no processamento, aumentam substancialmente o risco de contaminação da alface por *Salmonella enterica* e *E. coli* O157:H7 (Koukkidis et al., 2017; Mulaosmanovic et al., 2021). A ruptura dos tecidos libera exsudatos ricos em

açúcares e aminoácidos que servem de substrato para ambos os patógenos, estimulando a multiplicação bacteriana e a formação de biofilmes (Koukkidis et al., 2017; Arellano et al., 2022). Esses danos também expõem estômatos abertos e fissuras, facilitando a internalização das bactérias e dificultando a remoção por lavagem (Kroupitski et al., 2009; Kroupitski et al., 2019). Conseqüentemente, folhas danificadas apresentam cargas microbianas maiores do que folhas intactas (Mulaosmanovic et al., 2021; Elpers et al., 2023). O uso de folhas cortadas em fragmentos padronizados, procedimento adotado em todos os ensaios incluídos nesta revisão, visa simular produtos minimamente processados e garantir homogeneidade experimental. Todavia, essa abordagem pode não representar fielmente a eficácia dos sanitizantes em folhas inteiras e ainda dificultar a comparação direta entre estudos (Jensen et al., 2015; Asare et al., 2018).

Ainda que neste estudo o tempo de fixação dos microrganismos sob a folha de alface (ou tempo de secagem) não tenha se mostrado correlacionado significativamente com a redução microbiana, esse parâmetro pode ser fundamental para avaliar a eficácia dos sanitizantes e a sobrevivência de patógenos em vegetais minimamente processados, especialmente ao investigar a persistência microbiana durante o armazenamento. Para simular uma possível contaminação ocorrida ainda no campo, recomenda-se que a secagem das folhas inoculadas seja realizada por 2 h a 22 °C, condição que reproduz as temperaturas elevadas às quais os vegetais ficam expostos antes do resfriamento. Para retratar de maneira mais fiel os cenários de contaminação pós-colheita, sugerem-se períodos de fixação de até 2 h. Entretanto, deve-se ressaltar que tempos mais prolongados de fixação podem comprometer a qualidade de produtos frescos cortados, resultando em perda de peso, alterações na aparência e, conseqüentemente, impacto negativo na avaliação sensorial das hortaliças (Gündüz, 2012).

Além do tempo de secagem, a qualidade visual das folhas de alface também pode ser comprometida pelos próprios sanitizantes, sobretudo pelos óleos essenciais. Por conterem compostos fenólicos e terpenos altamente reativos, esses produtos podem acelerar o escurecimento tecidual ou alterar a textura, deixando o produto menos atraente. Dos sete estudos incluídos nesta revisão, apenas quatro descreveram o estado das folhas após a aplicação exclusiva dos sanitizantes naturais (isto é, sem combinações com outras soluções) e, desses, somente um realizou análise de cor; os demais limitaram-se a registros visuais. Nos experimentos

de Gündüz, Gönül e Karapinar (2009), imersões em óleo de murta a 500 a 750 ppm (0,50 a 0,70 mg/mL) durante até 20 minutos não afetaram a cor nem a crocância de folhas de alface; entretanto, o aumento da concentração para 1 000 ppm (1 mg/ mL) por 15 a 20 minutos resultou em descoloração da borda cortada e perda de firmeza. Resultados semelhantes foram observados com óleo de orégano em concentrações mais elevadas, que causaram escurecimento e amolecimento após 10 minutos, enquanto esse efeito desapareceu quando o tratamento foi aplicado imediatamente após a inoculação (Gündüz et al., 2012). De modo análogo, Kim et al. (2011) relataram degradação visual da cor em amostras tratadas com extrato de cravo, embora não tenham encontrado diferenças significativas nos valores  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  em relação ao controle lavado com água destilada.

Aprofundando a discussão sobre os impactos dos sanitizantes naturais nos atributos sensoriais de vegetais folhosos, Joshi et al. (2016) demonstraram que o efeito varia segundo o composto aplicado e a espécie da hortaliça. O óleo essencial de canela a 0,1 % preservou cor, textura e aroma, alcançando a maior aceitação dos provadores em espinafre e alface, enquanto a maioria dos óleos essenciais provocou pungência ou odor residual e os extratos vegetais favoreceram o escurecimento das folhas. Formulações mistas de óleo e extrato receberam as piores notas, indicando que essas combinações ainda requerem otimização (Joshi et al., 2016).

Portanto, a adoção industrial de sanitizantes naturais deve conciliar eficácia antimicrobiana e preservação dos atributos sensoriais (Joshi et al., 2013). Uma solução promissora é o encapsulamento de óleos essenciais em micro ou nanoemulsões, sistemas que reduzem o odor intenso e liberam o composto ativo de forma controlada (Fernandes et al., 2024). Em alface-romana minimamente processada, o microencapsulamento do óleo essencial de tomilho em  $\beta$ -ciclodextrina preservou cor e crocância por 12 dias e alcançou escores sensoriais superiores aos do óleo livre (Viacava et al., 2018). Esses achados sugerem que a encapsulação de óleos essenciais tende a elevar a aceitação comercial dos sanitizantes naturais.

Por fim, tendo em vista que a multiplicação e a colonização de patógenos variam segundo o estágio de desenvolvimento da folha, as oscilações de temperatura, a exposição à luz ultravioleta durante a colheita e outros estresses ambientais, é imprescindível que futuras pesquisas padronizem todo o protocolo experimental. Essa padronização deve abranger: (i) o tamanho dos fragmentos

foliares; (ii) a concentração e o volume do inóculo; (iii) a razão entre sanitizante e amostra; e (iv) as condições de temperatura e tempo nas etapas de corte, inoculação, armazenamento/ incubação e aplicação do sanitizante. Além disso, os sanitizantes naturais precisam ser avaliados tanto em folhas inteiras quanto em folhas cortadas, contemplando diferentes graus de dano mecânico. A adoção dessas diretrizes permitirá produzir evidências mais robustas e comparáveis sobre a eficácia microbiológica de tratamentos naturais em cenários pós-colheita.

## **5 CONCLUSÃO**

Os resultados desta revisão indicam que os sanitizantes naturais representam uma alternativa promissora para a descontaminação de hortaliças folhosas. No entanto, a eficácia ainda não atinge, de forma consistente, os níveis observados com o uso de cloro. As reduções microbianas, na maioria inferiores a 3 log UFC/g, reforçam a necessidade de padronização metodológica nos ensaios, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, com controle rigoroso de variáveis como tempo de tratamento, concentração do composto, alvo microbiológico, concentração do inóculo, condições (tempo e temperatura) de secagem e tipo de hortaliça. Essa padronização é fundamental para uma avaliação mais precisa da eficácia dos produtos naturais como sanitizantes. Além disso, estudos futuros devem contemplar aspectos complementares, como a estabilidade química dos compostos, a toxicidade e o impacto sensorial nos alimentos tratados, visando garantir segurança, eficácia e aceitação do uso desses sanitizantes em larga escala.

**CAPÍTULO II: EFÍCACIA DO USO DA GLICINA COMO LÍQUIDO  
EXTRATOR EM ANÁLISE PARASITOLÓGICAS DE VEGETAIS  
FOLHOSOS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

## 1 INTRODUÇÃO

A incidência global de doenças parasitárias em seres humanos foi calculada em aproximadamente 407 milhões de casos por ano. Destes, cerca de 91,1 milhões (22%) estão relacionados à transmissão por meio de alimentos contaminados com ovos ou cistos de parasitos, resultando em cerca de 52 mil óbitos anualmente. Essas infecções causam uma variedade de problemas de saúde que afetam um grande contingente de pessoas a cada ano (Torgerson et al., 2015).

Uma atenção especial deve ser dada as doenças parasitárias provenientes do consumo de hortaliças cruas. Esses alimentos, devido à maior proximidade ao solo e por apresentar superfície irregular, porosa e rugosa são mais suscetíveis a contaminação parasitária representando um veículo potencial para a transmissão de parasitas intestinais, como *Ascaris lumbricoides*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Giardia lamblia*, *Taenia* sp, *Toxoplasma gondii* e *Trichuris trichiura* (Macarisin; Bauchan; Fayer, 2010; Golberge et al., 2011; Deering et al., 2012).

Desse modo, algumas medidas são necessárias para controlar e diminuir parasitoses transmitidas por esses alimentos, como: promoção do acesso a água potável e saneamento básico, diagnóstico, notificação, tratamento precoce da doença em humanos, controle de vetores, desenvolvimento de vacinas, educação em saúde, aplicação de normas internacionais de controle higiênico sanitários de alimentos, boas práticas de fabricação em toda a cadeia alimentar, principalmente com relação à prática de processamento dos alimentos (Gabriël et al., 2022).

Além disso, o estudo de prevalência de parasitos em alimentos, permite elucidar quais alimentos e espécies de parasitos estão frequentemente envolvidos em surtos de parasitoses, e em quais regiões geográficas o consumo desses alimentos são de maior risco, ajudando a reduzir a contaminação e aumentando a confiança do consumidor na qualidade dos alimentos disponíveis (Al-Nahhas; Aboualchamat, 2020).

No entanto, a disponibilidade de protocolos padronizados para análise parasitológica em alimentos é limitada. Como resultado, uma variedade de procedimentos é empregada globalmente, o que torna difícil a comparação entre estudos e a obtenção de uma compreensão abrangente da contaminação parasitária de hortaliças em todo o mundo (Pineda et al., 2021).

Comumente, as principais etapas de uma análise parasitológica envolvem a etapa de preparação de amostras, eluição/ recuperação/ remoção, concentração, detecção, enumeração e interpretação dos resultados. Entretanto, a etapa de eluição/ recuperação/ remoção de parasitos das amostras destaca-se como uma das etapas mais críticas, uma vez que, na ausência de uma remoção eficiente, os parasitos podem permanecer aderidos às superfícies das amostras ou encapsulados em partículas, tornando-os menos detectáveis. Portanto, garantir que os parasitos sejam completamente liberados das amostras é essencial para que a análise seja sensível e forneça resultados representativos da real contaminação parasitária (Collender et al., 2015; Amoah et al., 2017).

Existem diversas soluções de dissociações e surfactantes que são utilizados para a remoção/ recuperação de parasitos das amostras, como Triton, Tween® (20, 80), dodecil sulfato de sódio, Alconox®, 7X® e glicina (Cook et al., 2006; Chandra; Torres; Ortega, 2014; Matosinhos et al., 2016; Amoah et al., 2017). A glicina, em particular, tem se destacando por ser recomendada pela ISO 18744:2016 que determina diretrizes gerais para a detecção e enumeração de *Cryptosporidium* e *Giardia* em hortaliças folhosas frescas e frutas de baga. Entretanto, apesar de a norma não incluir orientações para a identificação de outros parasitos de importância em saúde pública, como os da classe dos helmintos, a glicina (1M, pH 5,5) tem sido usada para recuperar *Ascaris* sp, Ancilostomatídeos, e diferentes formas parasitárias em hortaliças folhosas (Matosinhos et al., 2016; Pineda et al., 2021). Portanto, o objetivo desta pesquisa é realizar uma revisão integrativa para avaliar a eficácia da glicina (1M, pH 5,5) e os métodos utilizados na recuperação de diversos tipos de parasitos encontrados em hortaliças.

## 2 MÉTODO

A revisão foi realizada segundo as orientações do PRISMA (Galvão; Pansani; Harrad, 2015) e analisou a eficácia da solução de glicina (1 M, pH 5,5) na recuperação/ remoção (desprendimento e concentração de parasitos aderidos às superfícies das hortaliças para posterior detecção e quantificação laboratorial) em hortaliças folhosas. As palavras-chave para a estratégia de busca foram definidas a partir do acrônimo SPIDER (QUADRO 7).

QUADRO 7 – DEFINIÇÃO DAS PALAVRAS-CHAVE A PARTIR DO ACRÔNIO SPIDER

<b>Categorias</b>	<b>Descrição</b>	<b>Palavras-Chave</b>
Sample (Amostra)	Vegetais folhosos contaminados artificialmente com parasitos	Salada, vegetal, corte fresco, produto fresco, vegetal folhoso fresco, verde folhoso, vegetal folhoso, <i>Lactuca sativa</i> , alface, agrião, couve, repolho, endívia, coentro, rúcula, salsa, contaminação e contaminação artificial
Phenomen of Interest (Fenômeno de interesse)	Uso da glicina como método de remoção de parasitos	Glicina, extratores, soluções, eluentes, recuperação, remoção, extração, eluição, detecção, lavagem, isolamento, persistência, parasita, protozoário. Helminto, larvas, cisto, oocisto, ocisto e ovo
Design (Desenho do estudo)	Estudos experimentais, ensaios, protocolos, estudos de padronização, padronização interlaboratorial	Validação, protocolo, padronização, otimização
Evaluation (Avaliação)	Avaliação da eficácia de remoção dos parasitos (% ou número)	-
Research type (Tipo de pesquisa)	Estudos quantitativos.	-

FONTE: A autora (2025).

Em seguida, as palavras-chave foram combinadas e aplicadas nas bases de dados do Scopus, Pubmed e literatura cinzenta conforme mostra o QUADRO 8.

QUADRO 8 – ESTRATÉGIA DE BUSCA

<b>Base de dado</b>	<b>Estratégia de busca</b>	<b>Campos pesquisado</b>
Pubmed	(recovery OR removal OR extraction OR elution OR detection OR washing OR isolation OR persistence) AND (parasite OR protozoan OR helminths OR helminth OR larvae OR cyst OR oocyst OR oocysts OR ocist OR egg) AND (salad OR salads OR vegetable OR vegetables OR "fresh-cut" OR "fresh-cuts" OR "fresh produce" OR "fresh produces" OR "fresh leafy vegetable" OR "leafy green" OR "leafy" OR "leafy greens" OR "leafy vegetable" OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR lettuce OR " <i>Nasturtium officinale</i> " OR "watercress" OR " <i>Brassica oleracea</i> " OR kale OR cabbage OR " <i>Chichorium endivia</i> " OR endive OR " <i>Coriandrum sativum</i> " OR coriander OR cilantro OR " <i>Eruca vesicaria</i> " OR arugula OR " <i>Petroselinum crispum</i> " OR parsley) AND ("artificially contaminated" OR contamination OR spiked OR validation OR protocol OR standardization OR optimization) AND (extractants OR solutions OR glycine) NOT " <i>Glycine max</i> "	Título e resumo
Escopus	(recovery OR removal OR extraction OR elution OR detection OR washing OR isolation OR persistence)	Título, resumo e palavras-chaves

QUADRO 8 – ESTRATÉGIA DE BUSCA

Base de dado	Estratégia de busca	Campos pesquisado
	AND (parasite OR protozoan OR helminths OR helminth OR larvae OR cyst OR oocyst OR oocysts OR egg) AND (salad OR salads OR vegetable OR vegetables OR fresh-cut OR fresh-cuts OR "fresh produce" OR "fresh produces" OR "fresh leafy vegetable" OR "leafy green" OR "leafy" OR "leafy greens" OR "leafy vegetable" OR " <i>Lactuca sativa</i> " OR lettuce OR " <i>Nasturtium officinale</i> " OR "watercress" OR " <i>Brassica oleracea</i> " OR kale OR cabbage OR endive OR " <i>Coriandrum sativum</i> " OR coriander OR cilantro OR " <i>Eruca vesicaria</i> " OR arugula OR " <i>Petroselinum crispum</i> " OR parsley) AND ("artificially contaminated" OR contamination OR spiked OR validation OR protocol OR standardization OR optimization) AND (extractants OR solutions OR glycine) NOT " <i>Glycine max</i> "	

FONTE: A autora (2025).

Como critérios de inclusão foram definidos os artigos publicados até agosto de 2024, em idiomas inglês, espanhol e português, independente do desfecho avaliado, desde que apresentassem as seguintes informações: a) concentração e pH da solução de glicina, b) Nome do parasito utilizado para os experimentos de contaminação artificial, b) concentração do inóculo dos parasitas empregados e c) valor da eficácia de recuperação. Após aplicação das estratégias de busca, os resultados alcançados foram exportados para o gerenciador de referências online Endnote Web.

Após a busca nas bases de dados, as duplicatas foram descartadas. Em seguida, foi realizada a leitura dos títulos e resumos com a intenção de selecionar os estudos para serem lidos na íntegra. Adicionalmente, as referências dos artigos incluídos foram minuciosamente analisadas em busca de possíveis acréscimos à pesquisa.

Para a análise dos resultados, inicialmente foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade das amostras. Posteriormente, a homogeneidade das variâncias foi avaliada por meio do teste de Levene e/ou teste F. A comparação da eficácia de remoção de glicina entre protozoários e helmintos foi realizada utilizando o teste U de Mann-Whitney. Para analisar a eficácia da glicina em função do tipo de vegetal, níveis de concentração dos inóculos, técnica de extração, técnica de detecção e visualização, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis. A correlação entre a concentração do inóculo e a eficácia de recuperação, assim como entre o tempo

de extração e a eficácia de recuperação, foi avaliada por meio do coeficiente de correlação de Spearman.

Para todos os testes estatísticos aplicados, consideraram-se diferenças estatísticas significativas quando  $p < 0,05$ . Os dados extraídos dos estudos foram organizados em planilhas no Microsoft Excel 2007® e as análises estatísticas foram realizadas com o software IBM SPSS Statistics, versão 21.

Por fim, a análise qualitativa dos artigos foi realizada mediante o risco de viés, seguindo a metodologia de avaliação da Cochrane (HIGGINS et al., 2019) com adaptações propostas por Maia et al. (2023) para estudos de análise de alimentos. Logo, essa avaliação foi estruturada em cinco domínios distintos: viés de seleção, viés de amostra, viés de desempenho, viés de detecção e viés de relatório, conforme ilustrado no QUADRO 9.

QUADRO 9 – MÉTODO DE AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DOS ARTIGOS INCLUIDOS NA REVISÃO

Domínio de viés	Descrição do viés	Risco de julgamento tendencioso	Avaliação/ Pontuação
Viés de seleção	Não houve randomização, cegamento ou geração aleatória de números de amostra que reduzisse a influência do tipo de intervenção para o analista	Alto: Descreve uma metodologia sem análise de alocação de amostra randomizada ou sem informações.	-/ 0
		Baixo: Menciona randomização ou geração de números aleatórios, cegamento, sorteio ou qualquer outro método que evidencie cuidado para não influenciar o resultado da amostra. Utiliza um método de análise que sofre baixa influência da tendência do analista.	+/ 2
		Incerto: O estudo carece de informações suficientes para permitir avaliação em outras categorias.	?/ 1
Viés de amostragem	Os resultados contêm baixa credibilidade devido ao tamanho da amostra não representativa nas análises realizadas	Alto: Ausência de cálculo estatístico determinando a representatividade da amostra. Falta de comparação com outros estudos que justifique a abordagem quantitativa adotada."	-/ 0
		Baixo: Apresenta cálculos estatísticos ou comparações do tamanho da amostra analisada com amostras de outros estudos, ou possui um tamanho de amostra significativamente maior em relação aos outros estudos selecionados, mas não menciona cálculos estatísticos ou comparações.	+/ 2
		Incerto: O estudo carece de informações suficientes para permitir avaliação em outras categorias.	?/ 1
Viés de desempenho	A significância da intervenção é baixa devido às análises não	Alto: Não realiza comparação com amostra de controle, contaminação artificial ou comparação entre tratamentos, nem realiza qualquer outro	-/ 0

QUADRO 9 – MÉTODO DE AVALIAÇÃO DO RISCO DE VÍES DOS ARTIGOS INCLUIDOS NA REVISÃO

Domínio de viés	Descrição do viés	Risco de julgamento tendencioso	Avaliação/ Pontuação
	terem comparações com amostras controle ou experimentos sem contaminação artificial	procedimento que padronize a contaminação da amostra para uma comparação adequada entre a intervenção	
		Baixo - Comparação de referências com controle ou utiliza contaminação artificial da amostra.	+ / 2
		Incerto: O estudo carece de informações suficientes para permitir avaliação em outras categorias.	? / 1
Viés de detecção	Os resultados podem ter baixa credibilidade devido à utilização de metodologia inadequada ou não validada ou que apresente forte risco de viés para o analista.	Alto – Utiliza metodologia não validada ou desinformada ou modificação de metodologia sem validação. Utiliza método de detecção validado, mas tem influência subjetiva do analista (por exemplo, microscopia).	- / 0
		Baixo - Utiliza detecção imunoenzimática ou molecular (como PCR) ou método automatizado independente do viés do analista ou o resultado é produzido por mais de um analista de forma independente ou o estudo teve cegamento das amostras analisadas	+ / 2
		Incerto: O estudo carece de informações suficientes para permitir avaliação em outras categorias.	? / 1
Viés de publicação	Apresenta viés no relato seletivo dos resultados ou resultados indiretos da intervenção na amostra	Alto: Apresenta apenas dados positivos da intervenção, sem citar casos que não surtiram o efeito esperado.	- / 0
		Baixo: Descreve todos os resultados, incluindo os resultados esperados (positivos) e inesperados (efeitos nulos) dos processos de intervenção.	+ / 2
		Incerto: O estudo carece de informações suficientes para permitir avaliação em outras categorias.	? / 1

FONTE: Adaptado de Maia et al. (2023)

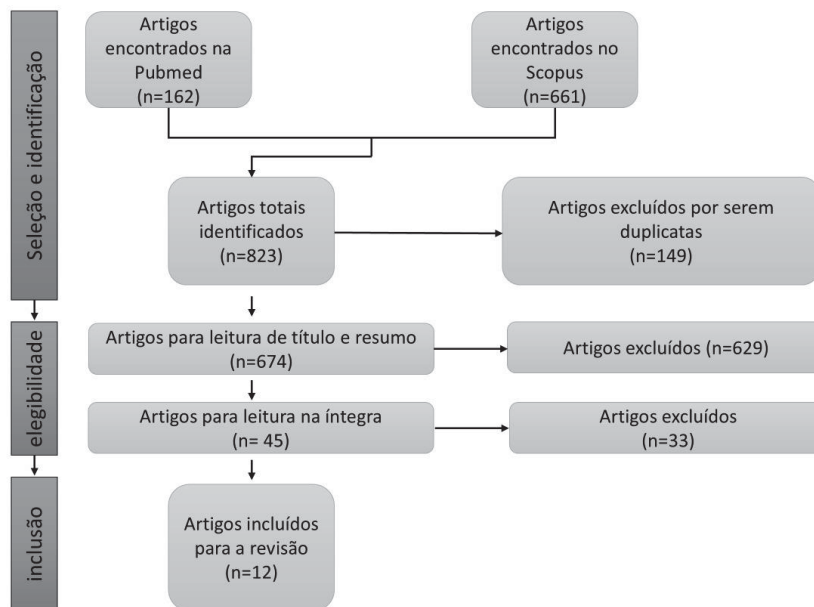
Os artigos que foram avaliados como apresentando baixo risco em cada domínio receberam uma avaliação positiva (+) com uma pontuação de 0. Aqueles que foram classificados com alto risco receberam uma avaliação negativa (-) com uma pontuação de 2. Quando não foi possível obter uma avaliação precisa, eles foram categorizados como incertos (?) e receberam uma pontuação de 1. Posteriormente, a pontuação atribuída a cada artigo foi utilizada para avaliar o risco geral de viés dos artigos. Portanto, a metodologia dos artigos foi classificada como "Baixo risco" quando a pontuação atribuída variava de 7 a 10, como "Incerto" na

faixa de 3 a 6 e como "Alto risco" quando a pontuação estava entre 0 e 2 (MAIA et al., 2023).

