

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS  
ALIMENTOS

**Sarah Bianca Soares da Silva**

**INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO,  
TEMPERATURA E PRESENÇA DE MATÉRIA ORGÂNICA SOBRE  
A AÇÃO ANTIFÚNGICA DE SANITIZANTES FRENTE À *Penicillium  
nordicum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus westerdijkiae*.**

Santa Maria, RS  
2023

**Sarah Bianca Soares da Silva**

**INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO,  
TEMPERATURA E PRESENÇA DE MATÉRIA ORGÂNICA SOBRE A AÇÃO  
ANTIFÚNGICA DE SANITIZANTES FRENTE À *Penicillium nordicum*,  
*Penicillium verrucosum* e *Aspergillus westerdijkiae*.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marina Venturini Copetti

Santa Maria, RS  
2023

SILVA, SARAH BIANCA  
INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO,  
TEMPERATURA E PRESENÇA DE MATÉRIA ORGÂNICA SOBRE A AÇÃO  
ANTIFUNGICA DE SANITIZANTES FRENTE A *Penicillium nordicum*,  
*Penicillium verrucosum* e *Aspergillus westerdijkiae*. /  
SARAH BIANCA SILVA.- 2023.  
69 p. : 30 cm

Orientador: Marina Venturini Copetti  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2023

1. Controle de fungos 2. Higiene 3. Ocratoxina A 4.  
Sanitizante 5. Produtos cárneos. I. Venturini Copetti,  
Marina II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica de UFSC. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, SARAH BIANCA SILVA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Sarah Bianca Soares da Silva**

**INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO,  
TEMPERATURA E PRESENÇA DE MATÉRIA ORGÂNICA SOBRE A AÇÃO  
ANTIFÚNGICA DE SANITIZANTES FRENTE À *Penicillium nordicum*,  
*Penicillium verrucosum* e *Aspergillus westerdijkiae*.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

**Aprovada em 24 de outubro de 2023.**

---

**Dr.<sup>a</sup> Marina Venturini Copett (UFSM)  
(presidente/orientador)**

---

**Angelica Oliver Bernardi, Dra.**

---

**Marcelo Valle Garcia, Dr.**

---

**Esther Garcia-Cella PhD, (University of hertfordshire)**

---

**Paula Fernanda Pinto da Costa Dra., (UNIPAMPA).**

Santa Maria, RS 2023

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Alex e Luciane, meus exemplos.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço a Nossa Senhora de Aparecida, Deus e Preto Veio pela vida, pela fé e pela força para enfrentar os desafios, de dias difíceis.*

*Agradeço aos meus pais, Luciane e Alex, por todo o apoio, amor, proteção e orações.*

*A minha eterna orientadora Prof. Rosa Cristina Prestes, que ao lado de Deus está olhando por seus orientados, um grande agradecimento, por ter me acolhido e dado forças.*

*A Prof. Marina Copetti por aceitar me orientar nesta caminhada de sucesso.*

*Mesmo que eu ande pelo vale da morte não  
temereis mau algum pois o senhor me guiará  
(Salmo 23).*





## RESUMO

### INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO, TEMPERATURA E PRESENÇA DE MATÉRIA ORGÂNICA SOBRE A AÇÃO ANTIFÚNGICA DE SANITIZANTES FRENTE À *Penicillium nordicum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus westerdijkiae*.

AUTORA: Sarah Bianca Soares da Silva  
ORIENTADORA: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marina Venturini Copetti

Perdas econômicas são normalmente ocasionada pela deterioração precoce de alimentos por fungos em alguns segmentos de indústrias alimentícias, como o caso dos que produzem produtos cárneos maturados, assim como redução da qualidade e segurança dos alimentos e consumidores. A deterioração normalmente ocorre em alimentos que tem suas características intrínsecas e extrínsecas permissíveis ao crescimento fúngico. Na indústria de produtos cárneos maturados é comum a contaminação e posterior deterioração por fungos, pois a composição de alguns produtos os torna suscetíveis à proliferação de fungos indesejáveis. Pela grande preocupação que permeia a contaminação fúngica nas indústrias de produtos cárneos, as indústrias buscam métodos efetivos para a prevenção e controle fúngico, sendo um deles a utilização de sanitizantes. No entanto a eficácia dos sanitizantes comerciais pode ser afetada por diferentes fatores que resultam na redução de sua ação contra os fungos, pois alguns fungos que se desenvolvem na superfície de produtos cárneos maturados, como *Aspergillus westerdijkiae*, *Penicillium nordicum* e *Penicillium verrucosum*, são capazes de produzir micotoxinas, com ênfase em ocratoxina A, que quando ingerida pode causar danos à saúde do consumidor. A influência de parâmetros sobre a atividade antifúngica de sanitizantes tem grande importância, porém tem sido pouco explorada. Diante disto, este estudo propôs-se a avaliar a eficácia antifúngica dos principais sanitizantes utilizados na indústria de produtos cárneos maturados contra fungos deteriorantes com potencial de produzir ocratoxina A, aplicando diferentes fatores tais como temperatura, matéria orgânica e tempo de exposição, que podem interferir na ação antifúngica dos mesmos. Os testes foram realizados de acordo com o protocolo para testes de efeitos antimicrobiano de sanitizantes químicos do Comitê Europeu de Normalização (CEN). *Aspergillus westerdijkiae*, *Penicillium nordicum* e *Penicillium verrucosum*, foram testados frente ácido peracético (0,3, 0,6 e 1%), cloreto de benzalcônio (0,3, 1,2 e 2%) e hipoclorito de sódio (0,5, 0,75 e 1%) em três tempos de exposição (10, 15 e 20 min), três temperaturas (10, 25 e 40 °C) e com a presença de matéria orgânica simulando ambientes limpos (0,3%) e sujos (3%). O ácido peracético foi o sanitizante mais eficaz considerando todas as espécies fúngicas testadas e fatores de interferência, seguido pelo cloreto de benzalcônio, já o hipoclorito de sódio foi o sanitizante com menor eficiência dentre os sanitizantes avaliados no estudo. De maneira geral a matéria orgânica quando presente causou a redução da eficácia dos sanitizantes. Em relação ao tempo de contato e concentração de sanitizante quando maiores resultaram na melhora da ação de todos os sanitizantes. A temperatura quando elevada demonstrou favorecer o ácido peracético e hipoclorito de sódio, já o cloreto de benzalcônio foi favorecido nas temperaturas mais baixas aplicadas no estudo. O conhecimento sobre os fatores que reduzem a eficácia dos sanitizantes é de importância, pois serve como orientação para a escolha de qual é o composto ativo e concentrações de uso mais adequadas em diferentes situações, assim como para guiar quais medidas podem ser tomadas para reduzir as interferências negativas presentes durante sua aplicação no controle de fungos deteriorantes de produtos cárneos maturados, e, portanto colaborar com a redução de perdas econômicas e proporcionar a oferta de produtos mais seguros aos consumidores

**Palavras-chave:** Controle de fungos. Higiene. Ocratoxina A. Sanitizante. Indústria .Produtos cárneos.

**ABSTRACT****INFLUENCE OF CONCENTRATION, EXPOSURE TIME,  
TEMPERATURE AND PRESENCE OF ORGANIC MATTER ON  
THE ANTIFUNGAL ACTION OF SANITIZERS AGAINST  
*Penicillium nordicum*, *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus  
westerdijkiae***

AUTHOR: Sarah Bianca Soares da Silva  
ADVISOR: Prof.Dr. Marina Venturini Copetti

Economic losses are normally caused by the early deterioration of food by fungi in some segments of the food industry, such as those that produce matured meat products, as well as a reduction in the quality and safety of food and consumers. Spoilage normally occurs in foods that have their intrinsic and extrinsic characteristics permissible for fungal growth. In the matured meat products industry, contamination and subsequent deterioration by fungi is common, as the composition of some products makes them susceptible to the proliferation of undesirable fungi. Due to the great concern that permeates fungal contamination in the meat products industries, industries are looking for effective methods for fungal prevention and control, one of them being the use of sanitizers. However, the effectiveness of commercial sanitizers can be affected by different factors that result in a reduction in their action against fungi, as some fungi that develop on the surface of matured meat products, such as *Aspergillus westerdijkiae*, *Penicillium nordicum* and *Penicillium verrucosum*, are capable of produce mycotoxins, with an emphasis on ochratoxin A, which when ingested can cause harm to the consumer's health. The influence of parameters on the antifungal activity of sanitizers is of great importance, but has been little explored. In view of this, this study proposed to evaluate the antifungal efficacy of the main sanitizers used in the matured meat products industry against spoilage fungi with the potential to produce ochratoxin A, applying different factors such as temperature, organic matter and exposure time, which can interfere in their antifungal action. The tests were carried out in accordance with the protocol for testing the antimicrobial effects of chemical sanitizers of the European Committee for Standardization (CEN). *Aspergillus westerdijkiae*, *Penicillium nordicum* and *Penicillium verrucosum* were tested against peracetic acid (0.3, 0.6 and 1%), benzalkonium chloride (0.3, 1.2 and 2%) and sodium hypochlorite (0.5, 0.75 and 1%) in three exposure times (10, 15 and 20 min), three temperatures (10, 25 and 40 °C) and with the presence of organic matter simulating clean environments (0.3%) and dirty (3%). Peracetic acid was the most effective sanitizer considering all tested fungal species and interference factors, followed by benzalkonium chloride, while sodium hypochlorite was the sanitizer with the least efficiency among the sanitizers evaluated in the study. In general, organic matter, when present, caused a reduction in the effectiveness of sanitizers. In relation to contact time and sanitizer concentration, when higher, they resulted in an improvement in the action of all sanitizers. When elevated, the temperature was shown to favor peracetic acid and sodium hypochlorite, while benzalkonium chloride was favored at the lower temperatures applied in the study. Knowledge about the factors that reduce the effectiveness of sanitizers is important, as it serves as guidance for choosing which active compound and concentrations of use are most appropriate in different situations, as well as to guide which measures can be taken to reduce negative interferences present during its application in the control of spoilage fungi in matured meat products, and therefore contribute to the reduction of economic losses and provide safer products to consumers.

Keywords: Fungal control. Hygiene. Ochratoxin A. Sanitizer. Industry. Meat products.

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

|   |    |
|---|----|
| Table 1- Variables considered for the study of factors interfering with the antifungal activity of sanitizers.....  | 27 |
| Table 2- <i>Aspergillus westerdijkiae</i> colonies recovered after exposure to different concentrations of sanitizing agents at different temperatures and concentrations of organic matter ..... | 39 |
| Table 3- Colonies of <i>Penicillium verrucosum</i> recovered after exposure to different concentrations of sanitizing agents at different temperatures and concentrations of organic matter.....  | 40 |
| Table 4- Recovered colonies of <i>Penicillium nordicum</i> after exposure to different concentrations of sanitizing agents at different temperatures and concentrations of organic matter .....   | 41 |

### ARTIGO 2

|  |    |
|--|----|
| Table A1- . Sanitizantes, princípio ativo e as concentrações indicadas pelo fabricante. .... | 45 |
| Table A2- Informações sobre a pesquisa .....   | 46 |
| Table A3- Fatores de interferência, vantagens e desvantagens dos sanitizantes.....           | 52 |

## LIST OF FIGURES

### 5.1 ARTIGO 1

|  |    |
|--|----|
| Figura 1-Variables considered for the study of factors interfering with the antifungal activity of sanitizers..... | 29 |
| Figura 2- Antifungal efficacy of commercial sanitizing agents appropriate for use in food industry.....            | 30 |
| Figura 3- Antifungal efficacy of commercial sanitizing agents appropriate for use in food industry.....            | 31 |

## Sumário

|   |    |
|---|----|
| 1.INTRODUÇÃO .....  | 15 |
| 2.OBJETIVOS.....  | 17 |
| 2.1.Objetivo geral .....  | 17 |
| 2.2.Objetivos específicos .....   | 17 |
| 3.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....   | 18 |
| 3.1.Deterioração fúngica de produtos cárneos curados .....  | 18 |
| 3.2.Ocratoxina A .....  | 18 |
| 3.3Sanitização para prevenir a contaminação por ocratoxina A em produtos cárneos.....   | 21 |
| 4.ARTIGOS CIENTÍFICOS INTEGRADOS .....  | 24 |
| ARTIGO 1– Factors that interfere in the action of sanitizers against ochratoxigenic fungi<br>deteriorating matured meat products..... | 25 |
| ARTIGO 2– Sanitizantes comumente utilizados na indústria de alimentos para controle de<br>fungos.....                                 | 44 |
| 5.CONCLUSÃO GERAL.....  | 57 |
| 6.REFERÊNCIAS .....   | 58 |

## APRESENTAÇÃO

A presente tese de doutorado segue as normas estabelecidas na Estrutura e Apresentação de Monografias, Dissertações e Teses– MDT da UFSM (UFSM, 2021). Os resultados obtidos ao longo dos anos de doutoramento estão apresentados na forma de dois artigos científicos, sendo um com os resultados da pesquisa científica e um de revisão bibliográfica em tema relacionado.

O primeiro artigo integrado apresentará o manuscrito publicado na revista *Fermentation*, intitulado "Factors that interfere in the action of sanitizers against ochratoxigenic fungi deteriorating matured meat products" que dispõe dos resultados obtidos sobre a eficácia dos sanitizantes considerando diferentes fatores, como tempo de exposição, temperatura, concentração e presença de matéria orgânica frente a fungos deteriorantes de produtos cárneos maturados com capacidade de produção da micotoxina ocratoxina A, estes sendo *Penicillium nordicum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus westerdijkiae*.

O segundo artigo é uma revisão bibliográfica intitulada "Sanitizantes comumente utilizados na indústria de alimentos para controle de fungos." voltada somente para os sanitizantes comumente utilizados nas indústrias de alimentos, com ação antifúngica relatada. Abordando pontos relacionados à sua ação antifúngica, fatores de interferência e as implicações do uso de forma geral.

## 1. INTRODUÇÃO

Produtos de carnes maturados, como salame fermentado desidratado e outros produtos que fazem parte dos alimentos tradicionais de muitas regiões e países, são produzidos e consumidos no mundo todo e devem seguir um rigoroso controle de qualidade para serem inócuos aos consumidores (Ferrara et al., 2015; Lippolis et al., 2016). Por exemplo, a contaminação por fungos que pode causar grandes perdas econômicas e riscos a saúde dos consumidores pela ingestão de alimentos contaminados. Os fungos é uma das principais causas de deterioração nos alimentos, por apresentar grande versatilidade para o cultivo de substratos e condições onde outros micro-organismos não são capazes de crescer (Taniwaki, 2018).

Problemas relacionados com a deterioração por fungos após o processamento são de escala mundial (Hocking, 2014), assim como consumo de produtos carnes fermentados, e estes podem apresentar fungos típicos em sua superfície que são considerados normais e até um fator de qualidade se as espécies em desenvolvimento não forem capazes de produzir micotoxinas (Perrone et al., 2019). Os fungos assim como as micotoxinas podem ser considerados como naturais e inevitáveis (Copetti, 2023), sendo que a presença ocasional de espécies produtoras de toxinas venham a ocorrer na superfície dos produtos, expondo os consumidores a estes produtos deletérios (Parrusolo et al., 2019a; Perrone et al., 2019). Atualmente as espécies de fungos produtoras de ocratoxina A, são as que mais ocorrem em produtos carnes curados (Copetti, 2023). O gênero *Penicillium* é o principal responsável por deterioração em produtos carnes, com destaque para *Penicillium verrucosum* e *Penicillium nordicum*, ambos produtores de ocratoxina A, sua ocorrência é alta em regiões de climas temperados, como na Europa (Perrone et al., 2019; Pitt, Hocking, 2009). Já espécies de *Aspergillus* da Seção Circumdati (principalmente *A. westerdijkiae* e *A. ochraceus*), foram observadas em produtos carnes curados na América do Sul e países do Mediterrâneo (Parrusolo et al., 2019; Perrone et al., 2019).

Uma vez que há a contaminação por fungos em uma matriz alimentícia, algumas estratégias como o controle de condições ambientais (temperatura, umidade relativa e circulação de ar), biopreservação e composição da matriz, são sugeridas para minimizar ou prevenir a produção de micotoxinas durante a maturação dos produtos carnes curados (Andrade 2018). A atividade antagonista de diferentes micro-organismos contra os fungos

ocratogênicos também é uma estratégia potencial para prevenir a presença de ocratoxina A em produtos cárneos maturados, porém esta prática não é prevista em lei no que se refere a indústria alimentícia (Andrade et al., 2014; Bernáldez et al., 2013; Núñez et al., 2015; Peromingo et al., 2018; Rodríguez et al., 2015; Simoncini et al., 2014).

Uma das estratégias adotadas é o método de limpeza seguido de um processo de sanitização (Kuaye; 2017), sempre levando em consideração as concentrações de sanitizante para que possam ser eficazes quando aplicados (Silva et al. 2023). Os sanitizantes comerciais mais utilizados durante a lavagem e processamento de produtos frescos e maturados são hipoclorito de sódio (NaOCl), contendo cloro (FAO/WHO., 2008), ácido peracético, com objetivo de remover a sujeira do campo e incrustados na superfície de corte (Gu et al., 2020) e o compostos de amônio quaternário (QACs)(Visconti et al., 2021).

A higienização do ambiente e equipamentos reduz a contagem de micro-organismos, resultando em uma menor carga microbiana nos alimentos processados, assim prolongando sua vida útil (Bernardi et al., 2019a). A atividade antifúngica de um sanitizante é determinada por meio da redução logarítmica do número de esporos fúngicos viáveis, sendo este um fator importante na escolha de um sanitizante (Visconti et al., 2021).

Para atingir o objetivo de controle de fungos, é importante utilizar sanitizantes com atividade antifúngica comprovada em testes laboratoriais (Bernardi et al., 2019, Copetti, 2023), a qual é estimada pela redução logarítmica na quantidade de esporos fúngicos viáveis, pois este é um fator importante na escolha de um agente (Visconti et al., 2021).

Além de selecionar o melhor princípio ativo por meio de testes laboratoriais, levando em consideração fatores como tempo de contato, temperatura e concentração, tipo de desinfetante e presença de matéria orgânica (Stefanello et al., 2020), bem como método de aplicação (Visconti et al., 2021) e fungo alvo os quais podem afetar a atividade antifúngica dos sanitizantes (Bernardi et al., 2019, Copetti, 2023), assim levando a uma escolha segura do sanitizante e dos métodos de aplicação pelas indústrias alimentícias, em especial de cárneos maturados, quando a proliferação de fungos.



## 2. OBJETIVOS

### *Objetivo geral*

Avaliar a influência de fatores como temperatura, matéria orgânica e tempo de exposição, na ação de três sanitizantes comerciais utilizados na indústria como prevenção do desenvolvimento de fungos responsáveis pela deterioração de produtos cárneos maturados e produtores de ocratoxina A,

### *Objetivos específicos*

- Avaliar a influência de parâmetros como, tempo de exposição ao sanitizante, temperatura de ação, concentração do sanitizante aplicada e concentração de matéria orgânica, sobre a eficácia de três sanitizantes químicos (ácido peracético, cloreto benzalcônio e hipoclorito de sódio) frente aos fungos *Aspergillus westerdjkiae*, *Penicillium nordicum* e *Penicillium verrucosum*;
- Obter resultados que permitam a indicação do melhor sanitizante para o controle de fungos produtores de ocratoxina A, *Aspergillus westerdjkiae*, *Penicilium nordicum* e *Penicilium verrucosum*.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Deterioração fúngica de produtos cárneos curados

A carne é um dos alimentos mais ricos em proteínas, vitaminas e minerais, sendo um alimento de maior importância para humanos (Pereira et al., 2013). É também um produto muito perecível, assim têm sido aplicadas tecnologias para prolongar sua vida útil, como redução do teor de água pela adição de sal, redução do pH durante o processo de fermentação, entre outros métodos. Um dos métodos mais antigos para o processamento de alimentos é a fermentação, sendo mencionada pela primeira vez na Itália em 1730 (Leistner, 1986). O método de fermentação da carne, com o desenvolvimento de fungos na superfície do produto tem seus aspectos positivos proporcionando sabor e aroma característico (Andersen, 1995; Leistner, 1990; Sunesen et al., 2003; Perrone et al., 2015). Porém o desenvolvimento de fungos indesejáveis pode afetar negativamente a segurança dos produtos por serem capazes de, além de provocarem a deterioração precoce do produto cárneo, sintetizar micotoxinas que quando ingeridas provocam efeitos adversos na saúde de animais e humanos (Perrone et al., 2015; Magista et al., 2017).

Algumas características destes produtos, como as concentrações de sal e baixa atividade de água, favorecem o crescimento de fungos xerofílicos (Asefa et al., 2009); que englobam principalmente espécies dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* (Perrone et al.; 2019). A ocorrência de fungos toxigênicos tanto em produtos cárneos maturados, como embutidos fermentados tem a tendência de produzir micotoxinas em sua superfície (Iacumin et al., 2009; Iacumin et al., 2011), com maior concentração de micotoxinas em seu envoltório, facilitando a difusão destes contaminantes para o interior dos produtos (Dall'Asta et al., 2010; Pleadin et al., 2017; Parussolo et al., 2019).

#### 3.2 Ocratoxina A

A ocratoxina A foi primeiramente isolada em 1965 de uma cultura de *Aspergillus ochraceus* (seção *Circumdati*) (Van der Merwe et al., 1965) na África do Sul. As ocratoxinas são um grupo de compostos relacionados produzidos por *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum* e outras espécies de *Penicillium* (Alshannaq, A., & Yu, J.-H., 2017), sendo esta a mais comum e tóxica (Chebil et al., 2020; Lai et al., 2020). A família da ocratoxina consiste basicamente em ocratoxina A (Gu et al., 2019; Lv et al.,

2020), ocratoxina B (Qileng et al., 2018; Tang et al., 2019), ocratoxina C (Qileng et al., 2018), ocratoxina  $\alpha$  (Haq et al., 2016; Paoloni et al., 2018).

A ocratoxina A tem sido relatada como a principal micotoxina em produtos cárneos europeus como presuntos maturados (Rodríguez et al., 2012) e embutidos fermentados (Iacumin et al., 2009; Markov et al., 2013), em salames produzidos na Argentina (Vila et al., 2016; Castellari et al., 2010; Canel et al., 2013), Brasil (Parussolo et al., 2019), Itália (Iacumin et al., 2009; 2011), bem como nas superfícies de outros produtos cárneos maturados em vários países (Strzelecki et al., 1972; Sutic et al., 1972; Huerta et al., 1987, Rojas et al., 1991, Nunez et al., 1996; Comiet et al., 2004; Wang et al., 2006; Costa et al., 2014), evidenciando seu grande alcance mundial. A presença de ocratoxina A em produtos cárneos pode ser proveniente de qualquer contaminação direta ou indireta (Rodríguez et al., 2012; Bertuzzi et al., 2013), estando relacionada ao uso de ingredientes, especiarias (pimenta, sal, etc) e carne de animais expostos e contaminados por micotoxinas, ou ainda pelo desenvolvimento de bolores na superfície dos produtos (Perrone et al., 2019; Bertuzzi et al., 2013; Sonjak et al., 2011; DallAsta et al., 2010).

A contaminação de produtos por ocratoxina A é bastante ampla, incluindo cereais, leguminosas, café, cerveja, frutas, bem como produtos de cacau, nozes e especiarias (EFSA 2006), grande variedade de commodities agrícolas, como milho, trigo, cevada, farinha, arroz, aveia, centeio, feijão, ervilha e alimentos mistos, e estão presentes principalmente no vinho, suco de uva, e frutos secos de videira (Magnoli et al., 2007). As ocratoxinas também podem contaminar produtos de origem animal, como carne e leite, podendo ser encontrado no leite humano (Stoev, 2013), também podem estar presentes em carnes secas, sangue, salsichas, fórmula infantil e alimentos para bebês (JECFA, 2008).

