



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

CRISTINA ATSUMI KUBA

**EFICÁCIA DA ÁGUA OZONIZADA NO CONTROLE DE PATÓGENOS
BACTERIANOS EM ALFACES: REVISÃO SISTEMÁTICA COM META-ANÁLISE**

CRISTINA ATSUMI KUBA

**EFICÁCIA DA ÁGUA OZONIZADA NO CONTROLE DE PATÓGENOS
BACTERIANOS EM ALFACES: REVISÃO SISTEMÁTICA COM META-ANÁLISE**

Tese apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor – Área de concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Giuffrida

635.52
A882e

Atsumi Kuba, Cristina

Eficácia da água ozonizada no controle de patógenos bacterianos em alfaces: revisão sistemática com meta-análise / Cristina Atsumi Kuba. – Presidente Prudente, 2021.
96f. :il.

Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde Animal)
- Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2021.

Bibliografia.

Orientador: Rogério Giuffrida

1. Ozônio. 2. Sanitizante. 3. Alface. I. Título.

CRISTINA ATSUMI KUBA

**EFICÁCIA DA ÁGUA OZONIZADA NO CONTROLE DE PATÓGENOS
BACTERIANOS EM ALFACES: REVISÃO SISTEMÁTICA COM META-ANÁLISE**

Tese apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor – Área de concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Presidente Prudente, 26 de março de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rogério Giuffrida
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente – SP

Prof. Dr. Hermann Bremer Neto
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente – SP

Dra. Lourdes Aparecida Zampieri D' Andrea
Instituto Adolfo Lutz– IAL
Presidente Prudente – SP

Dra. Leonice Seolin Dias
Universidade Estadual Paulista-UNESP
Presidente Prudente – SP

DEDICATÓRIA

À Deus e Nossa Senhora, presentes em meu dia a dia, coragem na superação dos obstáculos, força para nunca desistir e direcionar nos caminhos corretos.

Aos meus avós paternos (*in memorian*), Ryoei Kuba e Uto Kuba, e avós maternos (*in memorian*), Asaoki Takara e Tsuru Takara, exemplos de luta, honestidade e perseverança, e que apesar das dificuldades souberam transmitir sabedoria e ensinamentos que irei levar para toda a vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu esposo Paulo Sérgio, pelo apoio, incentivo e por estar sempre ao meu lado, superando, lutando e conquistando nossas vitórias. As adversidades que vivemos no decorrer do doutorado, nos mostrou o quanto o amor e a cumplicidade de um casal nos fazem fortes e resilientes. Gratidão por fazer parte da minha vida!

Meus queridos pais, Mário e Nobuko: reconheço o quanto fui resistente nas condutas que a tradição familiar nos impõe. Entretanto, nesse momento, tenho apenas o sentimento de gratidão por ter vindo nesta existência como sua filha. Meu agradecimento especial a minha mãe, amiga e companheira que sempre se faz presente com seu amor e sabedoria!

Ao meu filho Rafael, que desde o seu nascimento, nunca me cobrou ou se colocou a frente para que eu pudesse realizar meus sonhos e minhas conquistas profissionais, talvez o que mais sofreu com a minha ausência e falta de tempo para que pudesse me dedicar aos estudos. Filho, obrigada pela compreensão.

Aos meus irmãos, Cláudia, Renato e Fábio, Celinha, Matheus e meus sobrinhos lindos, gratidão pelo apoio e incentivo incondicional. E não poderia esquecer, foram os primeiros a lançar a ideia e o incentivo neste projeto de vida.

Ao meu orientador Prof^o Dr. Rogério Giuffrida, pelo acolhimento e por compartilhar conhecimentos que foram fundamentais para minha formação. Minha gratidão pelo amparo, compreensão e auxílio mediante os inúmeros obstáculos surgidos no decorrer dessa caminhada.

Francislaine Anelize Garcia Santos, companheira do mestrado, e um anjo que Deus colocou em minha vida! Pudemos vivenciar também no doutorado, momentos de doação e apoio nestes momentos finais. Amizade que levarei para toda a vida e receba meu sentimento de gratidão eterna!

A Prof^a Dra. Ana Clara Campagnolo Gonçalves Toledo e Prof^a Dra. Ana Karênina Dias de Almeida Sabela, que doaram tempos preciosos na contribuição desta tese.

À todos meus amigos, em especial Grace Facholi, Marcela Fagiani, Luciane Romero, Juliana Santiago, Tatiana Dalarte, Tânia Uemura, Inez Hirata, Márcia Oko, Emília Mori, Laís Maekawa, Aline Vinholes, Simone Buchala, Vanessa Sakotani e Lucas Karakawa, pela amizade, carinho, orações, palavras sábias e por sempre estarem torcendo pelas minhas conquistas.

À todos os meus familiares, gratidão pelas orações, carinho e incentivo!

Aos coordenadores e professores dos cursos de Nutrição, Gastronomia e Estética e Cosmética da Universidade do Oeste Paulista.

À Universidade do Oeste Paulista, pela oportunidade de poder realizar o doutorado.

A todos os docentes do programa de Doutorado em Ciência Animal, pelos conhecimentos compartilhados, os quais foram fundamentais para a formação pessoal e profissional. Agradeço especialmente a professora Dra. Cecília Laposy Santarém pelo acolhimento recebido em todos os momentos solicitados.

Gratidão a todos os funcionários que de alguma forma contribuíram no desenvolver deste trabalho, em especial Keid Ribeiro Kruger e as bibliotecárias do Campus II da Universidade do Oeste Paulista, Jakeline e Renata, que não mediram esforços em orientar e auxiliar sempre que solicitadas.

A todos, minha eterna gratidão!

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito. Não
sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não
sou o que era antes”.*

(Marthin Luther King)

RESUMO

Eficácia da água ozonizada no controle de patógenos bacterianos em alfaces: revisão sistemática com meta-análise

As doenças infecciosas são problema de saúde pública e ocorrem principalmente pela ingestão de alimentos contaminados. As hortaliças, como a alface, são facilmente contaminadas com patógenos bacterianos pelo sistema de plantio e contaminação cruzada. O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia da água ozonizada no controle da *Salmonella* e *E. coli* em alfaces. O estudo foi realizado a partir da determinação do acrônimo PICO, composto pelos elementos: População= alface minimamente processado (*Lactuca sp.*); Intervenção= desinfecção com ozônio em solução aquosa (OSA); Controle=alface higienizado; Desfecho= estimativas de abundância (EA) dos microrganismos expressos em log (UFC)/g. As publicações científicas foram pesquisadas nas bases indexadas *Agris*, *Embase*, *Lilacs*, *Medline*, *ScieElo*, *Science Direct*, *Scopus*, *Springer Link* e *Web of Science*, disponíveis eletronicamente e publicadas entre 1980 e 2020. Foram incluídas 14 publicações divididas em quatro meta-análises de modelo aleatório (OSA por até 5 minutos e mais de 5 minutos e OSA para inativação de *Salmonella* e *E. coli* por até 5 minutos e por mais de 5 minutos). Todos os estudos meta-analíticos indicaram efeito significativo do OSA na redução de *Salmonella* e *E. coli*. A ação mais efetiva se nos primeiros 5 minutos, ocorre aos 3 minutos, que resultou em uma redução de 3,52 fases logarítmicas. As ações menos efetivas ocorreram com 0,5 e 4 minutos. A ação mais efetiva após 5 minutos ocorreu aos 30 minutos de exposição (redução de 2,63 fases logarítmicas), contudo, com resultados inferiores a ação durante os 3 minutos. A ação do ozônio foi mais efetiva para *Salmonella* (redução de 2,73 fases logarítmicas) do que para *E. coli* (redução de 2,73 fases logarítmicas) em até 5 minutos de ação. Após 5 minutos, a redução de *E. coli* (1,73 fases logarítmicas) foi superior à *Salmonella* (1,08 fases logarítmicas). Conclui-se que o efeito microbicida do ozônio é tempo dependente com diferenças importantes na sensibilidade de bactérias de importância em saúde pública.

Palavras-chave: Ozonização. Alface. Água. Sanitizante. *Escherichia coli*. *Salmonella entérica*.

ABSTRACT

Effectiveness of ozonized water in the control of bacterial pathogens in lettuces: systematic review with meta-analysis

Infectious diseases are a public health problem and occur mainly through the ingestion of contaminated food. Vegetables such as lettuce are easily contaminated with bacterial pathogens by the planting system and cross contamination. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of ozonized water in the control of Salmonella and E. coli in lettuce. The study was carried out from the determination of the acronym PICO, composed of the elements: Population= minimally processed lettuce (*Lactuca* sp.); Intervention = disinfection with ozone in aqueous solution (OSA); Control=sanitized lettuce; Outcome = estimates of abundance (EA) of microorganisms expressed in log (CFU) / g. Scientific publications were searched in the Agris, Embase, Lilacs, Medline, ScieElo, Science Direct, Scopus, Springer Link and Web of Science indexed databases, available electronically and published between 1980 and 2020. 14 publications were included, divided into four meta-analyses of random model (OSA for up to 5 minutes and more than 5 minutes and OSA for inactivation of Salmonella and E. coli for up to 5 minutes and more than 5 minutes). All meta-analytical studies indicated a significant effect of OSA on the reduction of Salmonella and E. coli. The most effective action if in the first 5 minutes, occurs after 3 minutes, which resulted in a reduction of 3.52 logarithmic phases. The least effective actions occurred with 0.5 and 4 minutes. The most effective action after 5 minutes occurred at 30 minutes of exposure (reduction of 2.63 logarithmic phases), however, with results lower than the action during 3 minutes. The action of ozone was more effective for Salmonella (2.73 log phase reduction) than for E. coli (2.73 log phase reduction) within 5 minutes of action. After 5 minutes, the reduction of E. coli (1.73 logarithmic phases) was greater than that of Salmonella (1.08 logarithmic phases). It is concluded that the microbicidal effect of ozone is time dependent with important differences in the sensitivity of bacteria of public health importance.

Keywords: Ozonation. Lettuce. Water. Sanitizer. Escherichia coli. Enteric salmonella.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Organograma de seleção dos estudos.....	43
Figura 2 -	Forest plot para meta-análise das diferenças padronizadas nas estimativas médias de abundância de colônias de <i>E. coli</i> ou <i>Salmonella spp</i> , expressas como logarítmico na base 10 de Unidades Formadoras de Colônia em alfaces higienizadas com água ozonizada, de acordo com o tempo de exposição em minutos (subgrupos 0,5, 1, 2, 3, 4, e 5).....	45
Figura 3 -	Forest plot para meta-análise das diferenças padronizadas nas estimativas médias de abundância de colônias de <i>E. coli</i> ou <i>Salmonella spp</i> , expressas como logarítmico na base 10 de Unidades Formadoras de Colônia em alfaces higienizadas com água ozonizada, de acordo com o tempo de exposição em minutos (subgrupos 10, 20, 30 ou mais de 30).....	46
Figura 4 -	Forest plot para meta-análise das diferenças padronizadas nas estimativas médias de abundância de colônias de <i>E. coli</i> e <i>Salmonella</i> expressas como médias de logarítmico na base 10 de Unidades Formadoras de Colônia em alfaces higienizadas com água ozonizada, de acordo por até 5 minutos.....	47
Figura 5 -	Forest plot para meta-análise das diferenças padronizadas nas estimativas médias de abundância de colônias de <i>E. coli</i> e <i>Salmonella</i> expressas como médias de logarítmico na base 10 de Unidades Formadoras de Colônia em alfaces higienizadas com água ozonizada, de acordo por mais de 5 minutos.....	48

LISTA DE TABELAS

Revisão de literatura

Tabela 1	Estudos sobre o efeito sanitizante do ozônio combinado a outros agentes em vegetais e legumes.....	22
Tabela 1	Artigo	
Tabela 2	Dados dos estudos incluídos para as meta-análises	40
Tabela 3	Parâmetros gerais dos estudos incluídos na meta-análise.....	41
	Avaliação do risco de viés dos estudos incluídos para as meta-análises.....	42

SUMÁRIO

1	REVISÃO A SER ENVIADA PARA O PERIÓDICO BRITISH FOOD JOURNAL.....	14
2	ARTIGO A SER ENVIADO PARA O PERIÓDICO FOOD CONTROL.....	32
	ANEXOS A- NORMAS DA REVISTA FOOD CONTROL.....	61
	ANEXOS B- NORMAS DA REVISTA BRITISH FOOD JOURNAL.....	75

1 REVISÃO A SER ENVIADO PARA O PERIÓDICO BRITISH FOOD JOURNAL

Uso do ozônio como método de sanitização de vegetais minimamente processados

1.Cristina Atsumi Kuba^a; 2.Raphaela Primolan Rocha^a; 3.Camila Akemi Derré Mitooka^a; 4.José Roberto Gálio Junior^a; 5.Ana Clara Campagnolo Gonçalves Toledo^a; 6.Ana Karênina Dias de Almeida Sabela^a; 7.Francislaire Anelize Garcia Santos^a; 8.Rogério Giuffrida^a

^a: Universidade do Oeste Paulista, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - Campus II, Rodovia Raposo Tavares, km 572 - Bairro Limoeiro CEP 19067-175 - Presidente Prudente – SP – Brasil.

Endereços de e-mails:

1.cris_kuba@hotmail.com;
4.junior1.galio1@gmail.com;
5.anaclara@unoeste.br;
6.anakarenina@unoeste.br;
7.garciasantos.fa@gmail.com;
8.rgiuffrida@unoeste.br.