### 3 RESULTADOS

Após estratégia de busca nos bancos de dados Pubmed e Scopus foram encontrados respectivamente 162 e 661 artigos, totalizando 823. Entretanto, 149 artigos foram excluídos por serem duplicatas. Portanto, após a leitura dos títulos e resumos de 674 artigos, 45 foram selecionados para leitura na íntegra, dos quais apenas 12 foram incluídos na revisão, conforme ilustrado na FIGURA 7.

FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE SELEÇÃO DOS ARTIGOS



FONTE: Adaptado de Moher et al. (2009).

O resultado da avaliação dos estudos que testaram a eficácia da glicina 1M (pH 5,5) em diferentes matrizes alimentares estão no QUADRO 10.

QUADRO 10 – EFICÁCIA DA GLICINA NA RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS EM VEGETAIS FOLHOSOS

Amostra	Parasito avaliado	Concentração do inóculo (nº de formas parasitárias)	Método de extração física	Método de concentração	Método de purificação e identificação	% de remoção	Tipo de estudo	Autor
Alface (30g)	Oocistos de <i>Cryptosporidium parvum</i>	100	Agitação orbital, giratório, Agitação em stomacher e Pulsação	Centrifugação	IMS e Microscopia epifluorescente	59,0 ± 12,0	Experimental	Cook et al., 2006a
Alface (30g)	Oocistos de <i>Cryptosporidium parvum</i>	4 níveis diferentes (100; 8,5-14,2; 53,5-62,6; 111,3-135,0)	Agitação em Stomacher	Centrifugação	IMS e Microscopia epifluorescente	23,9 a 53,7	Validação Inter laboratorial	Cook et al., 2006b
Alface (30g); Alface Romana (150g); Coração de alface romana (150g); Alface americana (70g); Mix de quatro folhas (100g); Saladas de ervas orgânicas (50g); Salsa crespá (30g); Salada de agrião, espinafre e rúcula orgânica (50g); Salada de louro orgânica (50g)	Cistos de <i>Giardia duodenalis</i> e Oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	100	Agitação em Stomacher	Centrifugação	IMS e Microscopia epifluorescente	13 a 65	Experimental	Cook et al., 2007

QUADRO 10 – EFICÁCIA DA GLICINA NA RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS EM VEGETAIS FOLHOSOS

Amostra	Parasito avaliado	Concentração do inóculo (nº de formas parasitárias)	Método de extração física	Método de concentração	Método de purificação e identificação	% de remoção	Tipo de estudo	Autor
Espinafre (25g)	Oocistos de <i>Cryptosporidium parvum</i> .	3,0- 5,0 x 10 <sup>6</sup>	Agitação em rocker	Centrifugação	Hemocitômetro e microscopia de fluorescência	50,3	Experimental	Shields; Lee; Murphy, 2012.
Manjerição (30g)	Oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i> e <i>Cryptosporidium parvum</i> e cisto de <i>Giardia intestinalis</i>	2 níveis diferentes para <i>T. gondii</i> (33 e 408) e 1 nível para <i>C. parvum</i> e <i>G. intestinalis</i> (408)	Mesa vibratória	Centrifugação	IMS + Microscópio Fluorescente e IMS + qPCR	0,2 a 35	Experimental	Hohweyer, 2016
Coentro (35g), Endro (35g), Hortelã (35g) e Salsinha (35g)	Oocistos de <i>Eimeria papillata</i>	4 níveis diferentes (156, 312, 625 e 1250)	Agitação em Stomacher	Centrifugo-flutuação (Flotação de Sheather)	qPCR	5 a 17,5	Experimental	Lalonde et al., 2016
Alface (30g)	Ovos de <i>Ascaris suum</i> , Ovos de Ancylostomídeos e Larvas de <i>Ancylostoma ceylanicum</i>	5 níveis diferentes para ovos de <i>A. suum</i> (5, 11, 20, 50 e 100), Ovos de Ancylostomídeos (6, 12, 20, 50 e 100) e larvas de <i>Ancylostoma ceylanicum</i> (3, 6, 10, 25 e 50)	Agitação manual em sacos plásticos	Sedimentação e centrifugação	Microscopia óptica	0 a 117,7	Experimental e Interlaboratorial	Matosinhos et al., 2016
Repolho (200g) e Alface (200g)	Cistos de <i>Giardia</i>	10	Agitação em Stomacher e Agitação mecânica	Centrifugação	Microscopia óptica	11,1 a 46,6	Experimental	Hernández-Arango et al., 2019

QUADRO 10 – EFICÁCIA DA GLICINA NA RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS EM VEGETAIS FOLHOSOS

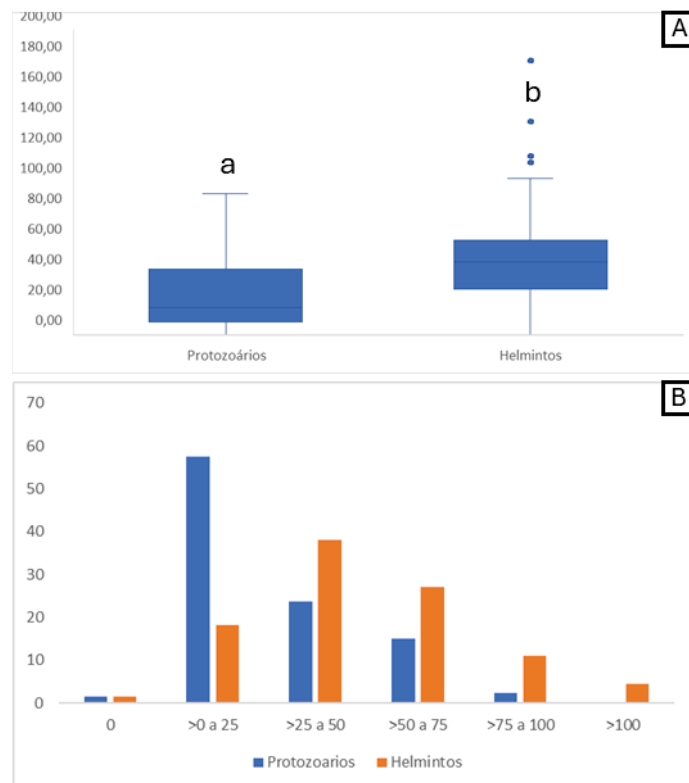
Amostra	Parasito avaliado	Concentração do inóculo (n° de formas parasitárias)	Método de extração física	Método de concentração	Método de purificação e identificação	% de remoção	Tipo de estudo	Autor
Espinafre (30g)	Oocistos de <i>Cryptosporidium parvum</i>	100	Manual e com pás (Paddle-beating)	Centrifugação	Microscopia de fluorescência	6,5	Experimental	Razakandrainibe et al., 2020
Repolho (20g a 30g)	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> e <i>Giardia</i>	Não informado	Não informado	Centrifugação	Microscópio para smartphone, Microscópio de campo claro e Microscópio de fluorescência	10,2 a 40,2	Centrifugação	Shereshta et al., 2020
Alface (30g) e Rúcula (30g)	Ovos de <i>Ascaris suum</i>	350	Agitação manual em sacos plásticos	Sedimentação e centrifugação	Microscopia óptica	15,4 a 102,8	Validação Interlaboratorial	Pineda et al., 2021
Alface (10g)	Ovos de <i>Ascaris suum</i>	197	Agitação manual em sacos plásticos	Sedimentação e centrifugação.	Microscopia óptica	41,9	Experimental	Silveira et al., 2023

FONTE: A autora (2025).

Dos 12 estudos analisados, foram realizados 264 experimentos que variaram em relação ao tipo e às formas parasitárias utilizadas, a quantidade de amostra e ao vegetal examinado, à concentração do inóculo, bem como ao método de extração, concentração e identificação dos parasitos.

A eficácia geral da glicina considerando todos os estudos e experimentos foi de 38,05%, sendo o resultado mínimo 0% e o máximo 180%. Ao classificar as estruturas parasitárias por classe de parasitos (FIGURA 8), observou-se uma maior eficácia de recuperação para helmintos em comparação com protozoários (U = 12867,000,  $p < 0,001$ ) (FIGURA 8A).

FIGURA 8 – REMOÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5) POR CLASSE DE PARASITOS (PROTOZOÁRIOS VS. HELMINTOS)



FONTE: A autora (2025)

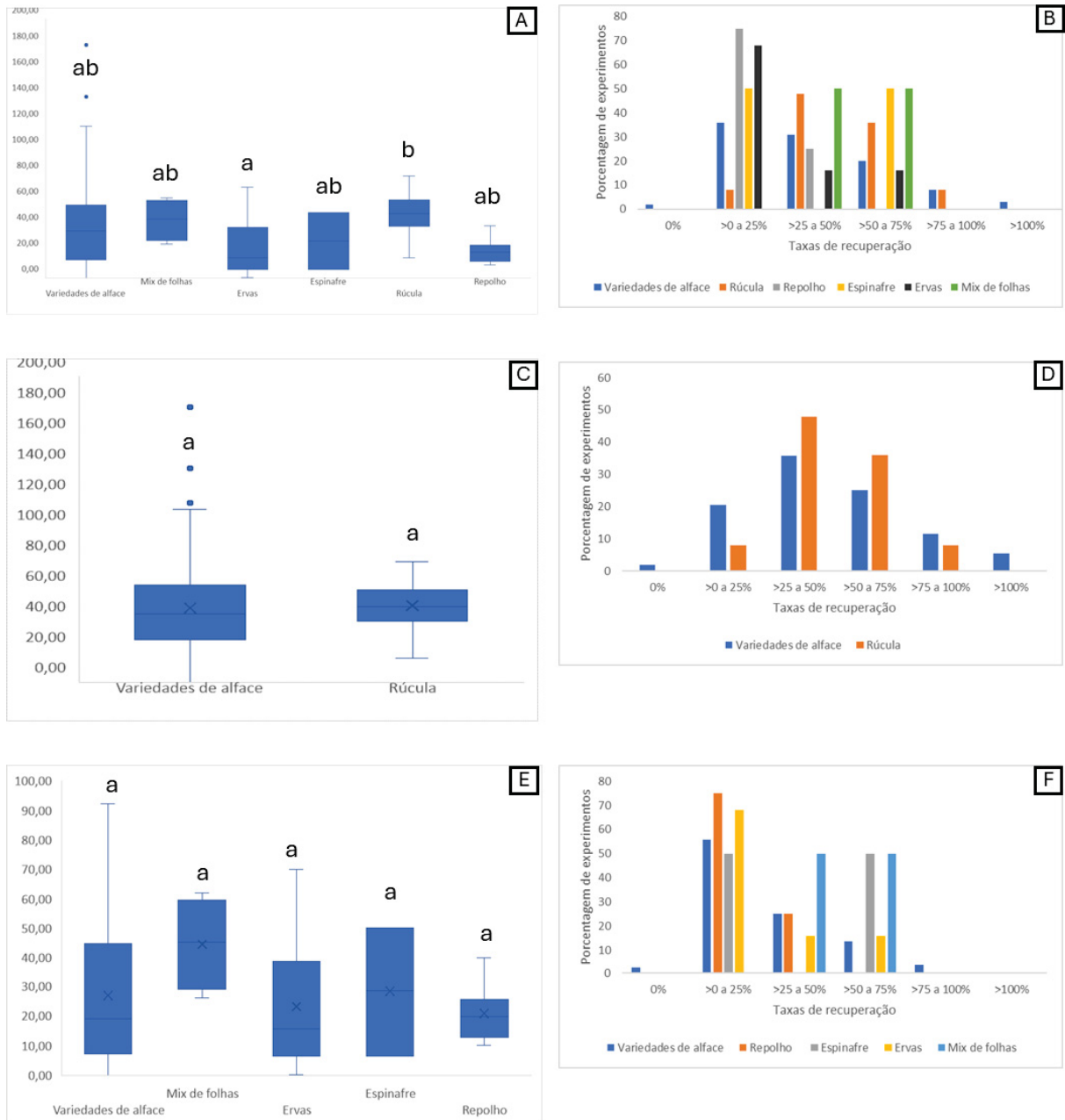
LEGENDA: (A) porcentagem de remoção de estruturas parasitárias de protozoários e helmintos. letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa entre as classes (teste U de Mann-Whitney;  $p = 0,05$ ). (B) frequência relativa das observações por faixas de remoção (%): 0; >0–25; >25–50; >50–75; >75–100; >100, para protozoários e helmintos.

Adicionalmente, ao examinar as taxas de frequência relativa (FIGURA 8B), mais de 50% dos experimentos com protozoários apresentaram recuperação na faixa de >0% a 25%. Em contraste, para helmintos, quase 40% dos experimentos registraram uma porcentagem de recuperação entre 25% e 50%.

A quantidade de amostra de alimento utilizada nas análises variou de 10g a 150g, sendo que a quantidade mais frequente utilizada foi de 30g (226 experimentos, 7 estudos). Para os helmintos, todos os estudos utilizaram 30g com exceção de 1 estudo (Silveira et al., 2023). Entretanto, não foram encontradas correlações significativas ( $p > 0,050$ ) entre a quantidade de amostra utilizada e a eficácia de recuperação dos parasitos dos vegetais, considerando ambas as classes e individualmente para protozoários e helmintos.

No total, foram avaliados 10 tipos de vegetais individualmente e 4 misturas de vegetais folhosos, sendo a alface e suas variedades o alimento mais analisado (200 experimentos, representando 58,3% do total). Para realizar as análises estatísticas, as variedades de alface foram agrupadas em um único grupo, assim como as ervas e saladas que continham mais de uma folha de vegetal (FIGURA 9). Dessa forma, a eficácia de recuperação de estruturas parasitárias parasitárias, considerando protozoários e helmintos, apresentou uma diferença significativa entre os cinco grupos analisados [ $\chi^2(5) = 19,314$ ;  $p < 0,05$ ;  $n=264$ ], sendo a única diferença significativa observada entre rúcula e ervas. Ao considerar individualmente os grupos de protozoários e helmintos, não foram encontradas diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ). Ao examinar as taxas de frequência relativa de recuperação por tipo de vegetal (FIGURA 9A), tanto no total quanto individualmente por classes de parasitos, observa-se que um mesmo vegetal, como a alface, apresentou variações significativas nas taxas de recuperação de estruturas parasitárias, que oscilaram de 0% a mais de 100%.

FIGURA 9 – RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM USO DE SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5), POR TIPO DE VEGETAL E POR CLASSE DE PARASITOS



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: (A) Porcentagem de recuperação de estruturas parasitárias, agregando protozoários e helmintos, por tipo de vegetal; (B) Distribuição percentual das observações por faixas de recuperação (%) correspondente a (A); (C) Porcentagens de recuperação de helmintos por tipo de vegetal; (D) Distribuição percentual por faixas de recuperação (%) correspondente a (C); (E) Porcentagens de recuperação de protozoários por tipo de vegetal; (F) Distribuição percentual por faixas de recuperação (%) correspondente a (E). Letras diferentes indicam diferença significativa entre tipos de vegetais (Kruskal–Wallis;  $p < 0,05$ ).

Os níveis de concentração dos inóculos utilizados variaram entre os estudos e entre experimentos dentro de um mesmo estudo. Em particular, os estudos de Cook

et al. (2006b) e Matosinhos et al. (2016) testaram diferentes níveis de inóculos de parasitos das classes dos protozoários e helmintos, respectivamente, além de validarem o protocolo entre laboratórios. Portanto, esses níveis (QUADRO 11) foram utilizados como base para analisar os dados de outros artigos incluídos na revisão.

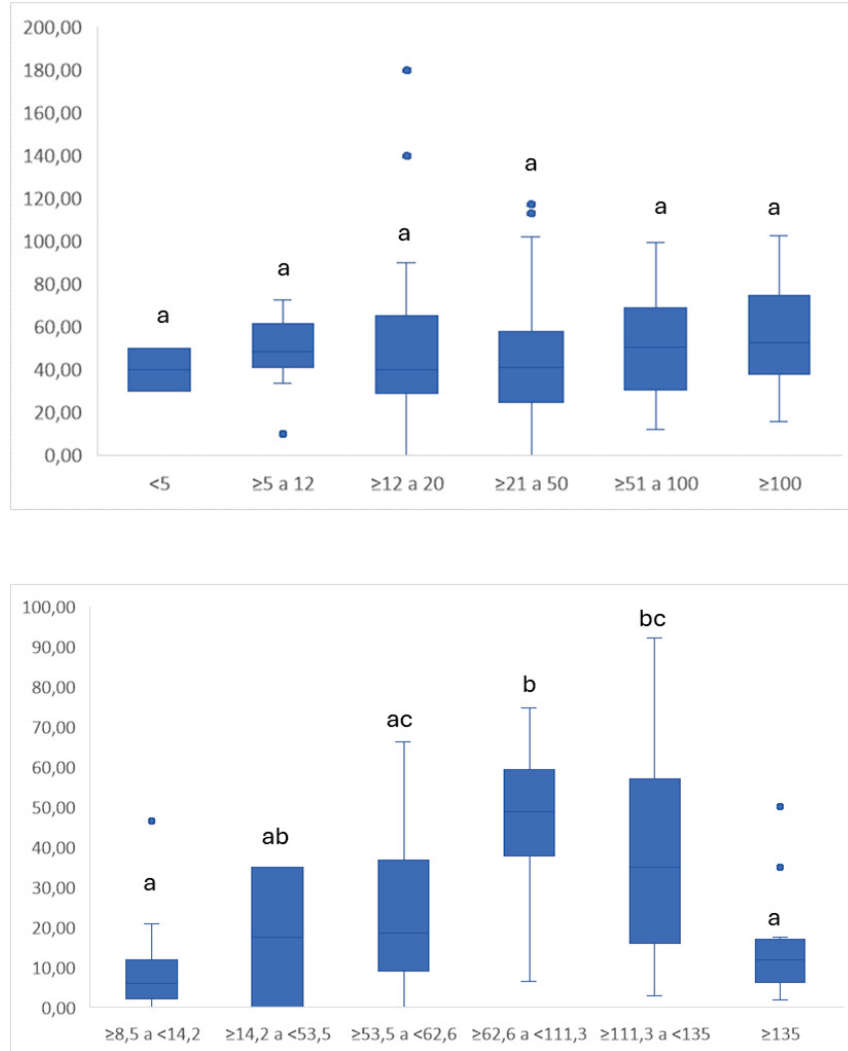
QUADRO 11 – NÍVEIS DE CONCENTRAÇÕES DE INÓCULOS UTILIZADOS COMO REFERÊNCIA PARA A ANÁLISE DOS ARTIGOS

Níveis/grupos de inóculos	Classe de parasitos	
	Protozoários	Helmintos
1	>8,5 a 14,2	≤5
2	>14,2 a 53,5	>5 a 12
3	>53,5 a 62,6	>12 a 20
4	>62,6 a 111,3	>20 a 50
5	>111,3 a 135	>51 a 100
6	>135	>100

FONTE: A autora 2025.

Para os protozoários, os níveis de concentração que apresentaram as maiores medianas de recuperação foram os dos grupos 4 (49%), 5 (34,94%) e 3 (18,66%) (FIGURA 10B). No entanto, as diferenças estatísticas significativas [ $X^2(5) = 51,192$ ;  $p < 0,001$ ;  $n = 121$ ] foram observadas apenas entre os grupos 1 e 5, 1 e 4, 5 e 6, e 4 e 6. Para helmintos, o grupo que apresentou a maior mediana de recuperação foi o grupo 6 (52,3%), seguido pelo grupo 5 (50,5%) (FIGURA 10A). Os demais grupos apresentaram medianas de recuperação inferiores a 50%. No entanto, nenhum grupo se diferenciou estatisticamente dos demais ( $[X^2(5) = 4481$ ;  $p > 0,05$ ;  $n = 137]$ ).

FIGURA 10 – REMOÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5), POR FAIXAS DE CONCENTRAÇÃO DO INÓCULO



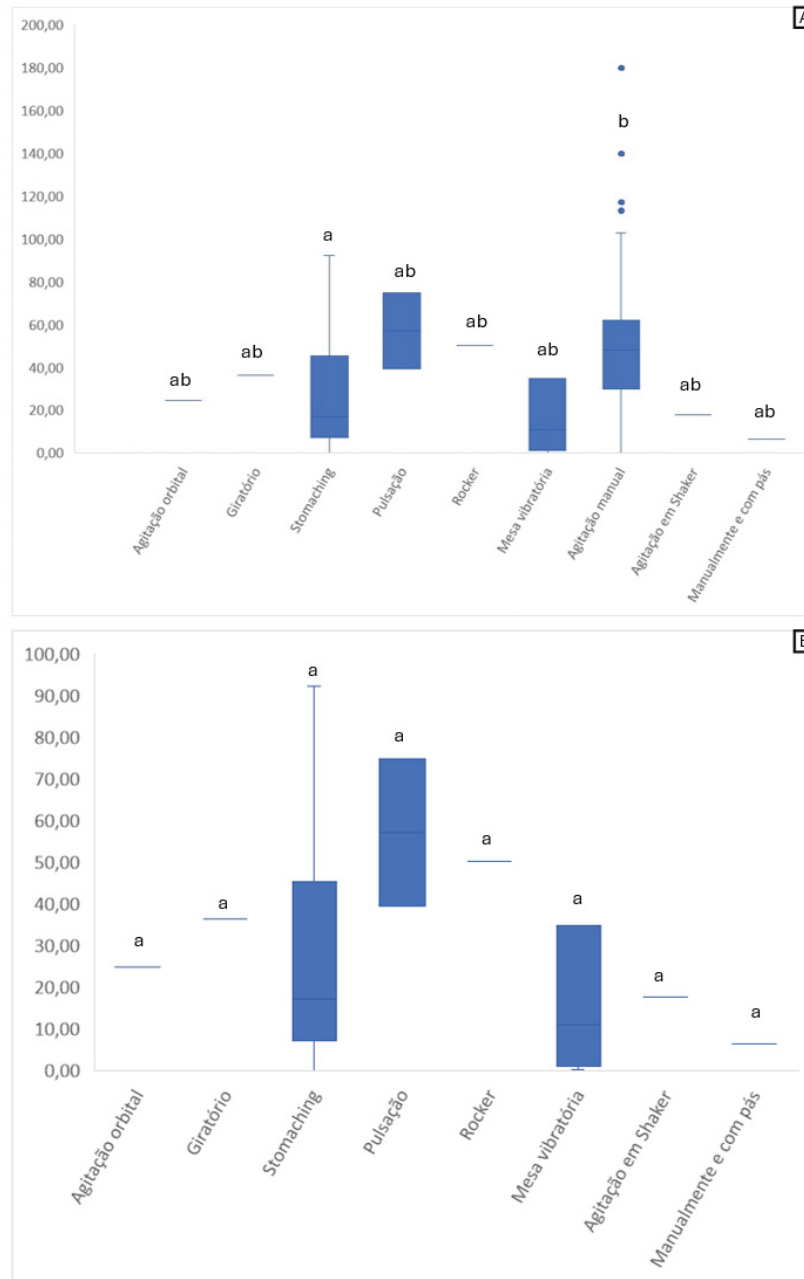
FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: (A) Porcentagem de remoção de helmintos tratados com solução de glicina, por faixas de concentração do inóculo. (B) Porcentagem de remoção de protozoários tratados com solução de glicina, por faixas de concentração do inóculo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre faixas (Kruskal–Wallis;  $p < 0,05$ ).