Dentre os principais fungos relacionados à síntese de ocratoxina A em produtos cárneos, destacam-se as espécies *Aspergillus westerdijkiae*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium nordicum* e *Penicillium verrucosum*. Tradicionalmente *A. westerdijkiae* é considerado um importante contaminante de vegetais (Gil-Serna et al., 2015), embora sua ocorrência em produtos cárneos maturados tem sido descrita. Estudos realizados por Scaramuzza et al. (2015) relataram a presença do fungo em indústrias italianas de processamento de produtos cárneos, e o mesmo também foi reportado no Brasil (Parussolo et al., 2018). Iacumin et al. (2011) em seu estudo destacou que cerca de 34% das tripas de embutidos italianos apresentam altos níveis de ocratoxina A, e por sua vez estavam contaminados com *A. ochraceus* (espécie bastante similar ao *A. westerdijkiae*), que é capaz

de produzir grandes quantidades de ocratoxina A (Iacumin et al., 2017; Vipotnik et al., 2017). Assim como a espécie de *Aspergillus* as espécies dos gêneros *Penicillium*, também são capazes de produzir ocratoxina A, *Penicillium nordicum* e, menos frequentemente, *P. verrucosum* podem ser encontrados em alimentos fermentados ricos em NaCl, como, presunto, queijos ou vegetais (Schmidt-Heydt, et al., 2011), presunto italiano ou espanhol, salame ou queijos salgados (Lund, Frisvad, 2003). Ambas as espécies de *Penicillium* também são capazes de crescer na superfície de produtos cárneos curados durante o amadurecimento (Iacumin et al., 2009; Rodríguez et al., 2012). Comiet al. (2004) isolaram principalmente espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* de presunto. Vários estudos caracterizam as populações de fungos presentes nas superfícies de produtos cárneos curados e desidratados (Battilani et al., 2007; Bogs et al., 2006; Schmidt-Heydt et al., 2011). Nesses estudos, foi descoberto que *P. nordicum* é um importante produtor de ocratoxina A, que tem grande ocorrência em produtos ricos em NaCl e proteínas (Butinar et al., 2011; Larsen et al., 2001; Sonjak et al., 2011).

A presença desta micotoxina é indesejável em alimentos por causa de seu efeito nefrotóxico, hepatotóxico, propriedades imunotóxicas (Petzinger et al., 2000), alergênicas, cancerígenas (Comi et al., 2013), imunossupressoras e mutagênicas (Martín et al., 2006; Núñez et al., 2015), dependendo do nível de exposição (Van Egmond, 1989; Iqbal et al., 2014), sendo a via alimentar de grande relevância no caso da exposição humana por alimentos contaminados (Comi et al., 2013). A ocratoxina A foi classificada como carcinógeno do Grupo 2B pela Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC, 1993). Quando esta micotoxina entra no organismo em quantidades suficientes é capaz de provocar efeitos tóxicos agudos (altas doses de micotoxinas, exposição de curto prazo) e principalmente crônicas (menores doses de micotoxinas, exposição a longo prazo) (Pleadin et al., 2019). Num estudo realizado na Europa a ingestão semanal de ocratoxina A é relativamente baixa, variando de 15 a 60ng/kg (EFSA, 2006) havendo a recomendação de uma ingestão semanal tolerável de 100 e 120 ng/kg de peso corporal (EFSA, 2006; Joint FAO/WHO, 2007). Porém o impacto real da ingestão de ocratoxina A não foi totalmente estabelecido, sendo difícil avaliar o risco da ingestão desta toxina diariamente (Delgado et al., 2018). A ocratoxina A afeta a produtividade de animais pois reduz a conversão alimentar e ganho de peso corporal e pode diminuir a produção de ovos em galinhas poedeiras (Heussner et al., 2015). Como a ocratoxina A é lipossolúvel e tem forte interação com as proteínas plasmáticas, tende a acumular-se nos tecidos de animais, especialmente

suínos (Stoev et al., 2002).

Devido à estabilidade destes compostos aos processamentos aplicados pela indústria de produtos cárneos maturados, uma forma de controle importante seria a prevenção da contaminação destes alimentos por fungos produtores de ocratoxina, com destaque ao controle da contaminação dos ambientes sanitizantes.

### ***3.3 Sanitização para prevenir a contaminação por ocratoxina A em produtos cárneos***

Com visão na indústria de alimentos, a limpeza e sanitização são de suma importância para garantir a segurança microbiológica dos alimentos (Visconti et al., 2021) e também manter as condições higiênicas nas indústrias de alimentos (Pezzuto et al., 2016). A sanitização tem como objetivo reduzir micro-organismos para níveis considerados seguros no ponto de vista da saúde pública, assim os sanitizantes são produtos químicos com capacidade de reduzir esta contaminação microbiana.

O controle de fungos pode ser alcançado mantendo a higiene no ambiente de produção, utilizando sanitizantes com capacidade antifúngica adequada (Copetti, 2023). Sendo que a atividade antifúngica de um sanitizante é determinada por meio da redução logarítmica do número de esporos fúngicos viáveis, sendo este um fator importante na escolha de um desinfetante (Visconti et al., 2021). Dentre os sanitizantes disponíveis no mercado e com uso autorizado por agências reguladoras são hipoclorito de sódio (NaOCl), contendo cloro (FAO/WHO, 2008), ácido peracético (Gu et al., 2020) e os compostos de amônio quaternário (QACs) (Visconti et al., 2021), como o cloreto benzalcônio.

O hipoclorito de sódio é o sanitizante mais utilizado mundialmente (Lee & Huang, 2019, Wang et al. 2014), pois fornece uma fonte de cloro sendo considerado um forte agente oxidante, sendo aplicado para limpeza e sanitização em alimentos, com amplo espectro de atividades (Wang et al., 2023) e com baixo custo (Petri et al., 2021, Pereira et al., 2015). O uso do hipoclorito de sódio é amplo e abrange várias indústrias e diferentes objetivos. Pois não afeta as qualidades nutricionais dos alimentos (Yuan Su et al., 2022). Este sanitizante tem sua ação baseado nas propriedades físico-químicas (Kim, 2016). O NaOCl forma ácido hipocloroso (HOCl) por hidrólise, este penetra nas células-alvo com fortes efeitos bactericidas, incapacitando as bactérias via oxidação e mudanças no pH (Park et al., 2018). Porém sua eficácia é significativamente reduzida pela presença de matéria

orgânica (Parish et al., 2003; Tomás-Callejas et al., 2012; Gómez-López et al., 2013, Ramos et al., 2013; Gómez-López et al., 2014), e nestas circunstâncias tem sua eficiência limitada na redução de cargas microbianas (Yaron & Romling, 2014), assim elevando as chances de contaminação nos produtos alimentícios (Gomez-Lopez et al., 2014; Gomez-Lopez et al., 2013; Shen et al., 2016). Sua ação também depende muito do pH presente (Ramos et al., 2013; Chen, Hung, 2017; Cuggino et al., 2020; Weng et al., 2016). A grande preocupação do uso de hipoclorito de sódio atualmente está na reatividade do cloro com a matéria orgânica presente, pois geram subprodutos de desinfecção (DBPs) (Banach et al., 2009; Lee et al., 2019), além de ter potenciais consequências negativas no meio ambiente e na saúde humana (Lee & Huang, 2019; Simpson & Mitch, 2021) e possuem ação limitada contra fungos (Bernardi et al., 2019).

Uma das principais alternativas para o uso de cloro é o ácido peracético (Xiu-wei, 2021; Fallik, 2014; Lopez-Galvez et al, 2020; Osaili et al, 2018; Singh et al, 2018). Considerado sustentável, sendo um oxidante e desinfetante verde (Dunkin et al., 2017; Elhalwagy et al., 2021), e com propriedades de lipossolubilidade (Lazado & Voldvik, 2020). Considerado altamente eficaz, é amplamente aplicado em diferentes ambientes, como no processamento de alimentos (Menegaro et al., 2016; Bernardi et al., 2021) e bebidas, bem como água de torres de resfriamento, águas residuais (Xiu-wei, 2021). Seu mecanismo baseia-se na ação direta e forte nas membranas celulares por meio de radicais hidroxilas (Acosta et al., 2021). Dentre as vantagens de aplicar o ácido peracético é que o mesmo não reage com proteínas, tem baixo impacto ambiental, previne a formação de biofilmes (Srey et al, 2013), e se degrada rapidamente em oxigênio, ácido acético e água (Lieke et al, 2020). Tem uma boa estabilidade, elevado potencial redox (1,8 eV) (Zhang et al, 2017), com ampla faixa de pH (1 a 8) de eficiência (Zoellner et al., 2018; Kitis, 2004; Lee et al, 2019) e temperatura (de 0 a 40°C) (Zoellner et al, 2018). Porém o ácido peracético tem um custo mais elevado quando comparado com o cloro e cinética de inativação mais lenta (Van et al., 2017).

O cloreto de benzalcônio pertence ao grupo de compostos de amônio quaternário (Pereira & Tagkopoulos, 2019), de segunda geração (Bernardi et al, 2019b), sendo uma mistura de cloretos de alquilbenzil dimetil amônio de numerosos comprimentos de cadeia alquil (Krajišnik et al., 2015). Sendo que os compostos de amônio quaternário são amplamente utilizados com comprimentos de cadeia alquil variando de 8 a 18 carbonos (C) (Hora et al., 2020; Krajišnik et al., 2015; Zhang et al., 2011; Pereira & Tagkopoulos, 2019;

Gallart-Mateu et al., 2017; Khan et al., 2017). Dentre as variações pode-se observar que o comprimento dos grupos metílicos de C12 a C16 apresentam boa atividade antimicrobiana (Møretrø et al., 2017; Gerba, 2014; Pablos et al., 2018), e C14 (European Commission, 2012; Khan et al., 2015), sendo que o C12 apresenta eficiência contra leveduras e fungos (Blanco et al., 2023; Núñez et al., 2004). Hoje em dia são usados na indústria de alimentos (Chmielowska et al., 2021), são mais estáveis em ampla faixa de temperatura, apresentam certa detergência, o que resulta em maior estabilidade quanto a presença de matéria orgânica, maior atividade em pH alcalino (Schmidt, 2009). Por apresentarem ampla aplicação, usado como ingrediente ativo de muitos sanitizantes comerciais tem seu uso irrestrito, e liberado no ambiente, como resultado hoje é considerado um poluente emergente (Ertekin et al., 2016). A presença de composto de amônio quaternário no ambiente se deve ao grande uso de mesmo. O que ocasiona a exposição dos micro-organismos a concentrações de desinfetante sub-letais (Tezel, U., Pavlostathis, 2015), facilitando a evolução a resistência ao desinfetante e também pode levar a co-resistência e resistência cruzada a outros agentes antimicrobianos, como antibióticos (Mc Cay et al., 2010; Oh, 2010). Cada sanitizante apresenta vantagens e desvantagens em termos de redução de micro-organismos, preservação da qualidade, custo e acessibilidade; e cada um difere em seus limites permitidos para aplicação direta em produtos alimentícios e ação contra fungos.

Para avaliar a eficácia dos desinfetantes existem metodologias conhecidas mundialmente, como os métodos recomendados pela Association of Official Analytical Químicos (AOAC), que se baseia no uso de cilindros impregnados com micro-organismos de referência (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde: Manual Da Qualidade) e a metodologia do Comitê Europeu de Normalização (CEN), que recomenda o uso de discos de aço inox com 2 cm de diâmetro também impregnados com micro-organismos padrão de referência (EUROPEAN STANDARD, n. 2001), que geralmente são aplicadas para desinfetantes líquidos (Bernardi et al., 2019a). A escolha do sanitizante com atividades antifúngica adequadas é uma etapa relevante para o controle das perdas relacionadas à deterioração fúngica na indústria alimentícia (Bernardi et al., 2019a).

Além da seleção do melhor princípio ativo, é importante considerar que fatores como, tempo de exposição, temperatura e concentração, tipo de desinfetante e presença de matéria podem afetar a atividade antifúngica dos sanitizantes, visto que estudos relatam a interferência de diferentes fatores na eficácia antibacteriana dos sanitizantes, e merecem ser melhor investigados.



#### **4. ARTIGOS CIENTÍFICOS INTEGRADOS**

***ARTIGO1–Factors that interfere in the action of sanitizers against ochratoxigenic fungi deteriorating matured meat products.***

Artigo publicado no periódico *Fermentation*, ISSN 0023-6438, Área de avaliação em Ciência de Alimentos, Classificação A3 Qualis CAPES 2017-2020.



# Factors That Interfere in the Action of Sanitizers against Ochratoxigenic Fungi Deteriorating Dry-Cured Meat Products

Sarah Silva, Andrieli Stefanello, Bibiana Santos, Juliana Fracari, Graziela Leães  and Marina Copetti \* 

Graduate Program in Food Science and Technology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria 97105-900, Brazil

\* Correspondence: marina.copetti@ufsm.br

**Abstract:** This study verified the factors affecting the antifungal efficacy of sanitizers against ochratoxin A-producing fungi. The fungi *Penicillium nordicum*, *Penicillium verrucosum*, and *Aspergillus westerdijkiae* were exposed to three sanitizers at three concentrations: peracetic acid (0.3, 0.6, 1%), benzalkonium chloride (0.3, 1.2, 2%), and sodium hypochlorite (0.5, 0.75, 1%) at three exposure times (10, 15, and 20 min), three temperatures (10, 25, and 40 °C), and with the presence of organic matter simulating clean (0.3%) and dirty (3%) environments. All the tested conditions influenced the antifungal action of the tested sanitizers. Peracetic acid and benzalkonium chloride were the most effective sanitizers, and sodium hypochlorite was ineffective according to the parameters evaluated. The amount of organic matter reduced the antifungal ability of all sanitizers. The longer exposure time was more effective for inactivating fungi. The temperature acted differently for benzalkonium chloride, which tended to be favored at low temperatures, than for sodium hypochlorite and peracetic acid, which were more effective at higher temperatures. The knowledge of the parameters that influence the action of sanitizers on spoilage fungi is vital in decision-making related to sanitizing processes in the food industry.

**Keywords:** sanitizer; food industry; antifungal efficacy; food hygiene



**Citation:** Silva, S.; Stefanello, A.; Santos, B.; Fracari, J.; Leães, G.; Copetti, M. Factors That Interfere in the Action of Sanitizers against Ochratoxigenic Fungi Deteriorating Dry-Cured Meat Products. *Fermentation* **2023**, *9*, 83. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020083>

Academic Editor: Marcelo Valle Garcia

Received: 19 December 2022

Revised: 12 January 2023

Accepted: 16 January 2023

Published: 18 January 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Fungi play a crucial role in the preparation of meat products. Molds growing on the surface of dry-cured products are often desirable, as they can be considered responsible for developing the specific flavors and aromas of dry-cured meat products due to the lipolytic and proteolytic enzyme activities they produce throughout their growth [1–3]. However, some fungi can produce undesirable secondary metabolites, such as mycotoxins, and must be avoided [4].

Ochratoxin A is one of the most relevant mycotoxins and has been considered nephrotoxic, hepatotoxic, neurotoxic, genotoxic, teratogenic, and immunotoxic and is classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as a possible human carcinogen (group 2B) [5,6]. Ochratoxin A has been described as the major mycotoxin in meat products such as cured and dry-fermented hams [7], including dried meats [8–14]. Its presence in meat products can be attributed to contamination by raw materials, including spices [15], meat from animals exposed to ochratoxin A in their diet [6,16], and especially by mold growth on the surface of meat products during their maturation [7,8,16–19], especially under inadequate sanitary conditions in the manufacturing environment [19].

The most common species that can produce ochratoxin A in such products are

*P. nordicum*, *A. westerdijkiae*, and *P. verrucosum*. Some *P. verrucosum* isolates also produce citrinin [20], which has also been reported in meat products [9]. These fungi can grow on the surface of cured meat products during ripening because the ideal conditions for the growth of characteristic fungi, which grow on the surface of meat products, are also suitable for the growth of toxin-producing fungi [8].

The ecology of ochratoxigenic species is also variable. Research has indicated that ochratoxin A production in meat products from temperate climates is due to *P. nordicum* and *P. verrucosum*, which present high incidence in most European countries [13,21–27]. Otherwise, the occurrence of this mycotoxin in salami production from warmer climate countries is related to *A. westerdijkiae*, which has been reported in Argentina [28–30], Italy [8,31], and Brazil [32].

Since the removal of ochratoxin from food is currently not possible, it is necessary to work on preventing the occurrence of potentially ochratoxigenic fungi in food by adopting hygienic practices that aim to eliminate these agents in the food industry environment, this being the most effective way to prevent the consumption of contaminated food [33–36].

Using chemical sanitizers in food facilities is a common alternative for fungal control. A sanitizer should be selected based on the nature of the practices; the approved use for specific plant areas, equipment, or surfaces to be sanitized; and its effectiveness against pathogenic and spoilage microorganisms [37]. Common sanitizing chemicals used in food-processing plants are peracetic acid, sodium hypochlorite, and benzalkonium chloride [36,37]. Chlorine compounds are widely used sanitizers on equipment in food-processing plants because of their regarded effectiveness against all microbial forms [37,38]. Quaternary ammonium compounds are cationic surfactants used primarily on walls, floors, drains, and aluminum equipment and are considered more effective against fungi than chlorine compounds but are not effective against Gram-negative bacteria [37,38]. Peracetic acid, manufactured by reacting acetic acid with hydrogen peroxide, has a shorter shelf life and is usually more expensive than the above-mentioned agents, although it rapidly gained popularity because of the multitude of its applications, its broad action, and its environmental compatibility [37,38].

Nevertheless, there is limited information about the influence of different conditions, such as temperature, type of product, agent concentration, amount of organic matter in the environment, and time of exposure to the antifungal action of sanitizers; additionally, there is no study directed to spoiling and toxigenic fungi. Given these limitations, this study sought to evaluate the efficacy of three commercial sanitizers commonly used in the food industry against *A. westerdijkiae*, *P. nordicum*, and *P. verrucosum*, which are commonly found in food facilities producing dry-cured meat products. The variables tested were chosen considering relevant characteristics in food facilities' sanitizing processes, including the concentration and type of sanitizer, exposure time, temperature, and bioburden level.

## 2. Materials and Methods

### *Microorganisms and Standardization of the Initial Inoculum*

The microorganisms used in this study belong to the Laboratory of Mycology in Foods (LAMA) of the Federal University of Santa Maria (southern Brazil), all of them coming from meat products spoiled by them. The strains of *A. westerdijkiae* (LAMA 346/17 SLM, salami origin), *P. nordicum* (LAMA 01/21, ham origin), and *P. verrucosum* (LAMA 49/21, salami origin) were inoculated in tubes containing malt extract agar (MEA) (glucose, 20 g (Neon, São Paulo, Brazil), peptone, 1 g (Himedia, Mumbai, India), and malt extract, 30 g (Bacto™, Maryland USA). After seven days of incubation at 25 °C, the mycelium was scraped off with a sterile disposable loop. Serial dilutions were performed with sterile 0.1% peptone water (peptone, 0.1 g (Himedia, Mumbai, India), distilled water, 1 L) with initial inoculum standardized between 1.5 and  $5 \times 10^7$  spores/mL for *A. westerdijkiae* and *P. verrucosum* and between 1.5 and  $5 \times 10^6$  spores/mL for *P. nordicum* using a Neubauer chamber (CRAL/C1010/Brazil).

### Variables Tested

The sanitizers selected are authorized by the National Health Surveillance Agency (ANVISA) for use in the meat products industry, and the concentrations were chosen for the test following the manufacturers' recommendations. The manufacturer informs on the label the maximum and minimum concentrations recommended for use on surfaces in contact with food, and the intermediate concentration applied in the test was defined by calculating the average maximum and minimum concentrations.

The study conditions, such as exposure time, exposure temperature, sanitizer concentration, presence of organic matter, neutralizing solution, and sanitizing agent, are listed in Table 1. The tests were carried out in duplicate with the different sanitizers, fungi, temperatures, presence of organic matter, and sanitizer concentration.

**Table 1.** Variables considered for the study of factors interfering with the antifungal activity of sanitizers.

| Sanitizers                  | Concentration (%) | Temperature (°C) | Exposure Time (min) | Organic Matter (%) | Neutralizers                                      |
|-----------------------------|-------------------|------------------|---------------------|--------------------|---|
| Benzalkonium chloride 1,2   | 0.3,              | 10, 25, 40       | 10, 15, 20          | 0.3, 3             | Nutrient broth with 0.5% Tween 80 and 1% tryptone |
| Peracetic acid              | 0.3, 0.6, 1       | 10, 25, 40       | 10, 15, 20          | 0.3, 3             | Nutrient broth with 0.6% sodium sulfate           |
| Sodium hypochlorite 0.75, 1 | 0.5,              | 10, 25, 40       | 10, 15, 20          | 0.3, 3             | Nutrient broth with 0.6% sodium sulfate           |

### Application of Variables in the Test

The *in vitro* tests applied were conducted according to the proposed model for chemical disinfectants and antiseptics surface test for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food and industrial areas of the European Committee for Standardization (CEN) [39], with adaptation related to the initial count of conidia according to Bernardi et al. [33] and type of albumin used as an interfering substance (soil).

For each condition tested, 50 µL of the initial inoculum was collected and inoculated onto five sterile stainless-steel discs of 2 cm (three for the effective sensitivity test and two for the control). The presence of organic matter in clean or dirty environments was stimulated by adding 0.3 or 3% albumin, respectively. The disks were taken to the incubator at 35 °C for 40 min for conidia fixation. Next, the disks with the adhered inocula were placed in incubators at the respective test temperatures (10, 25, and 40 °C) for 30 min. The sanitizers were also previously placed in the incubators (3 h before), with their concentrations, for equilibration at the experiment temperatures (10, 25, and 40 °C). Subsequently, 100 µL of each sanitizer was added to the disks, separately in their test concentrations and temperatures, and exposed for 10, 15, or 20 min to evaluate the influence of this variable.

After exposure, the disks were immersed in a neutralizing solution, according to Jaenisch et al. [40]. Then, 5 g of glass beads was added to facilitate the removal of the inoculum adhered to the disks. After 5 min immersed in the neutralizer, serial dilutions were performed in 0.1% peptone water. Next, 1 mL aliquots of the dilutions were added to Petri dishes, and 20 mL of plain malt extract agar (malt extract 30 g/L, agar 15 g/L) was added. The plates were labeled and placed in an incubator at 25 °C for five days; after this period, the colonies were counted, and the results were expressed in logarithms of colony-forming units (log CFU).