Autor para correspondência:

Cristina Atsumi Kuba, e-mail: cris_kuba@hotmail.com;

Rogério Giuffrida, e-mail: rgiuffrida@unoeste.br

RESUMO

Frutas e verduras são alimentos mais propensos a contaminação com agentes associados as doenças transmitidas por alimentos (DTAs). O objetivo da revisão foi de fornecer uma visão geral e atualizada sobre o uso do ozônio como agente sanitizante de alimentos. As buscas dos artigos científicos e revisões de literatura que compõem a revisão foram realizadas nas bases de dados da AGRIS e PUBMED. O Ozônio vem se destacando na agroindústria de alimentos como um potente sanitizante, bom custo benefício, seguro, decompõe-se espontaneamente em um produto atóxico, além de poder estender a vida útil de alimentos perecíveis. Ozônio pode ser aplicado nos vegetais nas fases de pré-colheita e pós-colheita, podendo ser injetado na forma gasosa em uma atmosfera ou pulverizado na produção de solução aquosa para lavagem. Entretanto, a taxa solubilidade depende de fatores como temperatura, pH, tamanho de bolhas, pureza da água, tempo de contato e tecnologia adotada. Água ozonizada tem demonstrado boa eficiência microbicida, podendo agir na remoção de pesticidas, micotoxinas e fungos dos alimentos. Revisões amplas relatam que o ozônio não altera significativamente aspectos sensoriais do alimento, mas concentrações excessivas podem causar oxidação superfície do alimento, fator limitante para reatividade do gás com componentes orgânicos do alimento, em baixa concentração e em curto tempo. Em solução aquosa possui ação limitada na penetração em vegetais e rápida autodecomposição. Por sua eficácia, fácil obtenção e segurança em sua utilização, o ozônio pode tornar-se popular nos próximos anos e ser usado desde desinfecção de água de piscinas, alimentos, utensílios e ambientes. Pesquisas aprofundadas sobre o tema devem ser realizadas para reforço da base científica sobre o assunto.

Palavras-chave: Alimentos. Vegetais. Patógenos. Ozônio. Agroindústria.

1. Vegetais minimamente processados

Consumidores são ávidos por alimentos minimamente processados, devido ao aumento da conscientização de ter frutas e vegetais com qualidade superior e integridade natural com menos aditivos (Vivek, 2019). Contudo, estes produtos são mais propensos a contaminação com agentes associados às doenças transmitidas por alimentos (DTA), em razão de frequentemente serem comercializados crus ou com cozimento mínimo. Nos Estados Unidos, em 2019, a incidência de patógenos transmitidos através de alimentos por 100 mil habitantes, foi de 25.866 casos de infecção, 6.164 hospitalizações e 122 mortes, a maior parte por *Campylobacter* (19,5%), seguido por *Salmonella* (17,1%), *Escherichia coli* produtora da toxina Shiga (6,3%), *Shigella* (4,8%), *Cyclospora* (1,5%), *Yersinia* (1,4%), *Vibrio* (0,9%) e *Listeria* (0,3%) (Tack *et al.*, 2019).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 33 milhões de mortes são causadas devido à ingestão de alimentos não seguros e mais de 200 doenças são causadas pela ingestão de alimentos contaminados com vírus, bactérias, parasitas ou substâncias químicas (OMS, 2015).

Durante o processamento de alimentos, operações mecânicas de corte e descascamento de vegetais frescos induzem a liberação de conteúdos celulares que são ricos em nutrientes e podem promover o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (Pott *et al.*, 2020). Este processo também aumenta as taxas de senescência dos tecidos, resultando na redução do tempo de armazenamento de frutas e vegetais minimamente processados (Schuh *et al.*, 2020).

As superfícies dos vegetais podem ser contaminadas com microrganismos patogênicos por meio do contato com o solo, água de irrigação, fertilizantes, equipamentos, humanos e animais. Os vegetais também podem ser contaminados por microrganismos deterioradores que contribuem substancialmente para a descoloração, perda de firmeza, desenvolvimento de sabores estranhos, acidificação e deterioração de alimentos (Heaton e Jones, 2008).

O presente trabalho tem como objetivo, conduzir uma revisão atualizada sobre o uso do ozônio como agente sanitizante em vegetais minimamente processados.

2. Uso do ozônio na agroindústria de alimentos

As tecnologias de pós-colheita permitiram que as indústrias de horticultura atendessem às demandas globais de produção local e em grande escala. Os tratamentos pós-colheita ideais para produtos frescos buscam retardar os processos fisiológicos de senescência e maturação, reduzir / inibir o desenvolvimento de distúrbios fisiológicos e minimizar o risco de crescimento microbiano e contaminação (Mahajan *et al.*, 2014). Entre os produtos sanitizantes com melhor custo benefício, destaca-se o ozônio, que é um gás incolor, com um odor próprio e inconfundível, instável, podendo ser detectado mesmo quando se encontra em baixa concentração. Sua identificação é possível a partir da concentração de 0,02 à 0,05 ppm, possui características alotrópicas do oxigênio e reagentes eletrofílicos, justificando suas diversas reações químicas (Mochi, 2010).

O ozônio apresenta alta permeabilidade e é considerado um reagente sem efeitos prejudiciais quanto às características sensoriais dos produtos alimentícios, quando aplicado em volumes e concentrações corretas, não deixam resíduos químicos, tornando-o uma alternativa positiva em comparação ao cloro (Glowacz e Rees, 2016).

A utilização do ozônio foi aprovada nos EUA nas fases gasosa e aquosa, como agente antimicrobiano em alimentos, incluindo carnes e aves (Kim *et al.*, 2003). Quando utilizado em produtos frescos, pode estender a vida útil, especialmente nos que são relativamente perecíveis e rapidamente perdem a qualidade visual e nutricional (Guzel-Seydim *et al.*, 2004), como frutas e hortaliças, visto tratar-se de potente agente antimicrobiano que não necessita de veículo aquoso. A solução clorada, ao contrário do gás ozônio, promove a absorção de água por parte dos alimentos e conseqüentemente reduz o tempo de prateleira (Glowacz e Rees, 2016).

O ozônio tem ação antimicrobiana, com inativação de bactérias, vírus, fungos e esporos por meio da oxidação de DNA, lipídios e proteínas de microrganismos, ocasionando na morte em curto espaço de tempo (Alexopoulos *et al.*, 2013; Ölmez e Akbas, 2009).

Um dos mecanismos que auxilia no processo de sanitização de alimentos com ozônio ocorre pela decomposição do etileno, hormônio responsável na

senescência do alimento após colheita, além da redução da carga microbiana por oxidação das moléculas de fosfolipídios e indução de resistência aos patógenos (Han *et al.*, 2017). A combinação de água ozonizada (0,5 mg/L) com radiação UV mostrou reduzir 5 ciclos log na contagem de *Escherichia coli* em alfaces (Pang e Hung, 2016) e a sanitização de repolhos minimamente processados com ozônio aquoso (1,4 mg/L) por 5 minutos se mostrou eficaz na inibição de bactérias aeróbias, coliformes e leveduras a 4 °C durante 12 dias de armazenamento (Liu *et al.*, 2020).

Os efeitos de tratamentos saneantes de hortaliças frente a *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, indicam que, tanto o tempo quanto a temperatura afetam significativamente as reduções logarítmicas médias do tratamento de higienização, sendo a *Escherichia coli* mais resistente ao ozônio (reduções logarítmicas de 1,6), enquanto *Listeria monocytogenes* e *Salmonella spp.* apresentam alta resistência a ácidos orgânicos, como ácido cítrico, ácido acético e ácido láctico (Prado-Silva *et al.*, 2015). Adicionalmente, o ozônio foi capaz de eliminar integralmente da água, bactérias como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e reduzir mais de 90% da população de *Staphylococcus aureus*, sendo considerado mais eficaz se aplicado a 36°C (Martinelli *et al.*, 2017).

O ozônio vem sendo considerado uma boa alternativa aos tratamentos químicos a base de cloro. A reposição contínua de cloro em água de lavagem com alto teor de substâncias orgânicas pode promover a formação de compostos cancerígenos, como os trihalometanos, que ameaçam a saúde humana e ambiental (Hambidge, 2001). Neste sentido, o ozônio é de grande vantagem por ser uma molécula altamente reativa, sendo capaz de penetrar nos alimentos de forma eficaz para desempenhar sua função microbicida e depois decompor-se de forma espontânea em um produto não tóxico (O₂) (Kim *et al.*, 1999).

3. Métodos de aplicação do ozônio em vegetais minimamente processados

O ozônio pode ser aplicado nos vegetais nas fases de pré-colheita e pós-colheita. Na fase de pré-colheita, a aplicação é feita sobre as sementes, sendo

capaz de inativar patógenos como provenientes da contaminação com adubos orgânicos como *Salmonella enterica* e *Escherichia coli* O157: H7 (Trinetta *et al.*, 2011).

Nas fases pós-colheita, o ozônio é em geral utilizado na forma gasosa ou em solução aquosa. A forma gasosa é considerada mais eficaz do que a solução aquosa, sendo aplicada em câmaras fechadas (Shynkaryk *et al.*, 2015). Em contraste, a forma líquida é aplicada na forma de solução aquosa, considerada menos instável por se degradar rapidamente em oxigênio.

Para produzir a forma gasosa, o oxigênio deve ser usado como gás de alimentação em vez de ar. Uma vez produzido, o ozônio pode ser injetado diretamente na forma gasosa em uma atmosfera, ou pulverizado em água para produzir uma solução aquosa para lavagem (Perry e Yousef, 2011). Contudo, a taxa de solubilidade depende de vários fatores, como pressão, temperatura, pH, tamanhos de bolha de ozônio (quando produzido em sistemas de borbulhamento), taxa de fluxo de ozônio e tempo de contato, pureza da água e tecnologia adotada para produção (Khadre *et al.*, 2001). A ação de limpeza mecânica da superfície dos vegetais, previamente realizada antes da exposição ao ozônio, também é necessária como meio de desalojar os microrganismos da superfície dos alimentos para que a ação microbicida seja mais efetiva (Kim *et al.*, 2003).

A tecnologia de microbolhas de ozônio tem sido amplamente utilizada para melhorar os processos de oxidação avançados baseados no tratamento de água residuais que podem ser posteriormente utilizadas na agricultura (Khuntia *et al.*, 2013). A desinfecção por microbolhas de ozônio (OMB) se mostrou eficiente na redução de *Salmonella typhimurium*, 2,6 log CFU/g a 30°C com 1,0 mg/L de OMB e 2,2 log CFU/g a 10°C com 2,0 mg/L de OMB por 7 minutos em manjeriço (Phaephiphat e Mahakarnchanakul, 2018).

O ozônio já foi testado como método de desinfecção para uma grande variedade de frutas e vegetais, incluindo maçã, amora, banana, melão, figo, tâmara, uva, kiwi, goiaba, limão, laranja, abacaxi, pera, framboesa, ameixa, nectarina, mamão, pêssego, tomate, aspargo, brócolis, cenoura, pepino, feijão, pimenta, abóbora, espinafre, alface, aspargos, coentro, cebolas e agrião, entre outros, em diferentes concentrações, formas de aplicação, e com diferentes parâmetros de pH, temperatura e concentração (Miller *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*,

2017; Sarron *et al.*, 2021). Além do uso nos alimentos, o ozônio pode ser utilizado para higienizar equipamentos, materiais de embalagem e ambiente de processamento (Kim *et al.*, 2003).

Alguns estudos têm focado no uso do ozônio combinado com outros sanitizantes (Tabela 1), incluindo o peróxido de hidrogênio, ácidos orgânicos, óleos essenciais e agentes físicos como a radiação ultravioleta e ultrassom (Kim *et al.*, 2003). Esta combinação pode ser vantajosa por apresentar efeitos sinérgicos. Quando combinado com sanitizantes químicos, o ozônio pode reduzir a necessidade da troca da água utilizada para desinfecção, bem como as doses dos desinfetantes (Selma *et al.*, 2008).

O tratamento de folhas de repolho com 2 ppm de ozônio em solução aquosa combinado com 0,4% de metassilicato de sódio por 2 min é capaz de reduzir populações de *E. coli* O157:H7 em 3,33 fases logarítmicas, quando comparado com amostras de controle, após 12 dias de armazenamento, sem efeitos negativos nas características sensoriais das folhas (Nie *et al.*, 2020).

Cloro e ozônio apresentam efeitos sinérgicos em concentrações relativamente altas. Saladas comerciais lavadas com uma mistura de ambos produtos (7,5 mg/L de O₃ + 200 mg/L de cloro), foi mais eficaz do que a utilização isolada destes princípios, com redução de 2,5 fases logarítmicas e extensão da vida de prateleira (Garcia *et al.*, 2003). Em outro estudo, o cloro na concentração de 100 mg kg⁻¹ foi menos eficaz para o tratamento de pimentões verdes embalados em condições de atmosfera modificada passiva, do que a lavagem com ozônio, que também atrasou a senescência e manteve a firmeza dos pimentões durante o armazenamento (Chitravathi *et al.*, 2015).

O ozônio pode ser combinado com óleos essenciais extraídos de diversas plantas. Uma lavagem sequencial com óleo essencial de tomilho, seguida de água ozonizada foi eficaz na redução de *E. coli* O157:H7 de 3,99 fases logarítmicas (Singh *et al.*, 2002). Outros tipos de óleos como o de orégano, carvacrol, saponina de Quillaja e azeite de oliva podem ser combinados na concentração de 0,1% para inativar *Salmonella enterica* sorotipo Newport em alfaces, com redução de 3 fases logarítmicas após 120 min, ainda que possa ocorrer redução da ação do ozônio pelas propriedades antioxidantes de alguns destes óleos (Kumar e Ravishankar, 2019).