Por fim, ao considerar apenas os experimentos que relataram níveis fixos de concentração do inóculo ( $n=185$ ) e não entre uma faixa de concentração, a análise de correlação entre a concentração do inóculo e a eficácia de recuperação para as duas classes de parasitos e somente para a classe de helmintos não foi significativa. Entretanto para a classe dos protozoários, a correlação dessas variáveis foi negativa, moderada e significativa ( $\rho = -0,463$ ;  $p < 0,05$ ;  $n=48$ ).

O método mais utilizado para auxiliar na remoção dos parasitas, em combinação com a glicina, foi a agitação manual (53,1%; n=137), seguida pelo uso do Stomacher (41,9%; n=108) e da mesa vibratória (1,9%; n=5). A agitação em rocker, a agitação mecânica, a agitação orbital, a agitação giratória, a pulsação e a combinação de agitação manual com pás somaram, juntas, 2,7% (n=7) (FIGURA 11). Entre os métodos de extração analisados, considerando as duas classes de parasitos, observou-se uma diferença estatisticamente significativa na eficácia de recuperação apenas entre os métodos de stomacher e agitação manual ( $\chi^2(7) = 49371$ ;  $p < 0,001$ ;  $n = 258$ ) (FIGURA 11A). Os métodos que apresentaram as maiores medianas de remoção foram pulsação (57,3%), rocker (50,3%) e agitação manual (48,4%). É importante destacar que, para as estruturas parasitárias de helmintos, o único método de extração utilizado foi o de agitação manual (n = 137) e no caso dos protozoários, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) (FIGURA 11B).

FIGURA 11 – REMOÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM USO DE SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5), POR TÉCNICA DE EXTRAÇÃO.



FONTE: A autora (2025)

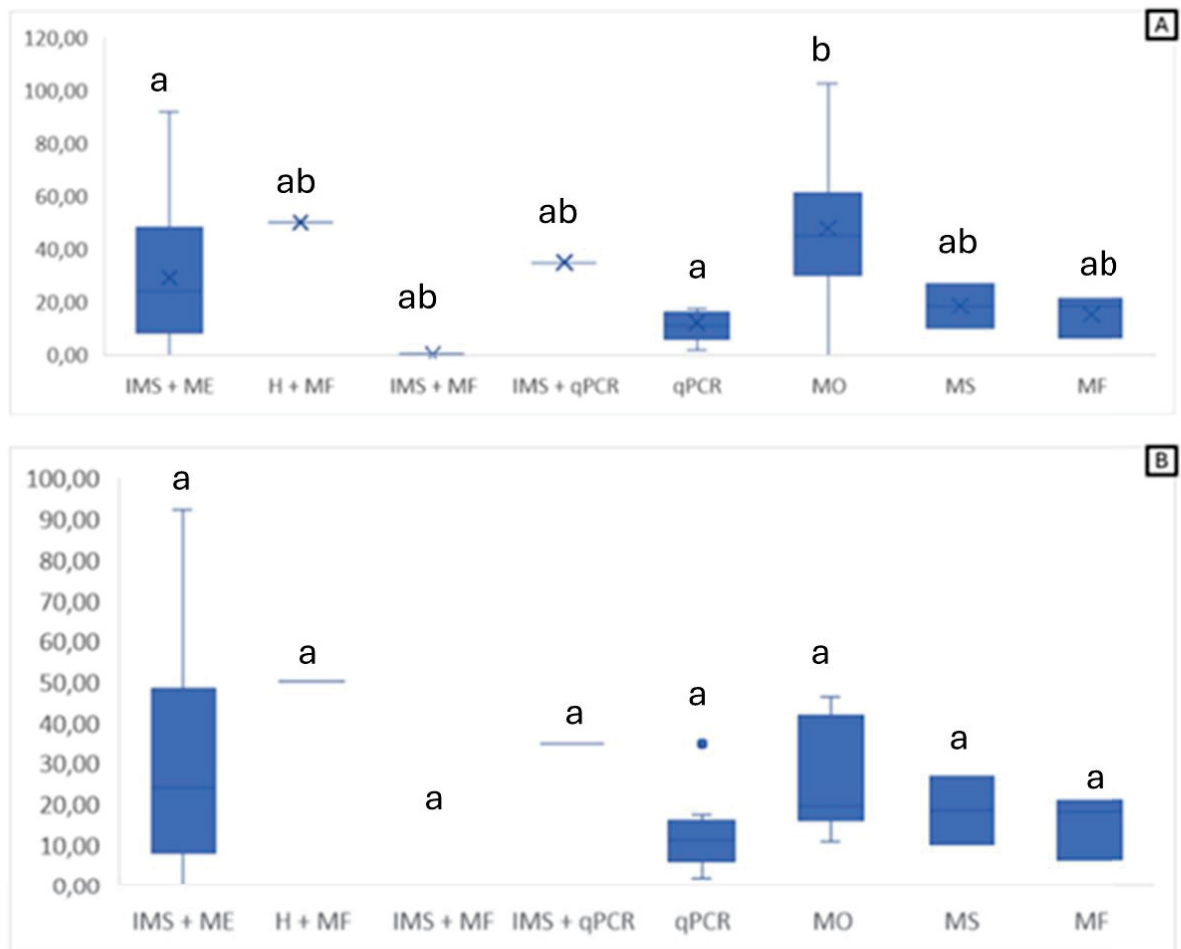
LEGENDA: (A) Porcentagem de remoção de estruturas parasitárias (protozoários + helmintos) por técnica de extração; (B) Porcentagem de remoção de protozoários por técnica de extração. Estatística: letras diferentes indicam diferença significativa entre técnicas (Kruskal–Wallis;  $p < 0,05$ ).

O tempo de remoção utilizado nos experimentos variou de 0,5 a 30 min. Para helmintos, todos os experimentos utilizaram 3 min ( $n = 137$ ). Para protozoários, o tempo de remoção mais frequente foi de 1 min ( $n = 100$ ). Ao correlacionar o tempo de extração com a eficácia de remoção dos parasitos, considerando ambas as classes, observou-se correlação positiva, fraca, porém significativa ( $\rho = 0,335$ ;  $p <$

0,001; n = 257). Considerando apenas os protozoários, não foi encontrada correlação significativa ( $\rho = 0,001$ ;  $p = 0,996$ ; n = 120).

Entre os métodos de detecção e visualização utilizados nos experimentos, o que apresentou a maior mediana foi o método que utilizou hemocítmetro e microscopia de fluorescência (50,3%), seguido pela microscopia óptica (45%) e IMS combinado com qPCR (35%) (FIGURA 12). Entretanto, apenas IMS combinado com microscopia epifluorescente e microscopia óptica, e qPCR e microscopia óptica foram estatisticamente diferentes ( $\chi^2(7) = 52417$ ;  $p < 0,001$ ; n = 264]). Para protozoários, os modos de detecção não apresentaram diferença estatísticas entre si (FIGURA 12B), e para helmintos, somente foram utilizados o método de microscopia óptica.

FIGURA 12 – REMOÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS (%) COM USO DE SOLUÇÃO DE GLICINA (1M, pH 5,5), POR TÉCNICA DE DETECÇÃO/VISUALIZAÇÃO.



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: (A) Porcentagem de remoção agregando protozoários e helmintos; (B) Boxplots da porcentagem de remoção de protozoários; IMS + ME = separação imunomagnética + microscopia de epifluorescência; H + MF = hemocitômetro + microscopia de fluorescência; IMS + MF = separação imunomagnética + microscopia de fluorescência; IMS + qPCR = separação imunomagnética + qPCR; qPCR = reação em cadeia da polimerase em tempo real; MO = microscopia óptica (campo claro); MS = microscópio para smartphone; MF = microscopia de fluorescência. Letras diferentes indicam diferença significativa entre técnicas (Kruskal–Wallis;  $p < 0,05$ ).

Por fim, no que diz respeito à análise da metodologia, a maioria dos estudos (91,67%) apresentou baixo risco de viés, conforme apresentado na QUADRO 12 e evidenciado na Figura 13. Notavelmente, os domínios de viés de seleção e detecção exibiram os mais significativos níveis de incerteza.

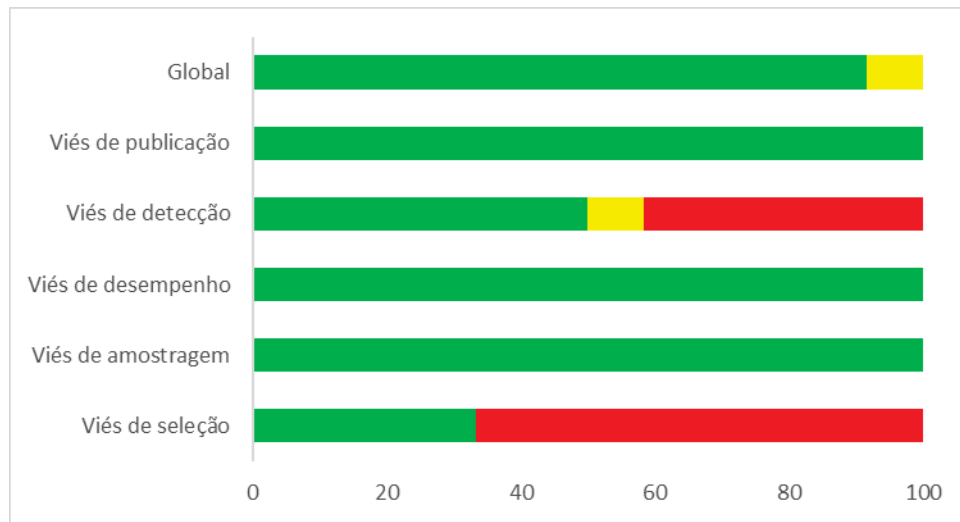
QUADRO 12 – AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DO RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS ÍNCLUIDOS NA REVISÃO

Autor	Viés de seleção		Viés de amostragem		Viés de desempenho		Viés de detecção		Viés de publicação		Global	
	-	0	+	2	+	2	-	0	+	2	+	8
COOK et a., 2006a	-	0	+	2	+	2	-	0	+	2	+	8
COOK et a., 2006b	+	2	+	2	+	2	+	2	+	2	+	10
COOK et al., 2007	-	0	+	2	+	2	+	2	+	2	+	8
SHIELDS; LEE; MURPHY, 2012.	-	0	+	2	+	2	-	0	+	2	+	8
HOHWEYER et al., 2015	-	0	+	2	+	2	+	2	+	2	+	8
LALONDE et al., 2016	-	0	+	2	+	2	+	2	+	2	+	8
MATOSINHOS et al., 2016	+	2	+	2	+	2	+	2	+	2	+	8
HERNÁNDEZ-ARANGO et al., 2019	+	2	+	2	+	2	?	1	+	2	+	10
SHERESTHA et al., 2020	-	0	+	2	+	2	-	0	+	2	+	8
RAZAKANDRAINIBE et al., 2020	-	0	+	2	+	2	-	0	+	2	+	8
PINEDA et al., 2021	+	2	+	2	+	2	+	2	+	2	+	8
SILVEIRA et al., 2023	-	0	+	2	+	2	-	0	+	2	?	6

FONTE: A autora (2025)

LEGENDA: verde = baixo risco; amarelo = risco incerto/moderado; vermelho = alto risco. Símbolos: “+” = baixo risco/critério atendido; “-” = alto risco/critério não atendido; “0” = não aplicável; “?” = informação insuficiente.

FIGURA 13 – AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS ÍNCLUIDOS NA REVISÃO



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: verde = baixo risco; amarelo = risco incerto/moderado; vermelho = alto risco.

## 4 DISCUSSÃO

Um método convencional de identificação de microrganismos deve ser considerado simples, resistente, robusto, confiável, ágil e prático. Muitas abordagens publicadas para a detecção das fases transmissíveis de parasitas em alimentos frequentemente derivam de modificações de métodos previamente divulgados, adaptando etapas e reagentes (Cook et al., 2006).

Entretanto, o êxito de qualquer procedimento voltado para a identificação de parasitas em produtos agrícolas está intrinsecamente ligado a uma etapa inicial de lavagem eficaz, a fim de assegurar a extração dos parasitos dos alimentos (Frey et al., 2019).

Com esse intuito, e a fim de colaborar para a detecção de protozoários em hortaliças folhosas, Cook e colaboradores (2006a) utilizaram uma série de experimentos para avaliar diferentes etapas do processo de detecção, incluindo o processo de remoção de oocistos de *C. parvum* a partir das amostras de alimentos. Entre as soluções extratoras, de dissociações ou surfactantes testadas, os autores analisaram a solução de glicina em diferentes pHs. Como resultado, identificaram que a glicina em pH 5,5 apresentaram os melhores resultados sem afetar a leitura das amostras. Em adição, o estudo concluiu que a combinação de um método de extração, utilizando glicina (1M, pH 5,5) com o uso de um kit de imunofluorescência direta (IFD) foi a melhor estratégia para a detecção de *C. parvum* em amostras de alface e framboesas.

No entanto, uma vez que um método padrão deve ser validado por meio da avaliação do desempenho em vários laboratórios, Cook et al. (2006a) conduziram uma segunda pesquisa para avaliar a metodologia desenvolvida. Isso ocorreu em um estudo interlaboratorial envolvendo 8 laboratórios (Cook et al., 2006b). Utilizando amostras de alface e framboesa contaminadas artificialmente em três níveis diferentes, o método desenvolvido pelos autores demonstrou uma sensibilidade geral de 89,6% para alface, com especificidade de 85,4%.

Com base nos estudos de Cook et al. (2006a; 2006b) e de outros pesquisadores, em 2016 foi publicada uma norma ISO que recomenda o uso da glicina como solução de dissociação para a detecção e enumeração de *Cryptosporidium* e *Giardia* em vegetais folhosos frescos e frutas de baga (ISO, 2016). No entanto, até o momento, não existe um protocolo padronizado

internacionalmente para a detecção de helmintos, o que motivou Matosinhos et al. (2016) e Pineda et al. (2020) a desenvolverem e avaliarem, de forma interlaboratorial, um método para essa detecção em vegetais folhosos. Ambos os autores, seguiram algumas recomendações da ISO de 2016, incluindo o uso de glicina como solução de dissociação.

Contudo, apesar da glicina ser utilizada nas mesmas condições em todos os artigos incluídos nessa revisão sistemática (1M, pH 5,5), observa-se entre os estudos, diferenças nos métodos de análise em todas as etapas da análise parasitológica que compreende a extração, concentração, isolamento/purificação e identificação.

A extração das formas parasitárias das superfícies dos alimentos normalmente é realizada por força mecânica por meio de equipamentos como agitador orbital, banho em ultrassom, stomacher, pulsador e até mesmo agitação manual (Franssen et al., 2019). A maioria dos estudos incluídos na revisão utilizou o stomacher ou agitação manual. Um dos problemas dessa fase é garantir uma eficiente extração sem que haja danificação das amostras. Cook et al. (2006) apontaram que o uso do stomacher resultou em menor deterioração das amostras. Por outro lado, Matosinhos et al. (2016) indicaram que a agitação manual resultou em menor deterioração das amostras, além de ter obtido uma maior taxa de recuperação em comparação com outros métodos.

Durante a etapa de concentração, também houve divergência na metodologia dos estudos. Essa fase foi conduzida por sedimentação espontânea e/ou centrifugação. A primeira depende da densidade dos ovos e da taxa de sedimentação. Entretanto, Matosinhos et al. (2016) não encontraram diferenças significativas na taxa de recuperação de ovos de *Ascaris suum*, mesmo ao testar diferentes tempos de sedimentação. A concentração por centrifugação é realizada em velocidades (forças gravitacionais) que permitem que os ovos se depositem no fundo do recipiente. A centrifugação foi utilizada em todos os estudos incluídos nesta revisão; entretanto, houve divergências quanto à velocidade aplicada e ao número de rodadas efetuadas. Vale destacar que nenhum dos estudos explorou experimentalmente diferentes velocidades e tempos de centrifugação.

Por fim, a etapa de visualização e identificação dos parasitos pode ser realizada por diversas técnicas, ou uma combinação delas, que variam em sensibilidade e especificidade. Métodos clássicos como a microscopia de campo

claro e de fluorescência permitem a visualização direta de parasitos. Métodos imunoenzimáticos, como ELISA, e imunológicos, como a separação imunomagnética (IMS) e a imunofluorescência direta (DFA), são amplamente utilizados para detectar antígenos ou estruturas parasitárias específicas. Avanços moleculares, como a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e LAMP (Amplificação isotérmica mediada por loop) permitem a detecção de DNA de parasitos com alta sensibilidade, sendo aplicáveis a protozoários e helmintos. Já a qPCR (PCR em tempo real) é uma variante da PCR que permite a quantificação precisa do DNA dos parasitos em tempo real, sendo utilizada para detecção quantitativa de parasitas em alimentos.

A microscopia óptica pode ser um método adequado, eficiente e de baixo custo para a detecção de helmintos, uma vez que esses parasitas produzem ovos ou larvas suficientemente grandes, com características morfológicas distintivas, visíveis ao microscópio. Por essa razão, é compreensível que a microscopia óptica tenha sido o único método escolhido pelos autores dos artigos incluídos nesta revisão, que utilizaram helmintos como modelo. Além disso, este foi o segundo método mais eficaz em termos de recuperação de parasitos quando consideradas as duas classes parasitárias.

Por outro lado, a microscopia óptica é menos eficiente para a detecção de protozoários devido ao seu pequeno tamanho, morfologia menos evidente, necessidade de colorações e concentrações específicas, além da dificuldade em distinguir os protozoários de outros componentes presentes na amostra. Portanto, métodos mais avançados ou específicos, como a PCR, em combinação com outras técnicas de purificação, são frequentemente preferidos para a identificação de protozoários.

Contudo, em todas as etapas dos métodos parasitológicos, incluindo a etapa de visualização e identificação das formas parasitárias, podem ocorrer problemas que influenciam a eficácia do método. No caso da técnica que utiliza apenas microscopia óptica, os desafios incluem a necessidade de alta experiência do analista, possíveis erros de interpretação morfológica e a baixa sensibilidade para detectar estágios iniciais de infecção ou parasitos em menor quantidade. Já nas análises que utilizam IMS e PCR, alguns problemas podem ser relacionados à contaminação cruzada, necessidade de equipamentos especializados, custo elevado e a exigência de etapas adicionais de purificação e preparação da amostra, o que pode aumentar o tempo e a complexidade do procedimento.

Com relação às amostras de vegetais, observa-se, entre os artigos, uma preferência pelo uso da alface e suas variedades como objeto de estudo. Essa escolha pode ser explicada pelo fato de esse alimento demonstrar ser o vegetal mais contaminado em diversas pesquisas ou pelo seu alto consumo pela população local dos estudos (Matosinhos et al., 2016; Pineda et al., 2020). Entretanto, apesar dos vegetais folhosos apresentarem características semelhantes, a composição da matriz é diferente, fatores que podem modificar a interação entre a glicina, os parasitos e a superfície dos vegetais.

Além disso, ainda não existe um protocolo a ser seguido para realizar experimentos de contaminação artificial, e por essa razão existem muitas variedades entre os estudos e que dificultam a comparação entre eles, como quanto ao volume do inóculo, o método de contaminação sob as folhas dos vegetais e o tempo de incubação após a contaminação (Chalmers et al., 2022). O volume do inóculo deve ser grande o suficiente para permitir a distribuição em diferentes áreas da superfície da matriz, mas não tão grande a ponto de alterar o teor de umidade do alimento ou de escorrer para fora da superfície. Para estudos de contaminação de amostras com bactérias e fungos, recomenda-se um volume de inóculo de 1% ao da porção da alface (ISO, 2016b; Chalmers et al., 2022). Para minimizar o escoamento das gotículas aplicadas nos vegetais, os parasitos devem ser cuidadosamente depositados no centro das folhas, levando em consideração ambas as faces foliares. No entanto, em alguns vegetais, a face inferior pode apresentar uma maior quantidade de estômatos em comparação à face superior. Esses estômatos podem favorecer a aderência dos parasitos, especialmente protozoários, e, portanto, devem ser considerados nos protocolos de contaminação artificial (Chalmers et al., 2022). E por fim, para que os parasitos se fixem fisicamente à matriz foliar antes dos testes, é necessário um período mínimo de 2 a 3 h, permitindo a evaporação das gotículas e a adesão de ovos ou oocistos nas folhas. Alternativamente, uma incubação prolongada durante a noite, em temperatura refrigerada, pode aprimorar essa adesão e criar condições mais realistas para certos tipos de contaminação (Chalmers et al., 2022).

É importante destacar que, para ambas as classes de parasitos, alguns experimentos, especialmente aqueles que realizaram análises inter laboratoriais e seguiram o mesmo protocolo de contaminação artificial e análise das amostras, não conseguiram recuperar nenhum parasito ou obtiveram quantidades superiores às

inicialmente inoculadas. Isso sugere possíveis problemas na reprodutibilidade do método, como erros de pipetagem, variabilidade na habilidade dos técnicos de laboratório e a presença de contaminantes nas amostras (Cook et al., 2006b; Matosinhos et al., 2016; Pineda et al., 2021).

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De modo geral, conclui-se que a glicina, na concentração de 1 M e pH 5,5, apresenta potencial para ser empregada como solução de dissociação/ remoção de larvas, ovos, cistos e oocistos de parasitos em protocolos de análise parasitológica de hortaliças folhosas. Sua utilização, entretanto, deve ser necessariamente integrada a técnicas laboratoriais adequadas, considerando-se a classe do parasito envolvido (protozoários ou helmintos), e as características intrínsecas do vegetal folhoso a ser avaliado.

**CAPÍTULO III: EFÍCACIA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ALECRIM E ORÉGANO  
COMBINADOS COM EXTRATO DE QUINOA NA REDUÇÃO DE BACTÉRIAS E  
REMOÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS EM FOLHAS DE ALFACE**

## 1 INTRODUÇÃO

A contaminação de hortaliças por parasitos é uma preocupação global crescente. Em várias regiões do mundo, a segurança alimentar tem sido desafiada pela presença de parasitos, como o *Echinococcus* sp, *Cryptosporidium* spp, *Entamoeba histolytica*, *Ascaris* spp, *Giardia duodenalis*, *Cyclospora cayetanensis*, *Trichuris trichiura*, *Balantidium coli* e *Toxocara* spp em hortaliças frescas (FAO, 2014). Esses patógenos podem contaminar as hortaliças por meio de água contaminada, solo, manipulação inadequada e higiene precária durante o cultivo, colheita e preparação de alimentos (FAO, 2014; Maia et al., 2023). A ingestão de hortaliças contaminadas por parasitas pode causar doenças gastrointestinais e constitui um risco relevante à saúde pública, especialmente em contextos com vigilância sanitária inadequada. Assim, a detecção precoce desses agentes em humanos e no ambiente, aliada à adoção de práticas agrícolas seguras e principalmente à higienização efetiva dos vegetais, é fundamental para a mitigação das parasitoses de origem alimentar (Li et al., 2020; Falcone et al., 2023; Zeynudin et al., 2024).