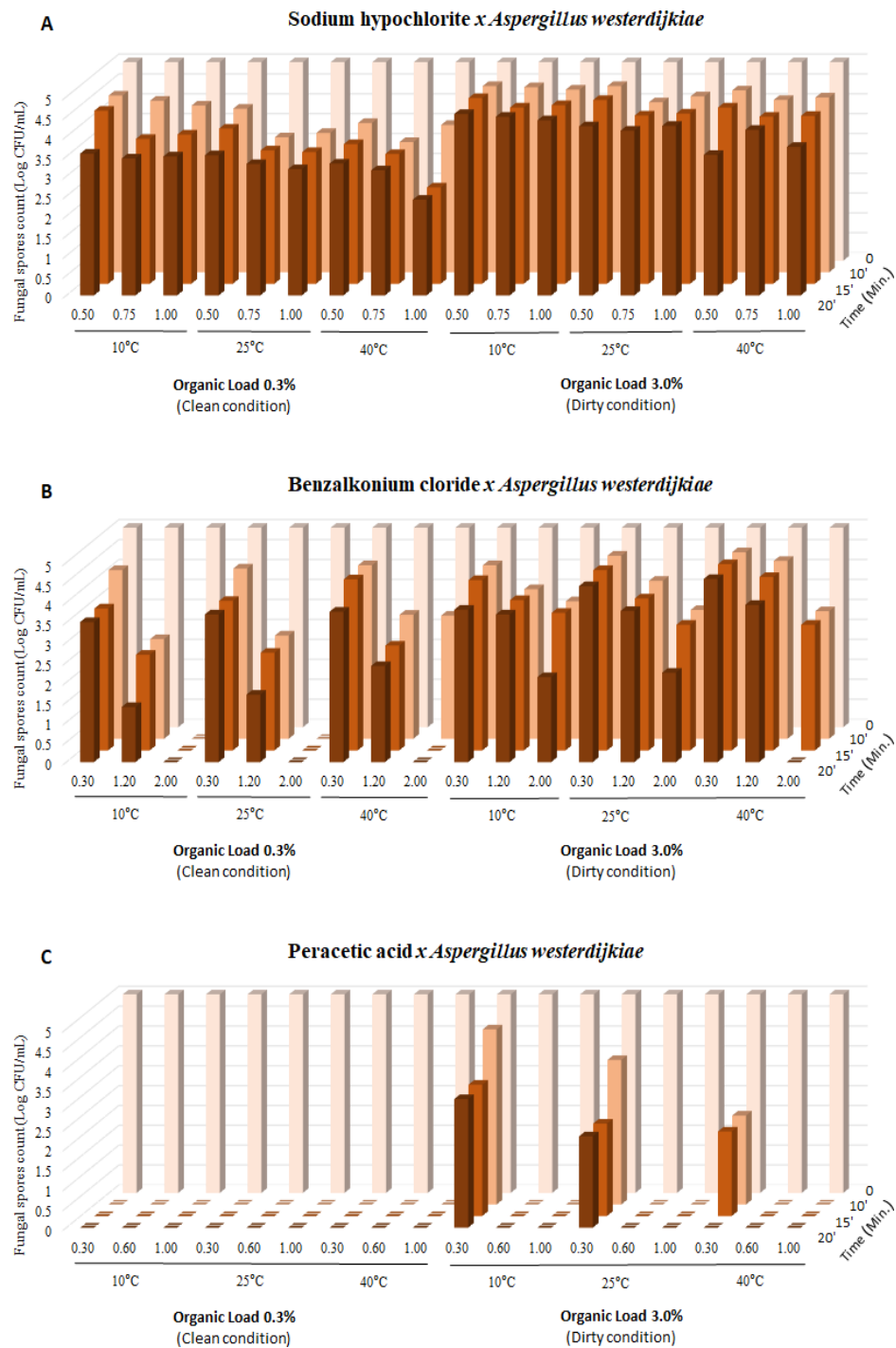
To the disks containing microorganisms not exposed to the sanitizers, 100 µL of sterile distilled water was added, following the same protocol, thus obtaining the control. According to European Standard 13697 [39], a sanitizer is only considered effective if there is a reduction greater than 3 log CFU (99.9%) of the fungal population exposed to the sanitizing agent compared to the population of unexposed microorganisms (control).

#### Statistical Analysis

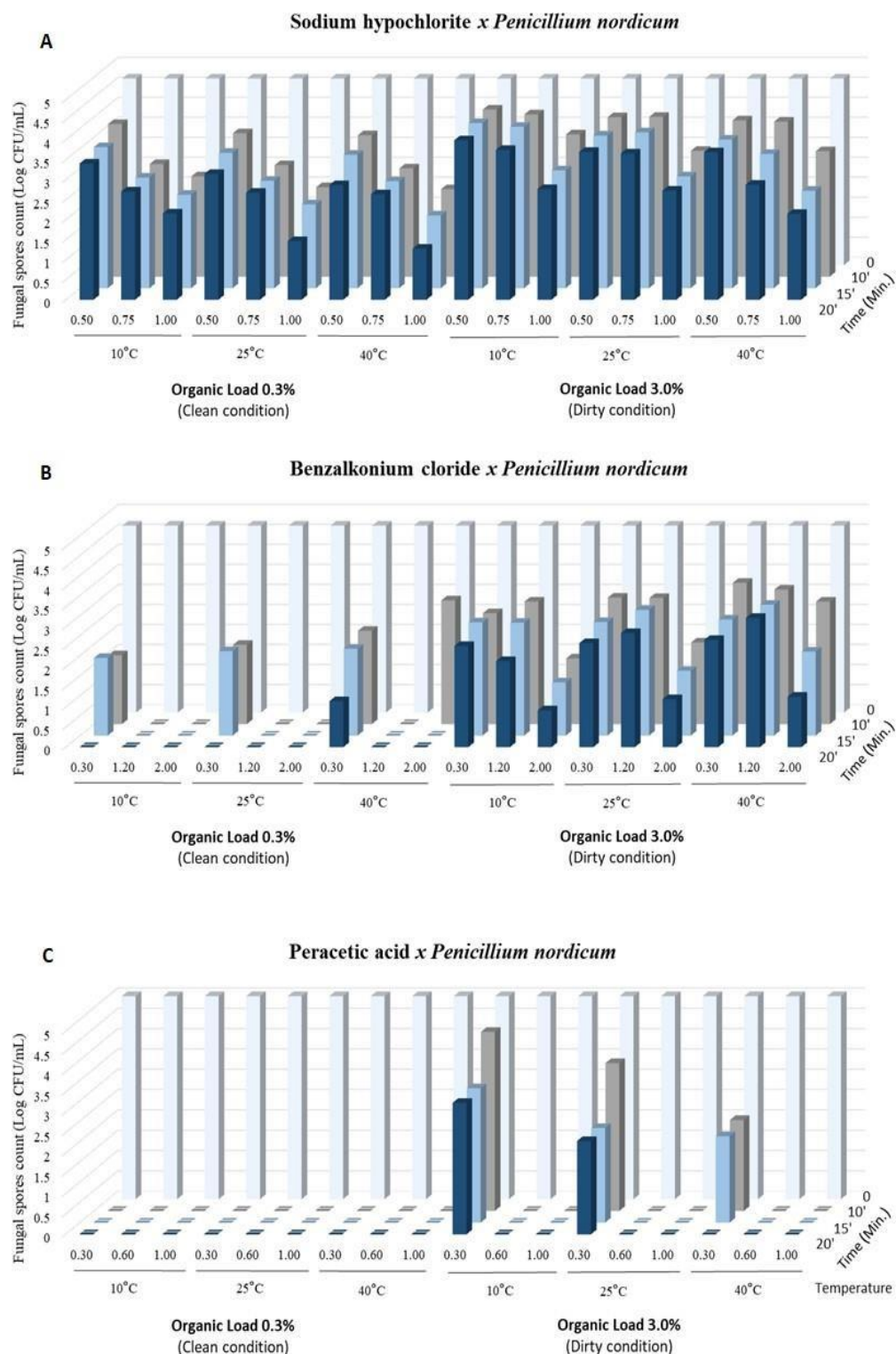
Tukey's test was applied to compare means. XLSTAT software version 2019.2.2 (Addinsoft, New York, NY, USA) was used in the statistical analyses, with a significance level of 5%.

### 3. Results

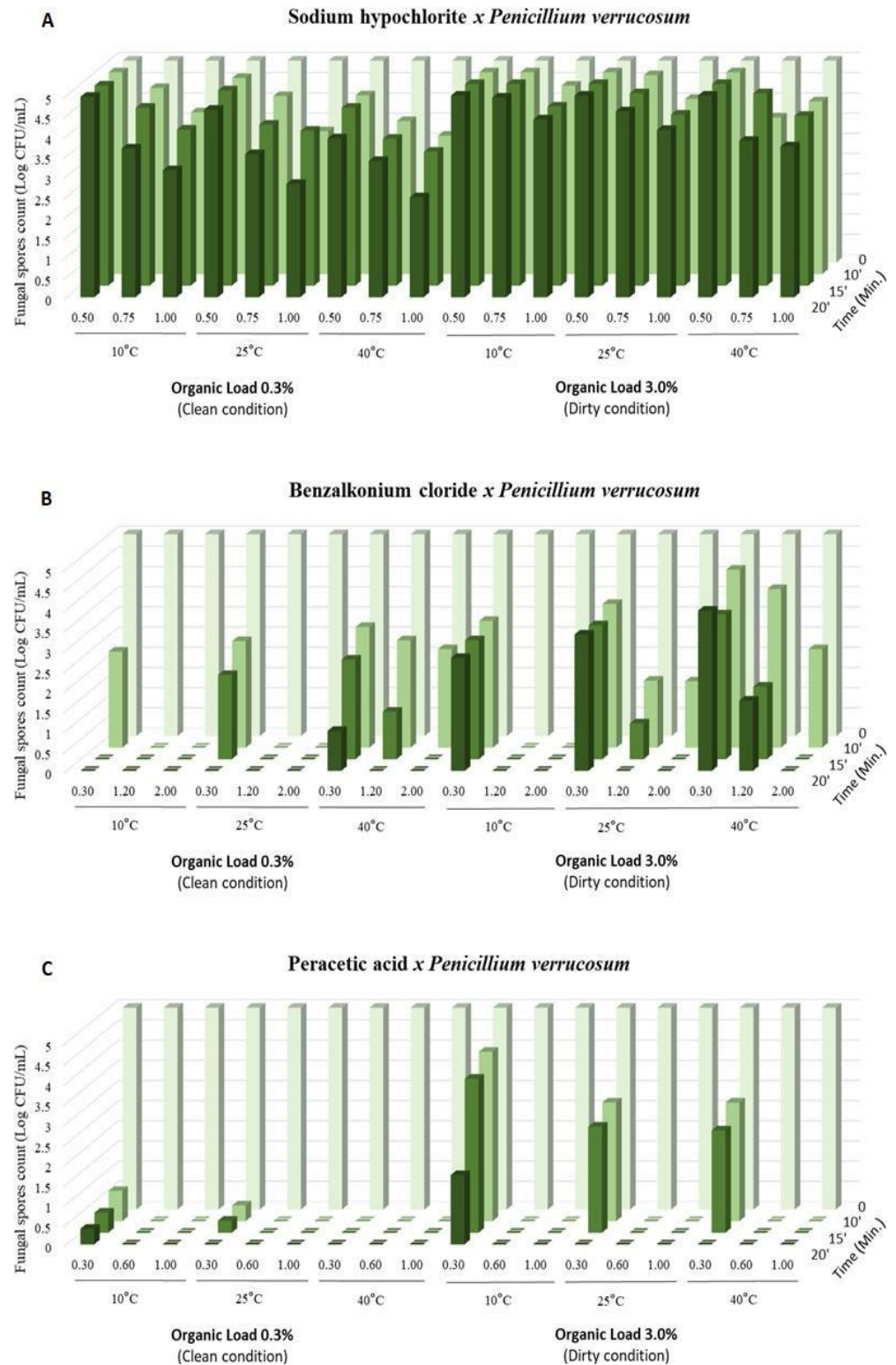
The results of the inactivation of the *A. westerdijkiae*, *P. nordicum*, and *P. verrucosum* are presented in Figures 1–3, which are potential spoilage agents of mature meat products when exposed to peracetic acid, benzalkonium chloride, and sodium hypochlorite sanitizers at different concentrations, exposure times and temperatures, and organic matter concentrations.



**Figure 1.** Antifungal action of different sanitizers, namely, (A) sodium hypochlorite, (B) benzalkonium chloride, and (C) peracetic acid, against *Aspergillus westerdijikiae* (LAMA 346/17) at different concentrations, exposure times (0, 10, 15, and 20 min, in different color shadows), temperatures (10, 25, and 40 °C), and organic matter concentrations (0.3 and 3.0%).



**Figure 2.** Antifungal action of different sanitizers, namely, (A) sodium hypochlorite, (B) benzalkonium chloride, and (C) peracetic acid, against *Penicillium nordicum* (LAMA 01/21) at different concentrations, exposure times (0, 10, 15, and 20 min, in different color shadows), temperatures (10, 25, and 40 °C), and concentrations of organic matter (0.3 and 3.0%).



**Figure 3.** Antifungal action of different sanitizers, namely, (A) sodium hypochlorite, (B) benzalkonium chloride, and (C) peracetic acid, against *Penicillium verrucosum* (LAMA 49/21) at different concentrations, exposure times (0, 10, 15, and 20 min, in different color shadows), temperatures (10, 25, and 40 °C), and concentrations of organic matter (0.3 and 3.0%).

From a global perspective, all the factors studied influenced the sanitizers' actions in inactivating spoilage fungi in meat products to a greater or lesser degree. The type of sanitizer was the primary factor related to higher or lower antifungal activity, with per-

acetic acid being the best agent for the control of the fungal species studied, and sodium hypochlorite being ineffective in most of the conditions evaluated. The concentration of the active ingredient also deserves attention since the highest concentration stipulated on the product label was the most effective in achieving the necessary antifungal action. However, the intermediate concentration also proved to be effective in some situations. It is important to mention that the level of organic matter reduced the efficacy of all disinfectants studied. This reduction was evident in benzalkonium chloride, regardless of the fungal species. By comparing the fungal species, a difference was observed among the fungus evaluated, emphasizing the low sensitivity of *A. westerdijkiae* to benzalkonium chloride and lower concentrations of peracetic acid. The temperature influenced the sanitizing action variably since, for peracetic acid and sodium hypochlorite, the greatest inactivation occurred when the temperature was higher, and benzalkonium chloride seemed to have favored action at lower temperatures. Regarding the exposure time, the longer the contact time, the better the antifungal action, usually requiring a minimum of 15 min for adequate action.

The organic matter concentration was a relevant factor influencing the effectiveness of sanitizers, with the highest antifungal activity occurring when the organic matter concentration was 0.3%. An organic matter concentration of 0.3% simulates a clean food industry environment, and 3% a dirty one [39].

Exposure time was also an important parameter because, for all fungi tested, temperatures, and concentrations, the exposure time of the fungus to the sanitizer always obtained better efficacy results at the longer contact times (20 and 15 min). The temperatures also affected the antifungal action of each sanitizer, since high temperatures (e.g., 25 and 40 °C) were favorable for increasing the antifungal action of the peracetic acid and sodium hypochlorite sanitizers.

In general, among the sanitizers evaluated, peracetic acid was the sanitizer with the highest antifungal activity against the spoilage fungi of meat products tested. This sanitizer was effective (inactivation >3 log CFU) at all concentrations and temperatures tested against *P. nordicum*, *P. verrucosum*, and *A. westerdijkiae* in low organic matter conditions (0.3%). Under dirty conditions (3% organic matter), the lowest peracetic acid concentration evaluated (0.3% v/v) was ineffective in fungal inactivation in most situations.

Benzalkonium chloride was the second sanitizer that obtained good results against the fungi mentioned herein. As shown in the results, the inactivation tended to increase as the test temperature was reduced, indicating that the sanitizer was more effective at lower temperatures. When applied at 1.2 and 2% concentrations in the presence of 0.3% organic matter (clean conditions) to *P. nordicum*, no viable spores were recovered in all parameters tested. When applied to *P. verrucosum*, no fungal detection occurred at 1.2 and 2% except when the temperature was raised to 40 °C. Under the same conditions described above, the action of the sanitizer on *A. westerdijkiae* was different since benzalkonium chloride could inactivate the fungus only when the concentration was 2% in 0.3% organic matter after 10 min of exposure at 25 °C, with a certain tolerance of *A. westerdijkiae* to benzalkonium chloride.

The sanitizer sodium hypochlorite was the sanitizer that, compared with the species evaluated herein, was ineffective for *A. westerdijkiae* and *P. verrucosum*, being effective only for inactivating *P. nordicum* at 25 and 40 °C, with an exposure time of 20 min, presence of organic matter of 0.3%, and a concentration of 1.0% of sanitizer (Figure 2). Figure 1 presents the results of colony counts of *A. westerdijkiae* after exposure to the sanitizers under different situations. Most



of the results showed significant differences among them, indicating that, in general, all parameters interfered with the efficacy of the sanitizers against *A. westerdijkiae*.

The best performance was of the peracetic acid, which in all parameters of concentration, time, and temperature of exposure in 0.3% of organic matter, resulted in the total inactivation of *A. westerdijkiae*. Nonetheless, for the concentration of 3.0% organic matter (dirty environment), peracetic acid was ineffective at its lowest use concentration at 10 °C in all exposure times and 25 °C if exposure for only 10 min was adopted.

The worst performance was of sodium hypochlorite, effective only when the maximum recommended concentration (1.0%) was used at the highest temperature tested (40 °C) and for a minimum contact time of 15 min, provided in the presence of low organic matter (0.3%). Regarding benzalkonium chloride, the lowest concentration of the agent tested was ineffective against *A. westerdijkiae* in all situations, and the agent was strongly influenced by organic matter. The best inactivation results were obtained at the highest contact times and concentrations.

Figure 3 shows the results of the application of sanitizers on the fungus *P. verrucosum*. In the same way that occurred with the fungus *A. westerdijkiae*, the sanitizer with the greatest antifungal action was peracetic acid, which had the lowest concentration of 0.3% and was effective in the presence of 0.3% organic matter. When the concentration was 3.0% of organic matter, the antifungal action was reduced, so this agent was considered effective only when the exposure time was 20 min at the concentration of 0.3%. In the following parameters, there was complete fungal inactivation, indicating total inhibition of the fungus

*P. nordicum*.

The action of benzalkonium chloride seemed to be favored at lower temperatures (e.g., 10 and 25 °C). The concentration of organic matter proved to be favorable to fungal survival, and it was observed that the values found were higher when the amount of organic matter was 3%. Figure 2 lists the results for the fungus *P. nordicum*, which was considered the most sensitive to the sanitizers tested. The results of the action of peracetic acid and benzalkonium chloride were similar to those of fungal species previously presented, although sodium hypochlorite proved to be effective against *P. nordicum* in specific situations, such as the exposure time of 20 min at 25 and 40 °C, provided that the highest concentration of the agent was used with the low concentration of organic matter.

#### 4. Discussion

This study evaluated the impact of different factors on the antifungal action of sanitizers against ochratoxin A-producing fungi reported as spoilage agents of cured meat products. These products are present in the daily diet of most of society, being relevant to conducting research aimed at fungal control to reduce consumers' exposures to ochratoxin

A. For the choice of sanitizers, we considered those available in the market, authorized by regulatory agencies, and used in industrial environments.

Our findings revealed that peracetic acid was the sanitizer with the highest antifungal efficacy and broad action for the three fungi that produce ochratoxin A, being effective even at low concentrations and both at high and low temperatures, thereby corroborating reports of challenges against other food spoilage fungal species where this sanitizer agent was also considered the most effective [33,34,36,41]. Peracetic acid is considered effective in neutral and acid pH and different temperatures, favoring its antifungal action [37,38,42,43], although

this compound is less effective at alkaline pH and is partially affected by organic material and has low soil load tolerance [42].

*Aspergillus* section *Circumdati* (including *A. westerdijkiae*) were very sensitive to per- acetic acid compared with *Aspergillus* section *Flavi* and *Nigri* toxigenic strains, which were highly tolerant to this sanitizing agent [44]. Nonetheless, a variation in the sensitivity to peracetic acid among *A. westerdijkiae* strains isolated from meat products was reported [36], with one strain showing tolerance even to the highest concentration challenged. No studies supporting the tolerance acquisition of fungi towards sanitizers were found; however, we believe that because of fungal heterogeneity, repeated exposures to sublethal doses of a sanitizing agent can lead to the selection of a subpopulation of fungi more tolerant to a certain agent. Bacterial resistance to sanitizers in the food industry has also been discussed in the literature [45].

The low antifungal action of sodium hypochlorite at recommended concentrations for sanitizing surfaces in contact with food in food industries with ochratoxigenic fungi deteriorating meat products was only effective in specific situations of low organic matter, long contact time, and high temperatures, as has already been reported elsewhere [32–36,41,44,46]. Because of their efficacy against bacteria and relatively low cost, hypochlorites are widely used in a multitude of sanitization operations [42,47]. Chlorines decrease effectiveness with an increase in pH and reaction with organic material from soils, leading to the formation of harmful by-products [42,48].

When evaluating the interfering factors in the action of sanitizers against the standard fungal species for sanitizing tests, Stefanello et al. [41] observed that sodium hypochlorite was the only sanitizer unable to eliminate 3 log CFU of the exposed population of *A. brasiliensis* (ATCC 16404) at all concentrations tested, even in the absence of organic load. For *A. westerdijkiae*, *P. nordicum*, and *P. verrucosum*, sodium hypochlorite was less effective than the other sanitizers tested. When testing the antifungal action of sodium hypochlorite in the same concentration reported here against toxigenic *Aspergillus* strains, Lemos et al. [44] determined the two highest concentrations of this sanitizer to be effective for *A. westerdijkiae* isolated from cocoa but ineffective against the strain isolated from ham. This compound was ineffective against all the other toxigenic *Aspergillus* strains studied [44]. Bernardi et al. [35,36] also tested sodium hypochlorite against fungi from bread, cheese, and meat products and found that it was rarely effective against these fungi in concentration for food-contact surface sanitation, and only high agent concentration intended for floor and wall sanitation were effective. Given the results, sodium hypochlorite should be avoided to control filamentous fungi on work surfaces of food facilities.

Benzalkonium chloride, a quaternary ammonium compound, was the second most effective antifungal agent against fungi with the potential to spoil meat products producing ochratoxin A. Quaternary ammonium compounds are cationic surfactants and are more effective against fungi than chlorine compounds, although they are not effective for Gram-negative bacteria, including certain pathogens and spoilage bacteria [37,42,48], limiting their usage in some food plants.

The antifungal action of benzalkonium chloride increased at low temperatures (10 °C), although its efficacy decreased when the organic matter was raised to 3%. These data corroborate Stefanello et al. [41], who reported a higher efficacy of benzalkonium chloride at 10 °C against *A. brasiliensis* (ATCC 16404). This greater action at low temperatures is favorable, allowing savings with water heating since water can be used directly from the well for this process, in addition to facilitating the cleaning of refrigerated areas (cold chambers, freezing

tunnels, coolers, etc.), where temperature increases throughout the process are not desired.

When present in higher concentration in the tests performed, the organic matter increased the survival of all tested fungal species regardless of the sanitizer considered, indicating that the cleaning and removal of organic matter in food facilities are crucial because organic matter is a determining factor of sanitizer action. This study corroborates the statement of Stefanello et al. [41], who reported that in order to improve the sanitizer action, it is crucial to proceed with an effective cleaning step before the sanitization procedure since the presence of organic load reduced the efficacy of most sanitizers [37,42,48]. In this sense, the ineffective hygienic control regarding removing organic matter from the environment and the lack of care in selecting raw materials favor the development and proliferation of fungal microbiota with the potential for meat product deterioration [49].

Even with a reduction in efficacy in the presence of 3.0% organic matter, peracetic acid remained effective. The literature has reported this compound as partially affected by organic material but with low tolerance to soil load [42]. In previous studies, peracetic acid was affected by the presence of organic matter [41]. Despite quaternary ammonium compounds being considered stable against reaction with organic matter [48] and with high tolerance to soil load [42], Stefanello et al. [41] reported that the antifungal efficacy of benzalkonium chloride decreased in the presence of organic load, as observed here.

Regarding the differences observed among the species evaluated in this study, where *A. westerdijkiae* was the most tolerant compared to *P. verrucosum* and *P. nordicum*, Bernardi et al. [35] reported the importance of knowing the sensitivity of the strains present in the environment or the harmful agents from a specific food plant for selecting the most appropriate sanitizer and the best concentration to be applied for effective fungal control. A high tolerance of fungal strains isolated from processed meat products to the sanitizers used in food industries was reported, even when the highest sanitizer concentration was considered [36]. The same study revealed that the lowest concentration specified on the product label was the closest to the one adopted in the hygiene routine of meat industries [36,47]. According to our data, the lowest concentration recommended by the manufacturer in most cases was ineffective against the ochratoxigenic species related to the spoilage of dry-cured meat products.

By considering the various factors tested, we cannot fail to point out that most chemical cleaning products (cleaning and sanitizing) have a residual toxicity rate, which is why specific care must be taken in their application, handling, and storage, and the use of individual protection equipment, careful and abundant washing so as not to have residues of the chemical products applied [37,42]. Unlike peracetic acid and benzalkonium chloride, sodium hypochlorite irritates the skin; however, both sodium hypochlorite and peracetic acid do not have residual antimicrobial activity, which occurs with benzalkonium chloride [42]. Another relevant factor in the application of chemical products is their stability and the damage they can cause to the surface of the equipment, as after a corrosive lesion it can lead to the accumulation of organic matter and thus favor the insertion of a microbial biofilm in the equipment, making it difficult to sanitize [35,37,42]. Sodium hypochlorite is the most corrosive among the studied agents, followed by peracetic acid; benzalkonium chloride is not corrosive [42].