O ozônio também pode ser combinado com ácidos orgânicos fracos. O tratamento combinado de O₃ na concentração de 9 mg L⁻¹ com ácido láctico a 2,5 mL L⁻¹ por 10 min é capaz de remover microrganismo de vegetais frescos com vantagens sobre o uso individual destas substâncias, com redução de estimada de 1,5 a 3,5 fases logarítmicas de bactérias mesófilas nativas por grama de alimento, e 1,6-2,9 log UFC de *Escherichia coli* (Pounraj *et al.*, 2020). O tratamento de alfaces com 3 ppm de ozônio combinado com 1% de ácido cítrico por 1 min, em imersão reduziu em 2,31 e 1,84, de *E. coli* O157: H7 e *Listeria monocytogenes*, respectivamente (Yuk *et al.*, 2006).

Dentre os métodos físicos combinados com o ozônio, destaca-se o ultrassom. Na frequência de 40 kHz, 100 W, combinado com o ozônio na concentração de 1,5 mg L⁻¹ apresenta efeito máximo microbicida contra *Escherichia coli* e *Salmonella* após 8 min de exposição, sem causar danos na superfície de vegetais folhosos tratados (Traore *et al.*, 2020). Os tratamentos de ultrassom combinado com ozônio, além de reduzirem a carga microbiana, também afetam menos fatores de qualidade dos vegetais, como pH e textura em comparação com o tratamento individual (Aday e Caner, 2014).

O ozônio também pode ser combinado com raios UV-C para reduzir a flora microbiana de cebolas minimamente processadas, escarola, cenoura e espinafre, com redução microbiana de mesófilos totais máxima de 6,6 log UFC mL⁻¹ após 60 min (Selma *et al.*, 2008).

Tabela 1. Estudos sobre o efeito sanitizante do ozônio combinado a outros agentes em vegetais e legumes.

Autores	Agentes	Concentração	Efeitos	Vegetais ou legumes
Garcia <i>et al.</i> , 2003	Cloro + ozônio	7,5 mg/L de O ₃ + 200 mg/L de cloro	Redução de 2,5 fases logarítmicas e extensão da vida de prateleira.	Saladas comerciais
Yuk <i>et al.</i> , 2006	Ácido cítrico + ozônio	3 ppm de O ₃ + 1% de ácido cítrico por 1 min.	Redução de 2,31 e 1,84 de <i>E. coli</i> O157: H7 e <i>Listeria monocytogenes</i> .	Alfaces
Selma <i>et al.</i> , 2008	UV-C + ozônio		Redução microbiana de mesófilos totais máxima de 6,6 log UFC mL (-1) após 60 minutos	Cebola, escarola, cenoura e espinafre.
Chitravathi <i>et al.</i> , 2015	Cloro + ozônio	100 mg kg ⁻¹	Atrasou a senescência e manteve a firmeza durante o armazenamento.	Pimentões verdes
Kumar e Ravishankar, 2019	Óleos de orégano, carvacrol, saponina de Quillaja e azeite de oliva + ozônio	0,1%	Redução de 3 fases logarítmicas após 120 min.	Alfaces
Pounraj <i>et al.</i> , 2020	Ácido láctico + ozônio	9 mg L ⁻¹ de O ₃ + 2,5 mL L ⁻¹ de ácido láctico por 10 min.	Redução de 1,5 a 3,5 fases logarítmicas de bactérias mesófilas. Redução de 1,6-2,9 log UFC de <i>Escherichia coli</i> .	Vegetais frescos
Traore <i>et al.</i> , 2020	Ultrassom + ozônio	1,5 mg L ⁻¹ de O ₃ + 40 kHz, 100 W.	Máximo efeito microbicida contra <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella</i> após 8 min.	Vegetais folhosos

Fonte: autores (2020).

4. Ação sobre microrganismos e toxinas

Um dos agentes mais comuns e impactantes para alimentos processados é *Listeria monocytogenes*, bactéria associada a várias afecções, incluindo infecções neonatais graves em mulheres (Ramaswamy *et al.*, 2007). O ozônio tem sido amplamente estudado como sanitizante para o controle deste microrganismo em vegetais. Um tratamento combinado em solução de enxague contendo dióxido de cloro (3 ppm, 10 min) com ozônio (2 ppm, 5 min) em sementes de alfafa em germinação foi capaz de reduzir a população de *L. monocytogenes*, inoculada artificialmente neste alimento, sendo um procedimento útil no desenvolvimento de estratégias de gestão de risco pré e pós-colheita (Adhikari *et al.*, 2019). A água ozonizada a 5 ppm por 1 min também reduziu a população de *L. monocytogenes* na superfície de batatas em 0,8 log UFC g⁻¹ (Selma *et al.*, 2006).

O uso de água ozonizada melhora a eficiência microbicida de desinfetantes como compostos quaternários de amônio frente a *L. monocytogenes*. Ela pode ser adicionada para a preparação de soluções de trabalho dos agentes desinfetantes, o que pode reduzir o uso de concentrações de desinfetantes e limitar a seleção de resistência microbiana aos desinfetantes (Skowron *et al.*, 2019)

As enterobactérias são representadas por membros da família Enterobacteriaceae, que incluem patógenos associados a enterites, como *Salmonella*, *Shigella*, *Yersnia enterocolitica* e *Escherichia coli* O157:H7 (Amani *et al.*, 2015). Estes agentes comumente estão presentes em vegetais adubados ou irrigados com água poluída e desta forma, constituem um importante problema de saúde pública (Ryser e Marth, 1989; Hanning *et al.*, 2009; Tango *et al.*, 2014). *Salmonella entérica* é reconhecida como patógeno de origem alimentar mais comum no mundo (Pires *et al.*, 2014). O microrganismo pode ser inativado em cebolas, tomates-cereja e alfaces frescos inoculados na superfície com *Salmonella* e lavados com água ozonizada à temperatura de 50°C, e pH ácido (2,64 ± 0,02) (Xu e Wu, 2014). O tratamento com 10 mg/l de gás ozônio com diferentes intervalos de tempo de 5 e 15 min foi considerado eficaz em reduzir *S. Enteritidis* inoculada artificialmente em tomates cerejas após 1 h (Daş *et al.*, 2006).

O tratamento também é eficaz para *Shigella sonnei*, agente associado a cerca de 125 milhões de episódios diarreicos anualmente, levando a cerca de 160.000 mortes, com um terço delas associadas a crianças pequenas (Bardhan *et al.*, 2010; Troeger *et al.*, 2017). Tratamentos com ozônio (1,6 e 2,2 ppm) por 1 min são capazes de diminuir a população de *S. sonnei* na água em 3,7 e 5,6 log CFU mL (-1), respectivamente, e, em alfaces picadas e lavadas com 2 ppm de água ozonizada, após 5 min, são reduzidas em 0,9 e 1,4 unidades log (Selma *et al.*, 2007). Ozônio nas concentrações de 1,4 e 9 ppm por 1 min são capazes de reduzir a população de *Y. enterocolitica* na água em 4,6 e 6,2 log CFU ml (-1), respectivamente (Selma *et al.*, 2006).

E. coli O157: H7 é considerado o agente mais resistente ao ozônio quando comparada a *Salmonella*, com reduções estimadas, em um estudo meta-analítico, da ordem de 1,6 fases logarítmicas (Prado-Silva *et al.*, 2015). Até mesmo sementes podem ser tratadas com ozônio para inativar estes agentes. A utilização de 4,3 mg/l de gás ozônio por 5 min em sementes foi capaz de reduzir aproximadamente 4 log UFC/g de *Salmonella* e *E. coli* O157:H7 em sementes de tomate e alface, sem afetar significativamente a germinação (Trinetta *et al.*, 2011).

O ozônio também pode remover resíduos de pesticidas, micotoxinas e fungos dos alimentos (Glowacz *et al.*, 2015; Pounraj *et al.*, 2020). Fungos são comumente associados a decomposição e/ou produção de micotoxinas como *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, além de poderem ser removidos de sucos e frutas secas (Cataldo, 2008; Freitas-Silva e Venâncio, 2010).

O ozônio tem ação contra os fungos *Botrytis cinerea* e *Sclerotinia sclerotiorum*, patógenos fúngicos que causam a decomposição de muitas frutas e vegetais. Na forma gasosa (ppb de ozônio por 48 h a 20 graus), o ozônio reduz a viabilidade dos esporos de *B. cinerea* em mais de 99,5%. Ambos os fungos têm o crescimento micelial reduzido, com lesões menos evidentes em vários tipos de frutas e hortaliças (Sharpe *et al.*, 2009). O tratamento de frutas como o morango com 0,075 mg/L de ozônio inibe o crescimento de fungos durante o armazenamento (Aday e Caner, 2014).

O ozônio pode reduzir a carga de contaminação de pesticidas em vegetais (Wu *et al.*, 2007). Contudo, deve-se ter cuidado porque a ozonização de

pesticidas podem produzir subprodutos potencialmente mais tóxicos do que os próprios pesticidas (Ikehata e Gamal El-Din, 2005).

5. Limitações do uso do ozônio

As revisões mais amplas sobre o ozônio reforçam a ideia de que seu uso não altera de forma significativa as qualidades sensoriais dos alimentos (Garcia *et al.*, 2003; Guzel-Seydim *et al.*, 2004; Mahajan *et al.*, 2014; Miller *et al.*, 2013; Pounraj *et al.*, 2020). Contudo, não deve ser usado em concentrações excessivas, posto que pode causar oxidação de alguns ingredientes na superfície dos alimentos. Isso geralmente resulta em descoloração e deterioração do sabor dos alimentos. O tratamento individual com ozônio pode causar o branqueamento de frutas como o morango, devido ao forte poder oxidante (Aday e Caner, 2014).

Outra limitação é a alta capacidade reativa do gás com constituintes orgânicos prontamente disponíveis nos alimentos, que podem competir pelo ozônio com os microrganismos, reduzindo a eficácia do tratamento. Isto ocorre principalmente em concentrações relativamente baixas de ozônio, e em curto tempo de contato (Kim *et al.*, 2003).

A capacidade de qualquer desinfetante de atingir o local onde os patógenos se alojam no alimento é um pré-requisito fundamental para a eficácia. Em solução aquosa, o ozônio tem uma penetração limitada em folhas de alface, atingindo poucos milímetros para logo em seguida, se autodecompõe durante o processo de difusão. Na forma gasosa, ele é capaz de atingir uma profundidade de 100 mm em vários minutos, contudo, pode reagir com materiais circundantes, o que reduz o grau de inativação (Shynkaryk *et al.*, 2015).

As diferentes estruturas superficiais de produtos frescos podem impactar significativamente a eficácia antimicrobiana da lavagem com água ozonizada operada sob vários parâmetros, incluindo tempo de ação, temperatura e pH (Xu e Wu, 2014). Tratamentos desinfetantes são menos eficazes quando aplicados a folhas verdes em comparação com outros vegetais não folhosos (Prado-Silva *et al.*, 2015).

6. Considerações finais

O ozônio apresenta ampla gama de aplicações na indústria de alimentos minimamente processados, tendo em vista a eficácia, fácil obtenção e segurança em sua utilização. O uso deve popularizar-se nos próximos anos, posto que se observa o surgimento de muitos aparelhos portáteis e de uso doméstico, com baixo custo, e que podem ser aplicados em uma infinidade de situações, que vão desde a desinfecção da água para uso recreacional (piscinas) até lavagem de utensílios de cozinha e alimentos. Pesquisas aprofundadas a respeito do tema devem ser estimuladas para reforçar a base científica sobre o assunto.

Conflito de interesses

Nenhum dos autores tem conflito de interesses a declarar.

Referências

- Aday, M.S. and Caner, C. (2014), "Individual and combined effects of ultrasound, ozone and chlorine dioxide on strawberry storage life", *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 57 No. 1, pp. 344–351.
- Adhikari, A., Chhetri, V.S., Bhattacharya, D., Cason, C., Luu, P. and Suazo, A. (2019), "Effectiveness of daily rinsing of alfalfa sprouts with aqueous chlorine dioxide and ozonated water on the growth of *Listeria monocytogenes* during sprouting", *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 69 No. 4, pp. 252–257.
- Alexopoulos, A., Plessas, S., Ceciu, S., Lazar, V., Mantzourani, I., Voidarou, C., Stavropoulou, E., *et al.* (2013), "Evaluation of ozone efficacy on the reduction of microbial population of fresh cut lettuce (*Lactuca sativa*) and green bell pepper (*Capsicum annuum*)", *Food Control*, Vol. 30 No. 2, pp. 491–496.
- Amani, J., Mirhosseini, S.A. and Imani Fooladi, A.A. (2015), "A review approaches to identify enteric bacterial pathogens.", *Jundishapur Journal of Microbiology*, Kowsar Medical Institute, Vol. 8 No. 2, p. e17473.
- Bardhan, P., Faruque, A.S.G., Naheed, A. and Sack, D.A. (2010), "Decrease in shigellosis-related deaths without *Shigella* spp.-specific interventions, Asia.", *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 16 No. 11, pp. 1718–23.
- Cataldo, F. (2008), "Ozone Decomposition of Patulin—A Micotoxin and Food Contaminant", *Ozone: Science & Engineering*, Vol. 30 No. 3, pp. 197–201.
- Chitravathi, K., Chauhan, O.P., Raju, P.S. and Madhukar, N. (2015), "Efficacy of Aqueous Ozone and Chlorine in Combination with Passive Modified Atmosphere Packaging on the Postharvest Shelf-Life Extension of Green