No entanto, a descontaminação de hortaliças para remoção de parasitas é um desafio substancial, pois estágios de transmissão resistentes, como ovos e oocistos, impedem a eliminação completa por meio da lavagem com os sanitizantes comercialmente disponíveis (Maia et al., 2023).

Além disso, alguns sanitizantes comumente usados na higienização de hortaliças, como o hipoclorito de sódio (100 a 250 ppm), geram subprodutos de desinfecção, especialmente trihalometanos (THMs) e ácidos haloacéticos, que têm sido associados principalmente ao aumento do risco de câncer de bexiga e de cânceres relacionados ao sistema endócrino. Esses compostos são formados pela reação do cloro com matéria orgânica presente nos vegetais e no meio aquoso, e sua presença eleva o risco carcinogênico em exposições crônicas, conforme revisões e estudos epidemiológicos recentes (Shi et al., 2024; Helte et al., 2025). Consequentemente, em resposta a essas preocupações relacionadas aos sanitizantes clorados, diferentes pesquisadores investigaram e demonstraram a eficácia de produtos naturais, como extratos e óleos essenciais, na redução de microrganismos em hortaliças (Féas et al., 2014; Lima; Souza, 2020). No entanto, ainda são limitados os estudos que investigaram métodos de higienização com

soluções provenientes de produtos naturais para a remoção de parasitas em vegetais consumidos crus (Silveira et al., 2023; Alfredo, 2024). Desse modo, uma alternativa promissora aos sanitizantes convencionais é o uso de substâncias naturais com propriedades surfactantes, como extratos ricos em saponinas, que podem aprimorar a descontaminação ao auxiliar na remoção de parasitas presentes sob as folhas (Azadbakht et al., 2005; Hezarjaribi et al., 2009; D'addabbo et al., 2014).

As saponinas são encontradas em uma variedade de fontes vegetais, como plantas e leguminosas. Esses compostos possuem moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas em sua estrutura, o que as torna excelentes agentes tensoativos. Isso as habilita a interagir tanto com substâncias solúveis em água quanto com aquelas que são lipossolúveis, auxiliando na remoção de resíduos (Kregiel et al., 2017; Góral; Kregiel, 2020).

Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da combinação de óleos essenciais de alecrim e orégano com extrato de quinoa (OEs + EQ) na redução de bactérias e remoção de ovos de helmintos, além de avaliar seu impacto na coloração das folhas de alface.

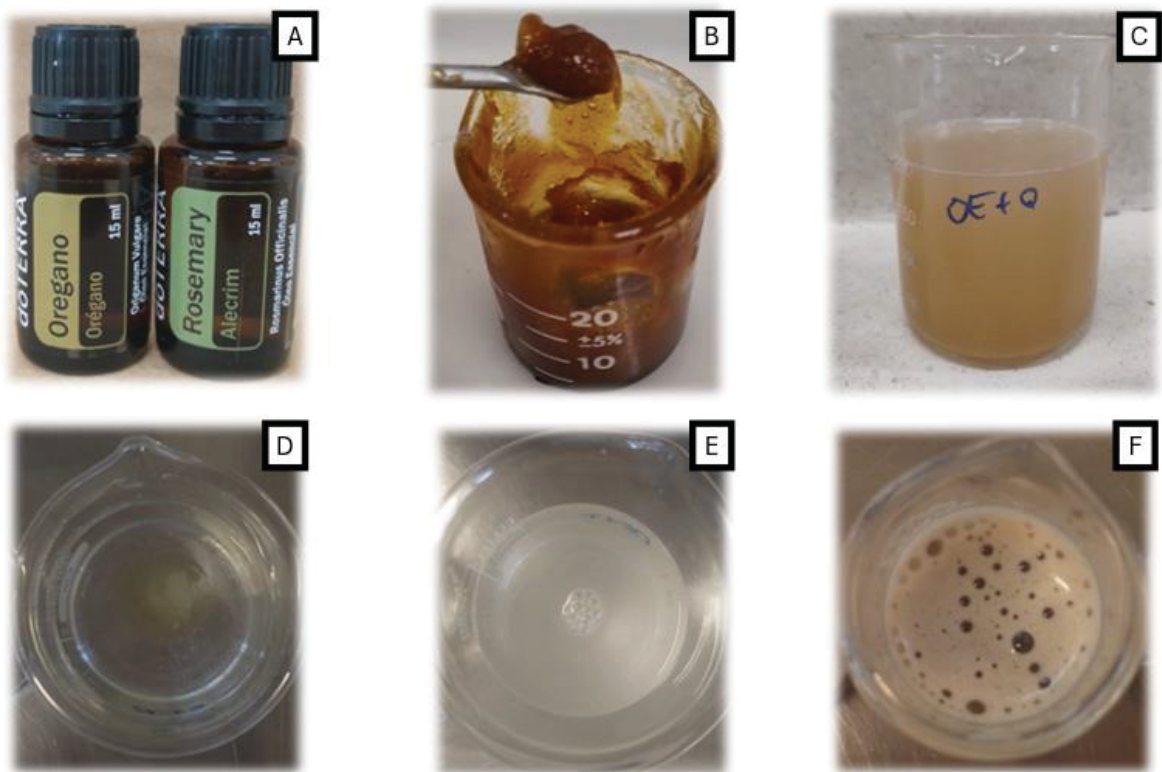
## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 OBTENÇÃO E PREPARO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS, SURFACTANTES**

Os óleos essenciais comerciais de alecrim (OEA) (Lote 3230370) e de orégano (OEO) (Lote 2221470) da marca doTerra® (Figura 14A) foram adquiridos em um estabelecimento local, garantindo a presença de números de lote e informações identificativas nas embalagens. Esses dados incluem o perfil cromatográfico das amostras, apresentado nos ANEXOS 1 e 2. De acordo com a marca, as análises cromatográficas são realizadas por laboratórios independentes, e os resultados estão disponíveis para consulta pública. O óleo essencial de alecrim apresentou, segundo o relatório do fornecedor, 1,8-cineol (43,17%), cânfora (13,33%) e  $\alpha$ -pineno (12,17%) como principais componentes. O óleo essencial de orégano (OEA) foi caracterizado por carvacrol (76,21%),  $\gamma$ -terpineno (4,28%) e linalol (4%).

O extrato de quinoa (EQ) foi preparado conforme metodologia descrita por Wojciechowski et al. (2021). Inicialmente, sementes de *Chenopodium quinoa* adquiridas em mercado local foram trituradas em processador de alimentos doméstico e, em seguida, maceradas em água destilada à temperatura ambiente (22°C), na proporção de 1:20 (m/m), por 24 horas sob repouso. Após a maceração, a suspensão resultante foi submetida a filtração sequencial: primeiramente, por peneira metálica com malha de 1 mm para remoção de partículas grosseiras; posteriormente, o filtrado foi passado por papel de filtro qualitativo (Whatman nº 1, porosidade ~11 µm) acoplado a funil de vidro, sob filtração gravitacional, para eliminar sólidos finos em suspensão. Por fim, o extrato clarificado foi concentrado em rotoevaporador sob pressão reduzida (FIGURA 14B).

FIGURA 14 – SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS APLICADAS EM ALFACE PARA AVALIAÇÃO DA REDUÇÃO DE MICRORGANISMOS E REMOÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: (A) Óleos essenciais de orégano e alecrim da marca doTERRA®; (B) Extrato bruto de quinoa; (C) Mistura dos óleos essenciais com extrato de quinoa antes da homogeneização; (D) Mistura dos óleos essenciais com Tween 20 antes da homogeneização; (E) Mistura dos óleos essenciais com Tween 20 após homogeneização; (F) Mistura dos óleos essenciais com extrato de quinoa após homogeneização, evidenciando formação de espuma estável.

## 2.2 OBTENÇÃO E PREPARO DAS SUSPENSÕES BACTERIANAS E DE OVOS DE HELMINTOS.

Suspensões de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e *E. coli* ATCC 8739 foram obtidas de colônias isoladas, com crescimento em ágar por 24 h, que foram transferidas para tubos de ensaio contendo água salina estéril. Em seguida, cada suspensão dos patógenos foi padronizada, com o uso de turbidímetro, à escala 0.5 de Mc Farland (VEIGA, 2016). Esse nível de inóculo foi utilizado nos ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM) (item 2.4 deste capítulo) e nos experimentos microbiológicos do item 2.5, que avaliaram o efeito combinado de OEs + EQ na redução de bactérias sob folhas de alface.

Para a obtenção de uma suspensão purificada de ovos de helmintos, fêmeas adultas de *Toxocara canis*, obtidas de cães parasitados, foram dissecadas de acordo com o método de Jensen et al. (2008). Resumidamente, o útero da fêmea de *T. canis* foi removido, e aberto para a separação dos ovos, realizada por meio do pressionamento do órgão. Em seguida, o material obtido foi lavado por centrifugação (1250 xg / 5 min) e armazenado sob refrigeração (4°C) em uma solução de água mineral e formalina (3%), resultando em uma suspensão estoque.

Para a quantificação de ovos da suspensão estoque, agitou-se a amostra em vórtex por 2 min e transferiram-se alíquotas de 10 µL para lâminas de vidro. A leitura e contagem foram realizadas em microscopia óptica em 10 lâminas, percorrendo-se sistematicamente toda a área da lamínula. (Pineda et al. 2021). Obteve-se uma média de aproximadamente 109 ovos/ 10 µL (TABELA 1).

TABELA 1 – CONTAGEM EM LÂMINAS DE OVOS DE *Toxocara canis* PARA O PREPARO DO INÓCULO

Lâmina	Número de ovos
1	114
2	109
3	101
4	111
5	105
6	104
7	105
8	123
9	113
10	104
Média ± DP	108,9 ± 6,6

FONTE: A autora (2025).

Desse modo, para preparar a solução de uso (inóculo) contendo 109 ovos de *T. canis*, adicionaram-se 10 µL da suspensão estoque a 90 µL de água destilada em um microtubo, totalizando 100 µL.

### 2.3 OBTENÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS DE FOLHAS DE ALFACE

Alface crespa (*Lactuca sativa*) convencional *in natura* e Alface crespa convencional minimamente processadas foram adquiridas em um comércio varejista da cidade de Curitiba – PR (Brasil). Alface crespa *in natura* (aproximadamente 3 cabeças por repetição) foram utilizadas para os experimentos de contaminação natural, e alfaces comerciais minimamente processadas (1 pacote contendo 100g por repetição) foram utilizadas nos experimentos de contaminação artificial microbiológico e parasitológico. Ambos os tipos de alface, após serem adquiridas nos comércios locais da cidade de Curitiba-PR foram armazenadas sob refrigeração a  $4 \pm 2$  °C por aproximadamente 2 h até o início dos experimentos (Silva et al., 2007). A alface foi escolhida para os experimentos por ser um dos vegetais mais consumidos mundialmente, frequentemente ingerido cru, e por estar comumente associada a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) (Elias et al., 2019; Lozano et al., 2021; Qin et al., 2025). Além disso, é amplamente empregada em estudos que avaliam a eficácia de sanitizantes novos ou já existentes, por ser um modelo representativo desses riscos (Féas et al., 2014; Elias; Noronha; Tondo, 2019; Matosinhos et al., 2016; Pineda et al., 2021).

### 2.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MINIMA

O experimento foi conduzido em placas de Elisa estéreis contendo 96 orifícios de fundo redondo, onde foi inserido 100 µL de caldo Mueller Hinton. Nos poços da primeira linha adicionou-se 100 µL das soluções a serem testadas, que foram diluídas em série, transferindo 100 µL do primeiro poço para o poço da linha seguinte, sucessivamente até a última linha. A alíquota retirada do último poço foi descartada, para que todos eles apresentassem o mesmo volume. Posteriormente, foram adicionadas os 10 µL das cepas bacterianas (*E. coli* e *S. typhimurium*) em todos os poços da placa, com exceção do controle negativo. As soluções foram avaliadas a partir da concentração inicial de 400 ppm (400 µg/mL) para o NaClO, 2%

(10000 µg/mL) de extrato de quinoa, 20 µg/mL para OEA, 1,2 µg/mL para OEO, e 1% (10000 µg/mL) de tween 20. O controle positivo constituiu da solução de gentamicina. Após a diluição em série das soluções e controles, as placas foram incubadas a 36°C/ 24h, e, posteriormente em cada poço, foram adicionados 20 µL de cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio (TTC). Novamente incubou-se as placas a 36°C/ 2h, e, transcorrido esse tempo, realizou-se a análise visual do crescimento bacteriano. A inibição dos microrganismos pelas soluções antimicrobianas foi estabelecida para os poços onde não foram observadas modificações de cor, após a adição do TTC (Veiga, 2016).

## 2.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DE BACTERIAS EM FOLHAS DE ALFACE (EXPERIMENTO MICROBIOLÓGICO)

### 2.5.1 Avaliação do efeito de soluções antimicrobianas e/ou surfactantes na redução da flora nativa de folhas de alface

Uma cabeça de alface crespa por repetição foi desfolhada, descartando-se o núcleo e as duas camadas mais externas (AKKBA e ÖLMEZ, 2007; COOK et al., 2006). Em seguida, porções de 10g de folhas de alface *in natura*, escolhidas aleatoriamente, foram inseridas em potes de vidro com capacidade de 500 mL, aos quais foram adicionados 200 mL das soluções sanitizantes e/ou eluentes, conforme concentrações descritas no QUADRO 13.

QUADRO 13 – CONCENTRAÇÃO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES UTILIZADAS NOS EXPERIMENTOS MICROBIOLÓGICOS E PARASITOLÓGICOS

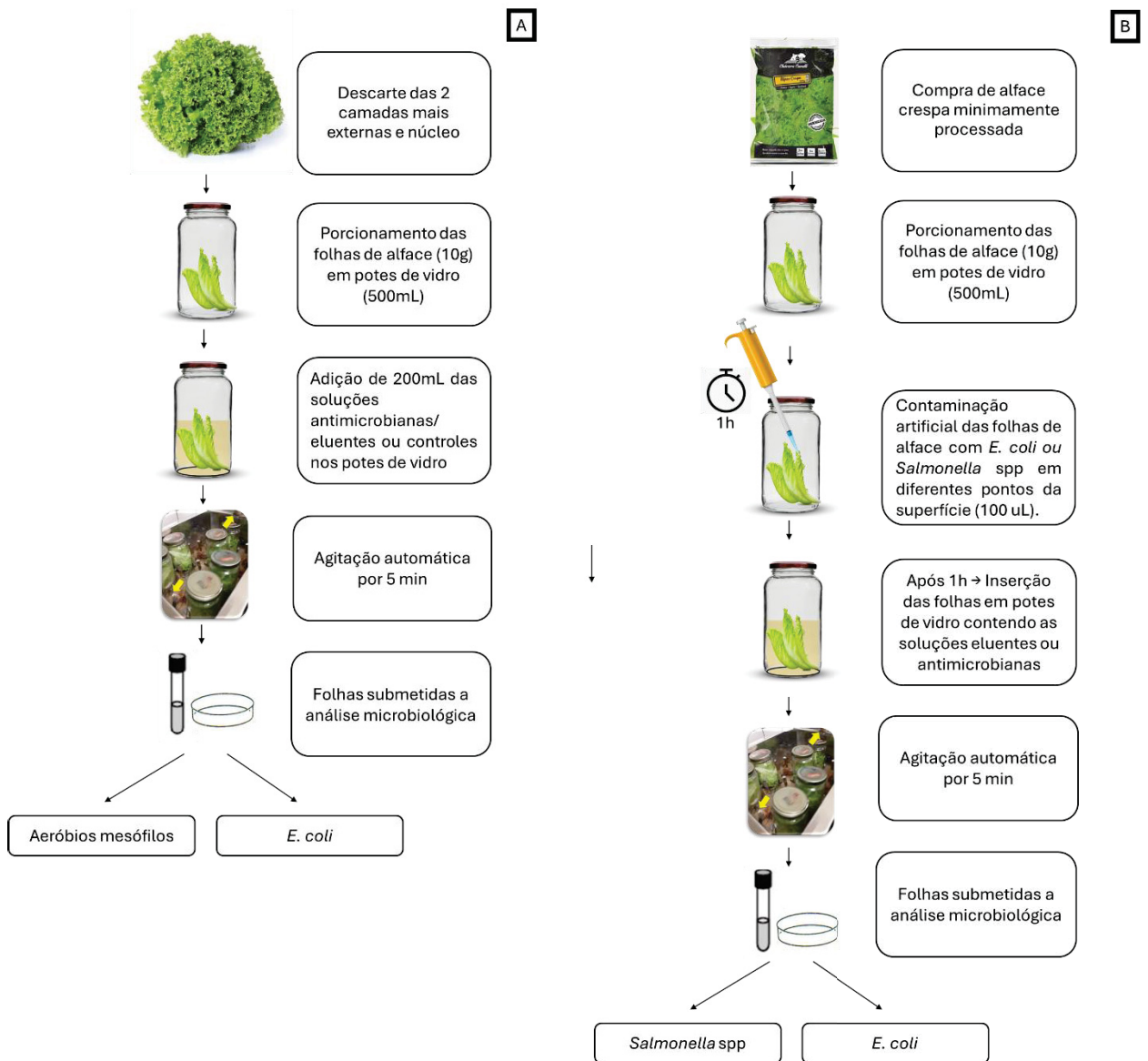
Solução	Concentração	Experimento
Água	-	Microbiológico
Hipoclorito de sódio	200 µL/mL (0,02%)	Microbiológico
OEs (OEA + OEO)	5 µL/MI + 3 µL/MI	Microbiológico
EQ	10 µL/mL (1%)	Parasitológico
Tween 20®	5 µL/mL (0,5%)	Parasitológico
Glicina	1M	Parasitológico
OEs (OEA + OEO) + Tween 20	5 µL/mL + 3 µL/mL + 5 µL/mL	Microbiológico
OEs (OEA + OEO) + EQ	5 µL/mL + 3 µL/mL + 10 µL/mL	Microbiológico e Parasitológico

FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: OEs - combinação do óleo essencial de alecrim com o óleo essencial de orégano; OEA - Óleo essencial de alecrim; OEO: Óleo essencial de orégano; EQ - Extrato de quinoa

Posteriormente, os potes foram submetidos à agitação automática e constante por 5 min (Banho Dubnoff SL-157, nível 12) (Alfredo, 2024). A forma sequencial do experimento está representada na FIGURA 15A.

FIGURA 15 – FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL DA AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DE BACTÉRIAS EM FOLHAS DE ALFACE (EXPERIMENTO MICROBIOLÓGICO)



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: (A) Fluxograma experimental para avaliar o efeito das soluções antimicrobianas e/ou surfactantes na redução da flora bacteriana nativa de folhas de alface (aeróbios mesófilos e *E. coli*); (B) Fluxograma experimental para avaliar o efeito de formulações antimicrobianas e/ou eluentes na redução de *E. coli* e *S. typhimurium* contaminadas artificialmente em folhas de alface.

Após o processo de sanitização, para a análise microbiológica, cada uma das amostras foi transferida para um recipiente contendo 90 mL de água peptonada estéril (0,1%) e homogeneizadas por 1 min. A solução resultante constituiu a diluição de  $10^{-1}$ , a partir da qual foram feitas diluições seriadas ( $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ ). Posteriormente, seguiram-se as análises para cada microrganismo. Para aeróbios mesófilos e *E. coli*, 0,1 mL da diluição correspondente foi inoculado por plaqueamento em superfície em

Ágar Padrão para Contagem (PCA) e Ágar Levine (EMB), respectivamente, e incubadas a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $48 \pm 2\text{h}$ . Após o período de incubação foi realizada a contagem das colônias expressas em log UFC/g de alimento (Silva et al., 2007).

#### 2.5.2 Avaliação do efeito das soluções antimicrobianas e/ou surfactantes na redução de *E. coli* e *S. typhimurium* contaminadas artificialmente em folhas de alface

Antes dos experimentos, foram retiradas amostras de 10 g de folhas de cada embalagem de alface minimamente processadas, escolhidas ao acaso, e randomizadas conforme cada tratamento em sacos plásticos de primeiro uso (15 x 26 cm). Posteriormente, os sacos plásticos juntamente com as alfaces, foram dispostos sob a capela de fluxo laminar, e 100 uL do inóculo de *E. coli* ou *Salmonella* foram adicionados em diferentes partes da superfície dos vegetais. Após 1h, as amostras da alface minimamente processadas, escolhidas aleatoriamente, foram inseridas em potes de vidro com capacidade de 500 mL, aos quais foram adicionados 200 mL das soluções sanitizantes e/ou eluentes, conforme concentrações, descritas no QUADRO 13. Posteriormente, os potes foram submetidos à agitação automática e constante por 5 min (Banho Dubnoff SL-157, nível 12) (Alfredo, 2024). A forma sequencial do experimento está representada na FIGURA 15B.

Após o processo de sanitização, para a análise microbiológica cada uma das amostras (10g) foram transferidas para um recipiente contendo 90 mL de água peptonada estéril (0,1%) e homogeneizadas por 1 min. A solução resultante constituiu a diluição de  $10^{-1}$ , a partir da qual foram feitas diluições seriadas ( $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ ). Para a contagem de *E. coli*, 0,1 ml da diluição correspondente foram inoculadas, por plaqueamento em superfície, em Ágar Levine (EMB) e incubadas a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $48 \pm 2\text{h}$ . Para a contagem de *S. typhimurium*, 0,1 ml da diluição correspondente foram inoculadas, por plaqueamento em superfície, em *Salmonella-Shigella* (SS) e incubadas a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 24h. Após o período de incubação foi realizada a contagem das colônias expressas em log UFC/g de alimento (Silva et al., 2007). Os experimentos para cada uma das cepas patogênicas, ocorreram de forma individualizada, sendo três repetições para cada uma delas.