Implementing a sanitization and hygiene plan for the industry must be considered a crucial step in food facilities. One must have a critical view to raise crucial points, such as the region of the food facility, and the ambient temperature that can cause the proliferation of fungi (e.g., *A. westerdijkiae*) at higher and also milder temperatures (e.g., *P. verrucosum* and *P. nordicum*). Another critical

point in the hygiene plan of a food facility should be the efficient removal of organic matter remaining after the industrial process and the use of appropriate resources, including spatulas, mops, and movements that provide greater removal of organic matter present. Training for employees responsible for cleaning and sanitizing must occur routinely, observing the concentration of the sanitizer utilized that must be within the standards allowed by law, and the concentration adopted must always be effective to the company's goal. The choice of the sanitizer is vital to achieving effective sanitization because some active principles are more effective for certain fungi. The exposure time is another step of great interference because the shorter the contact time of the sanitizer, the lower its effectiveness, so the contact time must always be necessary to eliminate toxigenic fungi and the total effectiveness of the sanitizer.

## 5. Conclusions

Peracetic acid was the most effective sanitizer against potential fungal species of dried cured meat products and ochratoxin A producers; it should be the sanitizer of choice for sanitizing these environments. Notably, its antifungal activity increases at higher temperatures. Benzalkonium chloride showed promising results at high concentrations and for long exposure times, with an apparent increase in activity at lower temperatures. Sodium hypochlorite showed low antifungal activity under all conditions tested in this study and should be avoided when the goal is fungal inactivation in food-processing surfaces. The antifungal action of all sanitizers is greater at longer exposure times, with the best results starting at 15 min. The occurrence of considerable reduction in the antifungal action of all the sanitizers evaluated when in the presence of bioburden simulating a dirty environment shows that food facilities must follow a rigorous cleaning step with effective removal of organic matter to obtain good results in the sanitization step. Therefore, we conclude that all tested variables, namely, time, temperature, organic matter concentration, sanitizer concentration, and active principle, should be considered critical in the food industry to eliminate toxigenic fungi, such as *P. nordicum*, *P. verrucosum*, and *A. westerdijkiae*.

As Supplementary Material, Tables S1–S3 detail the statistical results of the tested variables.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/fermentation9020083/s1>, Table S1: *Aspergillus westerdijkiae* colonies recovered after exposure to different concentrations of sanitizing agents at different temperatures and concentrations of organic matter. Table S2: Colonies of *Penicillium verrucosum* recovered after exposure to different concentrations of sanitizing agents at different temperatures and concentrations of organic matter. Table S3: Recovered colonies of *Penicillium nordicum* after exposure to different concentrations of sanitizing agents at different temperatures and concentrations of organic matter.

**Author Contributions:** Conceptualization, S.S. and M.C.; methodology, A.S. and M.C.; software, B.S.; formal analysis, S.S.; A.S.; J.F. and G.L.; writing—original draft preparation, S.S.; writing—review and editing, M.C.; supervision, A.S.; M.C.; project administration, M.C.; funding acquisition, M.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This study was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Process 428454/2018- 6), a research grant for M.V.C. (Process 303570/2019- 9), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) through graduate grants (Financial code 001).

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Ludemann, V.; Pose, G.; Pollio, M.L.; Segura, J. Determination of growth characteristics and lipolytic and proteolytic activities of *Penicillium* strains isolated from Argentinean salami. *Int. J. Food Microbiol.* **2004**, *96*, 13–18. [CrossRef] [PubMed]
2. Martín, A.; Córdoba, J.J.; Aranda, E.; Córdoba, M.G.; Asensio, M.A. Contribution of a selected fungal population to the volatile compounds on dry-cured ham. *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, *110*, 8–18. [CrossRef] [PubMed]
3. Sonjak, S.; Ličen, M.; Frisvald, J.C.; Gunde-Cimerman, N. The mycobiota of three dry-cured meat products from Slovenia. *Food Microbiol.* **2011**, *28*, 373–376. [CrossRef]

4. Pitt, J.I.; Hocking, A.D. *Fungi and Food Spoilage*; Springer: New York, NY, USA, 2009; pp. 1–519. [[CrossRef](#)]
5. WHO; Ochratoxin, A. *Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. Sixty-Eight Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)*; WHO Press: Geneva, Switzerland, 2017; pp. 169–180.
6. Mantle, P.G. Risk assessment and the importance of ochratoxins. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2002**, *50*, 143–146. [[CrossRef](#)]
7. Rodríguez, A.; Rodríguez, M.; Martín, A.; Delgado, J.; Córdoba, J.J. Presence of ochratoxin A on the surface of dry-cured Iberian ham after initial fungal growth in the drying stage. *Meat Sci.* **2012**, *92*, 728–734. [[CrossRef](#)]
8. Iacumin, L.; Chiesa, L.; Boscolo, D.; Manzano, M.; Cantoni, C.; Orlic, S.; Comi, G. Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. *Food Microbiol.* **2009**, *26*, 65–70. [[CrossRef](#)]
9. Markov, K.; Pleadin, J.; Bevardi, M.; Vahčić, N.; Sokolić- Mihalak, D.; Frece, J. Natural occurrence of aflatoxin B1, ochratoxin A and citrinin in Croatian fermented meat products. *Food Control* **2013**, *34*, 312–317. [[CrossRef](#)]
10. Anelli, P.; Haidukowski, M.; Epifani, F.; Cimmarusti, M.T.; Moretti, A.; Logrieco, A.; Susca, A. Fungal mycobiota and mycotoxin risk for traditional artisan Italian cave cheese. *Food Microbiol.* **2019**, *78*, 62–72. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Biancardi, A.; Piro, R.; Galaverna, G.; Dall’Asta, C. A simple and reliable liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of ochratoxin A in hard cheese. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2013**, *64*, 632–640. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Pattono, D.; Grosso, A.; Stocco, P.P.; Pazzi, M.; Zeppa, G. Survey of the presence of patulin and ochratoxin A in traditional semi-hard cheeses. *Food Control* **2013**, *33*, 54–57. [[CrossRef](#)]
13. Ramos-Pereira, J.; Mareze, J.; Patrino, E.; Santos, J.A.; Lopez-Díaz, T.M. Polyphasic identification of *Penicillium* spp. isolated from Spanish semi-hard ripened cheeses. *Food Microbiol.* **2019**, *84*, 103253. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Sakin, F.T.; Ozan, I.; Yipel, M.; Kürekcı, C. Occurrence and health risk assessment of aflatoxins and ochratoxin A in Sürk, a Turkish dairy food, as studied by HPLC. *Food Control* **2018**, *90*, 317–323. [[CrossRef](#)]
15. Pleadin, J.; Kovačević, D.; Peršič, N. Ochratoxin A contamination of the autochthonous dry-cured meat product “Slavonski Kulen” during a six-month production process. *Food Control* **2015**, *57*, 377–384. [[CrossRef](#)]
16. Dall’Asta, C.; Galaverna, G.; Bertuzzi, T.; Moseriti, A.; Pietri, A.; Dossena, A.; Marchelli, R. Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscle, salami and dry-cured ham from pigs fed with contaminated diet. *Food Chem.* **2010**, *120*, 978–983. [[CrossRef](#)]
17. Sørensen, L.M.; Jacobsen, T.; Nielsen, P.V.; Frisvad, J.C.; Kock, A.G. Mycobiota in the processing areas of two different meat products. *Food Microbiol.* **2008**, *124*, 58–64. [[CrossRef](#)]
18. Berni, E.; Montagna, I.; Restivo, F.M.; Degola, F. Ochratoxin A control in meat derivatives: Intraspecific biocompetition between *Penicillium nordicum* strains. *J. Food Qual.* **2017**, *2017*, 8370106. [[CrossRef](#)]
19. Parussolo, G.; Oliveira, M.S.; Garcia, M.V.; Bernardi, A.O.; Lemos, J.G.; Stefanello, A.; Mallmann, C.A.; Copetti, M.V. Ochratoxin A production by *Aspergillus westerdijkiae* in Italian-type salami. *Food Microbiol.* **2019**, *83*, 134–140. [[CrossRef](#)]
20. Frisvad, J.C.; Samson, R.A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Stud. Mycol.* **2004**, *49*, 1–173.
21. Snyder, A.B.; Churey, J.J.; Worobo, R.W. Association of fungal genera from spoiled processed foods with physicochemical food properties and processing conditions. *Food Microbiol.* **2019**, *83*, 211–218. [[CrossRef](#)]
22. Battilani, P.; Formenti, S.; Toscani, T.; Virgili, R. Influence of abiotic parameters on ochratoxin A production by a *Penicillium nordicum* strain in dry-cured meat model systems. *Food Control* **2010**, *21*, 1739–1744. [[CrossRef](#)]
23. Rodríguez, A.; Bernáldes, V.; Rodríguez, M.; Andrade, M.J.; Núñez, F.; Córdoba, J.J. Effect of selected protective cultures on ochratoxin A accumulation in dry-cured Iberian ham during its ripening process. *LWT- Food Sci. Technol.* **2015**, *60*, 923–928. [[CrossRef](#)]
24. Ferrara, M.; Magistà, D.; Lippolis, V.; Cervellieri, S.; Susca, A.; Perrone, G. Effect of *Penicillium nordicum* contamination rates on ochratoxin A accumulation in dry-cured salami. *Food Control* **2016**, *67*, 235–239. [[CrossRef](#)]
25. Sánchez-Montero, L.; Córdoba, J.J.; Peromingo, B.; Álvarez, M.; Núñez, F. Effects of environmental conditions and substrate on growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* and *Penicillium nordicum*: Relative risk assessment of OTA in dry-cured meat products. *Food Res. Int.* **2019**, *121*, 604–611. [[CrossRef](#)]
26. Andrade, M.J.; Peromingo, B.; Rodríguez, M. Effect of cured meat product ingredients on the *Penicillium verrucosum* growth and ochratoxin A production. *Food Control* **2019**, *96*, 310–317. [[CrossRef](#)]
27. Peromingo, B.; Sulyok, M.; Lemmens, M.; Rodríguez, A.; Rodríguez, M. Diffusion of mycotoxins and secondary metabolites in dry-cured meat products. *Food Control* **2019**, *101*, 144–150. [[CrossRef](#)]
28. Vila, G.S.; Pose, G.N.; Segura, J.A.; Ludemann, V. Diversidad de hongos filamentosos en el empaque de embutidos secos producidos en la región pampeana. *SNS* **2016**, *10*, 40–49.
29. Castellari, C.; Quadrelli, A.M.; Laich, F. Surface mycobiota on Argentinean dry fermented sausages. *Int. J. Food Microbiol.* **2010**, *142*, 149–155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Canel, R.S.; Wagner, J.R.; Stenglein, S.A.; Ludemann, V. Indigenous filamentous fungi on the surface of Argentinean dry fermented sausages produced in Colonia Caroya (Córdoba). *Int. J. Food Microbiol.* **2013**, *164*, 81–86. [[CrossRef](#)]
31. Iacumin, L.; Milesi, S.; Pirani, S.; Comi, G.; Chiesa, L.M. Ochratoxigenic mold and ochratoxin A in fermented sausages from different areas in Northern Italy: Occurrence, reduction or prevention with ozonated air. *J. Food Saf.* **2011**, *31*, 538–545. [[CrossRef](#)]
32. Parussolo, G.; Garcia, M.V.; Stefanello, A.; Silva, T.S.; Bernardi, A.O. Fungal microbiota in environmental air, raw materials and surface of dry fermented sausage produced in Southern Brazil. *LWT- Food Sci. Technol.* **2019**, *108*, 190–198. [[CrossRef](#)]
33. Bernardi, A.O.; Stefanello, A.; Garcia, M.; Parussolo, G.; Stefanello, R.F.; Moro, C.B.; Copetti, M.V. Efficacy of commercial sanitizers against fungi of concern in the food industry. *LWT* **2018**, *97*, 25–30. [[CrossRef](#)]
34. Bernardi, A.O.; Garcia, M.V.; Copetti, M.V. Food industry spoilage fungi control through facility sanitization. *Curr. Opin. Food Sci.* **2019**, *29*, 28–34. [[CrossRef](#)]
35. Bernardi, A.O.; Stefanello, A.; Lemos, J.G.; Garcia, M.V.; Copetti, M.V. Antifungal activity of commercial sanitizers against strains of *Penicillium roqueforti*, *Penicillium paneum*, *Hyphopichia burtonii*, and *Aspergillus pseudoglaucus*: Bakery spoilage fungi. *Food Microbiol.* **2019**, *83*, 59–63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Bernardi, A.O.; Stefanello, A.; Lemos, J.G.; Garcia, M.V.; Copetti, M.V. The control of cheese and meat product spoilage fungi by sanitizers: In vitro testing and food industry usage. *LWT* **2021**, *144*, 111204. [[CrossRef](#)]
37. Izumi, H. Process hygiene: Overall approach to hygienic processing. In *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd ed.; Batt, C.A., Tortorello, M.L., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2014; pp. 158–165. [[CrossRef](#)]

38. CDC. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. 2008. Available online: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/disinfectionmethods/chemical.html/> (accessed on 5 January 2023).
39. European Standard, n. 13697. Chemical disinfectants and antiseptics—Quantitative non-porous surface test for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas—Test method and requirements without mechanical action (phase 2, step 2). 2001. Available online: <https://www.situbiosciences.com/product/en-13697-chemical-disinfectants-and-antiseptics-quantitative-non-porous-surface-test-for-the-evaluation-of-bactericidal-and-or-fungicidal-activity-of-chemical-disinfectants-used-in-food-in/> (accessed on 18 December 2022).
40. Jaenisch, F.R.F.; Kuchiishi, S.S.; Coldebella, A. Atividade antibacteriana de desinfetantes para uso na produção orgânica de aves. *Ciência Rural*. **2010**, *40*, 384–388. [[CrossRef](#)]
41. Stefanello, A.; Fracari, J.C.; Silva, M.; Lemos, J.G.; Garcia, M.V.; Alves dos Santos, B.; Copetti, M.V. Influence of type, concentration, exposure time, temperature, and presence of organic load on the antifungal efficacy of industrial sanitizers against *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404). *Food Microbiol.* **2021**, *97*, 103740. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Bari, M.L.; Kawamoto, S. Process hygiene: Types of sterilant. In *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*; Batt, C.A., Tortorello, M.L., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2014; pp. 216–225.
43. Vandekinderen, I.; Devlieghere, F.; De Meulenaer, B.; Ragaert, P.; Van Camp, J. Optimization and evaluation of a decontamination step with peroxyacetic acid for fresh-cut produce. *Food Microbiol.* **2009**, *26*, 882–888. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Lemos, J.G.; Stefanello, A.; Olivier, A.B.; Valle, M.G.; Nicoloso, L.M.; Cichoski, A.J.; Wagner, R.; Copetti, M.V. Antifungal efficacy of sanitizers and electrolyzed waters against toxigenic *Aspergillus*. *Food Res. Int.* **2020**, *137*, 109451. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Alonso, V.P.P.; Furtado, M.M.; Iwase, C.H.T.; Brondi-Mendes, J.S.; Nascimento, M.S. Microbial resistance to sanitizers in the food industry: Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2022**, 1–16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Stefanello, A.; Magrini, L.N.; Lemos, J.G.; Garcia, M.V.; Bernardi, A.O.; Cichoski, A.J.; Copetti, M.V. Comparison of electrolyzed water and multiple chemical sanitizer action against heat-resistant molds (HRM). *Int. J. Food Microbiol.* **2020**, *335*, 108856. [[Cross-Ref](#)]
47. Menegaro, A.; Flores, A.F.; Simer, P.; Silva, F.I.; Sbardelotto, P.R.R.; Pinto, E.P. Sanitizantes: Concentrações e aplicabilidade, na indústria de alimentos. *Sci Agrary Parana.* **2016**, *15*, 171–174. [[CrossRef](#)]
48. Marriott, N.G.; Schilling, M.W.; Gravani, R.B. Sanitizers. In *Principles of Food Sanitation*; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2018; pp. 175–198. [[CrossRef](#)]
49. Wigmann, É.F.; Saccomori, F.; Bernardi, A.O.; Frisvad, J.C.; Copetti, M.V. Toxigenic *Penicillia* spoiling frozen chicken nuggets. *Food Res. Int.* **2015**, *67*, 219–222. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

# Factors That Interfere in the Action of Sanitizers against Ochratoxigenic Fungi Deteriorating Dry-Cured Meat Products

Sarah Silva, Andrieli Stefanello, Bibiana Santos, Juliana Fracari, Graziela Leães and  
Marina Copetti \*

Graduate Program in Food Science and Technology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria 97105-900, Brazil

\* Correspondence: [marina.copetti@ufsm.br](mailto:marina.copetti@ufsm.br)

As supplementary material, Tables S1–S3 detail the statistical results of the tested variables.

**Table S1.** *Aspergillus westerdijkiae* colonies recovered after exposure to different concentrations of sanitizing agents at different temperatures and concentrations of organic matter.

| <b><i>Aspergillus westerdijkiae</i> (Initial Count = 5.49 CFU/mL)</b> |              |                          |                          |                          |                          |                           |                          |
|---|--------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Sanitizer   | Conditions   | Organic Matter 0.3%      |                          |                          | Organic Matter 3.0%      |                           |                          |
|   |              | 10 °C                    | 25 °C                    | 40 °C                    | 10 °C                    | 25 °C                     | 40 °C                    |
| <b>Sodium hypochlorite (0.50%)</b>                                    | SH.0.50% 10' | 4.45 <sup>A</sup>        | 4.12 <sup>ABCDEF</sup>   | 3.76 <sup>BCDEFGH</sup>  | 4.69 <sup>A</sup>        | 4.69 <sup>AB</sup>        | 4.58 <sup>ABCD</sup>     |
|   | SH.0.50% 15' | 4.36 <sup>ABCDE</sup>    | 3.91 <sup>ABCDEF</sup>   | 3.53 <sup>FGHIJK</sup>   | 4.68 <sup>AB</sup>       | 4.63 <sup>ABC</sup>       | 4.44 <sup>ABCD</sup>     |
|   | SH.0.50% 20' | 3.57 <sup>FGHIJK</sup>   | 3.53 <sup>FGHIJK</sup>   | 3.32 <sup>GHIJK</sup>    | 4.57 <sup>ABCD</sup>     | 4.26 <sup>ABCDEF</sup>    | 3.54 <sup>MNOPQR</sup>   |
| <b>Sodium hypochlorite (0.75%)</b>                                    | SH.0.75% 10' | 4.32 <sup>ABC</sup>      | 3.40 <sup>GHIJK</sup>    | 3.28 <sup>GHIJK</sup>    | 4.66 <sup>ABC</sup>      | 4.28 <sup>ABCDEF</sup>    | 4.34 <sup>ABCDEF</sup>   |
|   | SH.0.75% 15' | 3.65 <sup>EFGHIJK</sup>  | 3.36 <sup>GHIJK</sup>    | 3.27 <sup>GHIJK</sup>    | 4.44 <sup>ABCD</sup>     | 4.24 <sup>ABCDEF</sup>    | 4.21 <sup>CDEFGHIJ</sup> |
|   | SH.0.75% 20' | 3.45 <sup>GHIJK</sup>    | 3.31 <sup>GHIJK</sup>    | 3.15 <sup>IJKL</sup>     | 4.50 <sup>ABCD</sup>     | 4.15 <sup>DEFGHIJKL</sup> | 4.17 <sup>DEFGHIJK</sup> |
| <b>Sodium hypochlorite (1.00%)</b>                                    | SH.1% 10'    | 4.20 <sup>ABCDE</sup>    | 3.51 <sup>FGHIJK</sup>   | 3.71 <sup>CDEFGHIJ</sup> | 4.60 <sup>ABCD</sup>     | 4.43 <sup>ABCD</sup>      | 4.40 <sup>ABCDE</sup>    |
|   | SH.1% 15'    | 3.76 <sup>BCDEFGHI</sup> | 3.32 <sup>GHIJK</sup>    | <b>2.43<sup>N</sup></b>  | 4.50 <sup>ABCD</sup>     | 4.29 <sup>ABCDEF</sup>    | 4.23 <sup>BCDEFHI</sup>  |
|   | SH.1% 20'    | 3.50 <sup>GHIJK</sup>    | 3.18 <sup>HIJKL</sup>    | <b>2.41<sup>N</sup></b>  | 4.41 <sup>ABCDE</sup>    | 4.27 <sup>ABCDEF</sup>    | 3.74 <sup>KLMNO</sup>    |
| <b>Benzalkonium m chloride (0.30%)</b>                                | BC.030% 10'  | 4.23 <sup>ABCDE</sup>    | 4.27 <sup>ABCD</sup>     | 4.35 <sup>AB</sup>       | 4.35 <sup>ABCDEF</sup>   | 4.59 <sup>ABCD</sup>      | 4.68 <sup>AB</sup>       |
|   | BC.0.30% 15' | 3.56 <sup>FGHIJK</sup>   | 3.75 <sup>BCDEFGHI</sup> | 4.29 <sup>ABCD</sup>     | 4.27 <sup>ABCDEF</sup>   | 4.52 <sup>ABCD</sup>      | 4.67 <sup>ABC</sup>      |
|   | BC.0.30% 20' | 3.51 <sup>FGHIJK</sup>   | 3.70 <sup>DEFGHIJK</sup> | 3.77 <sup>BCDEFGH</sup>  | 3.82 <sup>GHIJKLMN</sup> | 4.41 <sup>ABCDE</sup>     | 4.59 <sup>ABCD</sup>     |
| <b>Benzalkonium m chloride (1.20%)</b>                                | BC.1.2% 10'  | 2.50 <sup>MN</sup>       | 2.59 <sup>LMN</sup>      | 3.11 <sup>JKL</sup>      | 3.75 <sup>JKLMNO</sup>   | 3.96 <sup>EFGHIJKLM</sup> | 4.46 <sup>ABCD</sup>     |
|   | BC.1.2% 15'  | <b>2.40<sup>N</sup></b>  | <b>2.45<sup>N</sup></b>  | 2.63 <sup>LMN</sup>      | 3.77 <sup>IJKLMN</sup>   | 3.81 <sup>GHIJKLMN</sup>  | 4.35 <sup>ABCDEF</sup>   |
|   | BC.1.2% 20'  | <b>1.38<sup>O</sup></b>  | <b>1.69<sup>O</sup></b>  | <b>2.41<sup>N</sup></b>  | 3.70 <sup>LMNOP</sup>    | 3.79 <sup>HIJKLMN</sup>   | 3.94 <sup>FGHIJKLM</sup> |
| <b>Benzalkonium m chloride (2.00%)</b>                                | BC.2% 10'    | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | 3.09 <sup>KLM</sup>      | 3.45 <sup>NOPQR</sup>    | 3.23 <sup>QR</sup>        | 3.20 <sup>QR</sup>       |
|   | BC.2% 15'    | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | 3.45 <sup>NOPQR</sup>    | 3.15 <sup>R</sup>         | 3.15 <sup>R</sup>        |
|   | BC.2% 20'    | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | <b>2.13<sup>S</sup></b>  | <b>2.24<sup>S</sup></b>   | <b>N</b>                 |
| <b>Peracetic acid</b>   | PA.0.30% 10' | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | 4.41 <sup>ABCDE</sup>    | 3.64 <sup>MNOPQ</sup>     | <b>2.24<sup>S</sup></b>  |
|   | PA.0.30% 15' | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | <b>N</b>                 | 3.31 <sup>OPQR</sup>     | <b>2.33</b>               | <b>2.13<sup>S</sup></b>  |





Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference ( $P > 0.05$ ) by Tukey's test. Legend: ' = minutes, "N" = colonies not detected, bold = effective (inactivation  $> 3$  log CFU), SH = sodium hypochlorite, BC = benzalkonium chloride, PA = peracetic acid.