- Chillies (*Capsicum annum L.*), *Food and Bioprocess Technology*, Vol. 8 No. 6, pp. 1386–1392.
- Daş, E., Gürakan, G.C. and Bayindirli, A. (2006), "Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of *Salmonella Enteritidis* on cherry tomatoes.", *Food Microbiology*, Vol. 23 No. 5, pp. 430–8.
- Ferreira, W. F de S, Alencar, E. R de, Alves, H., Ribeiro, J. L and Silva CR da. (2017), Influence of pH on the efficacy of ozonated water to control microorganisms and its effect on the quality of stored strawberries (*Fragaria x ananassa Duch.*). *Ciência e Agrotecnologia*, Vol. 41 No. 6, pp.692–700.
- Freitas-Silva, O. and Venâncio, A. (2010), "Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review", *Drug Metabolism Reviews*, Vol. 42 No. 4, pp. 612–620.
- Garcia, A., Mount, J.R. and Davidson, P.M. (2003), "Ozone and Chlorine Treatment of Minimally Processed Lettuce", *Journal of Food Science*, Vol. 68 No. 9, pp. 2747–2751.
- Glowacz, M., Colgan, R. and Rees, D. (2015), "The use of ozone to extend the shelf-life and maintain quality of fresh produce", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 95 No. 4, pp. 662–671.
- Glowacz, M. and Rees, D. (2016), "The practicality of using ozone with fruit and vegetables", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 96 No. 14, pp. 4637–4643.
- Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K. and Seydim, A.C. (2004), "Use of ozone in the food industry", *LWT - Food Science and Technology*, Academic Press, Vol. 37 No. 4, pp. 453–460.
- Hambidge, A. (2001), "Reviewing efficacy of alternative water treatment techniques.", *Health Estate*, Vol. 55 No. 6, pp. 23–5.
- Han, Q., Gao, H., Chen, H., Fang, X. and Wu, W. (2017), "Precooling and ozone treatments affects postharvest quality of black mulberry (*Morus nigra*) fruits", *Food Chemistry*, Vol. 221, pp. 1947–1953.
- Hanning, I.B., Nutt, J.D. and Ricke, S.C. (2009), "Salmonellosis outbreaks in the united states due to fresh produce: sources and potential intervention measures", *Foodborne Pathogens and Disease*, Vol. 6 No. 6, pp. 635–648.
- Heaton, J.C. and Jones, K. (2008), "Microbial contamination of fruit and vegetables and the behaviour of enteropathogens in the phyllosphere: a review", *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 104 No. 3, pp. 613–626.
- Ikehata, K. and Gamal El-Din, M. (2005), "Aqueous Pesticide Degradation by Ozonation and Ozone-Based Advanced Oxidation Processes: A Review (Part II)", *Ozone: Science & Engineering*, Vol. 27 No. 3, pp. 173–202.
- Khadre, M.A., Yousef, A.E. and Kim, J.G. (2001), "Microbiological aspects of ozone applications in food: A review", *Journal of Food Science*, Vol. 66 No.

- 9, pp. 1242–1252.
- Khuntia, S., Majumder, S.K. and Ghosh, P. (2013), “Removal of ammonia from water by ozone microbubbles”, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, Vol. 52 No. 1, pp. 318–326.
- Kim, J.G., Yousef, A.E. and Dave, S. (1999), “Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review”, *Journal of Food Protection*, Vol. 62 No. 9, pp. 1071–1087.
- Kim, J.G., Yousef, A.E. and Khadre, M.A. (2003), “Ozone and its current and future application in the food industry.”, *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 45, pp. 167–218.
- Kumar, D.G. and Ravishankar, S. (2019), “Ozonized water with plant antimicrobials: An effective method to inactivate *Salmonella enterica* on iceberg lettuce in the produce wash water.”, *Environmental Research*, Academic Press Inc., Vol. 171, pp. 213–217.
- Liu, J., Chang, M.C., Meng, J.L., Liu, J.Y., Cheng, Y.F. and Feng, C.P. (2020), “Effect of ozone treatment on the quality and enzyme activity of *Lentinus edodes* during cold storage”, *Journal of Food Processing and Preservation*, available at:<https://doi.org/10.1111/jfpp.14557>.
- Mahajan, P. V, Caleb, O.J., Singh, Z., Watkins, C.B. and Geyer, M. (2014), “Postharvest treatments of fresh produce”, *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, Vol. 372 No. 2017, available at:<https://doi.org/10.1098/rsta.2013.0309>.
- Martinelli, M., Giovannangeli, F., Rotunno, S., Trombetta, C.M. and Montomoli, E. (2017), “Water and air ozone treatment as an alternative sanitizing technology”, *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, Vol. 58 No. 1, pp. E48–E52.
- Miller, F.A., Silva, C.L.M. and Brandão, T.R.S. (2013), “A Review on Ozone-Based Treatments for Fruit and Vegetables Preservation”, *Food Engineering Reviews*, Vol. 5 No. 2, pp. 77–106.
- Mochi, V. T. (2010). Montagem e desenvolvimento experimental de uma unidade de ozonização, pp.1-136.
- Nie, M., Wu, C., Xiao, Y., Song, J., Zhang, Z., Li, D. and Liu, C. (2020), “Efficacy of aqueous ozone combined with sodium metasilicate on microbial load reduction of fresh-cut cabbage”, *International Journal of Food Properties*, Vol. 23 No. 1, pp. 2065–2076.
- Ölmez, H. and Akbas, M.Y. (2009), “Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce”, *Journal of Food Engineering*, Vol. 90 No. 4, pp. 487–494.
- Pang, Y.-H. and Hung, Y.-C. (2016), “Efficacy of Slightly Acidic Electrolyzed Water and UV-Ozonated Water Combination for Inactivating *Escherichia Coli* O157:H7 on Romaine and Iceberg Lettuce during Spray Washing Process.”, *Journal of Food Science*, United States, Vol. 81 No. 7, pp. M1743-8.

- Perry, J.J. and Yousef, A.E. (2011), "Decontamination of Raw Foods Using Ozone-Based Sanitization Techniques", *Annual Review of Food Science and Technology*, Vol. 2 No. 1, pp. 281–298.
- Phaephiphat, A. and Mahakarnchanakul, W. (2018), "Surface decontamination of Salmonella Typhimurium and Escherichia coli on sweet basil by ozone microbubbles", *COGENT FOOD & AGRICULTURE*, TAYLOR & FRANCIS AS, KARL JOHANS GATE 5, NO-0154 OSLO, NORWAY, Vol. 4 No. 1, available at:<https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1558496>.
- Pires, S.M., Vieira, A.R., Hald, T. and Cole, D. (2014), "Source attribution of human salmonellosis: an overview of methods and estimates.", *Foodborne Pathogens and Disease*, Vol. 11 No. 9, pp. 667–76.
- Pott, D.M., Vallarino, J.G. and Osorio, S. (2020), "Metabolite Changes during Postharvest Storage: Effects on Fruit Quality Traits.", *Metabolites*, Vol. 10 No. 5, available at:<https://doi.org/10.3390/metabo10050187>.
- Pounraj, S., Bhilwadikar, T., Manivannan, S., Rastogi, N.K. and Negi, P.S. (2020). "Effect of ozone, lactic acid and combination treatments on the control of microbial and pesticide contaminants of fresh vegetables", *JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE*, available at:<https://doi.org/10.1002/jsfa.10972>.
- Prado-Silva, L., Cadavez, V., Gonzales-Barron, U., Rezende, A.C.B. and Sant'Ana, A.S. (2015), "Meta-analysis of the effects of sanitizing treatments on Salmonella, Escherichia coli O157:H7, and Listeria monocytogenes inactivation in fresh produce.", *Applied and Environmental Microbiology*, United States, Vol. 81 No. 23, pp. 8008–8021.
- Ramaswamy, V., Cresence, V.M., Rejitha, J.S., Lekshmi, M.U., Dharsana, K.S., Prasad, S.P. and Vijila, H.M. (2007), "Listeria--review of epidemiology and pathogenesis.", *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi*.
- Reiswig, J. (2010). Mendeleev. *Journal of the Medical Library Association*, Vol. 98, No. 2, pp. 193-194.
- Ryser, E.T. and Marth, E.H. (1989), "'New' food-borne pathogens of public health significance.", *Journal of the American Dietetic Association*, Vol. 89 No. 7, pp. 948–54.
- Sarron, E., Gadonna-Widehem, P. and Aussenac T. (2021). Ozone treatments for preserving fresh vegetables quality: A critical review. *Foods*, Vol. 10 No 3, pp. 1-39.
- Schuh, V., Schuh, J., Fronza, N., Foralosso, F.B., Verruck, S., Vargas Junior, A. and Silveira, S.M. da. (2020), "Evaluation of the microbiological quality of minimally processed vegetables", *Food Science and Technology*, Vol. 40 No. 2, pp. 290–295.
- Selma, M., Beltran, D., Allende, A., Chaconvera, E. and Gil, M. (2007), "Elimination by ozone of Shigella sonnei in shredded lettuce and water",

- Food Microbiology*, Vol. 24 No. 5, pp. 492–499.
- Selma, M. V, Allende, A., López-Gálvez, F., Conesa, M.A. and Gil, M.I. (2008), “Disinfection potential of ozone, ultraviolet-C and their combination in wash water for the fresh-cut vegetable industry”, *Food Microbiology*, Vol. 25 No. 6, pp. 809–814.
- Selma, M.V., beltrán, D., Chacón-Vera, E. and Gil, M.I. (2006), “Effect of Ozone on the Inactivation of *Yersinia enterocolitica* and the Reduction of Natural Flora on Potatoes”, *Journal of Food Protection*, Vol. 69 No. 10, pp. 2357–2363.
- Sharpe, D., Fan, L., McRae, K., Walker, B., MacKay, R. and Doucette, C. (2009), “Effects of ozone treatment on *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* in relation to horticultural product quality.”, *Journal of Food Science*, Vol. 74 No. 6, pp. M250-7.
- Shynkaryk, M. V, Pyatkovskyy, T., Mohamed, H.M., Yousef, A.E. and Sastry, S.K. (2015), “Physics of Fresh Produce Safety: Role of Diffusion and Tissue Reaction in Sanitization of Leafy Green Vegetables with Liquid and Gaseous Ozone-Based Sanitizers.”, *Journal of Food Protection*, United States, Vol. 78 No. 12, pp. 2108–2116.
- Singh, N., Singh, R.K., Bhunia, A.K. and Stroshine, R.L. (2002), “Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots”, *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 35 No. 8, pp. 720–729.
- Skowron, K., Wałęcka-Zacharska, E., Grudlewska, K., Białucha, A., Wiktorczyk, N., Bartkowska, A., Kowalska, M., *et al.* (2019), “Biocidal Effectiveness of Selected Disinfectants Solutions Based on Water and Ozonated Water against *Listeria monocytogenes* Strains.”, *Microorganisms*, Vol. 7 No. 5, available at:<https://doi.org/10.3390/microorganisms7050127>.
- Tack, D.M., Marder, E.P., Griffin, P.M., Cieslak, P.R., Dunn, J., Hurd, S., Scallan, E., *et al.* (2019), “Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. sites, 2015–2018”, *American Journal of Transplantation*, Vol. 19 No. 6, pp. 1859–1863.
- Tango, C.N., Choi, N.J., Chung, M.S. and Oh, D.H. (2014), “Bacteriological quality of vegetables from organic and conventional production in different areas of Korea.”, *Journal of Food Protection*, Vol. 77 No. 8, pp. 1411–7.
- Traore, M.B., Sun, A., Gan, Z., Senou, H., Togo, J. and Fofana, K.H. (2020), “Antimicrobial capacity of ultrasound and ozone for enhancing bacterial safety on inoculated shredded green cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*).”, *Canadian Journal of Microbiology*, Canada, Vol. 66 No. 2, pp. 125–137.
- Trinetta, V., Vaidya, N., Linton, R. and Morgan, M. (2011), “A comparative study on the effectiveness of chlorine dioxide gas, ozone gas and e-beam irradiation treatments for inactivation of pathogens inoculated onto tomato,

- cantaloupe and lettuce seeds”, *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 146 No. 2, pp. 203–206.
- Troeger, C., Forouzanfar, M., Rao, P.C., Khalil, I., Brown, A., Reiner, R.C., Fullman, N., *et al.* (2017), “Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015”, *The Lancet Infectious Diseases*, Vol. 17 No. 9, pp. 909–948.
- Vivek, K. (2019), “A review on postharvest management and advances in the minimal processing of fresh-cut fruits and vegetables”, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, Vol. 8 No. 5, pp. 1178–1187.
- World Health Organization. (2015), “Estimates of the global burden of foodborne diseases”, pp. 1–265.
- Wu, J., Luan, T., Lan, C., Hung Lo, T.W. and Chan, G.Y.S. (2007), “Removal of residual pesticides on vegetable using ozonated water”, *Food Control*, Vol. 18 No. 5, pp. 466–472.
- Xu, W. and Wu, C. (2014), “Different efficiency of ozonated water washing to inactivate *Salmonella enterica typhimurium* on green onions, grape tomatoes, and green leaf lettuces.”, *Journal of Food Science*, United States, Vol. 79 No. 3, pp. 378-383.
- Yuk, H.G., Yoo, M.Y., Yoon, J.W., Moon, K.D., Marshall, D.L. and Oh, D.H. (2006), “Effect of Combined Ozone and Organic Acid Treatment for Control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Lettuce”, *Journal of Food Science*, Vol. 71 No. 3, pp. 83–87.

1 **2 ARTIGO A SER ENVIADO PARA O PERIÓDICO FOOD CONTROL**

2

3 **Eficácia da água ozonizada no controle de patógenos bacterianos em**
4 **alfaces: revisão sistemática com meta-análise**

5

6

7 1.Cristina Atsumi Kuba^a; 2.Raphaela Primolan Rocha^a; 3.Camila Akemi Derré
8 Mitooka^a; 4.José Roberto Gálio Junior^a; 5.Ana Clara Campagnolo Gonçalves
9 Toledo^a; 6.Ana Karênina Dias de Almeida Sabela^a; 7.Francislaire Anelize Garcia
10 Santos^a; 8.Rogério Giuffrida^a

11 ^a: Universidade do Oeste Paulista, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação -
12 Campus II, Rodovia Raposo Tavares, km 572 - Bairro Limoeiro CEP 19067-175 -
13 Presidente Prudente – SP – Brasil.