## 2.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ATIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REMOÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS EM FOLHAS DE ALFACE (EXPERIMENTO PARASITOLÓGICO)

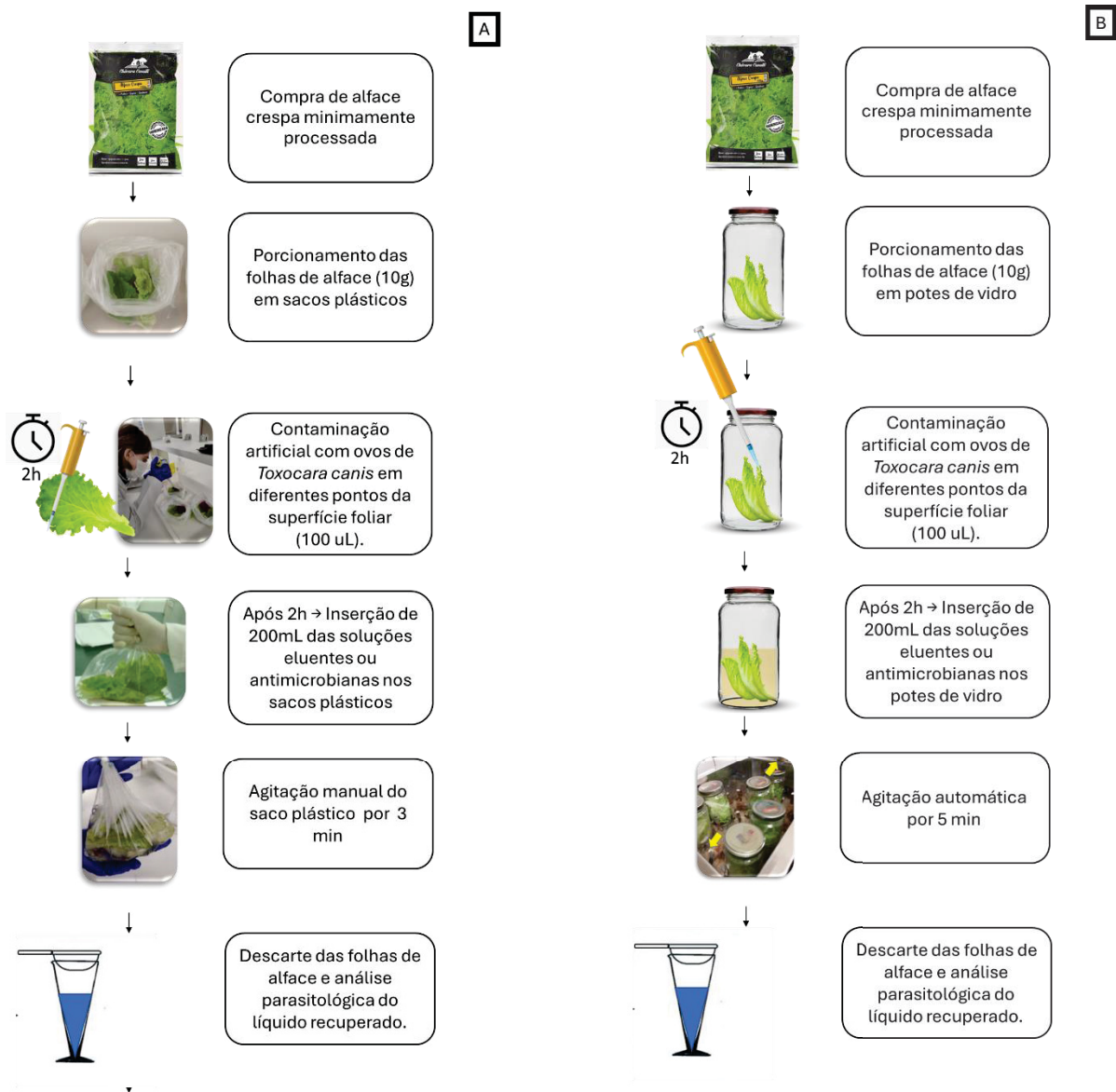
O efeito das soluções de eluição na remoção de ovos de helmintos foi testado por meio de dois métodos diferentes com relação a etapa de extração/ e ou agitação das amostras de alface: o manual, método padronizado e utilizado em análises parasitológicas (FIGURA 16A) (Matosinhos et al., 2016; Pineda et al., 2021), e o automático (FIGURA 16B), que foi o mesmo método utilizado nos experimentos microbiológicos descritos no item 2.5.

Primeiramente, amostras de 10 g de folhas de alface minimamente processadas, escolhidas ao acaso, foram colocadas em sacos plásticos de uso único (para o método manual) ou em potes de vidro autoclavados de capacidade de 500 mL (para o método automático).

Em seguida, procedeu-se à contaminação das folhas com uma quantidade conhecida de ovos de *T. canis* (108 ovos). Desse modo, 100 µL do inóculo preparado (Item 2.2 do capítulo III) foram pipetados em diferentes regiões das folhas de alface dispostas nos sacos plásticos ou nos potes de vidro. Após a aplicação do inóculo, foram adicionados mais 100 µL de água destilada ao microtubo para desprender eventuais ovos remanescentes, e essa suspensão complementar também foi aplicada sobre as folhas. Em seguida, as amostras permaneceram em repouso à temperatura ambiente (25°C) por 2 h. (Cook et al., 2006a; Matosinhos et al., 2016)

Posteriormente, no método manual, os sacos plásticos contendo as folhas de alface foram agitados manualmente por 3 min. No método automático, os potes de vidro contendo as folhas foram submetidos à agitação automática e constante por 5 min (Banho Dubnoff SL-157, nível 12) (Alfredo, 2024).

FIGURA 16 – FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL DA AVALIAÇÃO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REMOÇÃO DE HELMINTOS EM FOLHAS DE ALFACE



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: (A) Método manual; (B) Método automático.

A análise parasitológica das folhas de alface foi realizada conforme Matosinhos et al. (2016), com algumas modificações. O líquido resultante do processo de higienização das amostras foi filtrado em peneira com abertura de 1 mm e deixado em sedimentação em um cálice cônico por 2 h. Em seguida, o sobrenadante foi removido com pipeta, e o sedimento (15 mL) foi centrifugado em tubos Falcon a 1250 x g (ou 3100 rpm) por 5 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado, e todo o sedimento restante (aproximadamente 1 mL)

foi analisado em microscópio com aumento de 200x após a montagem das lâminas. A eficácia de remoção dos ovos de parasitos por cada tratamento foi expressa em porcentagem, calculada pela relação entre o número de ovos de *T. canis* removidos e o número inicial de ovos aplicados nas folhas das hortaliças (Matosinhos et al., 2016).

## 2.7 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/ OU SURFACTANTES NA COLORAÇÃO DAS FOLHAS DE ALFACE

Para avaliar os efeitos dos tratamentos dos OEs+EQ, EQ e água (controle) na coloração das folhas de alface, foram feitas medições de cor usando o colorímetro espectral HunterLab Mini Scan XE Plus (Reston, VA, USA), configurado para iluminante D65 e observador de 10°. O equipamento foi calibrado com alvos de referência preto e branco antes de cada série de leituras. Em cada repetição, realizaram-se medições na face superior de três folhas, em três pontos distintos por folha (Manolopoulou; Varzakas, 2016). Os resultados foram expressos no espaço de cor CIELAB, registrando-se os parâmetros L\* (luminosidade), a\* (verde-vermelho) e b\* (azul-amarelo). Com base em a\* e b\* calcularam-se também o croma,  $C^* = \sqrt{a^2 + b^2}$ , que indica a saturação da cor, e o ângulo de matiz, h°, obtido como o arco-tangente de b\*/a\* e ajustado para o intervalo de 0° a 360°, representando a tonalidade dominante. Os parâmetros obtidos foram comparados entre os tratamentos para identificar alterações na coloração foliar (Salgado et al., 2014; Manolopoulou; Varzakas, 2016).

## 2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para cada conjunto de dados (microbiológicos, parasitológicos e de cor) foram inicialmente avaliadas a normalidade e a homogeneidade de variância usando, respectivamente, o teste de Shapiro-Wilk e o teste de Levene. Em seguida, os dados microbiológicos, bem como os parasitológicos quando se compararam múltiplos tratamentos, foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA), com posterior teste de Tukey para comparações múltiplas. Nos experimentos parasitológicos em que se confrontaram dois métodos (manual versus automático) com a mesma solução, foi aplicado o teste t de Student. Para a análise da cor das

folhas de alface, foi usado o teste de Kruskal–Wallis seguido de comparações pareadas de Dunn com correção de Holm. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ . As análises foram conduzidas no IBM SPSS Statistics, versão 21.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A TABELA 2 apresenta os resultados da CIM. Esse experimento in vitro foi avaliado como uma etapa preliminar para investigar o efeito antimicrobiano dos óleos essenciais e suas combinações com tween 20 ou extrato de quinoa antes de sua aplicação em folhas de alface.

TABELA 2 – CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E DO EXTRATO DE SEMENTE DE QUINOA

Soluções (µL/mL)	CIM (µL/mL)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
Hipoclorito de sódio	50	200
OEs (OEA + OEO)	SE	SE
Tween 20	SE	SE
EQ	SE	SE
OEs (OEA + OEO) + Tween 20 <sup>®</sup>	10 <sup>a</sup> – 0,6 <sup>b</sup> – 5 <sup>c</sup>	10 <sup>a</sup> – 0,6 <sup>b</sup> – 5 <sup>c</sup>
OEs (OEA + OEO) + EQ	10 <sup>a</sup> – 0,6 <sup>b</sup> – 10 <sup>c</sup>	10 <sup>a</sup> – 0,6 <sup>b</sup> – 10 <sup>c</sup>
Gentamicina	39	39

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: CIM = concentração inibitória mínima; EQ = extrato de semente de quinoa; OEs = Solução de óleos essenciais e alecrim e orégano; OEA = óleo essencial de alecrim; OEO = óleo essencial de orégano; SE = sem efeito; a = CIM referente ao óleo essencial de alecrim; b = CIM referente ao óleo essencial de orégano; c = CIM referente ao Tween 20<sup>®</sup>

Isoladamente, os óleos essenciais (OEA + OEO), o tween 20 e o extrato de quinoa não exibiram atividade antimicrobiana detectável. No entanto, soluções contendo óleos essenciais combinados com Tween 20 (OEs + Tween 20<sup>®</sup>) e extrato de quinoa (OEs + EQ) demonstraram eficácia significativa na inibição de *E. coli* e *S. typhimurium*. As CIMs determinadas foram de 10 µL/mL para o óleo essencial de alecrim (OEA), 0,6 µL/mL para o óleo essencial de orégano (OEO) e 10 µg/mL para o extrato de semente de quinoa.

Além disso, foi testado o hipoclorito de sódio, principal sanitizante utilizado nos domicílios do Brasil, que apresentou uma CIM de 200 µL/mL para inativação dos

patógenos estudados. Comparativamente, a gentamicina, um antibiótico da classe dos aminoglicosídeos utilizado no tratamento de infecções graves por bactérias gram-negativas, demonstrou eficácia antimicrobiana em baixa concentração, com uma CIM de 39 µL/mL para ambos os microrganismos gram-negativos. Essa eficácia da gentamicina pode ser atribuída à sua alta especificidade e atividade contra bactérias gram-negativas

Esses resultados indicam que a combinação de OEs com Tween 20<sup>®</sup> e EQ é uma alternativa promissora no controle de certos patógenos. Com base nos achados do presente estudo e nos resultados da CIM e do Índice de Concentração Inibitória Fracional obtidos por Barbosa et al. (2017), que também avaliaram o uso combinado de OEA e OEO em formulações comerciais contra microrganismos deteriorantes e patogênicos em folhas de alface, as concentrações adotadas para a combinação dos óleos essenciais nos experimentos subsequentes foram de ½ CIM para o OEO e ½ CIM para o OEA.

### 3.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DE BACTÉRIAS EM FOLHAS DE ALFACE

Os resultados do efeito das soluções antimicrobianas na redução de aeróbios mesófilos e *Escherichia coli*, provenientes da contaminação natural de folhas de alface, estão apresentados na TABELA 3. A contagem inicial de aeróbios mesófilos nas folhas de alface sem tratamento foi de  $7,54 \pm 0,55$  log UFC, enquanto para *E. coli* foi de  $5,49 \pm 0,64$  log UFC.

TABELA 3 – EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/ OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DA FLORA NATIVA DE FOLHAS DE ALFACE

Tratamento	Aeróbios mesófilos		<i>E. coli</i>	
	Contagem total (log UFC/g)	Redução (log UFC/g)	Contagem total (log UFC/g)	Redução (log UFC/g)
In natura	7,54 ± 0,55b	-	5,49 ± 0,64c	-
Água	6,81 ± 0,43b	0,74 ± 0,34	4,76 ± 0,79bc	0,73 ± 0,24
Hipoclorito de sódio	6,63 ± 0,42a	2,91 ± 0,96	3,44 ± 0,60ab	2,05 ± 1,24
OEs + Tween 20 <sup>®</sup>	3,73 ± 0,59a	3,81 ± 0,09	2,14 ± 0,59a	3,35 ± 0,37
OEs + EQ	4,42 ± 0,21a	3,12 ± 0,34	2,88 ± 0,50a	2,81 ± 0,45a
p-value (normalidade)	0,082		0,764	
p-value (homogeneidade)	0,341		0,866	
ANOVA	0,000		0,000	

FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: EQ = extrato de quinoa; OEA: óleo essencial de alecrim; OEO: óleo essencial de orégano; Redução” corresponde à diferença entre a contaminação inicial e a contagem após cada tratamento; Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si (ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey,  $\alpha = 0,05$ ).

A lavagem das folhas com água resultou em uma redução limitada, inferior a 1 log UFC/g para ambas as cepas, indicando uma eficácia restrita, uma vez que os resultados foram estatisticamente iguais aos das folhas que não receberam nenhum tratamento.

O hipoclorito de sódio (200 ppm) mostrou-se mais eficiente, promovendo uma redução de aproximadamente 2 log UFC/g para ambas as cepas. As formulações contendo combinações de óleos essenciais com Tween 20<sup>®</sup> e/ou extrato de semente de quinoa apresentaram reduções superiores a 3 log UFC/g para as bactérias analisadas, com exceção da combinação de óleos essenciais com extrato de semente de quinoa, que alcançou apenas 2 log UFC/g de redução para *E. coli*.

No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre esses três tratamentos (hipoclorito de sódio, óleos essenciais com Tween 20<sup>®</sup>, e óleos essenciais com extrato de semente de quinoa) para os parâmetros microbiológicos avaliados. Esses dados sugerem que os tratamentos são comparáveis na redução de aeróbios mesófilos e *E. coli* em folhas de alface.

### 3.3 EFEITO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REDUÇÃO DE *E. coli* E *S. typhimurium* CONTAMINADAS ARTIFICIALMENTE EM FOLHAS DE ALFACE

Em experimento com contaminação artificial (TABELA 4), a lavagem com água resultou na remoção de aproximadamente 1,3 log UFC/g dos microrganismos inoculados (*E. coli* e *S. typhimurium*). Logo, ao comparar as folhas sem tratamento com aquelas lavadas apenas em água, houve uma diferença estatisticamente significativa, evidenciando que, neste cenário, a lavagem com água promoveu uma redução significativa dos microrganismos, embora de forma limitada em comparação a outros tratamentos.

TABELA 4 – EFEITO DAS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS NA REDUÇÃO DE *E. coli* E *S. typhimurium* CONTAMINADAS ARTIFICIALMENTE EM FOLHAS DE ALFACE

Tratamento	<i>E. coli</i>		<i>S. typhimurium</i>	
	Contagem total (log UFC/g)	Redução (log UFC/g)	Contagem total (log UFC/g)	Redução (log UFC/g)
Contaminação inicial	5,61 ± 0,39a	-	6,16 ± 0,25a	-
Água	4,24 ± 0,30a	1,36 ± 0,56	4,85 ± 0,15a	1,31 ± 0,18
Hipoclorito de sódio	2,58 ± 0,65a	3,03 ± 0,74	2,96 ± 0,55a	3,20 ± 0,30
OEs + Tween 20®	3,01 ± 0,34b	2,59 ± 0,66	2,74 ± 0,67b	3,42 ± 0,88
OEs + EQ	2,91 ± 0,35c	2,70 ± 0,17	2,25 ± 0,26c	3,91 ± 0,51
p-value (normalidade)	0,196		0,069	
p-value (homogeneidade)	0,317		0,113	
ANOVA	0,000		0,000	

FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: EQ = extrato de quinoa; OEs: óleo essencial de alecrim + óleo essencial de orégano; “Redução” corresponde à diferença entre a contaminação inicial e a contagem após cada tratamento; Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si (ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey,  $\alpha = 0,05$ ).

O tratamento com hipoclorito de sódio resultou em uma redução de aproximadamente 3 log UFC/g para ambas as cepas bacterianas. As formulações contendo óleos essenciais combinados com Tween 20® ou extrato de semente de quinoa apresentaram reduções de cerca de 2 log UFC/g para *E. coli* e 3 log UFC/g para *S. typhimurium*. Assim como observado no experimento com contaminação natural, não houve diferenças estatisticamente significativas entre esses três tratamentos para as bactérias avaliadas, sugerindo que todos proporcionam uma eficácia antimicrobiana semelhante nos parâmetros testados.

### 3.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REMOÇÃO DE OVOS DE *Toxocara canis* EM FOLHAS DE ALFACE

A TABELA 5 apresenta os números médios de ovos recuperados e a eficácia de recuperação (%) para diferentes eluentes, considerando os métodos de agitação manual e automática.

TABELA 5 – EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA REMOÇÃO DE OVOS DE *Toxocara canis* EM FOLHAS DE ALFACE

Eluente	Método de agitação manual				Método de agitação automática			
	N° ovos recuperados por repetição			Média do n° de ovos recuperados (Eficácia de recuperação %)	N° ovos recuperados por repetição			Média do n° de ovos recuperados (Eficácia de recuperação %)
	1°	2°	3°		1°	2°	3°	
Glicina	68	37	49	51,3 ± 15,6 (47,1)Aa	59	54	74	62,3 ± 10,4 (57,2)Aa
Tween 20®	67	67	79	71 ± 6,9 (65,1)Aa	58	69	69	65,3 ± 6,4 (59,9)Aa
EQ	73	77	59	69,7 ± 9,5 (63,8)Aa	72	68	52	64,0 ± 10,6 (58,7)Aa
OEs + EQ	53	63	51	55,7 ± 6,4 (51,1)Aa	38	41	59	53,7 ± 12,1 (49,3)Aa
p-value (normalidade)	0,778				0,490			
p-value (homogeneidade)	0,385				0,750			
ANOVA	0,110				0,520			

FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: EQ = extrato de quinoa; OEs = óleo essencial de alecrim + óleo essencial de orégano. Comparações por coluna (dentro de cada método de agitação): médias seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem entre si (ANOVA de uma via, Tukey,  $\alpha = 0,05$ ); Comparações por linha (entre métodos para a mesma solução surfactante): médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem entre si (teste t de Student,  $p < 0,05$ ).

Considerando os métodos de agitação manual e automática, os eluentes com maior eficácia, em ordem decrescente, foram: Tween 20 > extrato de quinoa > glicina e por último o OEs+EQ. A comparação da eficácia de remoção entre o extrato de quinoa e OEs+EQ sugere que a adição de óleos essenciais pode influenciar negativamente a ação surfactante do extrato de quinoa. Entretanto, em ambos os métodos, todas as soluções testadas apresentaram eficácias estatisticamente similares entre si ( $p > 0,05$ ).

Em adição, ao comparar os mesmos tratamentos entre os métodos de agitação manual e automática, não foram observadas diferenças estatísticas significativas ( $p > 0,05$ ). Isso indica que a troca do método de agitação não influenciou substancialmente a eficácia de remoção para nenhum dos eluentes avaliados.

### 3.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/OU SURFACTANTES NA COLORAÇÃO DAS FOLHAS DE ALFACE

A análise da cor das folhas de alface submetidas aos tratamentos com água, EQ e OE+EQ revelou diferenças significativas entre eles ( $p < 0,05$ ) (TABELA 6).

TABELA 6 – PARÂMETROS CROMÁTICOS OBTIDOS NA ANÁLISE DA COR DE FOLHAS DE ALFACE SOB DIFERENTES TRATAMENTOS

Tratamento	L* (média ± DP)	a* (média ± DP)	b* (média ± DP)	C* (média ± DP)	h° (média ± DP)
Água	82,7 ± 1,1 <sup>a</sup>	-0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	132 ± 5 <sup>a</sup>
EQ	78,2 ± 1,1 <sup>b</sup>	-2,6 ± 0,4 <sup>b</sup>	5,8 ± 0,9 <sup>b</sup>	6,3 ± 0,9 <sup>b</sup>	115 ± 3 <sup>b</sup>
OEs + EQ	73,1 ± 2,3 <sup>c</sup>	-10,9 ± 1,2 <sup>c</sup>	30,4 ± 2,1 <sup>c</sup>	32,3 ± 2,2 <sup>c</sup>	109 ± 4 <sup>c</sup>

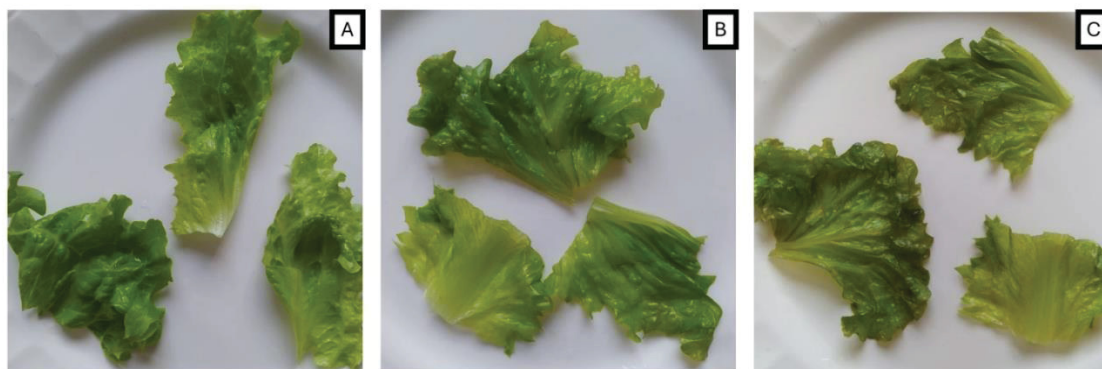
FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: EQ: Extrato de quinoa; OEs: Óleo essencial de alecrim + óleo essencial de orégano; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (Kruskal–Wallis e Dunn-Holm,  $p < 0,05$ ). C\* calculado como  $\sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ ; h° calculado como  $\text{atan2}(b^*, a^*)$  em graus.

A lavagem com água preservou melhor a aparência natural das folhas de alface, apresentando o maior valor de luminosidade (L\*) e o menor croma (C\*), ou seja, folhas mais claras e menos saturadas, próximas ao perfil in natura — como pode ser observado na FIGURA 17A. O EQ causou um leve escurecimento (queda de  $\approx 4,5$  unidades em L\*) e aumento da vivacidade da cor (C\* aumentou  $\approx 5,4$ ), sugerindo a adesão de compostos que conferem uma tonalidade ligeiramente esverdeada-amarelada, porém sem comprometer de forma drástica a aparência (FIGURA 17B). Em contraste, o tratamento com óleo essencial resultou em

escurecimento mais acentuado (redução de  $\approx 9,6$  unidades em  $L^*$  em relação à água) e em elevada saturação ( $C^* \approx 32$ ), refletindo possível acúmulo de pigmentos ou resíduos oleosos na superfície foliar (FIGURA 17C). O ângulo de matiz ( $h^\circ$ ) reduziu progressivamente de  $132^\circ$  (água) para  $109^\circ$  (óleo essencial), indicando um deslocamento da cor em direção ao verde-amarelo-limão.

FIGURA 17 – ASPECTO VISUAL DAS FOLHAS DE ALFACE APÓS DIFERENTES TRATAMENTOS COM AS SOLUÇÕES ANTIMICROBIANAS E/ OU ELUENTES



FONTE: A autora (2025).

LEGENDA: Folhas de alface tratadas com (A) água, (B) extrato de quinoa e (C) combinação de óleo essencial e extrato de quinoa (OEs + EQ). Observa-se diferença na coloração e aparência das folhas, com escurecimento, redução da firmeza e perda de crocância progressivo em comparação ao controle (A).