**Table S2.** Colonies of *Penicillium verrucosum* recovered after exposure to different concentrations of sanitizing agents at

different temperatures and concentrations of organic matter.  
*Penicillium verrucosum* (Initial Count = 5.29 log CFU/g)

| Sanitizer                     | Conditions   | Organic Matter 0.3%    |                        |                        | Organic Matter 3.0%      |                          |                          |
|-------------------------------|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                               |              | 10 °C                  | 25 °C                  | 40 °C                  | 10 °C                    | 25 °C                    | 40 °C                    |
| Sodium hypochlorite (0.50%)   | SH.0.50% 10' | 5.05 <sup>A</sup>      | 4.86 <sup>A</sup>      | 4.43 <sup>ABCDE</sup>  | 5.28 <sup>A</sup>        | 5.20 <sup>AB</sup>       | 5.06 <sup>ABC</sup>      |
|                               | SH.0.50% 15' | 4.96 <sup>A</sup>      | 4.84 <sup>AB</sup>     | 4.41 <sup>ABCDE</sup>  | 5.16 <sup>AB</sup>       | 5.13 <sup>AB</sup>       | 5.06 <sup>ABC</sup>      |
|                               | SH.0.50% 20' | 4.97 <sup>A</sup>      | 4.65 <sup>ABC</sup>    | 3.94 <sup>CDEFG</sup>  | 5.08 <sup>AB</sup>       | 5.03 <sup>ABCDE</sup>    | 5.01 <sup>ABCDE</sup>    |
| Sodium hypochlorite (0.75%)   | SH.0.75% 10' | 4.61 <sup>ABCD</sup>   | 4.41 <sup>ABCDE</sup>  | 3.79 <sup>DEFGH</sup>  | 5.24 <sup>AB</sup>       | 4.93 <sup>ABCDEF</sup>   | 4.87 <sup>ABCDEFG</sup>  |
|                               | SH.0.75% 15' | 4.41 <sup>ABCDE</sup>  | 3.99 <sup>CDEFG</sup>  | 3.64 <sup>EFGHI</sup>  | 5.05 <sup>ABCD</sup>     | 4.77 <sup>ABCDEFGH</sup> | 4.77 <sup>ABCDEFGH</sup> |
|                               | SH.0.75% 20' | 3.69 <sup>EFGH</sup>   | 3.55 <sup>FGHI</sup>   | 3.38 <sup>FGHIJ</sup>  | 4.95 <sup>ABCDEF</sup>   | 4.61 <sup>BCDEFGH</sup>  | 3.88 <sup>IJKLMNOP</sup> |
| Sodium hypochlorite (1.0%)    | SH.1% 10'    | 4.01 <sup>BCDEF</sup>  | 3.54 <sup>FGHI</sup>   | 3.43 <sup>FGHIJ</sup>  | 4.67 <sup>ABCDEFGH</sup> | 4.34 <sup>FGHIJ</sup>    | 4.28 <sup>GHIJ</sup>     |
|                               | SH.1% 15'    | 3.87 <sup>CDEFG</sup>  | 3.84 <sup>CDEFGH</sup> | 3.32 <sup>FGHIJK</sup> | 4.44 <sup>CDEFGHI</sup>  | 4.24 <sup>GHIJ</sup>     | 4.21 <sup>HIJK</sup>     |
|                               | SH.1% 20'    | 3.15 <sup>GHIJKL</sup> | 2.81 <sup>IJKLM</sup>  | 2.48 <sup>KLM</sup>    | 4.41 <sup>EFGHI</sup>    | 4.15 <sup>HIJKL</sup>    | 3.74 <sup>JKLMNO</sup>   |
| Benzalkonium chloride (0.30%) | BC.0.30% 10' | 2.38 <sup>LM</sup>     | 2.64 <sup>JKLM</sup>   | 2.99 <sup>HIJKL</sup>  | 3.14 <sup>OPQR</sup>     | 3.56 <sup>LMNOP</sup>    | 4.41 <sup>DEFGHI</sup>   |
|                               | BC.0.30% 15' | N                      | 2.09 <sup>M</sup>      | 2.47 <sup>LM</sup>     | 2.95 <sup>PQRS</sup>     | 3.32 <sup>NO PQ</sup>    | 3.59 <sup>KLMNO</sup>    |
|                               | BC.0.30% 20' | N                      | N                      | 0.99 <sup>NO</sup>     | 2.80 <sup>QRS</sup>      | 3.38 <sup>MNOPQ</sup>    | 3.97 <sup>IJKLM</sup>    |
| Benzalkonium chloride (1.2%)  | BC.1.2% 10'  | N                      | N                      | 2.66 <sup>JKLM</sup>   | N                        | 1.66 <sup>T</sup>        | 3.93 <sup>IJKLMN</sup>   |
|                               | BC.1.2% 15'  | N                      | N                      | 1.18 <sup>N</sup>      | N                        | 0.89 <sup>U</sup>        | 1.80 <sup>T</sup>        |
|                               | BC.1.2% 20'  | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | 1.74 <sup>T</sup>        |
| Benzalkonium chloride (2.00%) | BC.2% 10'    | N                      | N                      | 2.44 <sup>LM</sup>     | N                        | 1.64 <sup>T</sup>        | 2.44 <sup>S</sup>        |
|                               | BC.2% 15'    | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | N                        |
|                               | BC.2% 20'    | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | N                        |
| Peracetic acid (0.30%)        | PA.0.30% 10' | 0.75 <sup>NOP</sup>    | 0.39 <sup>NOP</sup>    | 0.30 <sup>OP</sup>     | 4.20 <sup>HIJK</sup>     | 2.94 <sup>PQRS</sup>     | 2.94 <sup>PQRS</sup>     |
|                               | PA.0.30% 15' | 0.50 <sup>NOP</sup>    | 0.30 <sup>OP</sup>     | N                      | 3.83 <sup>IJKLMN</sup>   | 2.63 <sup>RS</sup>       | 2.54 <sup>RS</sup>       |
|                               | PA.0.30% 20' | 0.39 <sup>NOP</sup>    | N                      | N                      | 1.72 <sup>T</sup>        | N                        | N                        |
| Peracetic acid (0.60%)        | PA.0.60% 10' | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | N                        |
|                               | PA.0.60% 15' | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | N                        |
|                               | PA.0.60% 20' | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | N                        |
| Peracetic acid (1.00%)        | PA.1% 10'    | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | N                        |
|                               | PA.1% 15'    | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | N                        |
|                               | PA.1% 20'    | N                      | N                      | N                      | N                        | N                        | N                        |

Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference ( $P > 0.05$ ) by Tukey's test. Legend: ' = minutes, "N" = colonies not detected,

bold = effective (inactivation > 3 log CFU), SH = sodium hypochlorite, BC = benzalkonium chloride, PA = peracetic acid.

**Table S3.** Recovered colonies of *Penicillium nordicum* after exposure to different concentrations of sanitizing agents at

different temperatures and concentrations of organic matter.  
*Penicillium nordicum* (Initial Count = 4.67 log)

| Sanitizer                     | Conditions   | Organic Matter 0.3%     |                            |                           | Organic Matter 3.0%         |                             |                           |
|-------------------------------|--------------|-------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|                               |              | 10 °C                   | 25 °C                      | 40 °C                     | 10 °C                       | 25 °C                       | 40 °C                     |
| Sodium hypochlorite (0.50%)   | SH.0.50% 10' | 3.82 <sup>A</sup>       | 3.59 <sup>AB</sup>         | 3.54 <sup>AB</sup>        | 4.18 <sup>A</sup>           | 3.99 <sup>ABC</sup>         | 3.91 <sup>ABCD</sup>      |
|                               | SH.0.50% 15' | 3.53 <sup>AB</sup>      | 3.39 <sup>ABCD</sup>       | 3.34 <sup>ABCDE</sup>     | 4.13 <sup>A</sup>           | 3.82 <sup>ABCDE</sup>       | 3.72 <sup>ABCDEF</sup>    |
|                               | SH.0.50% 20' | 3.41 <sup>ABC</sup>     | 3.15 <sup>BCDEF</sup>      | 2.87 <sup>CDEFG</sup>     | 3.99 <sup>ABC</sup>         | 3.70 <sup>ABCDEF</sup>      | 3.69 <sup>ABCDEFG</sup>   |
| Sodium hypochlorite (0.75%)   | SH.0.75% 10' | 2.82 <sup>DEFGH</sup>   | 2.79 <sup>EFGH</sup>       | 2.71 <sup>FGHI</sup>      | 4.06 <sup>AB</sup>          | 4.00 <sup>ABC</sup>         | 3.88 <sup>ABCDE</sup>     |
|                               | SH.0.75% 15' | 2.77 <sup>EFGH</sup>    | 2.69 <sup>FGHI</sup>       | 2.68 <sup>FGHIJ</sup>     | 4.04 <sup>AB</sup>          | 3.90 <sup>ABCD</sup>        | 3.36 <sup>BCDEFGHIJ</sup> |
|                               | SH.0.75% 20' | 2.71 <sup>FGHI</sup>    | 2.68 <sup>FGHIJ</sup>      | 2.64 <sup>FGHIJK</sup>    | 3.75 <sup>ABCDEF</sup>      | 3.66 <sup>ABCDEFG</sup>     | 2.88 <sup>HIJKLM</sup>    |
| Sodium hypochlorite (1.00%)   | SH.1% 10'    | 2.51 <sup>GHIJKL</sup>  | 2.24 <sup>HJKLMN</sup>     | 2.19 <sup>IJKLMN</sup>    | 3.56 <sup>ABCDEF</sup>      | 3.15 <sup>EFGHIJKL</sup>    | 3.14 <sup>EFGHIJKL</sup>  |
|                               | SH.1% 15'    | 2.34 <sup>GHIJKLM</sup> | 2.10 <sup>KLMN</sup>       | 1.82 <sup>MNOP</sup>      | 2.95 <sup>GHIJKL</sup>      | 2.80 <sup>IJKLMN</sup>      | 2.44 <sup>LMNOPQ</sup>    |
|                               | SH.1% 20'    | 2.16 <sup>IJKLMN</sup>  | <b>1.47</b> <sup>OPQ</sup> | <b>1.28</b> <sup>PQ</sup> | 2.77 <sup>JKLMNO</sup>      | 2.73 <sup>JKLMNO</sup>      | 2.15 <sup>MNOPQR</sup>    |
| Benzalkonium chloride (0.30%) | BC.0.30% 10' | 1.72 <sup>NOPQ</sup>    | 1.98 <sup>LMNNO</sup>      | 2.33 <sup>GHIJKLM</sup>   | 2.77 <sup>JKLMNO</sup>      | 3.16 <sup>DEFGHIJKL</sup>   | 3.53 <sup>ABCDEF</sup>    |
|                               | BC.0.30% 15' | 1.94 <sup>LMNO</sup>    | 2.11 <sup>JKLMN</sup>      | 2.17 <sup>IJKLMN</sup>    | 2.83 <sup>HJKLMN</sup>      | 2.84 <sup>HJKLMN</sup>      | 2.90 <sup>HIJKL</sup>     |
|                               | BC.0.30% 20' | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>1.15</b> <sup>Q</sup>  | 2.53 <sup>KLMNOP</sup>      | 2.60 <sup>KLMNOP</sup>      | 2.68 <sup>JKLMNO</sup>    |
| Benzalkonium chloride (1.20%) | BC.1.2% 10'  | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | 3.06 <sup>FGHIJKL</sup>     | 3.15 <sup>EFGHIJKL</sup>    | 3.36 <sup>BCDEFHIJ</sup>  |
|                               | BC.1.2% 15'  | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | 2.82 <sup>HJKLMN</sup>      | 3.14 <sup>EFGHIJKL</sup>    | 3.27 <sup>CDEFGHIJK</sup> |
|                               | BC.1.2% 20'  | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | 2.15 <sup>MNOPQR</sup>      | 2.85 <sup>HIJM</sup>        | 3.23 <sup>DEFGHIJK</sup>  |
| Benzalkonium chloride (2.00%) | BC.2% 10'    | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>1.64</b> <sup>RSTU</sup> | 2.04 <sup>OPQRS</sup>       | 3.06 <sup>FGHIJKL</sup>   |
|                               | BC.2% 15'    | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>1.33</b> <sup>STU</sup>  | <b>1.62</b> <sup>RSTU</sup> | 2.10 <sup>NOPQR</sup>     |
|                               | BC.2% 20'    | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>0.92</b> <sup>U</sup>    | <b>1.20</b> <sup>TU</sup>   | <b>1.26</b> <sup>TU</sup> |
| Peracetic acid (0.30%)        | PA.0.30% 10' | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | 2.46 <sup>LMNOPQ</sup>      | 1.75 <sup>QRST</sup>        | <b>1.20</b> <sup>TU</sup> |
|                               | PA.0.30% 15' | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | 1.87 <sup>PQRST</sup>       | <b>1.50</b> <sup>RSTU</sup> | <b>1.16</b> <sup>TU</sup> |
|                               | PA.0.30% 20' | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | 1.74 <sup>QRST</sup>        | <b>1.25</b> <sup>TU</sup>   | <b>1.13</b> <sup>TU</sup> |
| Peracetic acid (0.60%)        | PA.0.60% 10' | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>N</b>                    | <b>N</b>                    | <b>N</b>                  |
|                               | PA.0.60% 15' | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>N</b>                    | <b>N</b>                    | <b>N</b>                  |
|                               | PA.0.60% 20' | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>N</b>                    | <b>N</b>                    | <b>N</b>                  |
| Peracetic acid (1.00%)        | PA.1% 10'    | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>N</b>                    | <b>N</b>                    | <b>N</b>                  |
|                               | PA.1% 15'    | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>N</b>                    | <b>N</b>                    | <b>N</b>                  |
|                               | PA.1% 20'    | <b>N</b>                | <b>N</b>                   | <b>N</b>                  | <b>N</b>                    | <b>N</b>                    | <b>N</b>                  |

Averages within the same column followed by the same letters did not show any significant difference (P > 0.05) by Tukey's test. Legend: ' = minutes, "N" = colonies not detected, bold = effective (inactivation > 3 log CFU), SH = sodium hypochlorite, BC = benzalkonium chloride, PA = peracetic acid.

***ARTIGO2–Sanitizantes comumente utilizados na indústria de alimentos para controle de fungos.***

Artigo no formato para o periódico *Fermentation*, ISSN 0023-6438, Área de avaliação em Ciência de Alimentos, Classificação A3 Qualis CAPES 2017-2020.



Review

# Sanitizantes comumente utilizados na indústria de alimentos para o controle de fungos.

Sarah Silva<sup>1</sup>, Thais Bisello, Larissa Borstmann and Marina Copetti\*

Graduate Program in Food Science and Technology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria 97105-900, Brazil

\*Correspondence: marina.copetti@ufsm.br

**Abstract:** Dentre os perigos microbiológicos encontrados na indústria alimentícia, a contaminação fúngica é uma importante causa de deterioração em vários segmentos, como, frutas, panificação, laticínios, vegetais e produtos cárneos. O desenvolvimento de fungos em produtos industrializados desencadeia relevantes perdas econômicas, visto que uma vez que micro-organismos alcançam o alimento, contaminando-o, a subsequente multiplicação destes pode causar danos na aparência, odor, sabor e textura, ou seja, sua deterioração, o que induz a uma rejeição por parte dos consumidores e impacto sobre a marca comercial. Em virtude dos prejuízos causados pela presença de fungos no ambiente de produção das indústrias, as etapas de limpeza e sanitização são muito importantes para prevenir a contaminação e assim garantir a qualidade e segurança dos alimentos. Visando os sanitizantes comumente utilizados na indústria de alimentos, esta revisão aborda as indicações, desvantagens e fatores que podem interferir na ação destes agentes. Os sanitizantes mais utilizados nas indústrias são o hipoclorito de sódio, ácido peracético e cloreto de benzalcônio, os quais demonstram ter diferentes modos de ação, assim como resposta variável aos fatores que interferem em sua ação de forma negativa ou positiva.

**Keywords:** sanitização, fungos, indústria alimentícia.

**Citation:** To be added by editorial staff during production.

Academic Editor:  
FirstnameLastname

Received: date  
Revised: date  
Accepted: date  
Published: date



**Copyright:** © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Os fungos (bolores e leveduras) são importantes responsáveis pelo desperdício e deterioração dos alimentos e estão presente em toda a cadeia de produção desde a contaminação das sementes, cultivo, colheita, pós-colheita, durante o processamento, transporte e armazenamento de alimentos [(1), resultando em grandes perdas econômicas e representando um perigo à saúde dos consumidores, pois alguns fungos podem produzir metabólitos secundários tóxicos, as micotoxinas, que podem causar efeitos deletérios à saúde humana e animal [2]. Além disso, o desenvolvimento fúngico em alimentos está associado a efeitos negativos na qualidade sensorial dos produtos, por exemplo, aparência, textura, propriedades de sabor [3, 1], os quais induzem a rejeição por consumidores e geram perdas econômicas aos produtores.

A presença de fungos no ambiente de indústrias de alimentos pode ocasionar relevantes perdas econômicas, pois, uma vez que os micro-organismos potencialmente deteriorantes presentes nos ambientes de produção e processamento alcançam um alimento, contaminando-o, se existirem condições permissivas, ocorrerá a subsequente multiplicação

destes agentes e alterações indesejáveis associadas, a deterioração do produto [4]. Uma das estratégias empregadas pela indústria alimentícia para a prevenção da deterioração fúngica, é a adoção de métodos de limpeza seguidos de um adequado processo de sanitização [5]. Portanto, métodos eficazes de limpeza e sanitização seriam capazes de reduzir a contaminação de superfícies e do meio ambiente a um nível seguro, afetando a carga fúngica nos alimentos e conseqüentemente refletindo em uma extensão da vida de prateleira dos alimentos [6].

Para que o controle de fungos seja alcançado, é importante a utilização de agentes sanitizantes com ação antifúngica adequada [7, 4]. Além da seleção do melhor princípio ativo através de testes laboratoriais, é importante considerar que externos (tempo de exposição, temperatura e concentração, tipo de desinfetante e presença de matéria-orgânica) que podem afetar a atividade antifúngica dos sanitizantes [8]; assim como o modo de aplicação (fumigação, aplicação líquida) e os fungos visados [3].

Cada sanitizante apresenta vantagens e desvantagens em termos de redução de micro-organismos, custo e acessibilidade, e cada um difere em seus limites permitidos. Na tabela A1 é apresentado os sanitizantes mais usados que tem seu uso liberado em ambientes de produção alimentar.

**TableA1.** Sanitizantes, princípio ativo e as concentrações indicadas pelo fabricante.

| Sanitizante            | Princípio ativo                                 | Concentração indicada |
|------------------------|---|-----------------------|
| Cloreto de benzalcônio | Benzalkoniumchloride                            | 0.3–5%                |
| Hipoclorito de sódio   | Sodium hypochlorite (10–12% of active chlorine) | 0.1–1%                |
| Ácido peracético       | Peraceticacid, hydrogen peroxide, Aceticacid    | 0.15–3%               |

Esta revisão aborda os principais pontos relacionados aos sanitizantes mais comuns utilizados nas indústrias de alimentos, ácido peracético, hipoclorito de sódio e cloreto benzalcônio com foco no controle da deterioração fúngica de diferentes alimentos processados, bem como as vantagens e desvantagens referentes ao seu uso.

## 2. Materials and Methods

Na tabela A2, podemos observar os termos utilizados para as pesquisas assim como a base de dados usada para as pesquisas que foram selecionadas com base no título, resumo e/ou palavras-chave. Os estudos excluídos nesta pesquisa foram por motivos, como, referências muito antigas, tópicos não relacionados com o assunto, poucos resultados, sanitizantes juntamente com outras metodologias físicas ou químicas, relatos de casos médicos, uso dos sanitizantes juntamente com nanopartículas. A pesquisa foi realizada entre 13 de março a 01 de agosto de 2023 onde foram lidos, observados e utilizados na revisão um total de 104 materiais, entre livros, artigos de revisão, artigos de casos, teses de doutorado, informações sobre o mercado de sanitizantes. As informações extraídas dos arquivos foram utilizadas para avaliar questões, como, ação antifúngica, aplicação contra fungos, alcance da ação do sanitizante contra fungos, fatores que afetam a ação contra fungos, pesquisas realizadas com o sanitizante, e problemas em sua aplicação na indústria de alimentos.

Table A2. informações sobre a pesquisa.

| Base de dados  | Termos procurados para hipoclorito de sódio  | Termos procurados para cloreto e benzalconio   | Termos procurados para ácido peracético  |
|--|--|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Periodicos da capes e Science Direct</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Sodium hypochlorite in the food industry.</li> <li>Sodium hypochlorite again stfungi.</li> <li>Sodium hypochlorite industry.</li> <li>Sanitization sodium hypochlorite.</li> <li>Disinfectant sodium hypochlorite.</li> <li>Sodium hypochlorite versus peraceticacid.</li> <li>Disinfection sodium hypochlorite.</li> <li>Disinfection by-products sodium hypochlorite.</li> <li>Application of Sodium hypochlorite.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Benzalkonium application.</li> <li>Benzalkonium sanitization.</li> <li>Benzalkonium disinfectant.</li> <li>Alkylbenzyl dimethylammonium chlorides.</li> <li>Benzalkonium in the food industry.</li> <li>Benzalkonium foods.</li> <li>Benzalkonium against fungi.</li> <li>Benzalkonium toxicity treatment.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Peraceticacid again stfungi.</li> <li>Peracetic acid in the food industry.</li> <li>Peraceticacid toxicity.</li> <li>Sanitizing peraceticacid.</li> <li>Disinfectant peraceticacid.</li> <li>Peraceticacid heal thrisks.</li> <li>Peracetic acid as an alternative to sodium hypocorite.</li> </ul> |

### 3. Hipoclorito de sódio

O hipoclorito de sódio é o sanitizante mais utilizado, usualmente sendo adotado como referência em análises comparativas de sanitizantes [9, 10]. Os mecanismos de ação do hipoclorito de sódio são baseados em suas propriedades físico-químicas [11]. O NaOCl reage com a água formando ácido hipocloroso (HOCl) [12], também conhecido como cloro livre, através da hidrólise ( $\text{NaOCl} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HOCl} + \text{NaOH}^-$ ), assim o ácido hipocloroso dissocia-se em íon hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) e  $\text{H}^+$  (próton) [13, 14]. Em solução o íon hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ), que é uma das formas ativas oxidantes, atuam diretamente sobre os micro-organismos, inativando-os por inibição das reações enzimáticas, desnaturação das proteínas e inativação dos ácidos nucléicos nas células [15]. Este agente fornece uma fonte de cloro sendo considerado um forte agente oxidante, com aplicação na limpeza e sanitização em alimentos, com amplo espectro de atividades, ação branqueadora [16] e baixo custo [17, 18, 19], além de pouco afetar as qualidades nutricionais dos alimentos [20].

A concentração máxima deste composto geralmente permitida para uso em superfície de contato com alimentos varia de 0,005 a 0,02% (50 a 200 ppm, partes por milhão) e 0,05 a 0,08% (600 a 800 ppm) para desinfecção de superfícies sem contato com alimentos, testes de eficácia mostram que o hipoclorito de sódio atua bem contra bactérias e leveduras em geral, mas falha em alcançar a inativação de 4 log de esporos fúngicos, para a maioria das espécies [7, 21, 22, 6, 23, 24, 8] conforme especificado na legislação de avaliação de eficácia de sanitizantes nas concentrações permitidas para uso em indústrias alimentícias. Levando em consideração os resultados obtidos este sanitizante não deveria ser a primeira escolha nas indústrias, visto que se busca eficácia em controlar a contaminação fúngica [21, 25, 23].