14 **Endereços de e-mails:**

15 1.cris_kuba@hotmail.com;
16 4.junior1.galio1@gmail.com;
17 5.anaclara@unoeste.br;
18 6.anakarenina@unoeste.br;
19 7.garciasantos.fa@gmail.com;
20 8.rgiuffrida@unoeste.br.

21

22 **Autores para correspondência:**

23 Cristina Atsumi Kuba, e-mail: cris_kuba@hotmail.com;

24 Rogério Giuffrida, e-mail: rgiuffrida@unoeste.br

25

26

27

28

29

RESUMO

30

31 As doenças infecciosas são problemas de saúde pública e ocorrem
32 principalmente pela ingestão de alimentos contaminados. As hortaliças, como a
33 alface, são facilmente contaminadas com patógenos bacterianos pelo sistema de
34 plantio e contaminação cruzada. O ozônio é um gás utilizado para desinfecção
35 de alimentos e considerado mais vantajoso do que o cloro em razão da baixa
36 toxicidade, sem gerar resíduos tóxicos nos alimentos e água. O objetivo do
37 estudo foi avaliar o efeito microbicida do ozônio em alfaces para *Escherichia coli*.
38 e *Salmonella entérica*. O estudo foi realizado a partir da determinação do
39 acrônimo PICO, composto pelos elementos: População= alface minimamente
40 processado (*Lactuca sp.*); Intervenção= desinfecção com ozônio em solução
41 aquosa; Controle = alface higienizado; Desfecho= estimativas de abundância
42 (EA) dos microrganismos expressos em log (UFC)/g. As publicações científicas
43 foram pesquisadas em nove bases indexadas: *Agris*, *Embase*, *Lilacs*, *SciELO*,
44 *Medline*, *Science Direct*, *Scopus*, *Springer Link* e *Web of Science*, disponíveis
45 eletronicamente e publicados entre 1980 e 2020. Os Unitermos utilizados foram
46 “Lettuce”, “Lactuca sativa”, “Lactuca virosa”, “Lactuca serriola”, “Lactuca
47 scariola”, “Lactuca sativa var. crispa”, “Lactuca sativa capitata”, “Lactuca sativa
48 var. longifolia”, “Fresh cut”, “Ozon*” “Salmonella”, “Escherichia coli”, “E. coli” e
49 “Escherichia Coli O157”. Após exclusão de publicações sem o PICO, ou com
50 possíveis fontes extra, foram incluídas seis publicações divididas em duas meta-
51 análises de modelo aleatório (ozônio em solução aquosa por até 5 minutos x
52 *Salmonella spp.* e, ozônio em solução aquosa por até 5 minutos x *E. coli*) e uma
53 de efeito fixo (ozônio em solução aquosa por mais de 5 minutos x *E. coli*).
54 Apenas uma publicação abordou *S. aureus*, sendo excluída da pesquisa. As
55 meta-análises foram conduzidas no pacote “metafor” do R, com determinação da
56 heterogeneidade pelo cálculo do I^2 de Higgins e teste Q de Cochran. Os *forest-*
57 *plots* não indicaram efeito significativo da solução aquosa na redução das
58 médias das EA de *Salmonella* e *E. coli* em tempo de exposição superior a 5
59 minutos. O ozônio em solução aquosa apresentou ação efetiva sobre *E. coli*
60 (redução de 3.13 fases logarítmicas), quando utilizada até 5 minutos. Por essa
61 razão os resultados reforçam a utilidade do ozônio em solução aquosa no
62 controle de *E. coli* em até 5 minutos exposição.

63 **Palavras-chaves:** Ozônio. Alface. Água. Sanitizante. *Escherichia coli*.
64 *Salmonella entérica*.

65 **1. Introdução**

66 As doenças infecciosas de origem alimentar representam um problema de
67 saúde pública e são frequentemente referidas como doenças negligenciadas,
68 devido à subnotificação às autoridades de saúde pública, o que faz com que os
69 agentes etiológicos não recebam o mesmo nível de atenção de outras doenças
70 (Bottichio et al., 2020; Luna-Guevara et al., 2019).

71 Uma das hortaliças mais consumidas são as alfaces (*Lactuca sp.*) e estes
72 vegetais contaminam-se facilmente com patógenos bacterianos que formam
73 biofilmes, capazes, muitas vezes de tornar os microrganismos resistentes à
74 vários tratamentos com desinfetantes e antimicrobianos (Amrutha et al., 2017;
75 Bencardino et al., 2018; Galié et al., 2018; Nunes-Carvalho et al., 2020; Shatilov
76 et al., 2019).

77 O cloro é o princípio ativo utilizado para sanitização de hortaliças, sendo
78 considerado de fácil disponibilidade, de baixo custo, eficaz e com ação
79 comprovada na eliminação de vírus e bactérias (Anfruns-Estrada et al., 2019). A
80 constatação dos riscos ambientais e a saúde pelo uso de cloro acarretou a
81 proibição do uso na produção orgânica na Europa, além de gerar uma tendência
82 a exclusão do cloro nos procedimentos de desinfecção, fazendo-se necessário
83 sanitizantes alternativos para hortaliças minimamente processadas (HMP) e
84 alimentos convencionais, visto que apresenta capacidade de reação com a
85 matéria orgânica, produzindo subprodutos com ações altamente tóxicas,
86 ocasionando riscos potenciais à saúde pública (How et al., 2017; Ngwenya et al.,
87 2013).

88 Uma alternativa ao uso do cloro é a desinfecção com ozônio, considerado
89 seguro e eficaz por apresentar uma capacidade de autodecomposição, não
90 gerador de resíduos tóxicos, além de não deixar resíduos nos alimentos (Kim et
91 al., 2003), fato que vem despertando atenção a aplicação do mesmo em todo o
92 mundo (Ngwenya et al., 2013).

93 O ozônio na forma gasosa, tem sido utilizado para estender o tempo de
94 vida de prateleira de frutas e hortaliças, com vantagens em relação à solução
95 clorada, que ao contrário do gás, pode ser absorvida pelos alimentos,

96 aumentando o teor de umidade, o que reduz o prazo de validade do alimento
97 (Glowacz & Rees, 2016). Uma possível desvantagem do ozônio é que, em
98 concentrações altas, pode alterar a qualidade nutricional e sensorial do alimento.
99 Contudo, estas alterações dependem da composição química do alimento, da
100 dosagem de ozônio e das condições do tratamento utilizado (Brodowska et al.,
101 2018; Kim et al., 2003).

102 Diante do exposto, um estudo meta-analítico sobre a eficácia da água
103 ozonizada sobre microrganismos de importância em saúde pública em alimentos
104 folhosos, pode permitir direcionar o uso deste processo para o controle
105 específico de alguns patógenos. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da
106 água ozonizada para redução dos patógenos bacterianos *Escherichia coli* e
107 *Salmonella* em alfaces por meio de um estudo meta-analítico com revisão
108 sistemática.

109

110 **2. Métodos**

111

112 **2.1 PICO**

113 Foi realizada uma revisão sistemática e, após, foi iniciado um estudo de
114 meta-análise a partir da estratégia PICO, que é representada por um acrônimo
115 para População, Intervenção, Comparação e “Outcomes” (desfecho). A
116 população (P) foi especificada em alfaces (*Lactuca sp.*), de qualquer variedade e
117 espécie, inoculados artificialmente com qualquer concentração dos patógenos
118 bacterianos *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* A intervenção (I) ou tratamento foi
119 representada pela operação da unidade de desinfecção com ozônio diluído em
120 solução aquosa, em qualquer concentração, com subdivisão em dois períodos:
121 tempo de ação igual ou inferior a 5 minutos e tempo de ação superior a 5
122 minutos. O desfecho (O) medido foi a concentração dos patógenos nas alfaces
123 submetidas ao tratamento, expressos como número de fases logarítmicas das
124 estimativas de abundância bacteriana contadas em placas (Unidades
125 Formadoras de Colônia/g) de forma similar ao que é realizado em outros estudos
126 que abordam o tema (Prado-Silva et al., 2015). Foram considerados como
127 controles (C) as alfaces que não receberam tratamento com ozônio ou que
128 receberam tratamento com elemento inerte (água deionizada ou esterilizada).

129 **2.2 Descritores**

130

131 Foram identificados na literatura, por meio de busca eletrônica em base de
132 dados com termos-chave, sinônimos e palavras relacionadas, incluindo-se as
133 bases de dados bibliográficas *Agris*, *Embase*, *Lilacs*, *Medline*, *SciElo*, *Science*
134 *Direct*, *Scopus*, *Springer Link* e *Web of Science*. Os descritores utilizados na
135 busca foram “Lettuce”, “*Lactuca sativa*”, “*Lactuca virosa*”, “*Lactuca serriola*”,
136 “*Lactuca scariola*”, “*Lactuca sativa* var. *crispa*”, “*Lactuca sativa capitata*”,
137 “*Lactuca sativa* var. *longifolia*”, “Fresh cut”, “Ozon*” “*Salmonella*”, “*Escherichia*
138 *coli*”, “*E. coli*” e “*Escherichia coli* O157”. Os trabalhos selecionados foram
139 incluídos no gerenciador de referências Mendeley, sendo excluídos publicações
140 duplicadas (Reiswig, 2010).

141

142 **2.3 Bases de dados**

143 O processo de seleção dos estudos foi realizado por dois revisores
144 independentes (Kuba & Sabela), caso necessário, um terceiro revisor (Giuffrida)
145 foi consultado. As publicações científicas foram pesquisadas nas bases
146 indexadas *Agris*, *Embase*, *Lilacs*, *SciElo*, *Medline*, *Science Direct*, *Scopus*,
147 *Springer Link* e *Web of Science*, disponíveis eletronicamente. Para a busca nas
148 bases *Science Direct*, *Scopus*, *Springer Link* e *Web of Science*, foi realizada a
149 seleção de apenas artigos científicos publicados entre os anos de 1980 a 2020,
150 pois o volume de estudos captados nessas bases foi elevado em razão do
151 aparecimento de revisões de literatura, capítulos de livro e resumos. Os artigos
152 científicos captados nas buscas foram triados e os critérios para inclusão dos
153 trabalhos foram os que utilizaram o ozônio para desinfecção de *Escherichia coli*.
154 e *Salmonella enterica* em alfaces minimamente processadas. Os critérios de
155 exclusão foram para revisões, capítulos de livro e publicações que não
156 apresentam os elementos básicos do PICO.

157

158 **2.4 Critérios de seleção e análise das variáveis**

159 A redução na concentração de patógenos nas alfaces devido ao tratamento
160 de desinfecção foi considerada como uma variável contínua, com o objetivo de

161 compatibilizar os resultados dos estudos para análise. Utilizou-se a diferença
162 bruta entre as médias dos grupos controle e tratado, para condução das
163 comparações, calculada com a expressão (Nakagawa & Cuthill, 2007):

$$164 \quad DM = MC - MT$$

165 Onde:

166 DM = Diferença média;

167 MC = Média do grupo controle;

168 MT = Média do grupo tratado.

169 Foram realizadas quatro meta-análises: Meta-análise 1= redução nas
170 contagens bacterianas nas alfaces com ação do ozônio por até 5 minutos,
171 independente do microrganismo, estratificada pelo tempo de exposição (0,5, 1,
172 2, 3, 4 e 5 minutos); Meta-análise 2= redução nas contagens bacterianas com
173 ação do ozônio por mais de 5 minutos, independente do microrganismo,
174 estratificada pelo tempo de exposição (10, 15, 30 e acima de 30 minutos); Meta-
175 análise 3= redução média dos períodos avaliados, nas contagem bacterianas
176 após ação do ozônio por até 5 minutos, estratificada por microrganismo (*E. coli* e
177 *Salmonella*); Meta-análise 4= redução média dos períodos avaliados, na
178 contagem de microrganismos após ação do ozônio por mais de 5 minutos,
179 estratificada por microrganismo (*E. coli* e *Salmonella*).

180 Nas publicações que informaram apenas o erro padrão, procedeu-se a
181 conversão para o desvio-padrão multiplicando o valor por raiz do número de
182 observações (n). Para estudos que informaram apenas o valor dos intervalos de
183 confiança a 95% para estimativas das médias, o desvio padrão foi calculado
184 dividindo-se a amplitude do intervalo por 4,0.

185 Para estudos que testaram mais de uma concentração de ozônio na água,
186 selecionou-se para a meta-análise o efeito da maior concentração descrita. Em
187 um dos trabalhos, foi utilizado mais de um meio de cultura para enumeração de
188 *E. coli* O157:H7 (Inatsu, 2013), com resultados diferentes entre as estimativas de
189 abundância para o meio tripticase de soja e Mac Conkey Sorbitol Agar, sendo
190 adotado o segundo, por ser mais amplamente empregado (Jensen et al., 2013).

191 Para estudos que não informaram o valor de desvio padrão (Nepal Singh et
192 al., 2001), procedeu-se a imputação pelo valor médio (Furukawa et al., 2006).
193 Uma análise de sensibilidade foi procedida para verificar se a imputação
194 modificou significativamente os resultados do estudo, a fim de determinar se o
195 método de imputação foi adequado.

196 Para estudos que informaram os resultados na forma de figuras, utilizou-se
197 o pacote “*metagear*” implementado no R para estimar os resultados das médias
198 e desvio-padrões presentes nos gráficos de barras (Lajeunesse, 2016). Nos
199 casos em que as figuras não estavam com resolução suficientemente alta para a
200 leitura pelo algoritmos do pacote, recorreu-se as ferramentas manuais de
201 mensuração implementadas no programa *imageJ* (Bourne & Bourne, 2010).