#### 4 DISCUSSÃO

Óleos essenciais, como os de orégano e alecrim, são amplamente reconhecidos pelas propriedades antibacterianas contra microrganismos deteriorantes e patógenos de alimentos, além das funções como conservantes e agentes sanitizantes. Por isso, o uso tem sido amplamente explorado na indústria alimentícia (Jiang et al., 2011; Micić et al., 2021; Almeida et al., 2024; Pizzo et al., 2024). O OEA contém compostos bioativos como 1,8-cineol, cânfora,  $\alpha$ -pineno e eucaliptol (Nieto et al., 2018; Micić et al., 2021), enquanto o OEO é rico em carvacrol, timol e p-cimeno (Janusz et al., 2024), sendo todas substâncias amplamente reconhecidas por suas propriedades antimicrobianas.

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais pode ser explicada por diversos mecanismos, entre os quais destaca-se a presença de compostos como terpenos e fenóis. Esses compostos interagem com as membranas celulares

bacterianas, provocando danos estruturais, inibindo a respiração celular, aumentando a permeabilidade da membrana e ocasionando o vazamento de constituintes intracelulares. Esses efeitos culminam na inativação ou morte dos microrganismos (Micić et al., 2021; De Almeida et al., 2023; Pizzo et al., 2024).

Contudo, um dos principais desafios na aplicação de óleos essenciais em soluções aquosas é a dificuldade em obter uma dispersão estável, devido à baixa solubilidade desses compostos em água (Pizzo et al., 2024). Para superar essa limitação, o uso de surfactantes, como o Tween 20, tem se mostrado uma estratégia eficaz. Os surfactantes emulsificam os óleos essenciais e reduzem a tensão interfacial permitindo que os agentes antimicrobianos entrem em melhor contato com as superfícies de frutas e vegetais, que geralmente apresentam características hidrofóbicas ou texturas irregulares. Essa interação potencializa a ação antimicrobiana dos óleos essenciais, tornando-os mais eficientes no controle de microrganismos (Prasad et al., 2018; Seow et al., 2014; Yuan et al., 2019; Pizzo et al., 2024).

Essas informações ajudam a explicar os resultados de CIM observados no presente estudo, onde os OEs, quando utilizados isoladamente, não demonstraram efeito antimicrobiano significativo. No entanto, a adição de surfactantes, como o Tween 20, e do extrato de quinoa proporcionou ação antimicrobiana contra todas as cepas testadas (Prasad et al., 2018; Seow et al., 2014; Yuan et al., 2019; Pizzo et al., 2023).

O Tween 20, é um surfactante sintético amplamente utilizado como emulsionante, sendo aplicado também em métodos de recuperação de ovos de parasitas em análises parasitológicas (Gunathilaka et al., 2025). Embora seja considerado seguro (GRAS) para uso em alimentos, o polissorbato é menos sustentável que alternativas naturais, como o extrato de quinoa (Bustos et al., 2024).

O extrato de sementes de quinoa exibe propriedades eluentes/surfactantes, atribuídas às saponinas, que são compostos bioativos com regiões hidrofílicas e hidrofóbicas capazes de interagir com resíduos diversos (Bustos et al., 2024). Em estudos quantitativos, esse extrato reduziu a tensão superficial da água (aproximadamente 72 mN/m) para 61 mN/m, atingiu pressão de superfície em equilíbrio de 21,3 mN/m e formou espuma de 5,9 cm de altura, estável por 10 min sem drenagem. Seus módulos dilacionais confirmam uma película interfacial coesa e flexível, com elasticidade  $E'$  de 347 mN/m e perda viscosa  $E''$  de 67,1 mN/m,

atribuindo ao extrato comportamento análogo ao de detergente, capaz de dispersar e emulsificar componentes hidrofóbicos (Jukek et al., 2019; Góral; Wojciechowski; 2020; Bustos et al., 2024). Logo, essa propriedade eluente também possibilita que as saponinas interajam com as membranas de ovos e larvas de parasitos, promovendo seu desprendimento e remoção de matrizes alimentares, como as hortaliças (Azadbakht et al., 2005; Kregiel et al., 2017).

Desse modo, os resultados deste estudo indicam que a combinação OEs + EQ representa uma alternativa sustentável ao uso de hipoclorito de sódio para a higienização de hortaliças folhosas. Essa formulação demonstrou eficácia ao reduzir mais de 2,5 log UFC/g de bactérias e aproximadamente 50% dos ovos de *Toxocara canis*. Até o momento, nenhum outro estudo tinha investigado a ação da combinação de óleos essenciais com extratos ricos em saponinas para a redução de bactérias e remoção de parasitos de vegetais folhosos de forma conjunta.

Diversos estudos avaliaram a ação combinada ou individual dos óleos essenciais de alecrim (OEA) e orégano (OEO), com ou sem o emprego de técnicas complementares de sanitização, para o controle microbiológico em alimentos. Dávila-Rodríguez et al. (2019) investigaram nanoemulsões de óleo essencial de alecrim a 10% aplicadas em salsão por meio de imersão e mistura em um agitador magnético, por períodos de 7,5 a 360 min a 120 rpm, observando que as nanoemulsões foram mais eficazes contra *L. monocytogenes* e *E. coli* em comparação ao óleo essencial não encapsulado. Millan-Sango et al. (2016) demonstraram que a combinação de ultrassom com óleo essencial de orégano aumentou significativamente a redução de bactérias em folhas de alface, com reduções variando de 1,88 a 5,38 log UFC/cm<sup>2</sup>. Barbosa et al. (2016) avaliaram o efeito da combinação dos óleos essenciais de orégano e alecrim em concentrações de 0,6 a 5 µg/mL, aplicados por 5 min em vegetais folhosos, e observaram reduções significativas nas contagens de bactérias mesófilas, enterobactérias, *L. monocytogenes* e *E. coli*, variando de 1,5 a 2,8 log UFC/g.

Do mesmo modo, embora poucos estudos tenham investigado a eficácia de extratos ricos em saponinas na remoção de parasitas de vegetais frescos, alguns resultados sugerem seu potencial. O extrato aquoso de *Albizia julibrissin* (Hezarjaribi et al., 2009), e o extrato de rizoma de *Acanthophyllum squarrosum* (Azadbakht et al., 2005) em concentrações variando de 1 a 20%, foram aplicados em vegetais folhosos e salsa, respectivamente, por 15 minutos. Os resultados mostraram que ambos os

extratos ricos em saponinas foram mais eficazes na descontaminação de ovos e larvas de parasitas do que os detergentes comerciais testados nas mesmas condições.

Recentemente, outros estudos têm explorado alternativas naturais ao uso de cloro para a descontaminação de vegetais folhosos e remoção de ovos de parasitas. O extrato hidroalcoólico de própolis com glicina (SHP-Gly) e o extrato de erva-mate foram avaliados quanto à sua eficácia na redução de microrganismos em folhas de alface e na remoção de ovos de helmintos. O uso de SHP-Gly resultou em uma redução de 3,3 log UFC/g de aeróbios mesófilos, 5,0 logs UFC/g de fungos e na remoção de 35,5% dos ovos de *Ascaris suum* (Silveira et al., 2023). Em contraste, o extrato de erva-mate, embora não tenha sido eficaz na descontaminação bacteriana de folhas de alface, conseguiu remover aproximadamente 30% dos ovos de *Toxocara canis* (Alfredo et al., 2024). A eficácia na remoção de ovos para ambos os extratos foi comparável à da glicina (1M, pH 5,5), uma solução padrão utilizada em análises parasitológicas.

Embora a formulação OEs + EQ tenha mostrado eficácia na descontaminação de patógenos, algumas limitações foram observadas. O tratamento com essa solução modificou as propriedades físico-químicas das hortaliças, sobretudo cor e textura, comprometendo sua integridade sensorial e potencialmente reduzindo a aceitação pelo consumidor. Em contrapartida, a aplicação isolada do extrato de quinoa causou variações mais discretas, sugerindo que os óleos essenciais foram os principais responsáveis pelas mudanças sensoriais indesejadas. Resultados semelhantes foram encontrados em estudos prévios, como o de Todd et al. (2013), que demonstraram que o óleo essencial de folha de canela (0,1%, 0,3% e 0,5% v/v) em solução salina tamponada com fosfato também causou impacto negativo na qualidade de folhas verdes lavadas e inoculadas com *Salmonella Newport*.

Assim, há necessidade de mais estudos para otimizar as formulações, ou, alternativamente, considerar o uso individual do EQ como aliado na remoção de ovos de parasitas, uma vez que apresentaram eficácias de recuperação mais altas, em comparação ao tratamento OEs + EQ (TABELA 5). Além disso, a eficácia do tratamento pode variar dependendo do tipo específico de parasita e da estrutura foliar das hortaliças. *Ascaris suum*, por exemplo, parece ser removido mais facilmente de folhas de alface em comparação a ovos de *Toxocara canis*, quando emprega-se glicina como líquido de dissociação (Silveira et al., 2023). Além disso a

descontaminação de vegetais folhosos mostrou-se menos eficaz do que em tubérculos, sugerindo a necessidade de estudos adicionais em diferentes vegetais e condições de contaminação (El Said, 2012; Bermúdez-Aguirre; Barbosa-Cánovas, 2013; Banach et al., 2017).

Pesquisas futuras devem explorar combinações e concentrações ideais, além de incluir outros compostos naturais com propriedades antimicrobianas e antiparasitárias. Este estudo contribui para a literatura que aponta os produtos naturais como alternativas viáveis para a higienização de hortaliças. A utilização de extrato de quinoa e óleos essenciais configura-se como um método sustentável, promovendo segurança alimentar e reduzindo os riscos associados ao consumo de hortaliças frescas, especialmente em um cenário de crescente demanda por práticas mais naturais e seguras.

## **5 CONCLUSÃO**

A combinação dos óleos essenciais de alecrim e orégano com extrato de quinoa (OEs+EQ) demonstrou eficácia na redução de microrganismos patogênicos e na remoção de parasitas de hortaliças folhosas. No entanto, alterações sensoriais atribuídas aos óleos essenciais podem comprometer a aceitação do produto pelos consumidores. Por outro lado, o extrato de quinoa (EQ) destaca-se como uma solução natural promissora e uma aliada na higienização de hortaliças, graças à presença de saponinas com propriedades tensoativas, que auxiliam na remoção de ovos de parasitas sem alterar as características físico-químicas dos vegetais. Este estudo reforça o potencial de compostos naturais na promoção da segurança alimentar, ressaltando a necessidade de otimizar as formulações sanitizantes para minimizar impactos negativos na qualidade sensorial dos alimentos. Pesquisas futuras devem investigar concentrações ideais e novas combinações de agentes naturais para aumentar a eficácia e a aplicabilidade das soluções desenvolvidas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostraram que OEs + EQ reduziram mais de 2,5 log UFC/g de aeróbios mesófilos e *E. coli*, e mais de 3 log UFC/g de *Salmonella Typhimurium*, além de remover aproximadamente 50% dos ovos de *Toxocara canis*. A redução microbiana foi estatisticamente semelhante à obtida com hipoclorito de sódio e OEs + Tween 20<sup>®</sup>, enquanto a eficácia na remoção de ovos de helmintos foi comparável aos tratamentos com Tween 20<sup>®</sup>, glicina e extrato da semente de quinoa. Em adição, os resultados obtidos com OEs + EQ estão alinhados com a revisão integrativa realizada no Capítulo I, que demonstrou que os sanitizantes naturais apresentam eficácias semelhantes ao hipoclorito de sódio. Ademais, a eficácia global da glicina, evidenciada na revisão integrativa do Capítulo II, foi de 38,1%, valor inferior ao alcançado pelo extrato da semente de quinoa, que apresentou eficácia de 58,7% (Capítulo III). Conclui-se, portanto, que OEs + EQ representam uma alternativa viável para a higienização de hortaliças, destacando-se o extrato da semente de quinoa isolado como uma solução promissora para a remoção de ovos de helmintos e a redução dos riscos de contaminação parasitária.

## REFERÊNCIAS

ADENUSI, A. A.; ABIMBOLA, W. A.; ADEWOGA, T. O. S. Human intestinal helminth contamination in pre-washed, fresh vegetables for sale in major markets in Ogun State, southwest Nigeria. **Food Control**, v. 50, p. 843-849, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095671351400615X>. Acesso em:

ALADAWI, M. A. et al. Accelerated larvae development of *Ascaris lumbricoides* eggs with ultraviolet radiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 115-119, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0969806X05001908>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.

ALFREDO, N. A. C. **Efeito do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) na redução bacteriana e remoção de ovos de parasitos em folhas de alface** [recurso eletrônico]. 2024. Dissertação (Mestrado em Alimentação e Nutrição) – Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2024. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/xmlui/bitstream/handle/1884/95081/R%20-%20D%20-%20NATALIA%20DE%20ALMEIDA%20CORREA%20ALFREDO.pdf?sequence=1&iAllowed=y>. Acesso em: 6 ago. 2025.

ALLENDE, A. et al. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 155-163, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521408000094>. Acesso em:

AL-NAHHAS, S.; ABOUALCHAMAT, G. Investigation of parasitic contamination of salad vegetables sold by street vendors in city markets in Damascus, Syria. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 21, p. e00090, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405676620300196>. Acesso em: 20 de julho de 2024.

ÁLVAREZ-MARTÍNEZ, F. J. et al. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. **Phytomedicine**, v. 90, p. 153626, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711321001690>. Acesso em:

AMOAHA, I. D. et al. Concentration of soil-transmitted helminth eggs in sludge from South Africa and Senegal: A probabilistic estimation of infection risks associated with agricultural application. **Journal of environmental management**, v. 206, p. 1020-1027, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479717311659>. Acesso em: 20 de julho de 2024.

AMOAHA, P. et al. Effectiveness of common and improved sanitary washing methods in selected cities of West Africa for the reduction of coliform bacteria and helminth

eggs on vegetables. **Tropical medicine & international health**, v. 12, p. 40-50, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3156.2007.01940.x>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.

ANTONINO, A. C. J.; DE SOUZA, A. A; DE SOUZA, M. A. A. Prevalence of enteroparasites in vegetables marketed in the city of Jaguaré, Espírito Santo, Brazil. **Revista de Salud Pública**, v. 22, p. 428-433, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.org/article/rsap/2020.v22n4/428-433/>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.

ARAÚJO, R. K. S. et al. Parasitological analysis of vegetables sold in supermarkets and free markets in the city of Taguatinga, Federal District, Brazil. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 51, n. 3, p. 225-234, 2022. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/iptsp/article/view/73139>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.

ASARE, P. T. et al. Decontamination of minimally-processed fresh lettuce using reuterin produced by *Lactobacillus reuteri*. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1421, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.01421/full>. Acesso em:

ATHAYDE, A. J. A. A. et al. A coating composed of chitosan and *Cymbopogon citratus* (Dc. Ex Nees) essential oil to control *Rhizopus* soft rot and quality in tomato fruit stored at room temperature. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 91, n. 6, p. 582-591, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14620316.2016.1193428>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

AZIZKHANI, M. et al. Comparative efficacy of *Zataria multiflora* Boiss., *Origanum compactum* and *Eugenia caryophyllus* essential oils against E. coli O157: H7, feline calicivirus and endogenous microbiota in commercial baby-leaf salads. **International journal of food microbiology**, v. 166, n. 2, p. 249-255, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160513003553>. Acesso em: 14 de agosto de 2024.

AZMIN, S. N. H. M; NOR, M. S. M. Chemical fingerprint of Centella Asiatica's bioactive compounds in the ethanolic and aqueous extracts. **Advances in Biomarker Sciences and Technology**, v. 2, p. 35-44, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2543106420300041>. Acesso em:

BALALI, G. I. et al. Microbial contamination, an increasing threat to the consumption of fresh fruits and vegetables in today's world. **International journal of microbiology**, v. 2020, n. 1, p. 3029295, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2020/3029295>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

BANACH, J. L. et al. The efficacy of chemical sanitizers on the reduction of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* affected by bacterial cell history and water quality. **Food Control**, v. 81, p. 137-146, 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713517302864>. Acesso em: 20 de agosto de 2024.

BARBOSA, I. M. et al. Efficacy of the combined application of oregano and rosemary essential oils for the control of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in leafy vegetables. **Food control**, v. 59, p. 468-477, 2016. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515300463>. Acesso em: 20 de agosto de 2024.

BEKELE, F.; SHUMBEJ, T. Fruit and vegetable contamination with medically important helminths and protozoans in Tarcha town, Dawuro zone, South West Ethiopia. **Research and reports in tropical medicine**, p. 19-23, 2019. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/iptsp/article/view/73139>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 82-90, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713512003088>. Acesso em:

BHARGAVA, K. et al. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. **Food microbiology**, v. 47, p. 69-73, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002014002676>. Acesso em 20 de agosto de 2024.

BOLÍVAR, A. et al. Cross contamination of *Escherichia coli* O157: H7 in fresh-cut leafy vegetables: Derivation of a food safety objective and other risk management metrics. **Food Control**, v. 147, p. 109599, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713522007927>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

BORGES, R. S. et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. **Journal of ethnopharmacology**, v. 229, p. 29-45, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874118314107>. Acesso em: 02 de novembro de 2024.

BORUGĂ, O. et al. *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. **Journal of medicine and life**, v. 7, n. Spec Iss 3, p. 56, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4391421/>. Acesso em:

BRASIL. Ministério da Saúde. Surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil: informe – 2024. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Brasília: Ministério da Saúde, março de 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 724, de 1º de julho de 2022**: dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. Publicada no DOU nº 126, de 6 de julho de 2022. Disponível em:

[https://anvisa.gov.br/legis/datalegis.net/action/ActionDatalegis.php?acao=abrirTextoAto&tipo=RDC&numeroAto=00000724&seqAto=002&valorAno=2022&orgao=RDC/DC/ANVISA/MS&codTipo=&desItem=&desItemFim=&cod\\_menu=1696&cod\\_modulo=134&pesquisa=true](https://anvisa.gov.br/legis/datalegis.net/action/ActionDatalegis.php?acao=abrirTextoAto&tipo=RDC&numeroAto=00000724&seqAto=002&valorAno=2022&orgao=RDC/DC/ANVISA/MS&codTipo=&desItem=&desItemFim=&cod_menu=1696&cod_modulo=134&pesquisa=true). Acesso em: 10 de novembro de 2024.

BUSTOS, K. A. G. et al. Saponin Molecules from Quinoa Residues: Exploring Their Surfactant, Emulsifying, and Detergent Properties. **Molecules**, v. 29, n. 20, p. 4928, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/29/20/4928>. Acesso em: 02 de dezembro de 2024.

BYWATER, A. et al. Survival of inoculated *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli* O157: H7 on kale during refrigerated storage. **Journal of Food Protection**, v. 86, n. 3, p. 100042, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X23065006>. Acesso em:

CALLEJÓN, R. M. et al. Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: trends and causes. **Foodborne pathogens and disease**, v. 12, n. 1, p. 32-38, 2015. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/fpd.2014.1821>. Acesso em:

CARADONNA, T. et al. Detection and prevalence of protozoan parasites in ready-to-eat packaged salads on sale in Italy. **Food Microbiology**, v. 67, p. 67-75, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002017301028>. Acesso em:

CDC. *E. coli* (*Escherichia coli*): Questions and Answers. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, 2014. Disponível em: <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html?fbclid=IwAR0iCCGsOuYAwUarx3dZIBvI8mCevbuwZ68qIGneLXZjGi2r6i1qKRhO8TM>. Acesso em: 29 de junho de 2024.

CHALMERS, R. M. et al. A guide to standardise artificial contamination procedures with protozoan parasite oocysts or cysts during method evaluation, using *Cryptosporidium* and leafy greens as models. **Food Control**, v. 134, p. 108678, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713521008161#bib25>. Acesso em: 02 de novembro de 2024.

CHANDRA, V.; TORREZ, M.; ORTEGA, Y. R. Efficacy of wash solutions in recovering *Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium parvum*, and *Toxoplasma gondii* from basil. **Journal of food protection**, v. 77, n. 8, p. 1348-1354, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X23061707>. Acesso em: 02 de novembro de 2024.

CHEN, J. C. et al. Reoccurring *Escherichia coli* O157: H7 strain linked to leafy greens-associated outbreaks, 2016–2019. **Emerging Infectious Diseases**, v. 29, n. 9, p. 1895, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10461648/>. Acesso em:

CHEN, X.; HUNG, Y. Effects of organic load, sanitizer pH and initial chlorine concentration of chlorine-based sanitizers on chlorine demand of fresh produce wash waters. **Food Control**, v. 77, p. 96-101, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713517300361>. Acesso em:

COOK, N. et al. Development of a method for detection of *Giardia duodenalis* cysts on lettuce and for simultaneous analysis of salad products for the presence of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium oocysts*. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, n. 22, p. 7388-7391, 2007. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.00552-07>. Acesso em: 20 de agosto de 2024.

COOK, N. et al. Towards standard methods for the detection of *Cryptosporidium parvum* on lettuce and raspberries. Part 2: validation. **International journal of food microbiology**, v. 109, n. 3, p. 222-228, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160506000870>. Acesso em: 20 de agosto de 2024.

CORONEO, V. et al. Presence of Trihalomethanes in ready-to-eat vegetables disinfected with chlorine. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 34, n. 12, p. 2111-2117, 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19440049.2017.1382723>. Acesso em:

CORREDOR-GARCÍA, D.; GARCÍA-PINILLA, S.; BLANCO-LIZARAZO, C. M. Systematic Review and Meta-analysis: *Salmonella* spp. prevalence in vegetables and fruits. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, n. 3, p. 47, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-021-03012-7>. Acesso em: 17 de agosto de 2024. .

DE MEDEIROS, M. C. M. et al. Effectiveness of sanitization protocols in removing or reducing parasites from vegetables: A systematic review with meta-analysis. **PloS one**, v. 18, n. 9, 2023. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0290447>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

DIXON, B. R. Parasitic illnesses associated with the consumption of fresh produce—an emerging issue in developed countries. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 104-109, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799316300613>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

DOLD, C.; HOLLAND, C. V. Helminth-Nematode: *Ascaris*. Encyclopedia of Food Safety, v.2, p. 83-89, 2014.

DONG, Y. et al. Chemical compositions of essential oil extracted from eight thyme species and potential biological functions. **Plants**, v. 12, n. 24, p. 4164, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/24/4164>. Acesso em:

EHUWA, O.; JAISWAL, A. K.; JAISWAL, S. *Salmonella*, food safety and food handling practices. **Foods**, v. 10, n. 5, p. 907, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/5/907>. Acesso em: 01 de dezembro de 2024.

EID, Ahmad M. et al. Evaluation of anticancer, antimicrobial, and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis*) essential oil and its Nanoemulgel. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 55, p. 102175, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1876382022000762>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

ELIAS, A. M. S. et al. **Toxocarose causada por *Toxocara canis*: uma perspectiva biopsicológica em modelo murino**. 2022. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Belo Horizonte, 2022

ELIAS, S.; NORONHA, T. B.; TONDO, E. C. *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157: H7 prevalence and levels on lettuce: A systematic review and meta-analysis. **Food microbiology**, v. 84, p. 103217, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002018306610>. Acesso em: 18 de abril de 2025.