Vários fatores afetam a ação de um sanitizante, um dos principais fatores que causam redução na eficácia do hipoclorito de sódio é a presença de matéria orgânica, pois pode gerar subprodutos de desinfecção e reduzir sua ação antimicrobiana, conforme relatado em diferentes estudos [26, 27, 28, 29, 30]. Resultados obtidos em estudos *in vitro* avaliando interferência de diferentes fatores sobre a ação antifúngica do hipoclorito de sódio contra fungos das espécies *Aspergillus brasiliensis*, *Penicillium nordicum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus westerdijkae* indicaram que a matéria orgânica foi um dos principais fatores responsáveis pela redução da ação antifúngica do hipoclorito de sódio [24, 8]. A matéria orgânica usada nestas avaliações *in vitro* visa simular ambientes industriais sujos ou limpos, sendo que a mesma aumentou a sobrevivência de todas as espécies fúngicas confrontadas, indicando que a etapa de limpeza, com remoção da matéria orgânica nas instalações alimentícias, é crucial antes do procedimento de sanitização [31, 32, 24, 8].

Outro fator relevante para uma efetiva ação antimicrobiana, é a concentração de uso do sanitizante. Bernardi et al. [33] enfatiza que a escolha da concentração é de grande relevância para a obtenção de resultados satisfatórios, e que a maior concentração indicada pelo fabricante deve ser preferencialmente utilizada, visto que é a que usualmente demonstra eficácia contra fungos. Em estudos realizados por Ribeiro et al. [34] a ação do hipoclorito de sódio foi considerada melhor que a ação de ácido peracético, contra *Aspergillus nomius* inoculado na castanha do Brasil, embora tenha reduzido menos que 2 Log UFC quando exposto por um tempo de 8,5 minutos e concentração de 250 ppm. Similarmente em testes de eficácia *in vitro*, Gonçalves et al. [25] observou que concentrações entre 500 e 750 ppm de hipoclorito de sódio, por 15 minutos, inativaram entre 2 e 2,9 Log UFC desta mesma espécie. Concordando com resultados encontrados por Salomão et al., [35], que aplicaram este sanitizante em maçãs inoculadas com *Penicillium* e obtiveram maior redução da contaminação ao aumentar a concentração de 50 para 200 mg/L. Em um estudo conduzido por Bernardi et al. [22], foi aplicado concentrações de hipoclorito de sódio mais altas do que o usualmente recomendado e revelou que este agente só foi eficaz na concentração de pelo menos 5000 ppm contra *Hyphopichia burtonii* e 10000 ppm para *P. roqueforti*, *Penicillium paneum* e *Aspergillus pseudoglaucus*, em exposições de 15 min.

A ação do hipoclorito de sódio também depende muito do pH presente [29, 36, 37, 38]. O pH um fator particularmente relevante quando mencionamos sanitizantes a base de cloro, pois a ação antimicrobiana destes compostos costuma estar relacionada à geração ácido hipocloroso após a hidrólise em água. A formação do ácido hipocloroso tende a ser maior quando o pH é ligeiramente ácido porque esta forma predomina a atividade antimicrobiana em vez do íon hipoclorito, que predomina em valores de pH acima de pH 7,0, onde compostos à base de hipoclorito de sódio são quase ineficazes [39]. Em estudos realizados por [35] soluções de cloro em pH 6.5 causou reduções de mais de 5 log de esporos de *Penicillium expansum*, em maçãs Macintosh, Empire e Golden Supreme a 200 ppm.

#### *Desvantagens do hipoclorito de sódio.*

Concentrações mais altas de hipoclorito de sódio elevam a eficácia antimicrobiana do produto, no entanto não são recomendadas porque podem gerar compostos tóxicos ao ambiente, causar corrosão nos materiais e equipamentos, explosões e afetar adversamente a saúde dos trabalhadores [40, 41, 42, 30, 28, 43].

O hipoclorito de sódio apresenta taxa de toxicidade residual, então cuidados específicos devem ser tomados durante sua aplicação, manuseio e armazenamento, e fazer o uso de equipamentos de proteção individual, lavagem cuidadosa e abundante para não haver resíduos dos produtos químicos [32, 31].

A grande preocupação do uso de hipoclorito de sódio atualmente está na reatividade do cloro com a matéria orgânica presente, pois geram subprodutos de desinfecção [44, 45, 9], além de ter potenciais consequências negativas no meio ambiente e na saúde humana [9, 46], reduz a eficácia do sanitizante [40, 41, 28, 29, 30, 42, 43]. Os subprodutos de desinfecção apresentam respostas sensoriais negativas, como odor desagradável e sabor em produtos frescos [30, 47].

Outros fatores relevantes para a aplicação de produtos químicos é sua estabilidade e os danos que podem vir a causar na superfície do equipamento. O hipoclorito de sódio é um grande agente corrosivo em superfícies metálicas, incluindo aço inoxidável [31] e após ocorrer uma lesão devido à corrosão, poderá resultar no acúmulo de matéria orgânica, dificultando a sanitização e também favorecendo o desenvolvimento de biofilme microbiano [32, 22].

#### 4. Ácido peracético

Considerado um agente sustentável, sendo um oxidante e desinfetante verde por seu baixo impacto ambiental [48, 49], o ácido peracético é uma das principais alternativas para o uso de compostos clorados [50, 51, 52, 53]. Dentre as vantagens de aplicar o ácido peracético está o fato de que este agente pouco reage com proteínas e prevenir a formação de biofilmes [54].

A forma comercial que o ácido peracético está disponível é como uma mistura contendo peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (10-40%), ácido acético (3-40%) [55, 17, 56, 57] e água [58]. É uma agente com compatibilidade ambiental, uma vez que se decompõe em derivados inócuos (ácido acético, água e oxigênio) [31] que são rapidamente metabolizados por microorganismos [59].

Com propriedades de lipossolubilidade [60], tem ação direta e forte sobre as membranas celulares por meio de radicais hidroxilas [61], as espécies reativas de oxigênio causam danos no DNA e nos lipídios, causando o rompimento das membranas e bloqueio dos sistemas enzimáticos e de transporte [62].

Devido à sua eficácia fungicida e esporicida, demonstrada em diversas áreas, o uso do ácido peracético como desinfetante para a indústria de alimentos tem atraído mais atenção nos últimos anos [63]. É considerado altamente eficaz, sendo aplicado em diferentes ambientes, como no processamento de alimentos e bebidas, bem como água de torres de resfriamento, águas residuais [50], na indústria de minimamente processados, que busca por produtos mais sustentáveis e alternativos ao cloro [44], aplicado também em superfícies de contato com alimentos [64], em indústrias de panificação no controle antifúngico [22].

#### *Fatores de interferência do ácido peracético*

O ácido peracético não sofre grande influência da presença de matéria orgânica quando comparado com o cloro [57], não sendo facilmente consumido pela matéria orgânica presente na água do processo que não resultará na formação de subprodutos de desinfecção [57, 65, 58, 40] ou de forma limitada [66]. Tem uma boa estabilidade, elevado potencial redox



(1,8 eV) [67], com ampla faixa de pH (1 a 8) de eficiência [40, 68, 57] e temperatura (de 0 a 40°C) [40, 8]. Porém o ácido peracético tem um custo mais elevado quando comparado com o cloro e cinética de inativação mais lenta [69].

Além disso, o conhecimento sobre a eficácia antifúngica de ácido peracético vem crescendo ao longo dos anos. Em estudos realizados contra *Penicillium digitatum*, este sanitizante mostrou-se eficaz em concentrações de 72 ppm por 8 min a 25 °C a 216 ppm por 30 s a 35 °C [70]. Em concentrações de até 3,0%, mostrou ser capaz de reduções entre 2 e 4 logs em fungos de deterioração de panificação [21], e também para fins industriais em cepas termo-sensíveis (*Cladosporiumcladosporioides*, *Penicillium commune*, *Penicillium polonicum*, *Penicillium roqueforti*), ambiente [22]. A ação do ácido peracético contra *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) foi satisfatória, inativando completamente em diferentes condições de teste, como a 30 e 40°C em concentração de 1% por 10 e 15 min e tempo de exposição 5 min em 40°C em ambas as condições (com/sem carga orgânica) [24]. Estas observações são corroboradas com estudos realizados por Silva et al. [8], onde diferentes condições de teste foram aplicadas, como, concentração (0,3, 0,6, 1%), tempo de exposição (10, 15, e 20 min), temperatura (10, 25 e 40 °C) e presença de matéria orgânica (0,3% e 3%). As avaliações revelaram que em grande parte das situações os fatores de interferência estudados não foram suficientes para impedir a eficácia antifúngica do ácido peracético contra *P. nordicum*, *P. verrucosum* e *A. westerdijkiae*. Estes resultados favoráveis do ácido peracético concordam com os resultados encontrados por Bernardi et al. [33, 21, 25 e 23], que relatou bons resultados ao testar o ácido peracético à temperatura ambiente.

Estudos realizados indicam que a temperatura em que o ácido peracético é aplicado pode reduzir o tempo necessário para inativar *P. digitatum*, relatando que a ação do ácido peracético tem sua ação lenta na água de lavagem em temperatura ambiente [70]. Que pode ser observado em trabalhos realizados por Silva et al. [8] e Stefanello et al. [24], onde em temperaturas maiores sua ação antifúngica foi favorecida. Quando aplicado ácido peracético a 100 mg/L á temperatura de 40°C por 40 segundos foi significativamente melhor do que o mesmo tratamento à temperatura ambiente (20°C), e inibiu completamente os conídios de *Monilinia fructicola* em água [68].

#### *Desvantagens do ácido peracético*

Pesquisas demonstram que o ácido peracético reagiu com aminoácidos, fenóis e outras substâncias aromáticas nas águas residuais tratadas com este agente, onde cerca de 10-30 µg/L de aldeídos foram formados [71]. Lee et al. [57] realizou um estudo onde foi comparada a água de lavagem de alface minimamente processada com hipoclorito de sódio e ácido peracético, em diferentes concentrações, onde foram analisados 45 subprodutos de desinfecção convencionais e emergentes relevantes, foi então relatado que a lavagem com ácido peracético gerou sim subprodutos de desinfecção, porém em menores quantidade que com hipoclorito de sódio. Estes resultados contrastam com estudos realizados por Cavallini et al. [72] e Araújo et al. [73], que relataram quantidades limitadas ou indetectáveis de subprodutos de desinfecção halogenados durante a aplicação em águas residuais. Mais pesquisas são necessárias para esclarecer sobre a formação de subprodutos de desinfecção resultantes do tratamento com ácido peracético.

O uso de ácido peracético pode apresentar outras desvantagens [74], como o maior conteúdo orgânico no efluente; potencial de regeneração microbiana; eficiência reduzida contra vírus e parasitas; mau cheiro gerado pela formação de ácido acético em alta concentração, danos a pele, olhos e trato respiratório [75, 76]. O ácido acético liberado após a decomposição e hidrólise em água [77], pode promover a regeneração resultando assim no aumento de matéria orgânica de águas residuais ou tratadas com ácido peracético [68, 78].

## 5. Cloreto Benzalcônio

O cloreto de benzalcônio pertence ao grupo de compostos de amônio quaternário (QACs) [79] de primeira geração [22], sendo uma mistura de cloretos de alquilbenzildimetilamônio de numerosos comprimentos de cadeia alquílica [80]. Geralmente os compostos de amônio quaternário apresentam pelo menos uma longa cadeia alquil hidrofóbica substituinte em uma extremidade e uma cadeia alquila curta, como um substituinte metil, benzila ou etilbenzila, na outra extremidade do cátion amônio quaternário [81]. A atividade antimicrobiana depende do comprimento da cadeia alquílica, sendo o homólogo C12 eficaz contra leveduras e bolores, C14 atua bem em bactérias Gram-positivas e C16 em bactérias Gram-negativas [82]. Estes compostos químicos apresentam baixa toxicidade e capacidade de ser formulado para objetivos específicos e organismos-alvo, o que generaliza seu uso [83, 84], pois apresenta grande variedade de estruturas químicas possíveis [83]. Podem ser aplicados como agentes de desinfetantes [85, 86, 87], conservantes de alimentos [88], e em baixas concentrações (0,5 a 5 mg/litro) também são fungistáticos [89].

Os compostos de amônio quaternário apresentam uma porção catiônica que consiste no nitrogênio central com quatro grupos anexados, que ocorrem em uma variedade de estruturas [90, 91]. Os compostos de amônio quaternário são classificados com base nos grupos R (radical), que podem incluir o número de átomos de nitrogênio, ramificação da cadeia de carbono e a presença de grupos aromáticos, porém estas variações podem afetar a atividade antimicrobiana dos compostos em termos de dose e ação, contra diferentes micro-organismos [83]. Os compostos de amônio quaternário apresentam seu mecanismo de ação através de interação com a membrana plasmática de leveduras [83].

Estudos na área de micologia apresentam resultados promissores sobre o desempenho de cloreto de benzalcônio contra fungos deteriorantes de alimentos. Avaliações da eficácia de cloreto de benzalcônio em diferentes concentrações (0,3%, 2,5%, 5%) contra espécies de fungos deteriorantes em produtos de panificação (*Penicillium roqueforti*, *Penicillium paneum*, *Hyphopichia burtoni* e *Aspergillus pseudoglaucus*) revelaram que o cloreto de benzalcônio foi eficaz na inativação de cepas de *P. roqueforti* (PR 06; PR 11 e PR 67) em todas as concentrações avaliadas [22]. Fungos envolvidos na deterioração de produtos lácteos e cárneos, como *A. westerdijkiae*, *A. pseudoglaucus*, *Penicillium commune*, *P. roqueforti* e *P. polonicum*, foram expostos a diferentes concentrações de cloreto de benzalcônio, onde os fungos isolados de produtos cárneos apresentaram maior resistência [6]. Já para fungos responsáveis pela deterioração de produtos panificados o cloreto de benzalcônio demonstra ter boa eficácia [7]. Gonçalves et al. [25] também relataram sua eficácia no controle de espécies de aflatoxigênicas, onde este composto foi eficaz contra 14/15 cepas de *Aspergillus* avaliadas. Sua eficácia também é reportada por Stefanello et al. [23], onde o cloreto de benzalcônio tem boa ação

antifúngica contra cepas termo resistentes de *Paecilomyces variotii*, *Paecilomyces niveus*, e *Aspergillus neoglaber*.

#### *Fatores de interferência do cloreto benzalcônio*

A ação antifúngica de cloreto de benzalcônio contra fungos ocratoxigênicos, como *P. nordicum*, *P. verrucosum* e *A. westerdijkiae*, também apresentam bons resultados, mesmo quando submetido a diferentes condições de tempo de exposição, concentração, e temperatura [8]. De maneira geral, maior eficácia foi observada quando a exposição ocorreu em temperaturas mais baixas (10 e 25°C), porém sua ação antifúngica foi afetada negativamente quando houve presença de matéria orgânica simulando um ambiente sujo [8]. Stefanello et al. [24], também relataram maior eficácia do cloreto de benzalcônio em temperaturas baixas (10 °C) contra *A. brasiliensis* (ATCC 16404). Sua ação em baixas temperaturas é favorável, pois permite maior economia das indústrias uma vez que não seria necessário realizar o aquecimento da água de lavagem, podendo ser utilizada diretamente de poços e reservatórios quando aumentar a temperatura ao longo do processo não for algo desejado e nem exigido pela legislação.

#### *Desvantagens do cloreto benzalcônio*

O enxágue insuficiente resulta na presença de resíduos de desinfetante na superfície dos equipamentos, os quais podem selecionar populações mais tolerantes e levar ao desenvolvimento de resistência de micro-organismos. Resíduos de compostos de amônio quaternário foram encontrados em vários tipos de alimentos, como produtos a base de carne, laticínios frutas e nozes [92].

Por apresentarem ampla aplicação, os compostos de amônio quaternário têm seu uso irrestrito como ingrediente ativo de muitos sanitizantes comerciais e liberados no ambiente, como resultado hoje tem sido considerados um tipo de poluente emergente [93]. A presença no solo e nas águas impede a biodegradação de ambientes naturais devido a sua toxicidade para muitas espécies de organismos aquáticos e terrestres [88]. Além disso, há exposição dos micro-organismos à concentrações sub-letais de desinfetante [94], facilitando a evolução a resistência ao desinfetante e isto também pode levar a co-resistência e resistência cruzada a outros agentes antimicrobianos, como antibióticos [95, 96].

A busca por sanitizantes eficazes contra fungos deteriorantes de alimentos segue sendo um desafio para a indústria alimentícia. Nesta perspectiva, e considerando os agentes disponíveis para a sanitização neste setor, hipoclorito de sódio, ácido peracético e cloreto benzalcônio recebem destaque pela frequência de uso. Em anos recentes foram publicados trabalhos avaliando à eficácia antifúngica *in vitro* de diferentes princípios ativos de sanitizantes com uso permitido em indústrias alimentícias para controle de fungos que possuem relevância como deteriorantes neste segmento usando métodos padronizados. Mesmo assim, informações sobre mecanismos de ação dos agentes em células fúngicas, influência do uso combinado de diferentes agentes, eficácia contra biofilmes fúngicos e testes *in loco* ainda são necessários. Na tabela A3 podemos ver um demonstrativo sobre os dados apresentados nesta revisão.

**Table A3.**Fatores de interferência, vantagens e desvantagens dos sanitizantes.

| Sanitizante          | Fatores de interferência      | Vantagens   | Desvantagens   |
|----------------------|-------------------------------|---|--|
| Cloreto benzalcônio  |                               | Baixa toxicidade.                                       | Resistência de micro-organismos.   |
|                      | pH alcalino.                  | Capacidade de ser formulado para objetivos específicos. | Uso irrestrito   |
|                      | Temperatura.<br>Concentração. | Conservantes de alimentos.                              | Poluente emergente.<br>Tóxico para muitas espécies de organismos aquáticos e terrestres. |
| Hipoclorito de sódio | Presença de matéria orgânica. | Fonte de cloro.   | Compostos tóxicos ao ambiente.   |
|                      | Concentração.                 | Baixo custo.  | Corrosão.  |
|                      | Tempo de exposição.           | Pouco afetar as qualidades nutricionais.                | Toxicidade residual.   |
|                      | pH.                           | Ação branqueadora.                                      | Geração de subprodutos de desinfecção.   |
| Ácido peracético     |                               | Sustentável.  | Cinética de inativação mais lenta.   |
|                      | Temperatura.                  | Baixo impacto ambiental.                                | Conteúdo orgânico no efluente.   |
|                      | Presença de matéria orgânica. | Previne a formação de biofilmes.                        | Potencial de regeneração microbiana.<br>Formação de ácido acético em alta concentração.  |
|                      |                               |   | Custo elevado.   |
|                      |                               |   | Danos a pele, olhos e trato respiratório.  |

## 6. Conclusões

Não existe um sanitizante antifúngico ideal, cada composto apresentando vantagens, desvantagens e também de acordo com a literatura consultada, que a ação sanitizante é influenciada por diferentes fatores. Ainda, há um consenso sobre a existência de variabilidade quanto à sensibilidade de fungos aos agentes sanitizantes, e que se deve priorizar a utilização das concentrações mais altas recomendadas no rótulo do produto para a obtenção de uma ação satisfatória e por pelo menos 10 a 15 minutos.

Assim, o controle fúngico em indústrias de alimentos requer bastante atenção e comprometimento do pessoal envolvido em controle de qualidade, com a construção de planos de higienização que considerem e, quando possível, corrijam os fatores de maior interferência na ação antifúngica de cada princípio sanitizante, para que desta maneira consigam ser alcançados os resultados desejados.

## References

1. Davies CR, Wohlgenuth F, Young T, Violet J, Dickinson M, Sanders JW, et al. Challenges and evolving strategies for mold control in the food supply chain. *Fungal Biol Rev*. 2021; v 36:15–26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbr.2021.01.003>
2. Krisch J, Tserennadmid R, Vagv Olgyi C. Essential oils against yeasts and molds that cause food spoilage. In: Mendez-Vilas A, editor. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Badajoz, Espanha; 2011, pág. 1135-e1142.
3. Visconti V. Impact of the physiological state of fungal spores on their inactivation by active chlorine and hydrogen peroxide. *Microbiol de alimentos*, 2021. v. 100, n. 103850.
4. Copetti MV. Sanitizers for controlling fungal spoilage in some food industries. *Current Opinion in Food Science*, 2023.v. 52, n. 101072.
5. Kuaye AY. *Limpeza e Sanitização na Indústria de Alimentos* (1 ed.). Brasil: Rio de Janeiro. 2017.
6. Bernardi AO. The control of cheese and meat product spoilage fungi by sanitizers: In vitro testing and food industry usage. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 2021;v. 144, n. 111204.
7. Bernardi AO. Sensitivity of food spoilage fungi to a smoke generator sanitizer. *International Journal of Food Microbiology*. 2019; 289: 72–6.
8. Silva, S. et al. Factors that interfere in the action of sanitizers against ochratoxigenic fungi deteriorating dry-cured meat products. *Fermentation*, 2023, v. 9, n. 2, p. 83.
9. Lee W-N, Huang C-H. Formation of disinfection byproducts in wash water and lettuce by washing with sodium hypochlorite and peracetic acid sanitizers. *Food chemistry*: 2019. X, v. 1, n. 100003.
10. Wang H, Ryser ET. Efficacy of various sanitizers against *Salmonella* during simulated commercial packing of tomatoes. *Journal of food protection*. 2014; (11): 1868–75.
11. Kim M, Park SY, Ha S-D. Synergistic effect of a combination of ultraviolet-C irradiation and sodium hypochlorite to reduce *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel and eggshell surfaces. *Food control*. 2016; 70: 103–9.
12. Park K. Food-borne outbreaks, distributions, virulence, and antibiotic resistance profiles of *Vibrio parahaemolyticus* in Korea from 2003 to 2016: a review. *Fisheries and aquatic sciences*. 2018.v. 21, n. 1.
13. Fukuzaki, S. Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes. *Biocontrol science*, 2006, v. 11, n. 4, p. 147–157.
14. Duarte ALA, do Rosário DKA, Oliveira SBS, de Souza HLS, de Carvalho RV, Carneiro JCS, et al. Ultrasound improves antimicrobial effect of sodium dichloroisocyanurate to reduce *Salmonella Typhimurium* on purple cabbage. *Int J Food Microbiol*. 2018; 269:12–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.007>.
15. Resende A. Ação do hipoclorito de sódio no controle do Erysiphe diffusana soja. *Revista Caatinga*. 2009;22(4):53–9.
16. Wang D. Biofilm formation, sodium hypochlorite susceptibility and genetic diversity of *Vibrio parahaemolyticus*. *International journal of food microbiology*, 2023, v. 385, n. 110011.
17. Petri E, Virto R, Mottura M, Parra J. Comparison of peracetic acid and chlorine effectiveness during fresh-cut vegetable processing at industrial scale. *J Food Prot*. 2021; 84 (9): 1592 –602. Available from: <http://dx.doi.org/10.4315/JFP-20-448>
18. Teng Z, Luo Y, Alborzi S, Zhou B, Chen L, Zhang J, et al. Investigation on chlorine-based sanitization under stabilized conditions in the presence of organic load. *Int J Food Microbiol*. 2018; 266: 150–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.027>