202 Foram utilizados modelos fixos e aleatórios, que foram considerados para
203 interpretar os dados, na dependência da heterogeneidade detectada pelas
204 estatísticas I^2 de Hiigins e Q de Cochran. A partir dos modelos foram construídos
205 *Forest-plots* para permitir a visualização do efeito do ozônio e possíveis
206 diferenças na ação sobre agentes patogênicos (Lee, 2018). Foi utilizado o
207 pacote “*metafor*” do R para realização de todas as análises (Viechtbauer, 2010).

208 Não existem protocolos específicos para controle de viés em estudos meta-
209 analíticos para processamento de amostras de alimentos. Desta forma, adaptou-
210 se por similaridade de procedimentos, o protocolo PRISMA (Moher et al., 2015).
211 Foram consideradas potenciais fontes de viés: ausência de grupos controle, uso
212 de cepas bacterianas não padronizadas para a inoculação, ausência da
213 descrição do modo de preparos dos inóculos, descrição inadequada da forma de
214 preparo das alfaces (pré-limpeza, corte e porcionamento) e ausência de
215 monitoramento da concentração do ozônio na água durante o processo.

216

217 **3. Resultados**

218 Foram selecionados 37 estudos elegíveis, dos quais, após leitura
219 detalhada, 12 foram incluídos na meta-análise para *E. coli* (Cavalcante, Leite
220 Júnior, Tribst, & Cristianini, 2015; Inatsu et al., 2013; Inatsu et al., 2011; Kang,
221 Kim, Park, & Lee, 2013; Karaca & Velioglu, 2014; Ölmez, 2010; Pang & Hung,
222 2016; Singh, Singh, Bhunia, & Stroshine, 2002a, 2002b; Singh et al., 2001;
223 Sengun & Kendirci, 2018; Yuk et al., 2006) e quatro na meta-análise para

224 *Salmonella*, (Inatsu et al., 2011; Sengun, 2013; Xu & Wu, 2014; Sengun &
225 Kendirci, 2018) (Tabela1). Estes estudos descreveram a sequência de preparo e
226 padronização dos inóculos bacterianos usando cepas de referência, forma de
227 inoculação nas alfaces (imersão em água ozonizada com ou sem
228 borbulhamento, com respectiva descrição técnica do gerador), forma de
229 lavagem, e método utilizado para quantificar os microrganismos nas alfaces
230 (Tabela 2). A exceção foi um dos trabalhos que descreveu a detecção coliformes
231 termotolerantes naturalmente presentes nas alfaces (Cavalcante et al., 2015), ao
232 invés de cepas inoculadas, optando-se, contudo, por mantê-lo na análise por
233 apresentar baixo risco de viés.

234 A avaliação do risco de viés dos estudos incluídos nas meta-análises está
235 sumarizada na Tabela 3 e o organograma de seleção dos estudos está
236 apresentado na figura 1.

237

238

239

240 Tabela 1. Dados dos estudos incluídos para as meta-análises

241

Microrganismo	Estudo	Tamanho amostral	Tempo de ação (min)	Redução (log UFC)
<i>E. coli</i>	Singh, 2001	3	10	1.20
	Singh et al, 2002-a	3	360	1.11
			1440	1.19
			1	0.90
	Singh et al, 2002-b	9	5	0.82
			10	0.77
			15	0.78
			0.5	0.39
	Yuk et al., 2006	4	1	1.01
			4	1.01
			5	1.12
			2	1.94
			3	7.4
	Olmez, 2010	3	2	1.94
	Inatsu, 2011	6	3	7.4
	Inatsu et al. 2013	4	3	0.70
	Kang et al., 2013	4	10	1.50
			30	2.63
	Karaca & Velioglu, 2014	3	15	2.07
	Cavalcante et al., 2015	21	1	1.75
2			1.55	
3			1.93	
Pang & Hung, 2016	6	5	2.04	
		10	2.70	
		15	2.73	
Sengun & Kendirci, 2018	3	5	2.45	
		10	2.51	
		15	2.07	
<i>Salmonella</i>	Inatsu et al., 2011	5	3	6.70
			3	0.92
	Sengun, 2013	3	5	2.02
			10	1.20
			1	0.98
	Xu & Wu, 2014	6	5	3.34
			10	1.33
			5	1.02
	Sengun & Kendirci, 2018	3	5	1.02
			10	0.88
15			1.09	

242 Fonte: autores (2020).

243

244

245

246

247 Tabela 2. Parâmetros gerais dos estudos incluídos na meta-análise

Número	Estudo	Concentrações de ozônio	Método de geração de ozônio	Inóculos	Meio para enumeração de microrganismos
1	Singh, 2001	15 mg/L	Borbulhamento	E. coli O157:H7 cepas C7927, EDL933 e 204P	Agar Mac Conkey sorbitol
2	Singh <i>et al.</i> , 2002-a	5.2, 9.7, e 16.5 mg/L	Água ozonizada	E. coli O157:H7 cepas C7927, EDL933, e 204P)	Agar Mac Conkey sorbitol
3	Singh <i>et al.</i> , 2002-b	10 mg/L	Água ozonizada	E. coli O157:H7 cepas C7927, EDL933 e 204P	Agar Mac Conkey sorbitol
4	Yuk <i>et al.</i> , 2006	1, 3, e 5 ppm	Água ozonizada	O157:H7 cepa 932 (isolado humano) e 933 (isolado bovino)	Agar Mac Conkey sorbitol
5	Olmez, 2010	1.5 ppm	Borbulhamento	Escherichia coli ATCC 25922	Rapid E. coli
6	Inatsu, 2011	5.44 mg/L	Borbulhamento	Escherichia coli O157:H7 CR-3 Salmonella Enteritidis JCM1652	Agra deoxicolato Agar Mac Conkey sorbitol
7	Inatsu <i>et al.</i> 2013	5.44 mg/L	Borbulhamento na água e água ozonizada	E. coli O157:H7 (CR-3, MN-28, MY-29 e DT-66	Agar Mac Conkey sorbitol
8	Kang <i>et al.</i> , 2013	0,4 ppm	Água ozonizada	E. coli O157:H7 KTCC 33150	LB agar
9	Sengun, 2013	0.5, 1.0 e 1.5 ppm	Água ozonizada	Salmonella Typhimurium ATCC 13311	Ágar sulfito-bismuto
10	Karaca & Velioglu, 2014	12.0 ± 0.5 mg/L	Água ozonizada	E. coli Type 1 [NRLL B-3008	Fluorocult Violet Red Bile
11	Xu & Wu, 2014	0.15, 0.25 e 0.55 ppm	Borbulhamento	Salmonella Typhimurium DT104	XLD agar
12	Cavalcante <i>et al.</i> , 2015	1,0 mg/L	Borbulhamento na água	Contaminação natural	Caldo E. coli (estimativa por NMP)
13	Pang & Hung, 2016	0.5 mg/L	Água ozonizada	E. coli O157:H7 932 (isolado humano) e E009 (isolado bovino)	Agar Mac Conkey sorbitol
14	Sengun & Kendirci, 2018	0–2.3 mg/L	Água ozonizada	Salmonella Typhimurium ATCC 13311 Escherichia coli ATCC 1103	Ágar Sulfito Bismuto e agra eosina azul de metileno

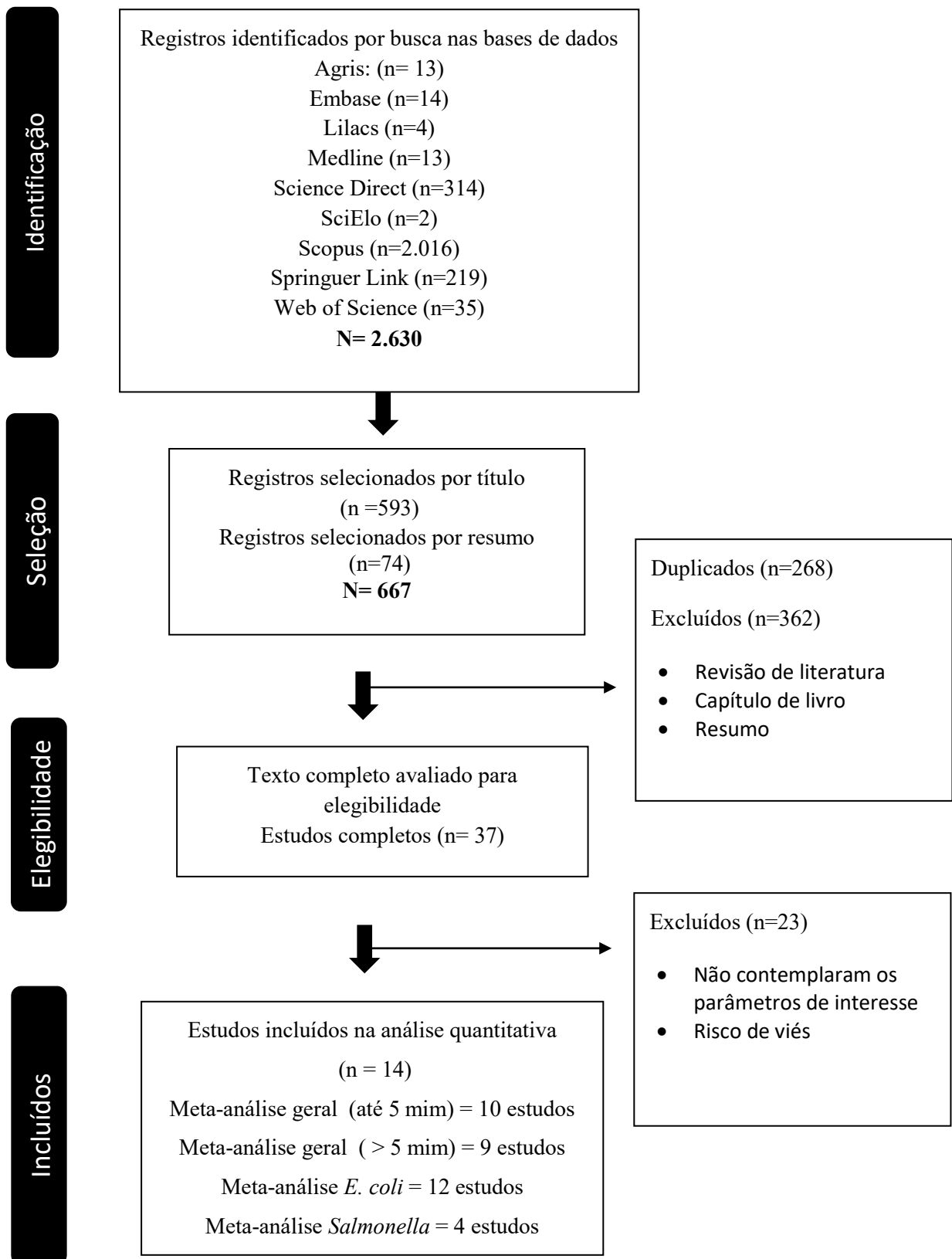
248 Fonte: autores (2020).

249 Tabela 3. Avaliação do risco de viés dos estudos incluídos para as meta-análises.

Número	Estudo	Ausência de grupo controle	Cepas bacterianas não padronizadas	Método de monitoramento do ozônio (teste colorimétrico)	Pré-processamento das alfaces
1	Singh, 2001	Não	Sim	Sim	Sim
2	Singh <i>et al.</i> , 2002-a	Não	Sim	Sim	Sim
3	Singh <i>et al.</i> , 2002-b	Não	Sim	Sim	Sim
4	Yuk <i>et al.</i> , 2006	Não	Sim	Sim	Sim
5	Olmez, 2010	Não	Sim	Sim	Sim
6	Inatsu 2011	Não	Sim	Sim	Sim
7	Inatsu <i>et al.</i> 2013	Não	Sim	Sim	Sim
8	Kang <i>et al.</i> , 2013	Não	Sim	Sim	Sim
9	Sengun, 2013	Não	Sim	Sim	Sim
10	Karaca & Velioglu, 2014	Não	Sim	Sim	Sim
11	Xu & Wu, 2014	Não	Sim	Sim	Sim
12	Cavalcante <i>et al.</i> , 2015	Não	Não	Sim	Sim
13	Pang & Hung, 2016	Não	Sim	Sim	Sim
14	Sengun & Kendirci, 2018	Não	Sim	Sim	Sim