ESLAHI, A. V. et al. Unveiling risks in healthy food: Vegetables and fruits are linked to the distribution chain of protozoan parasites. **Food Microbiology**, p. 104592, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713521008161#bib25>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

FALCONE, A. C. et al. Agricultural practices and intestinal parasites: A study of socio-environmental risk factors associated with leafy vegetable production in La Plata horticultural area, Argentina. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 23, p. e00327, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405673123000442>. Acesso em: 10 de janeiro de 2024.

FALLAH, A. A.; MAKHTUMI, Y.; PIRALI-KHEIRABADI, K. Seasonal study of parasitic contamination in fresh salad vegetables marketed in Shahrekord, Iran. **Food Control**, v. 60, p. 538-542, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713515301778>. Acesso em: 12 de outubro de 2024.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. 2014. Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites. Microbiological Risk Assessment Series, n. 23. Rome. 302f. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/items/3c43c652-ce60-4df9-957e-2910c1f01b35>. Acesso em: 23 de novembro de 2024.

FDA, U. S. et al. CFR-Code of Federal Regulations Title 21. **US Food and Drug Administration: Washington, DC, USA**, 2018. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=182.20>. Acesso em: 13 de março de 2021.

FDA. GUIDANCE FOR INDUSTRY. Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables, p. 1-49, 1998.

FEÁS, X. et al. Use of propolis in the sanitization of lettuce. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 7, p. 12243-12257, 2014. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/15/7/12243> Acesso em: 20 de agosto de 2024.

FIDJELAND, J. et al. Modeling the inactivation of *Ascaris* eggs as a function of ammonia concentration and temperature. **Water Research**, v. 83, p. 153-160, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135415300804>. Acesso em: 20 de agosto de 2024.

FINTEN, G.; AGÜERO, M. V.; JAGUS, R. J. Citric acid as alternative to sodium hypochlorite for washing and disinfection of experimentally-infected spinach leaves. **LWT-Food Science and Technology**, v. 82, p. 318-325, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643817302736>. Acesso em:

FRANSSEN, F. et al. Inactivation of parasite transmission stages: Efficacy of treatments on food of animal origin. **Trends in Food Science & Technology**, v. 83, p. 114-128, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224418301560>. Acesso em: 20 de outubro de 2024

FREY, C. F. et al. A novel protocol to isolate, detect and differentiate taeniid eggs in leafy greens and berries using real-time PCR with melting curve analysis. **Parasites & Vectors**, v. 12, p. 590, 2019. DOI: 10.1186/s13071-019-3834-8. Acesso em: 20 de outubro de 2024

FROHLICH, P. C. et al. Evaluation of the ethanolic ultrasound-assisted extraction from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves and chemical characterization of the extracts. **Food Chemistry**, v. 373, p. 131351, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814621023578>. Acesso em: 20 de outubro de 2024

GHIMIRE, A. et al. Microbial and Parasitic Contamination of Fresh Raw Vegetable Samples and Detection of the Bla TEM and Bla CTX-M Genes from E. coli Isolates. **Agriculture**, v. 10, n. 8, p. 341, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0472/10/8/341>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

GOLBERG, D. et al. *Salmonella Typhimurium* internalization is variable in leafy vegetables and fresh herbs. **International journal of food microbiology**, v. 145, n. 1, p. 250-257, 2011. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160511000092?casa\\_token=Y6C11nUa1N8AAAAA:TeZ2rS8DFOT70LAMfPAkLcytHmUkr4J5NE8CVUfG9\\_palWY-ILgWXU3TXkdVcOq5O6sajhCnsf8](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160511000092?casa_token=Y6C11nUa1N8AAAAA:TeZ2rS8DFOT70LAMfPAkLcytHmUkr4J5NE8CVUfG9_palWY-ILgWXU3TXkdVcOq5O6sajhCnsf8). Acesso em: 07 de setembro de 2024.

GOÑI, M. G. et al. Application of tea tree and clove essential oil on late development stages of Butterhead lettuce: Impact on microbiological quality. **LWT-Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 107-113, 2013. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643813001503>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.

GONZÁLEZ-RAMÍREZ, L. C. et al. Field study of parasitic contamination of fruits, vegetables and leafy greens in the Ecuadorian Andes. **F1000Research**, v. 12, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10808852/>. Acesso em: 16 de novembro de 2024.

GUNATHILAKA, N. et al. Parasitic contamination in green vegetables from open markets in Gampaha District, Sri Lanka: Implications for human health. *PLoS One*, v. 20, n. 4, p. e0321853, 2025. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0321853>. Acesso em: 01 de agosto de 2025.

GÜNDÜZ, G. T. et al. Antimicrobial activity of oregano oil on iceberg lettuce with different attachment conditions. **Journal of food science**, v. 77, n. 7, p. M412-M415, 2012. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1750-3841.2012.02759.x> Acesso em:

GÜNDÜZ, G. T.; GÖNÜL, Ş. A.; KARAPINAR, M. Efficacy of myrtle oil against *Salmonella Typhimurium* on fresh produce. **International journal of food microbiology**, v. 130, n. 2, p. 147-150, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016816050900018X>. Acesso em:

GÜNDÜZ, G. T.; GÖNÜL, Ş. A.; KARAPINAR, M. Efficacy of myrtle oil against *Salmonella Typhimurium* on fresh produce. **International journal of food microbiology**, v. 130, n. 2, p. 147-150, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016816050900018X>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

GÜNDÜZ, G. T.; GÖNÜL, Ş. A.; KARAPINAR, M. Efficacy of oregano oil in the inactivation of *Salmonella typhimurium* on lettuce. **Food Control**, v. 21, n. 4, p. 513-517, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713509002308>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

GUTIERREZ, J. et al. Efficacy of plant essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria associated with ready-to-eat vegetables: antimicrobial and sensory screening. **Journal of food protection**, v. 71, n. 9, p. 1846-1854, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22002010>. Acesso em: 03 de novembro de 2024.

HAIPOUR, N. et al. Zoonotic parasitic organisms on vegetables: Impact of production system characteristics on presence, prevalence on vegetables in northwestern Iran and washing methods for removal. **Food Microbiology**, v. 95, p. 103704, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002020302938>. Acesso em:

HAZZAM, K. et al. An insight into saponins from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd): A review. **Molecules**, v. 25, n. 5, p. 1059, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/5/1059>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

HELTE, E. et al. Exposure to drinking water trihalomethanes and risk of cancer: a systematic review of the epidemiologic evidence and dose–response meta-analysis. **Environmental Health Perspectives**, v. 133, n. 1, p. 016001, 2025. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/full/10.1289/EHP14505>. Acesso em:

HERNÁNDEZ-ARANGO, N. et al. Detection of *Giardia* spp. with formalin/ether concentration in *Brassica oleracea* (cabbage) and *Lactuca sativa* (lettuce). **Heliyon**, v. 5, n. 8, p. e02377, 2019. Disponível em: [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(19\)36037-2](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(19)36037-2). Acesso em: 17 de agosto de 2024.

HIGGINS, J. P. T et al. **Assessing risk of bias in a randomized trial**. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions, p. 205-228, 2019.

HOFF, C. Notes from the field: An outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections linked to romaine lettuce exposure—United States, 2019. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 70, 2021. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/70/wr/mm7018a3.htm>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

HOHWEYER, J. et al. Simultaneous detection of the protozoan parasites *Toxoplasma*, *Cryptosporidium* and *Giardia* in food matrices and their persistence on basil leaves. *Food microbiology*, v. 57, p. 36-44, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002016000034>. Acesso em: 21 de novembro de 2023.

ISAZADEH, M. et al. The prevalence of parasitic contamination of fresh vegetables in Tehran, Iran. **Prevalence**, v. 44, n. 3, p. 143-148, 2020. Disponível em: <https://turkiyeparazitolog.org/articles/the-prevalence-of-parasitic-contamination-of-fresh-vegetables-in-tehran-iran/doi/tpd.galenos.2020.6469>. Acesso em 02 de novembro de 2024.

ISO 18744:2016. Microbiology of the food chain - Detection and enumeration of *Cryptosporidium* and *Giardia* in fresh leafy green vegetables and berry fruits. London: British Standards Institution.

ISO 6140-2: 2016 Microbiology of the Food Chain—Method Validation—Part 2: Protocol for the Validation of Alternative (Proprietary) Methods Against a

JENSEN, D. A. et al. Cross contamination of *Escherichia coli* O157: H7 between lettuce and wash water during home-scale washing. **Food Microbiology**, v. 46, p. 428-433, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002014002330>. Acesso em:

JIANG, Y. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 32, n. 1, p. 63-68, 2011. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1382668911000469>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

JOSHI, K. et al. Novel disinfectants for fresh produce. **Trends in Food Science & Technology**, v. 34, n. 1, p. 54-61, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224413001830>. Acesso em: 19 de agosto de 2024.

JU, J. et al. Application of edible coating with essential oil in food preservation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 15, p. 2467-2480, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2018.1456402>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

JUREK, L. et al. Effect of saponins from quinoa on a skin-mimetic lipid monolayer containing cholesterol. **Steroids**, v. 147, p. 52-57, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039128X18302125>. Acesso em:

KANG, J.H.; SONG, K. B. Antimicrobial activity of honeybush (*Cyclopia intermedia*) ethanol extract against foodborne pathogens and its application in washing fresh-cut Swiss chard. **Food control**, v. 121, p. 107674, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713520305909>. Acesso em:

KANG, J. H.; SONG, K. B. Inhibitory effect of plant essential oil nanoemulsions against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, and *Salmonella Typhimurium* on red mustard leaves. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 45, p. 447-454, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856417308329>. Acesso em 03 de novembro de 2024.

KARAGÖZLÜ, N.; ERGÖNÜL, B.; ÖZCAN, D. Determination of antimicrobial effect of mint and basil essential oils on survival of *E. coli* O157: H7 and *S. typhimurium* in fresh-cut lettuce and purslane. **Food Control**, v. 22, n. 12, p. 1851-1855, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713511001733>. Acesso em: 02 de novembro de 2024.

KIM, S. Y. et al. Antimicrobial activity of plant extracts against *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157: H7, and *Listeria monocytogenes* on fresh lettuce. **Journal of food science**, v. 76, n. 1, p. M41-M46, 2011. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1750-3841.2010.01926.x>. Acesso em:

KOHLMEIER, M. Glycine. *Nutrient Metabolism*, p. 288-294, 2003. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124177628500478>. Acesso em: 27 de novembro de 2024

KOUKKIDIS, G. et al. Salad leaf juices enhance *Salmonella* growth, colonization of fresh produce, and virulence. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n.

1, p. e02416-16, 2017. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.02416-16>. Acesso em: 24 de agosto de 2024.

KREGIEL, D. et al. Saponin-based, biological-active surfactants from plants. **Application and characterization of surfactants**, v. 6, n. 1, p. 184-205, 2017.

KROUPITSKI, Y. et al. Internalization of *Salmonella enterica* in leaves is induced by light and involves chemotaxis and penetration through open stomata. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 19, p. 6076-6086, 2009. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.01084-09>. Acesso em: 24 de agosto de 2024. Acesso em: 24 de agosto de 2024.

KROUPITSKI, Yulia et al. *Salmonella enterica* growth conditions influence lettuce leaf internalization. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 639, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.00639/full>. Acesso em: 13 de setembro de 2024.

KULJANABHAGAVAD, T.; WINK, M. Biological activities and chemistry of saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. **Phytochemistry Reviews**, v. 8, p. 473-490, 2009. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-009-9121-0>. Acesso em: 11 de outubro de 2024.

LALONDE, L.F.; GAJADHAR, A.A. Optimization and validation of methods for isolation and real-time PCR identification of protozoan oocysts on leafy green vegetables and berry fruits. *Food and Waterborne Parasitology*, v. 2, p. 1-7, 2016.

LEACH, K. M.; STROOT, J. M.; LIM, D. V. Same-day detection of *Escherichia coli* O157: H7 from spinach by using electrochemiluminescent and cytometric bead array biosensors. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 24, p. 8044-8052, 2010. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.01990-10>. Acesso em: 13 de setembro de 2024.

LOAN, H. N. B. et al. 3-Chlorotyrosine formation in ready-to-eat vegetables due to hypochlorite treatment and its dietary exposure and risk assessment. **Food Research International**, v. 90, p. 186-193, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996916305208>. Acesso em: 13 de setembro de 2024.

LEE, K. J. et al. Effects of CFSs produced by lactic acid bacteria in combination with grape seed extract on the microbial quality of ready-to-eat baby leaf vegetables. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1268742, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311932.2016.1268742>. Acesso em 20 de outubro de 2024.

LEYVA-LÓPEZ, N. et al. Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 989, 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/6/989>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

LI, J. et al. Detection of human intestinal protozoan parasites in vegetables and fruits: a review. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 1, p. 380, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13071-020-04255-3>. Acesso em:

LIMA, M. C.; DE SOUZA, E. L. A systematic quantitative analysis of the published literature on the efficacy of essential oils as sanitizers in fresh leafy vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 14, p. 2326-2339, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2020.1776676>. Acesso em: 11 de novembro de 2024.

LIN, A. TSAI, S. W. Dietary intakes of trihalomethanes and haloacetic acids from ready-to-eat vegetables in taiwan. **Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology**, v. 33, n. 5, p. 824-830, 2023. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41370-022-00465-2>. Acesso em: 13 de setembro de 2024.

LUCAS, J. R. et al. The presence of potentially pathogenic protozoa in lettuce (*Lactuca sativa*) sold in markets in the central Peruvian Andes. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 2, p. 943, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/20/2/943>. Acesso em: 03 de novembro de 2024.

MAIA, C. M. M. et al. Effectiveness of sanitization protocols in removing or reducing parasites from vegetables: A systematic review with meta-analysis. **Plos one**, v. 18, n. 9, p. e0290447, 2023. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0290447>. Acesso em: 03 de novembro de 2024.

MANOLOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Effect of temperature in color changes of green vegetables. **Current Research in Nutrition and Food Science Journal**, v. 4, n. Special Issue Nutrition in Conference October 2016, p. 10-17, 2016. Disponível em: <https://www.foodandnutritionjournal.org/vol04nospl-issue-conf-october-2016/effect-of-temperature-in-color-changes-of-green-vegetables/>. Acesso em: 03 de novembro de 2024.

MATOSINHOS, F. C. et al. Standardization of a method for the detection of helminth eggs and larvae in lettuce. **Parasitology Research**, v. 115, p. 1827-1834, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-016-4922-8>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

MEDINA-LOZANO, I.; BERTOLÍN, J. R.; DÍAZ, A. Nutritional value of commercial and traditional lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild relatives: Vitamin C and anthocyanin content. **Food Chemistry**, v. 359, p. 129864, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814621008700>. Acesso em: 03 de novembro de 2024.

MEIRELES, A.; GIAOURIS, E.; SIMOES, M. Alternative disinfection methods to chlorine for use in the fresh-cut industry. **Food Research International**, v. 82, p. 71-85, 2016. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996916300126>. Acesso em: 30 setembro de 2024.

MIR, S. A. et al. Microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salads in developing countries and potential solutions in the supply chain to control microbial pathogens. **Food Control**, v. 85, p. 235-244, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713517304760>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.

MOGREN, L. et al. The hurdle approach—A holistic concept for controlling food safety risks associated with pathogenic bacterial contamination of leafy green vegetables. A review. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1965, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.01965/full>. Acesso em:

MOHAMED, M. A. et al. Parasitic contamination of fresh vegetables sold at central markets in Khartoum state, Sudan. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 15, p. 1-7, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12941-016-0133-5>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.

MOHANAPRIYA, R. et al. Surveillance and source tracking of foodborne pathogens in the vegetable production systems of India. **Food Control**, v. 162, p. 110427, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713524001440>. Acesso em:

MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **International journal of surgery**, v. 8, n. 5, p. 336-341, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743919110000403>. Acesso em:

MOORE-NEIBEL, K. et al. Antimicrobial activity of lemongrass oil against *Salmonella enterica* on organic leafy greens. **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, n. 3, p. 485-492, 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/112/3/485/6715963>. Acesso em: 30 de setembro de 2024.

MULAOSMANOVIC, E. et al. Size matters: Biological and food safety relevance of leaf damage for colonization of *Escherichia coli* O157: H7 gfp+. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 608086, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.608086/full>. Acesso em:

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2022.

NETO, N. J. G. et al. Bacterial counts and the occurrence of parasites in lettuce (*Lactuca sativa*) from different cropping systems in Brazil. **Food Control**, v. 28, n. 1, p. 47-51, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351200206X>. Acesso em:

- NIETO, G.; ROS, G.; CASTILLO, J. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A review. **Medicines**, v. 5, n. 3, p. 98, 2018. Disponível em: [https://www.mdpi.com/2305-6320/5/3/98?utm\\_campaign=HI\\_zyflamend-reviews](https://www.mdpi.com/2305-6320/5/3/98?utm_campaign=HI_zyflamend-reviews). Acesso em: 13 de setembro de 2024.
- NOOPUR, K. et al. Vegetables for food and nutritional security: A review. **Indian Res J Ext Edu**, v. 23, n. 4, p. 21-27, 2023. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20230412932>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.
- OHANAPRIYA, R. et al. Surveillance and source tracking of foodborne pathogens in the vegetable production systems of India. **Food Control**, v. 162, p. 110427, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713524001440>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.
- OLIVEIRA, J. R.; CAMARGO, S. E. A.; OLIVEIRA, L. D. *Rosmarinus officinalis* L.(rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. **Journal of biomedical science**, v. 26, n. 1, p. 5, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12929-019-0499-8>. Acesso em: 22 de novembro de 2024.
- ORTEGA-RAMIREZ, L. A. et al. Combination of *Cymbopogon citratus* and *Allium cepa* essential oils increased antibacterial activity in leafy vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 7, p. 2166-2173, 2017. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.8025>. Acesso em 17 de agosto de 2024.
- OWADE, J. O.; BERGHOLZ, T. M.; MITCHELL, J. A review of conditions influencing fate of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 in leafy greens. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 23, n. 5, p. e70013, 2024. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1541-4337.70013>. Acesso em:
- OWUSHI, J. N.; ASANGA, D. E. Assessment of human health improved fruits and vegetables: the benefits for growing children. **The Peerian Journal**, v. 27, p. 117-129, 2024. Disponível em: <https://www.peerianjournal.com/index.php/tpj/article/view/759>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.
- ÖZCAN, G.; DEMIREL, Z N. N. Combined effect of ultrasound and essential oils to reduce *Listeria monocytogenes* on fresh produce. **Food Science and Technology International**, v. 22, n. 4, p. 353-362, 2016. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1082013215604478>. Acesso em: 07 de setembro de 2024.
- PAPAJOVA, I. et al. Decontamination by anaerobic stabilisation of the environment contaminated with enteronematode eggs *Toxocara canis* and *Ascaris suum*. **Bioresource technology**, v. 99, n. 11, p. 4966-4971, 2008. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852407007705?\\_\\_cf\\_chl\\_tk=](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852407007705?__cf_chl_tk=)

1lq55r2iGlePETrhOtq5fBX\_9G.Ny3M0P.FptlotFLc-1733454023-1.0.1.1-BN7ZZLdGeB9AoGNUnzlpT7NRtjesJdn9bLJQoQwXV3E. Acesso em: 30 de setembro de 2024.

PARK, J. B.; KANG, J. H; SONG, K. B. Antibacterial activities of a cinnamon essential oil with cetylpyridinium chloride emulsion against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium* in basil leaves. **Food science and biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 47-55, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-017-0241-9>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

PINEDA, C. O. et al. Parasites in Fresh Produce: a Brazilian Inter-laboratory Evaluation of a Standardized Methodology for the Detection of *Ascaris* sp. in Leafy Vegetables. **Food Analytical Methods**, v. 14, n. 5, p. 989-996, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-020-01925-x>. Acesso em: 27 de outubro de 2024.

POBIEGA, K.; KRASNIEWSKA, K.; GNIEWOSZ, M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 83, p. 53-62, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418303807>. Acesso em: 7 de setembro de 2024.

PONCE, A.; ROURA, S. I.; MOREIRA, M. R. Essential oils as biopreservatives: different methods for the technological application in lettuce leaves. **Journal of food science**, v. 76, n. 1, p. M34-M40, 2011. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1750-3841.2010.01880.x>. Acesso em: 17 de agosto de 2024.

PRADO-SILVA, L. et al. Meta-analysis of the effects of sanitizing treatments on *Salmonella*, *Escherichia coli* O157: H7, and *Listeria monocytogenes* inactivation in fresh produce. **Applied and environmental microbiology**, v. 81, n. 23, p. 8008-8021, 2015. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.02216-15>. Acesso em: 15 de julho de 2025.

QIN, Y. M. et al. Deep Learning for sustainable agriculture: A systematic review on applications in lettuce cultivation. **Sustainability**, v. 17, n. 7, p. 3190, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/17/7/3190>. Acesso em:

RAMOS, B. et al. Fresh fruits and vegetables—An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 20, p. 1-15, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856413001173>. Acesso em: 03 de novembro de 2024.

RANDAZZO, W. et al. Effect of green tea extract on enteric viruses and its application as natural sanitizer. **Food Microbiology**, v. 66, p. 150-156, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S074000201630990X>. Acesso em: 16 de setembro de 2024.

RAZAKANDRAINIBE, R. et al. Evaluation of a modified method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts on spinach leaves. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 21, p. e00097, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405676620300263>. Acesso em: 18 de setembro de 2024.

RIEDEL, G. **Controle Sanitário dos Alimentos / Guenther Riedel**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

RODRIGUES, A. C. et al. Prevalence of contamination by intestinal parasites in vegetables (*Lactuca sativa* L. and *Coriandrum sativum* L.) sold in markets in Belém, northern Brazil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 7, p. 2859-2865, 2020. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.10265>. Acesso em: 16 de setembro de 2024.

SAFADI, D. et al. Parasitic Contamination of Fresh Leafy Green Vegetables Sold in Northern Lebanon. **Pathogens**, v. 12, n. 8, p. 1014, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/12/8/1014>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

SAID, D. S. et al. Detection of parasites in commonly consumed raw vegetables. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 48, n. 4, p. 345-352, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090506812000504>. Acesso em:

SALGADO, S. P. et al. Quality of Iceberg (*Lactuca sativa* L.) and Romaine (*L. sativa* L. var. longifolia) lettuce treated by combinations of sanitizer, surfactant, and ultrasound. **LWT-Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 261-268, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643813004544>. Acesso em:

SEIBERT, J. B. et al. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. **Food chemistry**, v. 287, p. 61-67, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814619304017>. Acesso em: 21 de outubro de 2024.

SHEN, C. et al. Generation of chlorine by-products in simulated wash water. **Food Chemistry**, v. 190, p. 97-102, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814615007815>. Acesso em: 27 agosto de 2024.

SHI, J. et al. Exposure to disinfection by-products and risk of cancer: A systematic review and dose-response meta-analysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 270, p. 115925, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014765132301429X>. Acesso em:

SHIELDS, J. M.; LEE, M. M.; MURPHY, H. R. Use of a common laboratory glassware detergent improves recovery of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from lettuce, herbs and raspberries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 1-2, p. 123-128, 2012. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160511006350>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

SHRESTHA, R. et al. A smartphone microscopic method for simultaneous detection of (oo) cysts of *Cryptosporidium* and *Giardia*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 9, p. e0008560, 2020. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0008560>. Acesso em: 22 de novembro de 2023.