19. Pereira SSP, Oliveira HM de, Turrini RNT, Lacerda RA. Disinfection with sodium hypochlorite in hospital environmental surfaces in the reduction of contamination and infection prevention: a systematic review. *Rev Esc Enferm USP*. **2015**; 49 (4): 681–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-62342015000400020>
20. Su Y. Efficacy of chlorine and peroxyacetic acid to control *Listeria monocytogenes* on apples in simulated dump tank water system. *Food microbiology*, **2022**, v. 106, n. 104033.
21. BERNARDI, A. O. et al. Antifungal activity of commercial sanitizers against strains of *Penicillium roqueforti*, *Penicillium paneum*, *Hyphopichia burtonii*, and *Aspergillus pseudoglaucus*: Bakery spoilage fungi. *Food microbiology*, **2019b**, v. 83, p. 59–63.
22. Bernardi AO, Garcia MV, Copetti MV. Food industry spoilage fungi control through facility sanitization. *Current Opinion in Food Science*. **2019**.
23. Stefanello A, Magrini LN, Lemos JG, Garcia MV, Bernardi AO, Cichoski AJ, et al. Comparison of electrolyzed water and multiple chemical sanitizer action against heat-resistant molds (HRM). *Int J Food Microbiol*. **2020**; 335(108856):108856. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108856>
24. Stefanello A. Influence of type, concentration, exposure time, temperature, and presence of organic load on the antifungal efficacy of industrial sanitizers against *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404). *Food microbiology*, **2021**, v. 97, n. 103740.
25. Gonçalves LJ. Antifungal efficacy of sanitizers and electrolyzed waters against toxigenic *Aspergillus*. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, **2020**. v. 137, n. 109451.
26. Parish ME, Beuchat LR, Suslow TV, Harris LJ, Garrett EH, Farber JN, et al. Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. **2003** ;2 (s1): 161–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00033.x>
27. Callejas AT. Chlorine dioxide and chlorine effectiveness to prevent *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* cross-contamination on fresh-cut Red Chard. *Food Control*. **2012**; (23):325–32.
28. Gómez LVM. Generation of trihalomethanes with chlorine-based sanitizers and impact on microbial, nutritional and sensory quality of baby spinach. *Postharvest Biology and Technology*. **2013**;85:210–7.
29. Ramos B. Fresh fruits and vegetables - An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. **2013**;20:1–15.
30. Gomez -L V. M. Minimum free chlorine residual level required for the inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 and trihalomethane generation during dynamic washing of fresh-cut spinach. *Food Control*, v. **2014**;42:132–8.
31. Bari ML, Kawamoto S. Process hygiene: Types of sterilant. In: Batt CA, Tortorello ML, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Cambridge, MA, USA: Academic Press; **2014**. p. 216–25.
32. Izumi H. *Process hygiene: Overall approach to hygienic processing*. Cambridge, MA, USA: Academic Press; **2014**.
33. Bernardi, A.O.; Stefanello, A.; Garcia, M.; Parussolo, G.; Stefanello, R.F.; Moro, C.B.; Copetti, M.V. Efficacy of commercial sanitizers against fungi of concern in the food industry. *LWT* **2018**, *97*, 25–30. [[CrossRef](#)]
34. Ribeiro MSS. Efficacy of sodium hypochlorite and peracetic acid against *Aspergillus nomius* in Brazil nuts. *Food microbiology*, **2020**.v. 90, n. 103449.
35. Salomão BCM, Aragão GMF, Churey JJ, Worobo RW. Efficacy of sanitizing treatments against *Penicillium expansum* inoculated on six varieties of apples. *J Food Prot*. **2008**; 71 (3):643–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-71.3.643>
36. Chen X, Hung Y-C. Effects of organic load, sanitizer pH and initial chlorine concentration of chlorine-based sanitizers on chlorine demand of fresh produce wash waters. *Food Control*. **2017**; 77: 96–101. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.026>
37. Cuggino SG. Modelling the combined effect of chlorine, benzyl isothiocyanate, exposure time and cut size on the reduction of *Salmonella* in fresh-cut lettuce during washing process. *Food microbiology*, **2020**. v. 86, n. 103346.
38. Weng S, Luo Y, Li J, Zhou B, Jacangelo JG, Schwab KJ. Assessment and speciation of chlorine demand in fresh-cut produce wash water. *Food Control*. **2016**; 60: 543–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.031>.
39. Marriott, N.G.; Schilling, M.W.; Gravani, R.B. Sanitizers. In *Principles of Food Sanitation*; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, **2018**; pp. 175–198. [[CrossRef](#)]
40. Zoellner C. Peracetic acid in disinfection of fruits and vegetables. In: *Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables*. Elsevier; **2018**. p. 53–66.
41. Cardador MJ, Gallego M. Effect of the chlorinated washing of minimally processed vegetables on the generation of haloacetic acids. *J Agric Food Chem* . **2012**;60 (29):7326–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/jf302591u>
42. Fan X, Sokorai KJ. Formation of trichloromethane in chlorinated water and fresh-cut produce and as a result of reaction with citric acid. *Postharvest Biol Technol* . **2015**;109:65–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.009>
43. Shen C. Generation of chlorine byproducts in simulated wash water. *Food Chemistry*. **2016**; 97–102.
44. Banach JL. Effectiveness of a peracetic acid solution on *Escherichia coli* reduction during fresh-cut lettuce processing at the laboratory and industrial scales. *International journal of food microbiology*. **2020**.
45. Hrudey SE. Chlorination disinfection by-products, public health risk tradeoffs and me. *Water Res*. **2009**; 43(8): 2057–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.02.011>.

46. Simpson AM-A, Mitch WA. Chlorine and ozone disinfection and disinfection byproducts in postharvest food processing facilities: A review. *Crit Rev Environ Sci Technol.* **2022**; 52 (11): 1825–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10643389.2020.1862562>
47. Van HS. Physicochemical Quality and Chemical Safety of Chlorine as a Reconditioning Agent and Wash Water Disinfectant for Fresh-Cut Lettuce Washing. *Applied and Environmental Microbiology.* **2013** ;(9):2850–61.
48. DUNKIN, N., et al. Comparative inactivation of murine norovirus and MS2 bacteriophage by peracetic acid and monochloramine in municipal secondary wastewater effluent. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51 (5), 2972–2981.
49. ELHALWAGY, M. et al. Mechanistic modeling of peracetic acid wastewater disinfection using computational fluid dynamics: Integrating solids settling with microbial inactivation kinetics. *Water research*, **2021**, v. 201, n. 117355, p. 117355.
50. Ao X-W, Eloranta J, Huang C-H, Santoro D, Sun W-J, Lu Z-D, et al. Peracetic acid-based advanced oxidation processes for decontamination and disinfection of water: A review. *Water Res.* **2021**; 188 (116479): 116479. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2020.116479>
51. Fallik E. Microbial quality and safety of fresh produce. In: *Postharvest Handling*. Elsevier; **2014**. p. 313–39.
52. Osaili TM, Alaboudi AR, Al-Quran HN, Al-Nabulsi AA. Decontamination and survival of *Enterobacteriaceae* on shredded iceberg lettuce during storage. *Food Microbiol.* **2018**; 73: 129–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.022>
53. Singh P, Hung Y-C, Qi H. Efficacy of Peracetic Acid in Inactivating Foodborne Pathogens on Fresh Produce Surface: Use of PAA to ensure produce safety.... *Journal of food science.* **2018**;83(2):432–9.
54. Srey S, Jahid IK, Ha S-D. Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control.* **2013**;31(2):572–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.001>.
55. KIM, J.; HUANG, C.-H. Reactivity of peracetic acid with organic compounds: A critical review. *ACS ES&T water*, 2021, v. 1, n. 1, p. 15–33.
56. Lazado CC, Sveen LR, Soleng M, Pedersen L-F, Timmerhaus G. Crowding reshapes the mucosal but not the systemic response repertoires of Atlantic salmon to peracetic acid. *Aquaculture.* **2021**;531(735830):735830. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735830>
57. Lee W-N, Huang C-H. Formation of disinfection byproducts in wash water and lettuce by washing with sodium hypochlorite and peracetic acid sanitizers. *Food chemistry*: **2019**. X, v. 1, n. 100003.
58. Du P, Liu W, Cao H, Zhao H, Huang C-H. Oxidation of amino acids by peracetic acid: Reaction kinetics, pathways and theoretical calculations. *Water Res X* . **2018**;1(100002):100002. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wroa.2018.09.002>
59. LIEKE, T., et al.. Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. *Rev. Aquac.* **2020**. 12 (2), 943–965.
60. Lazado CC, Voldvik V. Temporal control of responses to chemically induced oxidative stress in the gill mucosa of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J Photochem Photobiol B.* **2020**; 205 (111851): 111851. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111851>
61. ACOSTA, F. et al. High-level biocidal products effectively eradicate pathogenic  $\gamma$ -proteobacteria biofilms from aquaculture facilities. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, **2021**, v. 532, n. 736004, p. 736004.
62. Banach JL, Sampers I, Van Haute S, van der Fels-Klerx HJI. Effect of disinfectants on preventing the cross-contamination of pathogens in fresh produce washing water. *Int J Environ Res Public Health.* **2015**; 12 (8): 8658–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph120808658>
63. Kim J-M, Zhang B-Z, Park J-M. Comparison of sanitization efficacy of sodium hypochlorite and peroxyacetic acid used as disinfectants in poultry food processing plants. *Food control.* **2023**, v. 152, n. 109865, p. 109865.
64. Silva FM, Kabuki DY, Kuaye AY. Behavior of *Listeria monocytogenes* in a multi-species biofilm with *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* and control through sanitation procedures. *International Journal of Food Microbiology.* **2015**;5–12.
65. Lippman B. Evaluation of the combined treatment of ultraviolet light and peracetic acid as an alternative to chlorine washing for lettuce decontamination. *International journal of food microbiology.* **2020**, v. 323, n. 108590, p. 108590.
66. Bai Y. Enhanced inactivation of *Escherichia coli* by ultrasound combined with peracetic acid during water disinfection. *Chemosphere*, **2023**, v. 322, n. 138095.
67. Zhang K, Zhou X, Du P, Zhang T, Cai M, Sun P, et al. Oxidation of  $\beta$ -lactam antibiotics by peracetic acid: Reaction kinetics, product and pathway evaluation. *Water Res.* **2017**; 123: 153–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.057>
68. Kitis M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environ Int.* **2004**; 30 (1): 47–55. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00147-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00147-8)
69. Van HS. Chlorine dioxide as water disinfectant during fresh-cut iceberg lettuce washing: disinfectant demand, disinfection efficiency, and chlorite formation. *LWT - Food Sci Technol.* **2017**;75:301–4.
70. Taverner P, Leo A, Cunningham N. Efficacy of peracetic acid in ambient and warm water to control conidia of *Penicillium digitatum*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, v. **2017**;46:264–8.
71. Crathorne B. Sewage disinfection: By-Product formation, ecotoxicology and microbiological efficacy. *Medmenham.* **1991**.

72. CAVALLINI, G. S. et al. Evaluation of the physical–chemical characteristics of wastewater after disinfection with peracetic acid. *Water, air, and soil pollution*, **2013**, v. 224, n. 10.
73. Araújo PA, Lemos M, Mergulhão F, Melo L, Simões M. The influence of interfering substances on the antimicrobial activity of selected Quaternary ammonium compounds. *Int J Food Sci.* **2013**; 237–581. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/237581>
74. Rossi S. Peracetic acid disinfection: A feasible alternative to wastewater chlorination. *Water environment research: a research publication of the Water Environment Federation*. Water Environment Federation; **2007**.
75. Chenjiao W, Hongyan Z, Qing G, Xiaoqi Z, Liying G, Ying F. In-use evaluation of peracetic acid for High-Level disinfection of endoscopes. *Gastroenterol Nurs.* **2016**; 39 (2): 116–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/SGA.0000000000000192>
76. Luongo G. Peracetic acid vs. Sodium hypochlorite: Degradation and transformation of drugs in wastewater. *Molecules*. **2020**; (10). v. 25, n. 10, p. 2294.
77. Zhang C, Brown PJB, Hu Z. Thermodynamic properties of an emerging chemical disinfectant, peracetic acid. *Sci Total Environ.* **2018**; 621: 948–59. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.195>
78. Sanchez RC, Martínez RS, Tejero M. An evaluation of the efficiency and impact of raw wastewater disinfection with peracetic acid prior to ocean discharge. *Water Sci Technol*, v. **1995**;32(7):159–e166.
79. Pereira MP. & Tagkopoulos I. Benzalkonium chlorides: Uses, regulatory status, and microbial resistance. *Applied and Environmental Microbiology*. **2019**.
80. Krajišnik D, Daković A, Malenović A, Kragović M, Milić J. Ibuprofen sorption and release by modified natural zeolites as prospective drug carriers. *Clay Miner.* **2015**; 50 (1): 11–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1180/claymin.2015.050.1.02>
81. Ahmad R. Characterization of structure isomers of ethylbenzalkyl dimethyl ammonium chlorides and quantification in commercial household disinfectant products. *Environmental technology & innovation*, **2023**. v. 29, n. 102979.
82. Kuca K. Preparation of benzalkonium salts differing in the length of a side alkyl chain. *Molecules*. **2007**; (12):2341–7.
83. Gerba CP. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. *Appl Environ Microbiol.* **2015**; 81(2):464–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02633-14>
84. Núñez O, Moyano E, Galceran MT. Determination of quaternary ammonium biocides by liquid chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A.* **2004**;1058(1–2):89–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.085>
85. Barber OW, Hartmann EM. Benzalkonium chloride: A systematic review of its environmental entry through wastewater treatment, potential impact, and mitigation strategies. *Crit Rev Environ Sci Technol.* **2022**;52(15):2691–719. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10643389.2021.1889284>
86. Makvandi P, Jamaledin R, Jabbari M, Nikfarjam N, Borzacchiello A. Antibacterial quaternary ammonium compounds in dental materials: A systematic review. *Dent Mater.* **2018**;34(6):851–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2018.03.014>
87. Zhang C, Cui F, Zeng G-M, Jiang M, Yang Z-Z, Yu Z-G, et al. Quaternary ammonium compounds (QACs): a review on occurrence, fate and toxicity in the environment. *Sci Total Environ.* **2015**; 518–519: 352–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.007>
88. Lavorgna M, Russo C, D'Abrosca B, Parrella A, Isidori M. Toxicity and genotoxicity of the quaternary ammonium compound benzalkonium chloride (BAC) using *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* as model systems. *Environ Pollut.* **2016**;210:34–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.11.042>
89. Wessels S, Ingmer H. Modes of action of three disinfectant active substances: a review. *Regul Toxicol Pharmacol.* **2013**;67(3):456–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.09.006>
90. McDonnell, GERALD E. "Antiseptics, disinfection, and sterilization. Types, action, and resistance." (**2007**): 295–298.
91. Khan AH, Macfie SM, Ray MB. Sorption and leaching of benzalkonium chlorides in agricultural soils. *J Environ Manage.* **2017**;196:26–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.02.065>
92. Bertuzzi T, Pietri A. Determination of benzalkonium homologues and didecyl dimethyl ammonium in powdered and liquid milk for infants by hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry. *Food analytical methods.* **2014**;1278–84.
93. Ertekin E, Hatt JK, Konstantinidis KT, Tezel U. Similar microbial consortia and genes are involved in the biodegradation of benzalkonium chlorides in different environments. *Environ Sci Technol.* **2016**;50(8):4304–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.5b05959>
94. Tezel U, Pavlostathis SG. Quaternary ammonium disinfectants: microbial adaptation, degradation and ecology. *Curr Opin Biotechnol.* **2015**;33:296–304. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2015.03.018>
95. Mc Cay PH, Ocampo-Sosa AA, Fleming GTA. Effect of subinhibitory concentrations of benzalkonium chloride on the competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* grown in continuous culture. *Microbiology.* **2010**;156(Pt 1):30–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.029751-0>
96. OH, S. D. Metagenomic and metatranscriptomic investigation of microorganisms exposed to benzalkonium chloride disinfectants. Atlanta, GA, USA: **2010**



## 5. CONCLUSÃO GERAL

Todos os fatores aplicados como temperatura (10°C, 25°C e 40°C), tempo (10, 15, e 20 minutos), tipo de sanitizante e concentrações: ácido peracético (0,3, 0,6, 1%), cloreto de benzalcônio (0,3, 1,2, 2%) e hipoclorito de sódio (0,5, 0,75, 1%), presença ou não de matéria orgânica, demonstraram interferir na eficácia do sanitizante.

Dentre os fatores aplicados nos testes *in vitro* podemos observar que as concentrações, quando mais elevadas, obtêm melhores resultados na ação do sanitizante, contra fungos ocratoxigênicos, nos níveis exigidos pela legislação (>99,9% de redução). O tempo de exposição maior sempre resultou melhor ação de todos os sanitizantes.

A temperatura demonstrou que os sanitizantes podem ter ação potencializada conforme a temperatura em que são utilizadas. O sanitizante hipoclorito sódio teve sua ação elevada pelo aumento da temperatura (40°C), assim como o ácido peracético. Por outro lado o cloreto de benzalcônio teve sua atividade favorecida em temperaturas menores (10°C).

A presença de matéria orgânica foi um dos maiores fatores de interferência, e quando presente simulando ambientes sujos resulta em menor ação dos sanitizantes frente aos fungos deteriorantes de produtos cárneos maturados.

Dentre os sanitizantes aplicados nos testes *in vitro* o ácido peracético foi o sanitizante que obteve o melhor resultado no controle dos fungos testados, e já na menor concentração demonstrou eficácia para inativação dos fungos *A. westerdijkiae*, *P. nordicum* e *P. verrucosum*, responsáveis pela deterioração de produtos cárneos maturados e produção de ocratoxina A, na maior parte das situações avaliadas.

O cloreto de benzalcônio também demonstrou boa eficácia contra os fungos testados, podendo ser uma alternativa para uso.

O hipoclorito de sódio, em raras situações demonstrou ser eficaz contra os fungos *A. westerdijkiae*, *P. nordicum* e *P. verrucosum*, não sendo indicada sua aplicação nas indústrias de produtos cárneos maturados nas concentrações avaliadas neste estudo.

## 6. REFERÊNCIAS

- ACOSTA, F. et al. High-level biocidal products effectively eradicate pathogenic  $\gamma$ -proteobacteria biofilms from aquaculture facilities. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 532, n. 736004, p. 736004, 2021.
- ADEBO, O. A. et al. A review on novel non-thermal food processing techniques for mycotoxin reduction. **International journal of food science & technology**, v. 56, n. 1, p. 13–27, 2021.
- ALSHANNAQ, A.; YU, J.-H. Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 6, p. 632, 2017.
- AMÉZQUETA, S. et al. Ochratoxin A decontamination: A review. **Food Control**, v. 20, n. 4, p. 326–333, 2009.
- ANDERSEN, S. J. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 4, p. 426–429, 1995.
- ANDRADE, M. J. et al. Effect of cured meat product ingredients on the *Penicillium verrucosum* growth and ochratoxin A production. **Food Control**, v. 96, p. 310–317, 2019.
- AO, X.-W. et al. Peracetic acid-based advanced oxidation processes for decontamination and disinfection of water: A review. **Water Research**, v. 188, n. 116479, p. 116479, 2021.
- ASEFA D, T. Moulds contaminants on Norwegian drycured meat products **International Journal of Food Microbiology**.v. 128, p. 435–439, 2009.
- BANACH, J. L. et al. Effectiveness of a peracetic acid solution on *Escherichia coli* reduction during fresh-cut lettuce processing at the laboratory and industrial scales. **International Journal of Food Microbiology**, v. 321, n. 108537, p. 108537, 2020.
- BATTILANI, P. et al. *Penicillium* populations in dry-cured ham manufacturing plants. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 4, p. 975–980, 2007.
- Bennett, J.W.; Klich, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology**, Rev. 2003, 16, 497–516.
- BERNARDI, A. O. et al. Antifungal activity of commercial sanitizers against strains of *Penicillium roqueforti*, *Penicillium paneum*, *Hyphopichia burtonii*, and *Aspergillus pseudoglaucus*: Bakery spoilage fungi. **Food Microbiology**, v. 83, p. 59–63, 2019b.
- BERNARDI, A. O. et al. Sensitivity of food spoilage fungi to a smoke generator sanitizer. **International Journal of Food Microbiology**, v. 289, p. 72–76, 2019a.
- BERNARDI, A. O. et al. The control of cheese and meat product spoilage fungi by sanitizers: In vitro testing and food industry usage. **Lebensmittel-Wissenschaft und**

**Technologie [Food science and technology]**, v. 144, n. 111204, p. 111204, 2021.

BERNARDI, A. O.; GARCIA, M. V.; COPETTI, M. V. Food industry spoilage fungi control through facility sanitization. **Current Opinion in Food Science**, v. 29, p. 28–34, 2019.

BERTUZZI, T. et al. Direct and indirect contamination with ochratoxin A of ripened pork products. **Food Control**, v. 34, n. 1, p. 79–83, 2013.

BOGS, C.; BATTILANI, P.; GEISEN, R. Development of a molecular detection and differentiation system for ochratoxin A producing *Penicillium* species and its application to analyse the occurrence of *Penicillium nordicum* in cured meats. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, n. 1, p. 39–47, 2006.

BOUDRA, H.; LE BARS, P.; LE BARS, J. Thermostability of Ochratoxin A in wheat under two moisture conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 3, p. 1156–1158, 1995.

BUTINAR, L.; FRISVAD, J. C.; GUNDE-CIMERMAN, N. Hypersaline waters - a potential source of foodborne toxigenic *aspergilli* and *penicillia*. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 77, n. 1, p. 186–199, 2011.

CASTELLARI, C.; QUADRELLI, A. M.; LAICH, F. Surface mycobiota on Argentinean dry fermented sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, n. 1–2, p. 149–155, 2010.

CHEN, X., & HUNG, Y.-C. Effects of organic load, sanitizer pH and initial chlorine concentration of chlorine-based sanitizers on chlorine demand of fresh produce wash waters. **Food Control**, 77, 96–101, 2017. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2017.01.026>

CHMIELOWSKA, C. et al. Benzalkonium chloride and heavy metal resistance profiles of *Listeria monocytogenes* strains isolated from fish, fish products and food-producing factories in Poland. **Food Microbiology**, v. 98, n. 103756, p. 103756, 2021.

COMI, G. et al. Moulds isolated from Istrian dried ham at the pre-ripening and ripening level. **International Journal of Food Microbiology**, v. 96, n. 1, p. 29–34, 2004.

COMI, G. et al. Moulds isolated from Istrian dried ham at the pre-ripening and ripening level. **International Journal of Food Microbiology**, v. 96, n. 1, p. 29–34, 2004.

COMI, G.; IACUMIN, L. Ecology of moulds during the pre-ripening and ripening of San Daniele dry cured ham. **Food Research International (Ottawa, Ont.)**, v. 54, n. 1, p. 1113–1119, 2013.

COPETTI, M. V. Sanitizers for controlling fungal spoilage in some food industries. **Current Opinion in Food Science**, v. 52, n. 101072, p. 101072, 2023.

COSTA, P. M. **Identificação de fungos filamentosos e quantificação de ocratoxina A em produtos cárneos ao longo do período de cura.** [s.l: s.n.].

CUGGINO, S. G. et al. Modelling the combined effect of chlorine, benzyl isothiocyanate, exposure time and cut size on the reduction of Salmonella in fresh-cut lettuce during washing process. **Food Microbiology**, v. 86, n. 103346, p. 103346, 2020.

DALL'ASTA, C. et al. Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscle, salami and dry-cured ham from pigs fed with contaminated diet. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 978–983, 2010.

DALLASTA, C. et al. **Handbook of Foodborne Diseases**. Boca Raton: CRC Press, 2018.

DOMIJAN, A. M. et al. Reduction of ochratoxin A in dry-cured meat products using gamma irradiation. **Food Additives & Contaminants Part. A**, v. 32, p. 1185–1191, 2015.

DUNKIN, N., et al. Comparative inactivation of murine norovirus and MS2 bacteriophage by peracetic acid and monochloramine in municipal secondary wastewater effluent. **Environmental Science & Technology** 51 (5), 2972–2981, 2017.

ELHANAFI, D.; DUTTA, V.; KATHARIOU, S. Genetic characterization of plasmid-associated benzalkonium chloride resistance determinants in a *Listeria monocytogenes* strain from the 1998-1999 outbreak. **Applied and Environmental Microbiology** v. 365, n. 24, p. 8231–8238, 2006.

EL-SAYEDA, R. A. et al. An overview on the major mycotoxins in food products: characteristics, toxicity, and analysis. **Journal of Future Foods**, v. 2, n. 2, p. 91–102, 2022.

EMMANUEL, K. T. Carry-over of some *Fusarium* mycotoxins in tissues and eggs of chickens fed experimentally mycotoxin-contaminated diets. **Food and Chemical Toxicology**, v. 145, p. 111715–111715, 2020.