250 Fonte: autores (2020).

251

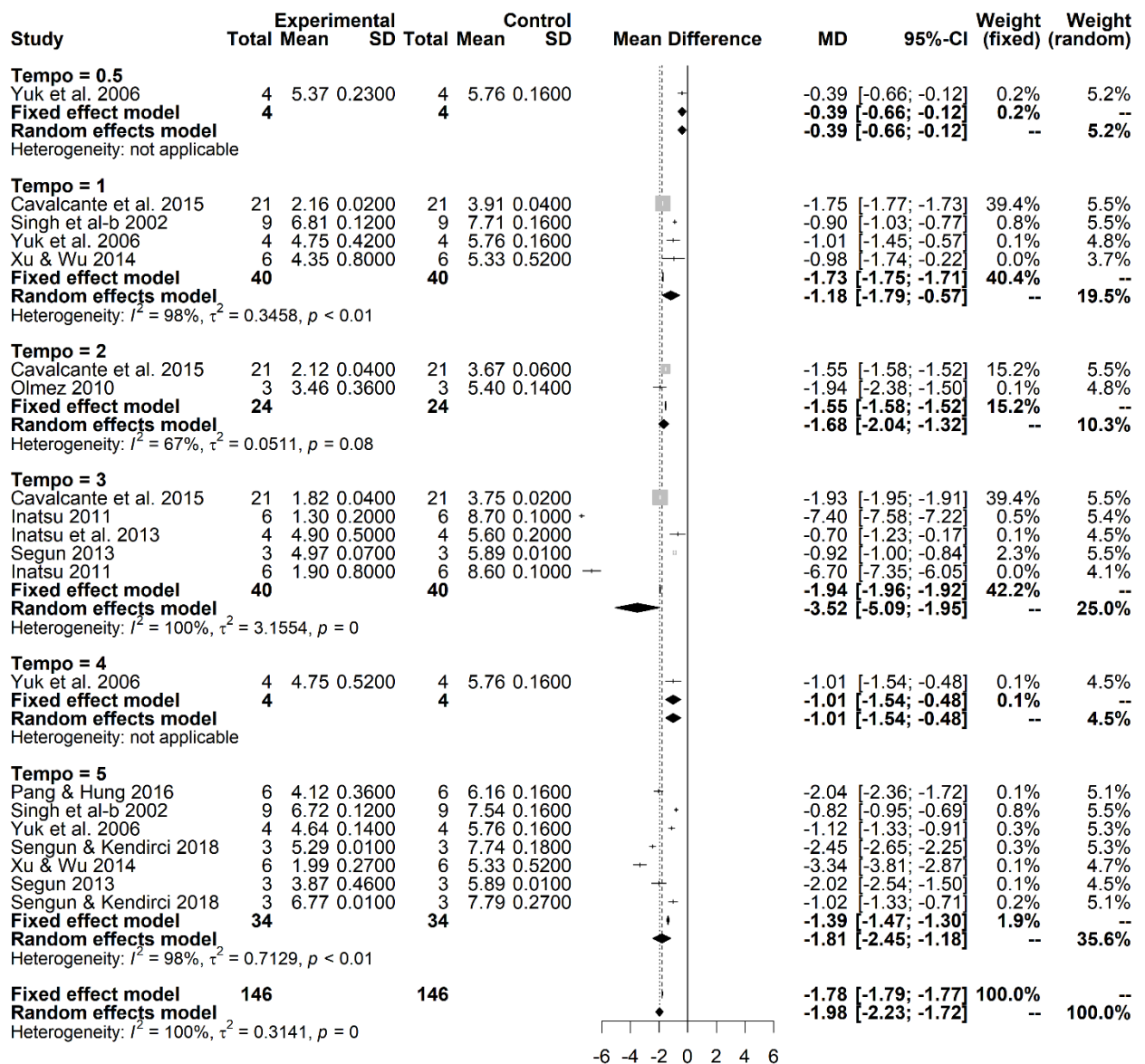


255 Dentre as 14 publicações incluídas no estudo, 12 abordaram somente *E.*
256 *coli*, duas apenas *Salmonella*, e duas ambas as espécies. A maioria abordou o
257 sorotipo de *E. coli* O157:H7, considerado microrganismo associado a diversos
258 surtos de enterite hemorrágica em países da América, Ásia e Europa (Hogg et
259 al., 2009).

260 As porções de alface inoculadas com as bactérias, antes do tratamento
261 com ozônio, variaram de 10 a 100 g, todos na forma fracionada (tiras ou
262 quadrados). As concentrações de ozônio mensuradas nos processos de
263 desinfecção variaram de 0,15 a 16,5 mg/L. As concentrações dos inóculos nas
264 alfaces submetidas aos tratamentos, variou de 2 a 9 fases logarítmicas dos
265 microrganismos estudados. O número de repetições por estudo variou de 3 a
266 21, sendo os ensaios de desinfecção procedidos em temperaturas de 4 a 25°C.

267 Para todas as meta-análises foi possível gerar *forest-plots* (figuras 2 a
268 5). As meta-análises apresentaram heterogeneidade significativa, optando-se
269 pelo modelo de efeitos randômicos para todas as interpretações.

270



271

272 Fonte: autores (2020).

273 **Figura 2** – Forest plot para meta-análise das diferenças padronizadas nas estimativas
 274 médias de abundância de colônias de *E. coli* ou *Salmonella spp*, expressas como
 275 logarítmico na base 10 de Unidades Formadoras de Colônia em alfaces higienizadas
 276 com água ozonizada, subgrupadas de acordo com o tempo de exposição em minutos
 277 (subgrupos 0,5, 1, 2, 3, 4, e 5).

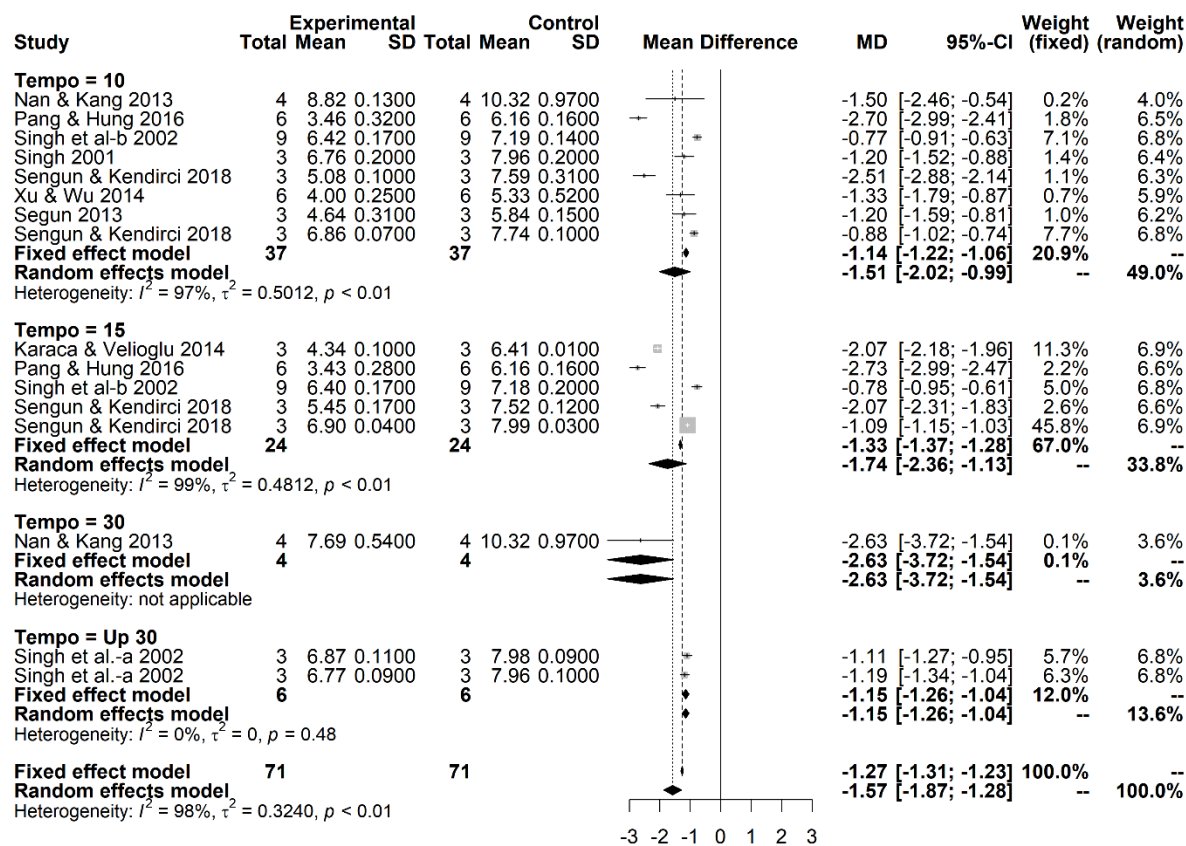
278

279

280

281

282

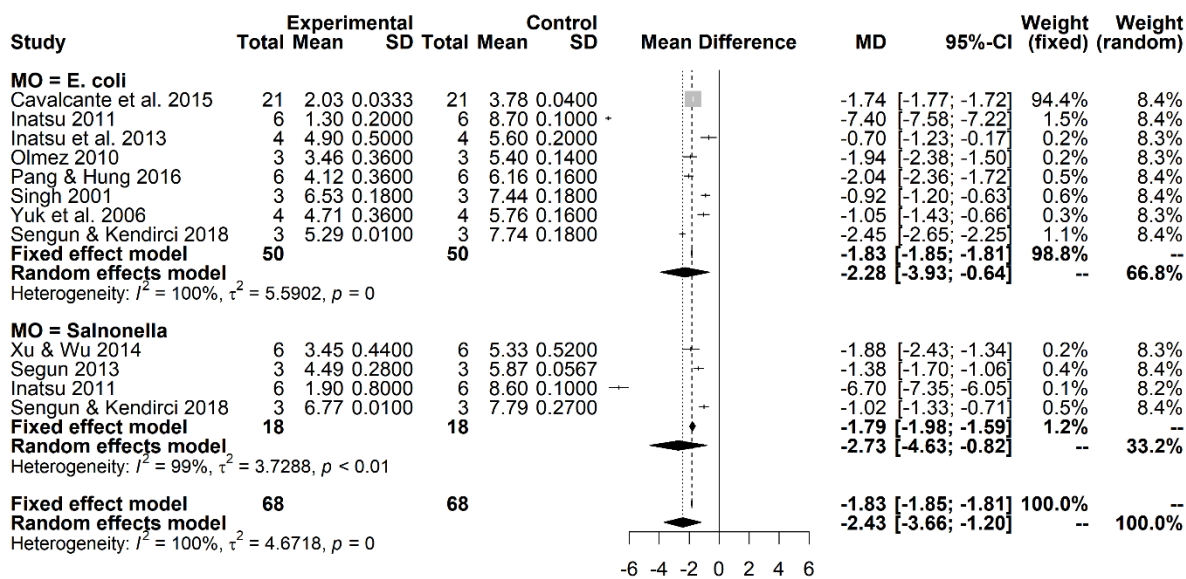


283

284 Fonte: autores (2020).

285

286 **Figura 3** – Forest plot para meta-análise das diferenças padronizadas nas
 287 estimativas médias de abundância de colônias de *E. coli* ou *Salmonella spp.*,
 288 expressas como logarítmico na base 10 de Unidades Formadoras de Colônia em
 289 alfaces higienizadas com água ozonizada, subgrupadas de acordo com o tempo de
 290 exposição em minutos (subgrupos 10, 20, 30 ou mais de 30).



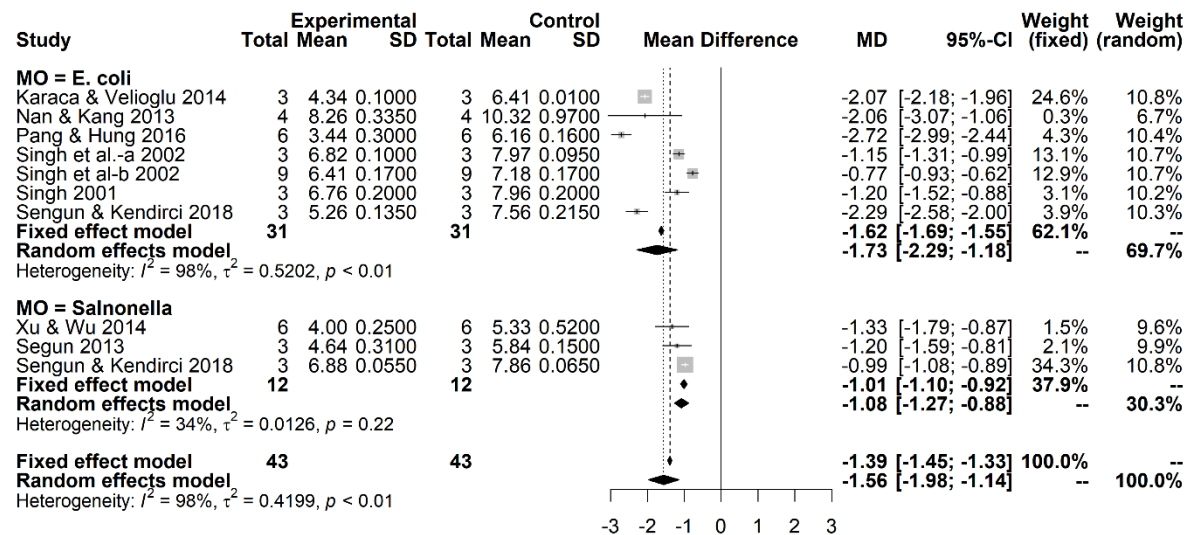
291

292 Fonte: autores (2020).

293 **Figura 4** – Forest plot para meta-análise das diferenças padronizadas nas
 294 estimativas médias de abundância de colônias de *E. coli* e *Salmonella* expressas
 295 como médias de logarítmico na base 10 de Unidades Formadoras de Colônia em
 296 alfaces higienizadas com água ozonizada, subgrupadas de acordo com o
 297 microrganismo considerando-se a média de tempos, em até 5 minutos de exposição.

298

299



300

301 Fonte: autores (2020).

302 **Figura 5**– Forest plot para meta-análise das diferenças padronizadas nas
 303 estimativas médias de abundância de colônias de *E. coli* e *Salmonella* expressas
 304 como médias de logarítmico na base 10 de Unidades Formadoras de Colônia em
 305 alfaces higienizadas com água ozonizada, subgrupadas de acordo com o
 306 microrganismo considerando-se a média de tempos, mais de 5 minutos de
 307 exposição.

308

309

310 4. Discussão

311

312 A presença de microrganismos em produtos agroindustriais é um fator
313 preocupante para a indústria de produtos hortifrutigranjeiros, visto que muitas
314 hortaliças são associadas a surtos de doenças transmitidas por alimentos
315 (DTAs) (Berger et al., 2010; Melotto et al., 2014; Pires et al., 2014). Uma vez
316 que são ingeridos crus, a única forma de reduzir a contaminação nas etapas
317 pós-colheita é o uso de desinfetantes para reduzir a carga microbiana nesses
318 produtos. É reconhecido que a eficácia dos procedimentos de lavagem
319 aplicados durante o processamento de frutas e vegetais prontos para consumo
320 é afetada pelas condições de lavagem (temperatura, tempo, circulação de
321 água, etc.), e pelo tipo de desinfetante (Gil et al., 2009).