SILVA, B. N. et al. Meta-analysis of the incidence of foodborne pathogens in vegetables and fruits from retail establishments in Europe. **Current opinion in food science**, v. 18, p. 21-28, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799317300036>. Acesso em: 07 agosto de 2025.

SILVA, K. J. S.; SABOGAL-PAZ, L. P. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp.(oo) cysts as target-organisms in sanitation and environmental monitoring: A review in microscopy-based viability assays. **Water Research**, v. 189, p. 116590, 2021. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135420311258?casa\\_token=fTe44IcjKoAAAAA:rWrrxLSXHKaXIVwL3TvePY5ZS9-7BNA2j18HLIT8miCJtvuPr1ozMQAXv7tv6R9tcO4B05FV-Sk](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135420311258?casa_token=fTe44IcjKoAAAAA:rWrrxLSXHKaXIVwL3TvePY5ZS9-7BNA2j18HLIT8miCJtvuPr1ozMQAXv7tv6R9tcO4B05FV-Sk). Acesso em: 03 de dezembro de 2024.

DA SILVEIRA, J. et al. Evaluation of a propolis hydroalcoholic solution with glycine in the joint reduction of microorganisms and helminth eggs from leafy green vegetables. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 26, p. e2023042, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/p6pxhQcCjDnvSFmnKmyQyVc/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 02 de Agosto de 2024.

SINGH, N. et al. Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157: H7 on lettuce. **Food microbiology**, v. 19, n. 2-3, p. 183-193, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S074000200190471X>. Acesso em:

SIROLI, L. et al. Natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed lamb's lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 103, p. 35-44, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521415000265>. Acesso em: 03 de novembro de 2024.

SKOUFOGIANNI, E.; SOLOMOU, A. D.; DANALATOS, N. G. Ecology, cultivation and utilization of the aromatic Greek oregano (*Origanum vulgare* L.): A review. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 47, n. 3, p. 545-552, 2019. Disponível em: <https://www.notulaeobotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/11296>. Acesso em: 20 de outubro de 2024.

SSEMANDA, J. N. et al. Reduction of microbial counts during kitchen scale washing and sanitization of salad vegetables. **Food Control**, v. 85, p. 495-503, 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713517304747>. Acesso em: 27 de novembro de 2025.

TARIQ, S. et al. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial pathogenesis**, v. 134, p. 103580, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401019304310>. Acesso em: 07 de abril de 2025.

THOMAS, G. A. et al. From field to plate: How do bacterial enteric pathogens interact with ready-to-eat fruit and vegetables, causing disease outbreaks?. **Food Microbiology**, v. 117, p. 104389, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002023001764>. Acesso em:

TODD, J. et al. The antimicrobial effects of cinnamon leaf oil against multi-drug resistant *Salmonella Newport* on organic leafy greens. **International journal of food microbiology**, v. 166, n. 1, p. 193-199, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160513003127>. Acesso em 03 de novembro de 2024.

TORGERSON, R. P. et al. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 11 foodborne parasitic diseases, 2010: a data synthesis. **PLoS medicine**, v. 12, n. 12, p. e1001920, 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1001920>. Acesso em 22 de novembro de 2024.

TORNUK, F. et al. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium* on fresh cut carrots and apples. **International Journal of Food Microbiology**, v. 148, n. 1, p. 30-35, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160511002455>. Acesso em 17 de agosto de 2024.

VIACAVA, G. E. et al. Effect of free and microencapsulated thyme essential oil on quality attributes of minimally processed lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 145, p. 125-133, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521418303673>. Acesso em: 22 de novembro de 2024.

VIDAKOVIĆ, V. et al. Qualitative Profiling, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Polar and Nonpolar Basil Extracts. **Foods**, v. 13, n. 18, p. 2993, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/18/2993>. Acesso em:

WEINBERG, J. M.; BIENHOLZ, A.; VENKATACHALAM, M. A. The role of glycine in regulated cell death. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 11, p. 2285-2308, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-016-2201-6>. Acesso em: 22 de novembro de 2024.

WHO. Estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. Disponível em:

<https://www.who.int/publications/i/item/9789241565165>. Acesso em: 11 de outubro de 2024.

WOJCIECHOWSKI, K. et al. Surface-active extracts from plants rich in saponins—effect on lipid mono-and bilayers. **Surfaces and Interfaces**, v. 27, p. 101486, 2021. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468023021005630>. Acesso em: 02 de dezembro de 2024

WONG, J. X. et al. Use of *Centella asiatica* extract in reducing microbial contamination and browning effect in fresh cut fruits and vegetables during storage: A potential alternative of synthetic preservatives. **LWT**, v. 151, p. 112229, 2021. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643821013827>. Acesso em: 12 de novembro de 2024.

World Health Organization. (2020). *Healthy diet*. Disponível em:

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>. Acesso em: 02 de dezembro de 2024

YU, K. et al. Effect of chitosan coatings with cinnamon essential oil on postharvest quality of mangoes. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 3003, 2021. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/12/3003>. Acesso em: 02 de dezembro de 2024

ŽAGAR, T.; FRLAN, R; KOČEVAR, G. N. Using subcritical water to obtain polyphenol-rich extracts with antimicrobial properties. **Antibiotics**, v. 13, n. 4, p. 334, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/13/4/334>. Acesso em: 02 de dezembro de 2024

ZAMAN, S. et al. Use of non-chlorine sanitizers in improving quality and safety of marketed fresh salad vegetables. **Processes**, v. 12, n. 5, p. 1011, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9717/12/5/1011>. Acesso em: 24 de novembro de 2024.

ZAMUZ, S. et al. The role of phenolic compounds against *Listeria monocytogenes* in food. A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 110, p. 385-392, 2021. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224421000765>. Acesso em: 24 de novembro de 2024.

ZEYNUDIN, A. et al. Parasitic contamination of fresh vegetables and fruits sold in open-air markets in peri-urban areas of Jimma City, Oromia, Ethiopia: A community-based cross-sectional study. **Plos one**, v. 19, n. 3, p. e0290655, 2024. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0290655>. Acesso em: 13 de setembro de 2024.

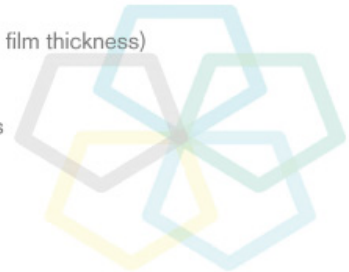
## ANEXO 1 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

### Aromatic Plant Research Center

We provide uncompromising  
quality control for your products.

Customer : doTERRA International  
Lot Number : 2221470  
Date Filled : 05/27/2022

Column : ZB5 (60 m length × 0.25 mm inner diameter × 0.25 µm film thickness)  
Instrument : Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra  
Carrier gas : Helium 80 psi  
Temperature ramp : 2 degrees celsius per minute up to 260-degrees celsius  
Split ratio : 30:1  
Sample preparation : 5%w/v solution with Dichloromethane.



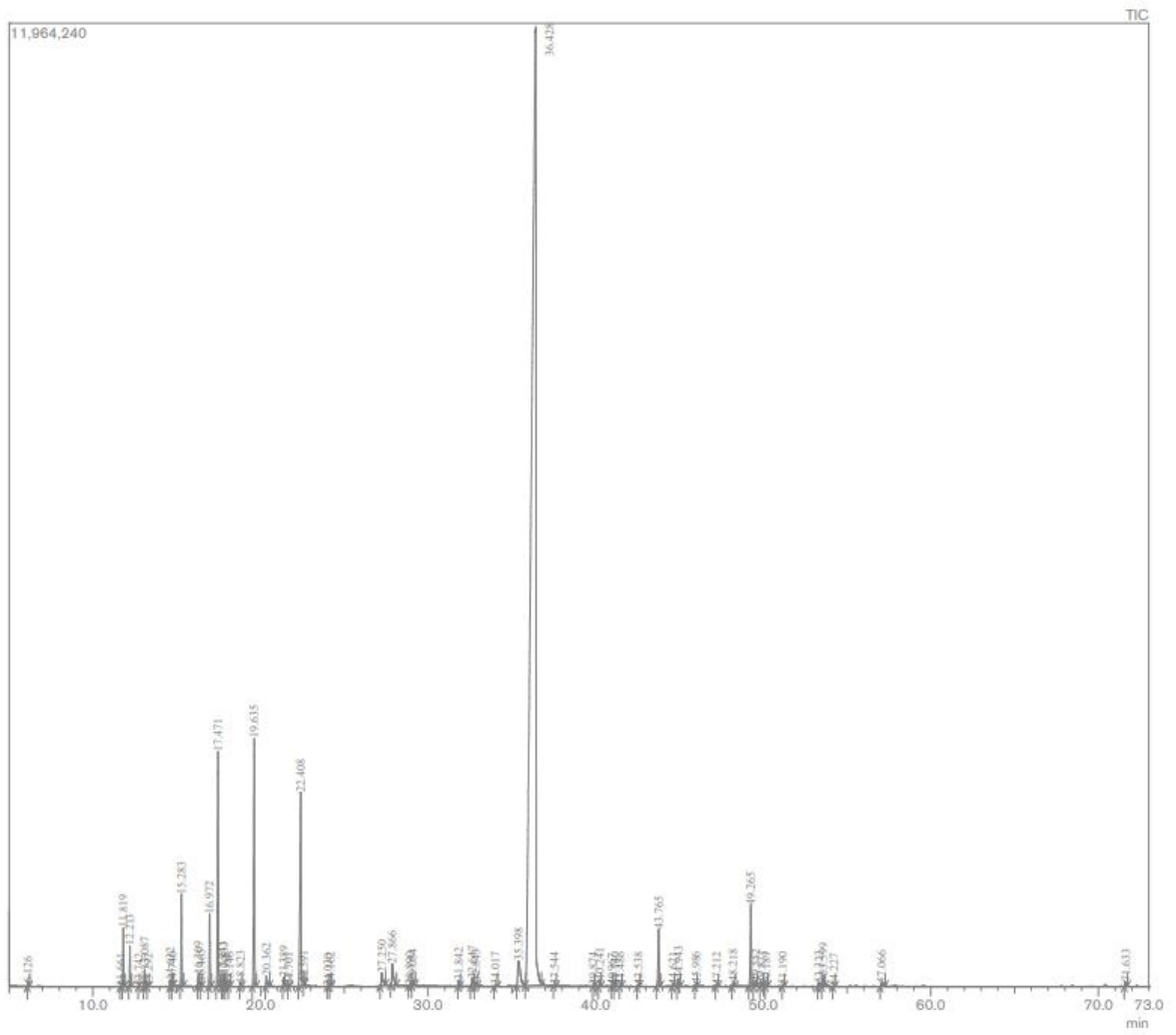
#### Comments:

The analysis of this Oregano lot revealed no contaminants or adulteration.  
The sample meets the expected chemical profile for authentic essential oils of *Origanum vulgare*.

Analysied by : Ambika Poudel  
Reviewed by : Dr. Prabodh Satyal

Date Filled : 05/27/2022

### Chromatogram



Aromatic Plant Research Center  
230 N 1200 E STE 100  
Lehi, UT 84043  
www.aromaticplant.org



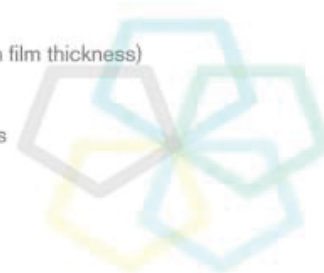
## Peak Report

Peak#	R.Time	Name	Area%
1	6.126	Methyl alpha-methyl butyrate	0.04
2	11.661	Tricyclene	0.01
3	11.819	alpha-Thujene	0.70
4	12.213	alpha-Pinene	0.50
5	12.742	Thujadiene	0.01
6	13.087	Camphene	0.22
7	13.292	Thuja-2,4(10)-diene	0.00
8	14.632	beta-Pinene	0.09
9	14.740	1-Octen-3-ol	0.02
10	15.283	Myrcene	1.27
11	16.309	alpha-Phellandrene	0.18
12	16.465	delta-3-Carene	0.06
13	16.972	alpha-Terpinene	1.07
14	17.471	para-Cymene	3.65
15	17.743	Limonene	0.18
16	17.833	beta-Phellandrene	0.19
17	17.905	1,8-Cineole	0.02
18	18.146	cis-beta-Ocimene	0.02
19	18.823	trans-beta-Ocimene	0.05
20	19.635	gamma-Terpinene	4.28
21	20.362	cis-Sabinene hydrate	0.22
22	21.389	Terpinolene	0.13
23	21.701	para-Cymenene	0.03
24	22.408	Linalool	4.00
25	22.591	Hotrienol	0.01
26	24.030	cis-para-Menth-2-en-1-ol	0.02
27	24.162	alpha-Campholenal	0.04
28	27.250	Borneol	0.37
29	27.866	Terpinen-4-ol	0.61
30	28.890	trans-beta-Ocimenol	0.03
31	29.084	alpha-Terpineol	0.08
32	31.842	Carvacrol methyl ether	0.10
33	32.647	Carvone	0.24
34	32.843	Linalyl acetate	0.12
35	34.017	Carvenone	0.04
36	35.398	Thymol	1.16
37	36.428	Carvacrol	76.21
38	37.544	tert-Butyl-para-benzoquinone	0.03
39	39.874	Neryl acetate	0.02
40	40.241	Carvacrol acetate	0.12
41	40.987	alpha-Copaene	0.01
42	41.140	Geranyl acetate	0.03
43	41.486	beta-Bourbonene	0.03
44	42.538	Methyl eugenol	0.03
45	43.765	beta-Caryophyllene	1.11
46	44.621	trans-alpha-Bergamotene	0.04
47	44.943	Aromadendrene	0.15
48	45.986	alpha-Humulene	0.05
49	47.212	trans-Cadina-1(6),4-diene	0.03
50	48.218	Viridiflorene	0.09
51	49.265	beta-Bisabolene	1.53
52	49.552	gamma-Cadinene	0.10
53	49.871	delta-Cadinene	0.07
54	50.189	beta-Sesquiphellandrene	0.03
55	51.190	trans-alpha-Bisabolene	0.03
56	53.323	Spathulenol	0.12
57	53.599	Caryophyllene oxide	0.22
58	54.227	Salvia-4(14)-en-1-one	0.01
59	57.066	epi-alpha-Cadinol	0.11
60	71.633	Oregano Sesquiterpenoid 1	0.09
			100.00

## ANEXO 2 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM

Customer : doTERRA Internacional  
Lot Number : 3230370  
Date Filled : 06/02/2023

Column : ZB5 (60 m length × 0.25 mm inner diameter × 0.25 µm film thickness)  
Instrument : Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra  
Carrier gas : Helium 80 psi  
Temperature ramp : 2 degrees celsius per minute up to 260-degrees celsius  
Split ratio : 30:1  
Sample preparation : 5%w/v solution with Dichloromethane.



### Comments:

A análise deste lote de Alecrim não revelou contaminantes ou adulterações.  
A amostra atende ao perfil químico esperado para óleos essenciais autênticos de *Rosmarinus officinalis*.

Analysied by : Ambika  
Reviewed by Poudel : Dr.



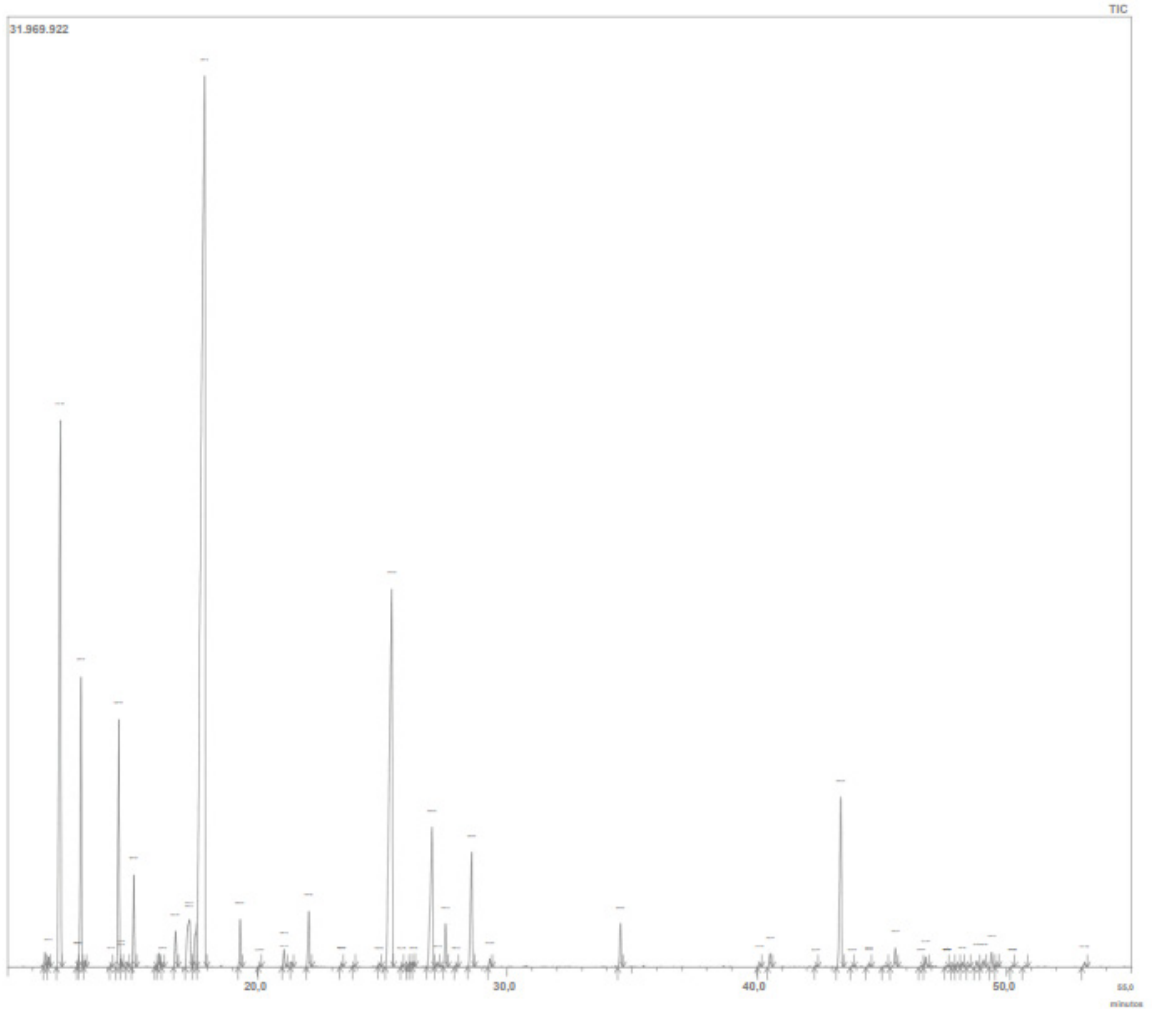


Customer : doTERRA Internacional

Lot Number : 3230370

Date Filled : 06/02/2023

**Chromatogram**



## Peak Report

Pico #	R.Tempo	Nome	Area%
		Triciclono	0,19
	11,495	alfa-Thujeno	0,14
1	11,646	alfa-Pineno	12,17
2	12,111	alfa-Fencheno	0,10
3	12,818	Canfeno	4,56
	12,937	Thuja-2,4(10)-dieno	0,09
	13,098	Sabineno	0,04
4	14,132	beta-pineno	4,15
5	14,451	1-Octen-3-ol	0,11
6	14,537	3-Octanona	0,08
7	14,793	Mirceno	1,39
8	15,053	para-Mentha-1(7),8-dieno	0,02
9	15,923	alfa-Fellandreno	0,21
10	16,069	delta-3-Careno	0,03
11	16,206	alfa-Terpineno	0,65
12	16,723	para-Cimeno	1,88
13	17,274	Limoneno	1,15
14	17,580	1,8-Cineol	43,15
15	17,887 19,309	gama-Terpineno	0,73
16	20,077	cis-Sabineno hidratado	0,03
17	21,065	Terpinoleno	0,29
18	21,378	para-Cimeno	0,07
19	22,060	Linalol	1,04
20	23,368	endo-Fenchol	0,05
21	23,850	alfa-Campholenal	0,03
22	24,881	trans-Pinocarveol	0,06
23	25,383	Cánfora	13,22
24	25,778	Hidrato de canfeno	0,03
25	26,005	Isopulegol	0,04
26	26,136	trans-Pinocarfona	0,06
27	26,253	Pinocarvona	0,06
28	26,996	Borneol	3,92
29	27,220	cis-Pinocamfone	0,07
30	27,536	Terpinen-4-ol	0,75
31	27,960	para-Cymen-8-ol	0,04
32	28,583	alfa-Terpineol	2,54
33	29,3 16	Verbenona	0,14
34	34,542	Acetato de	0,79
35	40,112	Bornil alfa-	0,08
36	40,532	Ylangene alfa-	0,26
37	42,372	Copaeno cis-	0,03
38	43,368	Cariofileno beta-	3,79
39	43,835	Cariofileno beta-Ylangene	0,03
40	44,486	Aromadendreno	0,05
41	45,106	Geraniil acetona	0,06
42	45,552	alfa-Humulene	0,40
43	46,586	cis-Cadina-1(6),4-dieno	0,03
4	46,770	trans-Cadina-1(6),4-dieno	0,20
4	47,616	beta-Selineno	0,03
45	47,836	gama-Amorfeno alfa-	0,04
46	48,053	Selineno trans-	0,06
47	48,224	Muurola-4(14),5-dieno	0,07
48	48,489	Viridifloreno	0,04
49	48,812	beta-Bisaboleno	0,13
50	49,093	gama-Cadineno	0,14
51	49,409	delta-Cadineno	0,30
52	49,692	trans-Calameneno	0,03
53	50,245	trans-Cadine-1,4-dieno	0,03
54	50,745	alfa-Catacoreno	0,03
55 56 57 58 59 60	53,131	Óxido de cariofileno	0,09
			100,00

## ANEXO 3 – CARTA DE ACEITE DE MANUSCRITO



---

**CARTA DE ACEITE DE MANUSCRITO****REAS, Revista Eletrônica Acervo Saúde (ISSN 2178-2091)**

Informamos que o artigo abaixo foi considerado para publicação na revista.

**Título do artigo:**

Efeito dos sanitizantes naturais na redução de *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella* spp em folhas de alface: Uma revisão integrativa

**Autor/Coautores:**

Juliana da Silveira

Luiza Oliveira Pinheiro da Silva

Natalia de Almeida Corrêa Alfredo

Sila Mary Rodrigues Ferreira

Obdulio Gomes Miguel

quarta-feira, julho 16, 2025

---

**Dr. Andreazzi Duarte**  
Editor-líder da Revista

**NOTA:**

\* O aceite do artigo está sujeito a confirmação do pagamento e documentação conforme as normas da revista.

\*\* O aceite não extingue a possibilidade de correções ou adequações no conteúdo do trabalho.

---

[WWW.ACERVOMAIS.COM](http://WWW.ACERVOMAIS.COM)  
Base presente em todo o Brasil.

---