ERTEKIN, E. et al. Similar microbial consortia and genes are involved in the biodegradation of benzalkonium chlorides in different environments. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 8, p. 4304–4313, 2016.

European Commission EURL -SRM. **Analysis of Quaternary Ammonium Compounds (QACs) in Fruits and Vegetables using QuEChERS and LC -MS/MS**. 2012.

EUROPEAN STANDARD: **Chemical Disinfectants and Antiseptics – Quantitative Non-Porous Surface Test For The Evaluation of Bactericidal and/or Fungicidal Activity of Chemical Disinfectants Used In Food, Industrial, Domestic And Institutional Areas – Test Method And Requirements Without Mechanical Action (Phase 2, Step 2)**. 2001, n. 13697

Expert Committee on Food Additives. Meeting, and World Health Organization. **Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants**. v. 68, 2008.

FALLIK, E. Microbial quality and safety of fresh produce. In: **Postharvest Handling**. [s.l.] Elsevier, 2014. p. 313–339.

FEINER, G. The microbiology of specific bacteria BT - meat Products

- Handbook. **Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition**. [s.l.] Woodhead Publishing, pp. 595-615, 2006.
- FERRARA, M. et al. Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the rapid detection of *Penicillium nordicum* in dry-cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 202, p. 42–47, 2015.
- FERRARA, M. et al. Effect of *Penicillium nordicum* contamination rates on ochratoxin A accumulation in dry-cured salami. **Food Control**, v. 67, p. 235–239, 2016.
- FLEURAT-LESSARD, F. Integrated management of the risks of stored grain spoilage by seedborne fungi and contamination by storage mould mycotoxins – An update. **Journal of Stored Products Research**, v. 71, p. 22–40, 2017.
- FRISVAD, J. C. et al. Important mycotoxins and the fungi which produce them. **Advances in food mycology**. Springer, 3–31. 2006.
- GALLART, M. D., et al. Ion mobility spectrometry as a fast analytical tool in benzalkonium chloride homologs determination. **Talanta**, 164, 110–115, 2017. doi:10.1016/j.talanta.2016.11.024
- GAVAIAN, M. et al. Emerging technologies for mycotoxins removal from foods: Recent advances, roles in sustainable food consumption, and strategies for industrial applications. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 46, n. 10, 2021.
- GERBA, C. P. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 2, p. 464–469, 2015.
- GIL-SERNA, J. et al. *Aspergillus steynii* and *Aspergillus westerdijkiae* as potential risk of OTA contamination in food products in warm climates. **Food Microbiology**, v. 46, p. 168–175, 2015.
- GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. et al. Generation of trihalomethanes with chlorine-based sanitizers and impact on microbial, nutritional and sensory quality of baby spinach. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, p. 210–217, 2013.
- GOMEZ-LOPEZ, V. M. et al. Minimum free chlorine residual level required for the inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 and trihalomethane generation during dynamic washing of fresh-cut spinach. **Food Control**, v. 42, p. 132–138, 2014.
- GU, C. et al. A bimetallic (CuCo) Prussian Blue analogue loaded with gold nanoparticles for impedimetric aptasensing of ochratoxin a. **Microchimica Acta**, v. 186, p. 1–10, 2019.
- GU, G. et al. Susceptibility of foodborne pathogens to sanitizers in produce rinse water and potential induction of viable but non-culturable state. **Food Control**, v. 112, n. 107138, p. 107138, 2020.
- GUERRE, P. Mycotoxin and gut Microbiota interactions. **Toxins**, v. 12, n. 12, p. 769, 2020.
- HAMAD, G. M. et al. Adsorption efficiency of sodium & calcium bentonite for ochratoxin

A in some Egyptian cheeses: An innovative fortification model, in vitro and in vivo experiments. **World Mycotoxin Journal**, v. 2022, n. 3, p. 285–300, [s.d.].

HAQ, M. et al. Teratogenicity of ochratoxin A and the degradation product, ochratoxin  $\alpha$ , in the zebrafish (*Danio rerio*) embryo model of vertebrate development. **Toxins**, v. 8, n. 2, p. 40, 2016.

HEUSSNER, A. H.; BINGLE, L. E. H. Comparative ochratoxin toxicity: A review of the available data. **Toxins**, v. 7, n. 10, p. 4253–4282, 2015.

HORA, P. I. et al. Increased use of Quaternary ammonium compounds during the SARS-CoV-2 pandemic and beyond: Consideration of environmental implications. **Environmental science & technology letters**, v. 7, n. 9, p. 622–631, 2020.

HRUDEY, S. E. Chlorination disinfection by-products, public health risk tradeoffs and me. **Water research**, v. 43, n. 8, p. 2057–2092, 2009.

Hussein, H.S.; Brasel, J.M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology** 2001, 167, 101–134.

IACUMIN, L. et al. Biocontrol of ochratoxigenic moulds (*Aspergillus ochraceus* and *Penicillium nordicum*) by *Debaryomyces hansenii* and *Saccharomyces fibuligera* during speck production. **Food Microbiology**, v. 62, 2017.

IACUMIN, L. et al. Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. **Food Microbiology**, v. 26, n. 1, p. 65–70, 2009.

IACUMIN, L. et al. Ochratoxigenic mold and ochratoxin A in fermented sausages from different areas in northern Italy: Occurrence, reduction or prevention with ozonated air. **Journal of Food Safety**, v. 340, p. 31–538, 2011.

IQBAL, S. Z. et al. Natural incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in chicken meat and eggs. **Food Control**, v. 43, p. 98–103, 2014.

**Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. World Health Organization - Technical Report Series.** 2007, 947. In: Safety evaluation of certain food additives and contaminants, prepared by the 68th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series, 59. World Health Organisation. In: **JECFA. Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Ochratoxin A (addendum)**. Geneva, PP: [s.n.].

KHAN, A. H. et al. Biodegradation of benzalkonium chlorides singly and in mixtures by a *Pseudomonas sp.* isolated from returned activated sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 299, p. 595–602, 2015.

KHAN, A. H.; MACFIE, S. M.; RAY, M. B. Sorption and leaching of benzalkonium chlorides in agricultural soils. **Journal of Environmental Management**, v. 196, p. 26–35, 2017.

KHATAEE, A. et al. Frontiers in conventional and nanomaterials based electrochemical

sensing and biosensing approaches for Ochratoxin A analysis in foodstuffs: A review. **Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 149, n. 112030, p. 112030, 2021.

KIM, M.; PARK, S. Y.; HA, S.-D. Synergistic effect of a combination of ultraviolet-C irradiation and sodium hypochlorite to reduce *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel and eggshell surfaces. **Food Control**, v. 70, p. 103–109, 2016.

KITIS, M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. **Environment International**, v. 30, n. 1, p. 47–55, 2004.

KLINGELHÖFER, D. et al. Ochratoxin – Characteristics, influences and challenges of global research. **Food Control**, v. 114, n. 107230, p. 107230, 2020.

KRAJIŠNIK, D. et al. Ibuprofen sorption and release by modified natural zeolites as prospective drug carriers. **Clay Minerals**, v. 50, n. 1, p. 11–22, 2015.

KUAYE, A.Y. Limpeza e sanitização na indústria de Alimentos. **Atheneu**. Rio de Janeiro. 2017.

LARSEN, T.O., SVENDSEN, A., SMEDSGAARD, J. Biochemical characterization of ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, 67, 3630–3635.

LAZADO, C. C.; VOLDVIK, V. Temporal control of responses to chemically induced oxidative stress in the gill mucosa of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology**, v. 205, n. 111851, p. 111851, 2020.

LEE, W.-N.; HUANG, C.-H. Formation of disinfection byproducts in wash water and lettuce by washing with sodium hypochlorite and peracetic acid sanitizers. **Food Chemistry: X**, v. 1, n. 100003, p. 100003, 2019.

LEISTNER, L. et al. Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. **Reviews in Aquaculture**, v. 66, n. 2, p. 943–965, 1986.

LIPPOLIS, V. et al. Rapid prediction of ochratoxin A-producing strains of *Penicillium* on dry-cured meat by MOS-based electronic nose. **International Journal of Food Microbiology**, v. 218, p. 71–77, 2016.

LUND, F.; FRISVAD, J. C. *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. **Journal of applied microbiology**, v. 95, n. 5, p. 1117–1123, 2003.

LV, L.; WANG, X. Recent advances in ochratoxin A electrochemical biosensors: Recognition elements, sensitization technologies, and their applications. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 17, p. 4769–4787, 2020.

MAGISTÀ, D. et al. *Penicillium* species: crossroad between quality and safety of cured meat production. **Current Opinion in Food Science**, v. 17, p. 36–40, 2017.

MAGNOLI, C. E. et al. Occurrence of ochratoxin A and ochratoxigenic mycoflora in corn

and corn based foods and feeds in some South American countries. **Mycopathologia**, v. 163, n. 5, p. 249–260, 2007.

MARKOV, K. et al. Natural occurrence of aflatoxin B1, ochratoxin A and citrinin in Croatian fermented meat products. **Food Control**, v. 34, n. 2, p. 312–317, 2013.

MARTÍN, M. et al. Contribution of a selected fungal population to the volatile compounds on drycured ham. **International Journal of Food Microbiology**, v. 110, p. 8–13, 2006.

MC CAY, P. H.; OCAMPO-SOSA, A. A.; FLEMING, G. T. A. Effect of subinhibitory concentrations of benzalkonium chloride on the competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* grown in continuous culture. **Microbiology (Reading, England)**, v. 156, n. Pt 1, p. 30–38, 2010.

MØRETRØ, T. et al. Tolerance to quaternary ammonium compound disinfectants may enhance growth of *Listeria monocytogenes* in the food industry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 241, p. 215–224, 2017.

MORETTI, A.; PASCALE, M.; LOGRIECO, A. F. Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. **Trends in Food Science & Technology**, v. 84, p. 38–40, 2019.

NÚÑEZ, F. et al. Composition and toxigenic potential of the mould population on dry-cured Iberian ham. **International Journal of Food Microbiology**, v. 32, n. 1–2, p. 185–197, 1996.

NÚÑEZ, O.; MOYANO, E.; GALCERAN, M. T. Determination of quaternary ammonium biocides by liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1058, n. 1–2, p. 89–95, 2004.

Ochratoxin A. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. **IARC Monogr. Evol.Carcinog. Risks Hum**, v. 56, p. 489–521, 1993.

OH, S. D. **Metagenomic and metatranscriptomic investigation of microorganisms exposed to benzalkonium chloride disinfectants**. Atlanta, GA, USA: [s.n.].

Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. **EFSA J**, v. 365, p. 1–56, 2006.

OSAILI, T. M. et al. Decontamination and survival of *Enterobacteriaceae* on shredded iceberg lettuce during storage. **Food Microbiology**, v. 73, p. 129–136, 2018.

OSTRY, V. et al. Mycotoxins as human carcinogens-the IARC Monographs classification. **Mycotoxin Research**, v. 33, n. 1, p. 65–73, 2017.

PABLOS, C. et al. Novel antimicrobial agents as alternative to chlorine with potential applications in the fruit and vegetable processing industry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 285, p. 92–97, 2018.

PAOLONI, A. et al. Development and validation of LCMS/MS method for the



determination of Ochratoxin A and its metabolite Ochratoxin  $\alpha$  in poultry tissues and eggs. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 53, p. 327–333, 2018.

PARDO, E. et al. Non-specificity of nutritional substrate for ochratoxin A production by isolates of *Aspergillus ochraceus*. **Food Microbiology**, v. 23, n. 4, p. 351–358, 2006.

PARISH, M. E. et al. Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, n. s1, p. 161–173, 2003.

PARK, K. et al. Food-borne outbreaks, distributions, virulence, and antibiotic resistance profiles of *Vibrio parahaemolyticus* in Korea from 2003 to 2016: a review. **Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 21, n. 1, 2018.

PARUSSOLO, G. et al. Funfi in ar, raw materials and surface of dry fermented sausage produced in Brazil. **LWT**. 2019, Vol.108, p.190-198

PEREIRA, P. M. DE C. C.; VICENTE, A. F. DOS R. B. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. **Meat Science**, v. 93, n. 3, p. 586–592, 2013.

PEREIRA, S. S. P. et al. Disinfection with sodium hypochlorite in hospital environmental surfaces in the reduction of contamination and infection prevention: a systematic review. **Revista da Escola de Enfermagem da U S P**, v. 49, n. 4, p. 681–688, 2015.

PERRONE, G. et al. *Penicillium salamii*, a new species occurring during seasoning of dry-cured meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 193, p. 91–98, 2015.

PERRONE, G. et al. The Use of Starter Cultures in Traditional Meat ProInsights into existing and future fungal and mycotoxin contamination of cured meats. **Current Opinion in Food Science**, v. 29, p. 20–27, 2019.

PERSI, N. et al. Ochratoxin A in raw materials and cooked meat products made from OTA treated pigs. **Meat Science**, v. 96, p. 203–210, 2014.

PETRI, E. et al. Comparison of peracetic acid and chlorine effectiveness during fresh-cut vegetable processing at industrial scale. **Journal of Food Protection**, v. 84, n. 9, p. 1592–1602, 2021.

PETZINGER, E., ZIEGLER, K. Ochratoxin A from a toxicological perspective. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 23, 91–98, 2000.

PEZZUTO, A. et al. Effectiveness of Washing Procedures in Reducing *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on a Raw Leafy Green Vegetable (*Eruca vesicaria*). **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016.

PIZZOLATO MONTANHA, F. et al. Mycotoxins in dry-cured meats: A review. **Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 111, p. 494–502, 2018.

PLEADIN, J. et al. Deoxynivalenol and zearalenone in unprocessed cereals and soybean

from different cultivation regions in Croatia. **Food Additives & Contaminants. Part B, Surveillance**, v. 10, n. 4, p. 268–274, 2017.

PLEADIN, J. et al. Survey of aflatoxin B1 and ochratoxin A occurrence in traditional meat products coming from Croatian households and markets. **Food Control**, v. 52, p. 71–77, 2015.

PLEADIN, J. et al. **Bio-prevalence, determination and reduction of aflatoxin B1 in cereals**. USA: Nova Science Publishers, 2014.

PLEADIN, J.; FRECE, J.; MARKOV, K. Mycotoxins in food and feed. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 89, p. 297–345, 2019.

PLEADIN, J.; KOVACEVIL, C. D.; PERSI, N. Ochratoxin A contamination of the autochthonous dry-cured meat product “SlavonskiKulen” during a six-month production process. **Food Control**, v. 57, p. 377–384, 2015.

PRIETO-BLANCO, M. C. et al. Mixed-mode chromatography of mixed functionalized analytes as the homologues of benzalkonium chloride. Application to pharmaceutical formulations. **Talanta**, v. 255, n. 124228, p. 124228, 2023.

QILENG, A., et al. Broadspecificity photoelectrochemical immunoassay for the simultaneous detection of ochratoxin A, ochratoxin B and ochratoxin C. **Biosens. Bioelectron.** 2018, 106, 219–226.

RAMOS, B. et al. Fresh fruits and vegetables - An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 20, p. 1–15, 2013.

RICO-MUNOZ, E.; DOS SANTOS, J. L. P. The fungal problem in thermal processed beverages. **Current Opinion in Food Science**, v. 29, p. 80–87, 2019.

RODRÍGUEZ, A. et al. Evaluation of hazard of aflatoxin B1, ochratoxin A and patulin production in dry-cured ham and early detection of producing moulds by qPCR. **Food Control**, v. 27, n. 1, p. 118–126, 2012b.

RODRÍGUEZ, A. et al. Presence of ochratoxin A 361 on the surface of dry-cured Iberian ham after initial fungal growth in the drying stage. **Meat Science**, v. 362, n. 4, p. 728–734, 2012.

RODRÍGUEZ, A. et al. Presence of ochratoxin A on the surface of dry-cured Iberian ham after initial fungal growth in the drying stage. **Meat Science**, v. 92, n. 4, p. 728–734, 2012a.

RODRÍGUEZ, A. et al. Relationship between ecophysiological factors, growth and ochratoxin A contamination of dry-cured sausage based matrices. **International Journal of Food Microbiology**, v. 194, p. 71–77, 2015.

ROJAS, F. J. et al. Mycoflora and toxinogenic *Aspergillus flavus* in Spanish dry-cured ham. **International journal of food microbiology**, v. 13, p. 249–256, 1991.

SCARAMUZZA, N.; DIAFERIA, C.; BERNI, E. Monitoring the mycobiota of three plants

manufacturing Culatello (a typical Italian meat product). **International journal of food microbiology**, v. 203, p. 78–85, 2015.

SCHMIDT-HEYDT, M. et al. The application of transcriptomics to understand the ecological reasons of ochratoxin A biosynthesis by *Penicillium nordicum* on sodium chloride rich dry cured foods. **Trends in food science & technology**, v. 22, p. S39–S48, 2011.

SFORZA, S.; DALL'ASTA, C.; MARCHELLI, R. Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. **Mass spectrometry reviews**, v. 25, n. 1, p. 54–76, 2006.

SHEN, C. et al. Generation of chlorine byproducts in simulated wash water. **Food Chemistry**, v. 190, p. 97–102, 2016.

SILVA, S. et al. Factors that interfere in the action of sanitizers against ochratoxigenic fungi deteriorating dry-cured meat products. **Fermentation**, v. 9, n. 2, p. 83, 2023.

SIMPSON, A. M.-A.; MITCH, W. A. Chlorine and ozone disinfection and disinfection byproducts in postharvest food processing facilities: A review. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 52, n. 11, p. 1825–1867, 2022.

SINGH, P.; HUNG, Y.-C.; QI, H. Efficacy of Peracetic Acid in Inactivating Foodborne Pathogens on Fresh Produce Surface: Use of PAA to ensure produce safety.... **Journal of food science**, v. 83, n. 2, p. 432–439, 2018.

SONJAK, S. et al. Salting of dry-cured meat - A potential cause of contamination with the ochratoxin A-producing species *Penicillium nordicum*. **Food microbiology**, v. 28, n. 6, p. 1111–1116, 2011.

SONJAK, S. et al. Salting of dry-cured meat-a potential cause of contamination with ochratoxin A-producing species *Penicillium nordicum*. **Food Microbiol**, v. 28, p. 111–116, 2011a.

SONJAK, S. et al. The mycobiota of three dry-cured meat products from Slovenia. **Food Microbiol**, v. 28, p. 572–585, 2011b.

STEFANELLO, A. et al. Influence of type, concentration, exposure time, temperature, and presence of organic load on the antifungal efficacy of industrial sanitizers against *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404). **Food microbiology**, v. 97, n. 103740, p. 103740, 2021.

STOEV, S. D., et al. Experimental one year ochratoxin A toxicosis in pigs. **Exp. Toxicol. Pathol.** 2002, 53, 481–487.

STRZELECKI, E. L.; BADURA, L. Occurrence of aflatoxinogenic molds on dry Cracower sausage. **Acta Microbiol. Pol**, v. 4, p. 233–239, 1972.

SU, Y. et al. Efficacy of chlorine and peroxyacetic acid to control *Listeria monocytogenes* on apples in simulated dump tank water system. **Food microbiology**, v. 106, n. 104033, p. 104033, 2022.

SUNESSEN, L. O.; STAHNKE, L. H. Mould starter cultures for dry sausages-selection,

application and effects. **Meat science**, v. 65, n. 3, p. 935–948, 2003.

SUTIC, M., AYRES, J. C., KOEHLER, P. E. Identification and aflatoxin production of moulds isolated from country cured hams. **Appl. Microbiol.** 1972, 23, 656–658.

TANG, Z., et al. Nanobody-based fluorescence resonance energy transfer immunoassay for noncompetitive and simultaneous detection of ochratoxin and ochratoxin B. **Environ. Pollut.**, 251, 238–245, 2019.

TANIWAKI, M. H. **Editorial overview: Food mycology. Current Opinion in Food Science**, 23, vi-vii. [s.l: s.n.].

TEZEL, U.; PAVLOSTATHIS, S. G. Quaternary ammonium disinfectants: microbial adaptation, degradation and ecology. **Current opinion in biotechnology**, v. 33, p. 296–304, 2015.

TOMÁS-CALLEJAS, A. et al. Chlorine dioxide and chlorine effectiveness to prevent *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* cross-contamination on fresh-cut Red Chard. **Food control**, v. 23, n. 2, p. 325–332, 2012.

TRANQUILINI, R.; SCARAMUZZA, N.; BERNI, E. Occurrence and ecological distribution of Heat Resistant Moulds Spores (HRMS) in raw materials used by food industry and thermal characterization of two *Talaromyces* isolates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 242, p. 116–123, 2017.

VAN DER MERVE K, J. et al. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus*. **Nature**, v. 205, p. 1112–1113, 1965.

VAN LONG, N. N.; DANTIGNY, P. Fungal contamination in packaged foods. In: **Antimicrobial Food Packaging**. [s.l.]Elsevier, 2016. p. 45–63.

VAN, H. S. et al. Chlorine dioxide as water disinfectant during fresh-cut iceberg lettuce washing: disinfectant demand, disinfection efficiency, and chlorite formation. **LWT - Food Science and Technology**. v. 75, p. 301–304, 2017.

VILA G, S. et al. Diversidad de hongos filamentosos en el emplume de embutidos secos producidos en la región pampeana. **Senasa**, v. 10, p. 40–50, 2016.

VIPOTNIK, Z.; RODRÍGUEZ, A.; RODRIGUES, P. *Aspergillus westerdijkiae* as a major ochratoxin A risk in dry-cured ham based-media. **International Journal of Food Microbiology**, v. 241, p. 244–251, 2017.

VISCONTI, V. et al. Effects of disinfectants on inactivation of mold spores relevant to the food industry: a review. **Fungal Biology Reviews**, v. 38, p. 44–66, 2021.

VÖLKEL, I.; SCHRÖER-MERKER, E.; CZERNY, C.-P. The carry-over of mycotoxins in products of animal origin with special regard to its implications for the European food safety legislation. **Food and Nutrition Sciences**, v. 02, n. 08, p. 852–867, 2011.

WANG, D. et al. Biofilm formation, sodium hypochlorite susceptibility and genetic diversity of *Vibrio parahaemolyticus*. **International Journal of Food Microbiology**, v.

385, n. 110011, p. 110011, 2023.

WANG, H.; RYSER, E. T. Efficacy of various sanitizers against salmonella during simulated commercial packing of tomatoes. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 11, p. 1868–1875, 2014.

WANG, R. Y. et al. Chlorine and peroxyacetic acid inactivation of *Listeria monocytogenes* in simulated apple dump tank water. **Food Control**, v. 144, n. 109314, p. 109314, 2023.

WANG, X. et al. The natural microflora of Xuanwei ham and the no-mouldy ham production. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 1, p. 103–111, 2006.

WELKER, C. A. D. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul. Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, p. 44–48, 2010.

WENG, S. et al. Assessment and speciation of chlorine demand in fresh-cut produce wash water. **Food Control**, v. 60, p. 543–551, 2016.

World Health Organization (WHO). (1999). **Basic food safety for health workers. Geneva: Geneva. World Health Organization.**  
[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/65992/1/WHO\\_SDE\\_PHE\\_FOS\\_99.1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/65992/1/WHO_SDE_PHE_FOS_99.1). Accessed 01 novembro 2022.

YARON, S.; RÖMLING, U. Biofilm formation by enteric pathogens and its role in plant colonization and persistence: Biofilms of human pathogens on plants. **Microbial Biotechnology**, v. 7, n. 6, p. 496–516, 2014.

ZHANG, C. et al. Evaluation and modeling of benzalkonium chloride inhibition and biodegradation in activated sludge. **Water Research**, v. 45, n. 3, p. 1238–1246, 2011.

ZHANG, K. et al. Oxidation of  $\beta$ -lactam antibiotics by peracetic acid: Reaction kinetics, product and pathway evaluation. **Water Research**, v. 123, p. 153–161, 2017.

ZOELLNER, C. et al. Peracetic acid in disinfection of fruits and vegetables. In: **Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables**. Elsevier, p. 53–66, 2018.