322 Apesar da ação conhecida sobre a desinfecção de hortaliças, estudos que
323 comparam o tempo de ação e a eficácia global sobre determinados
324 microrganismos são escassos, ou inexistentes. A fim de contribuir para o
325 campo, neste estudo aplicou-se uma abordagem meta-analítica para avaliar a
326 inativação de *E. coli* e *Salmonella* em alfaces tratadas em solução aquosa de
327 ozônio, com diferentes tempos de ação, durante a lavagem de produtos
328 frescos.

329 Os dados coletados sobre a redução em fases logarítmicas de *Salmonella*
330 e *E. coli*, alcançada pelo uso do ozônio em solução aquosa durante o
331 tratamento de lavagem de alfaces, foram provenientes de 14 estudos primários.
332 Os registros foram refinados, para proceder uma análise de subgrupos,
333 estratificada por tempo de ação (até 5 minutos e mais de 5 minutos)
334 independente do microrganismo. Os dados coletados de diferentes estudos
335 primários (tabela 1) mostram que há uma concordância razoável entre os
336 estudos incluídos.

337 Os resultados contribuem de forma efetiva para otimização dos processos
338 de desinfecção das alfaces, com vistas ao controle dos patógenos estudados.
339 Na primeira abordagem, a meta-análise 1 permitiu concluir que, nos primeiros 5
340 minutos, o tempo de exposição das alfaces à água ozonizada afeta os
341 resultados. A ação mais efetiva nos primeiros 5 minutos, ocorre aos 3 minutos,
342 que resultou em uma redução de 3,52 fases logarítmicas. As ações menos
343 efetivas ocorreram com 0,5 e 4 minutos, contudo, nestes tempos de ação

344 apenas um estudo foi analisado. Na segunda meta-análise, que incluiu tempos
345 de ação superiores a 5 minutos, a ação mais efetiva ocorreu com 30 minutos
346 de exposição (redução de 2,63 fases logarítmicas), contudo, com resultados
347 inferiores a ação durante os 3 minutos.

348 O tempo de permanência das alfaces na água ozonizada é crítico para
349 exercer o efeito microbicida, visto que, o ozônio é altamente volátil e de difícil
350 manutenção em solução, portanto, a água ozonizada produzida deve ser
351 utilizada imediatamente após ser gerada. Este fato, possivelmente, explica por
352 que o tempo de ação após 3 minutos pareceu mostrar-se mais eficaz do que os
353 demais. A redução da ação por períodos mais prolongados pode ocorrer em
354 razão da capacidade reativa do ozônio com a matéria orgânica, o que reduz e
355 diminui a letalidade dos microrganismo ao ozônio (Glowacz et al., 2015).

356 O cloro é considerado equivalente ao ozônio na inativação de
357 microrganismos (Garcia et al., 2003; Ölmez, 2010). Contudo, o cloro, é uma
358 substância altamente reativa que pode formar compostos potencialmente
359 carcinogênicos ao interagir com moléculas orgânicas (Bachelli, Amaral, &
360 Benedetti, 2013). Desta forma, o ozônio pode ser uma alternativa mais segura
361 e interessante para controle de patógenos em alfaces, com vantagens
362 adicionais relacionadas ao baixo custo, obtenção em escala industrial a partir
363 de vários equipamentos disponíveis no mercado, alterações sensoriais não
364 significativas das alfaces e inexistência de resíduos químicos perigosos para os
365 consumidores (Hambidge, 2001; Sengun & Kendirci, 2018).

366 O ozônio destrói os microrganismos pela oxidação progressiva dos
367 componentes celulares vitais. A superfície da célula bacteriana tem sido
368 sugerida como o principal alvo da ozonização. A formação de rupturas na
369 parede celular com a consequente desintegração celular pode ocorrer como
370 resultado da oxidação (Hambidge, 2001).

371 O achado mais interessante das duas primeiras meta-análises reside na
372 verificação de um tempo ótimo de ação próximo a faixa dos 3 minutos.
373 Segundo a premissa, a ação por mais de 3 minutos seria desnecessária com
374 economia de recursos e tempo de operação, inclusive superando os resultados
375 de uma ação por tempo prolongado, evidenciada na meta-análise 2 (acima de
376 5 minutos).

377 Nas meta-análises 3 e 4 verificou-se que a ação do ozônio foi mais efetiva
378 para *Salmonella* (redução de 2,73 fases logarítmicas) do que para *E. coli*
379 (redução de 2,28 fases logarítmicas) em até 5 minutos de ação. Este resultado
380 se inverteu após 5 minutos, com redução de 1,73 fases logarítmicas para *E.*
381 *coli* e 1,08 fases logarítmicas para *Salmonella*. O resultado relativo ao tempo
382 de ação também se repetiu aqui, com ações mais efetivas sobre os
383 microrganismos em até 5 minutos de ação. O resultado da meta-análise
384 observado aqui contraria o observado em meta-análise previamente publicada,
385 que considerou *Salmonella* como menos resistente a ação de desinfetantes do
386 que *E. coli* (Prado-Silva et al., 2015), contudo, a eficiência do processo de
387 inativação depende da temperatura, do tempo e concentração do princípio
388 químico.

389 A sensibilidade ao ozônio varia entre diferentes modalidades de
390 microrganismos. Bactérias Gram-positivas são mais sensíveis ao ozônio do
391 que as Gram-negativas (Cullen et al., 2010). *Salmonella* pode ser menos
392 sensível ao ozônio do que *E. coli* (Sengun & Kendirci, 2018). Vale ressaltar que
393 *E. coli* e *Salmonella* são os patógenos mais frequentemente associados a
394 surtos de doenças transmitidas por alimentos associados a produtos frescos.
395 Portanto, o uso dos desinfetantes aplicados durante a lavagem devem garantir
396 ao menos a redução da contaminação por estes patógenos a fim de
397 salvaguardar a saúde pública (Meslin, 1997).

398 A ação dos tratamentos de sanitização aplicados às folhas verdes parece
399 resultar em reduções de fases logarítmicas mais baixas do que para outros
400 tipos de hortaliças, de superfície mais densa e sólida, o que pode estar
401 relacionado à natureza físico-química das superfícies verdes folhosas (Brandl,
402 2006). Produtos como cenoura, tomate e melão, podem ser escovados para
403 remoção de sujidades, aumentando a exposição dos agentes bacterianos ao
404 desinfetante e meio líquido.

405 A menor efetividade também pode estar relacionada aos patógenos
406 estudados que podem estar internalizados nas alfaces, tanto no interior nos
407 canais de circulação de água e eletrólitos (xilema e floema) como dentro dos
408 estômatos (Kroupitski et al., 2009; Kroupitski et al., 2019). Estudos indicam que
409 o ozônio pode atuar nestas estruturas e inativar os microrganismos presentes,
410 mas é provável que não alcance ação efetiva nesses locais. Essa hipótese é

411 reforçada pelo fato de que, em todos os estudos incluídos nas meta-análises,
412 as alfaces permaneceram com contaminação residual, mesmo após a
413 exposição ao ozônio. Diante desta observação é crucial entender que o ozônio
414 não é capaz de eliminar riscos de contaminação por patógenos, e sim de
415 reduzi-los.

416 Diante deste desafio, alguns estudos têm avaliado o ozônio combinado
417 com OE microbicidas extraídos de plantas para potencializar a ação sobre a
418 contaminação de alfaces com *Salmonella*, após 120 minutos de tratamento,
419 com resultados promissores (Kumar & Ravishankar, 2019). Outros estudos,
420 observaram que a ação do ozônio sobre *Salmonella* pode ser dependente do
421 pH e da temperatura (Bachelli et al., 2013; Prado-Silva et al., 2015).

422 A meta-análise 2 detectou ação menos efetiva do ozônio sobre as
423 populações bacterianas do que na meta-análise 1, sugerindo redução do efeito
424 microbicida após 5 minutos. Este resultado parece um contrassenso, visto que
425 a ação do ozônio ocorre precocemente em até 5 minutos, e, dessa maneira,
426 aos 10 a 30 minutos a redução da população microbiana já está estabelecida.
427 Considera-se, entretanto, que a ausência de efeito significativo se deve ao
428 baixo poder residual do gás aliado a rápida degradação do gás dissolvido (Kim
429 et al., 2003).

430 Todos os estudos incluídos relataram técnicas de pré-processamento das
431 alfaces, que incluíram remoção de folhas externas e lavagem prévia com
432 remoção de resíduos de solo. Este procedimento é crucial para o ozônio agir,
433 visto que a molécula perde estabilidade rapidamente quando em contato com
434 matéria orgânica (Restaino et al., 1995). Desta forma, a remoção prévia da
435 matéria orgânica potencializa a ação do ozônio em solução aquosa. A
436 temperatura do processo deve ser também controlada, visto que a água
437 aquecida resulta em diminuição da solubilidade e, portanto, diminuição da
438 eficiência do ozônio (Xu & Wu, 2014).

439 As diferenças entre as cepas padronizadas utilizadas como inóculos,
440 bem como as diferenças nos meios de cultura empregados para contagem de
441 microrganismos nas alfaces nos trabalhos selecionados, não foram
442 consideradas fontes significativas de viés, posto que, em geral, apresentam
443 padronização e desempenho aceitável para detecção de patógenos em
444 alimentos (Rosiak et al., 2018).

445 Uma possível fonte de viés pode ser representada pela forma de
446 produção do ozônio. Formas mais estáveis como as microbolhas podem
447 facilitar o transporte e tem eficácia similar com estabilidade prolongada do
448 produto (Inatsu et al., 2011). Esta hipótese se alicerça na “teoria do filme”, que
449 afirma que quando o ozônio é borbulhado na água, um filme líquido se forma
450 na interface gás ozônio-água e o ozônio se torna mais concentrado neste filme
451 líquido do que no restante do fluido. Assim, uma inativação microbicide mais
452 ampla pode ser alcançada quando o produto contaminado encontra-se em
453 contato com as bolhas de ozônio, em comparação com a imersão no líquido a
454 granel (Ölmez & Akbas, 2009).

455 Uma importante limitação da nossa abordagem é a impossibilidade de
456 inserção de covariáveis como temperatura e concentração, que apresentam
457 ampla variabilidade entre os estudos. A inclusão destes dados permitirá
458 melhorar as previsões do modelo meta-analítico.

459

460 **5. Conclusão**

461 O presente trabalho contribui para otimizar e esclarecer os processos de
462 desinfecção pelo ozônio, no qual melhor ação, mais potente, se deu aos 3
463 minutos de exposição em solução aquosa. Períodos superiores a este podem
464 ser menos produtivos no que tange a inativação de *E. coli* e *Salmonella*. *E. coli*
465 é mais resistente a exposição em até 5 minutos, o que pode requerer
466 tratamentos adicionais por tempo mais prolongado para seu controle em
467 alfaces minimamente processadas.

468

469 **Conflito de interesses**

470 Nenhum dos autores tem conflito de interesses a declarar.

471

472 **Referências**

473 Amrutha, B., Sundar, K., & Shetty, P. H. (2017). Effect of organic acids on
474 biofilm formation and quorum signaling of pathogens from fresh fruits and
475 vegetables. *Microbial Pathogenesis*, *111*, 156–162.
476 <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.042>

- 477 Anfruns-Estrada, E., Bottaro, M., Pintó, R. M., Guix, S., & Bosch, A. (2019).
478 Effectiveness of consumers washing with sanitizers to reduce human
479 norovirus on mixed salad. *Foods*, 8(12).
480 <https://doi.org/10.3390/foods8120637>
- 481 Bachelli, M. L. B., Amaral, R. D. Á., & Benedetti, B. C. (2013). Alternative
482 sanitization methods for minimally processed lettuce in comparison to
483 sodium hypochlorite. *Brazilian Journal of Microbiology: [Publication of the*
484 *Brazilian Society for Microbiology]*, 44(3), 673–678.
485 <https://doi.org/10.1590/s1517-83822013005000065>
- 486 Bencardino, D., Vitali, L. A., & Petrelli, D. (2018). Microbiological evaluation of
487 ready-to-eat iceberg lettuce during shelf-life and effectiveness of household
488 washing methods. *Italian Journal of Food Safety*, 7(1), 50–54.
489 <https://doi.org/10.4081/ijfs.2018.6913>
- 490 Berger, C. N., Sodha, S. V, Shaw, R. K., Griffin, P. M., Pink, D., Hand, P., &
491 Frankel, G. (2010). Fresh fruit and vegetables as vehicles for the
492 transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology*, 12(9),
493 2385–2397. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02297.x>
- 494 Bottichio, L., Keaton, A., Thomas, D., Fulton, T., Tiffany, A., Frick, A., ...
495 Gieraltowski, L. (2020). Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections
496 Associated with Romaine Lettuce-United States, 2018. *Clinical Infectious*
497 *Diseases*, 71(8), E323–E330. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz1182>
- 498 Bourne, R., & Bourne, R. (2010). ImageJ. In R. Bourne (Ed.), *Fundamentals of*
499 *Digital Imaging in Medicine* (1st ed., pp. 185–188). London: Springer.
500 https://doi.org/10.1007/978-1-84882-087-6_9
- 501 Brandl, M. T. (2006). Fitness of human enteric pathogens on plants and
502 implications for food safety. *Annual Review of Phytopathology*, 44, 367–
503 392. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143359>
- 504 Brodowska, A. J., Nowak, A., & Śmigielski, K. (2018). Ozone in the food
505 industry: Principles of ozone treatment, mechanisms of action, and
506 applications: An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,

- 507 58(13), 2176–2201. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1308313>
- 508 Cavalcante, D. A., Leite Júnior, B. R. de C., Tribst, A. A. L., & Cristianini, M.
509 (2015). Vida de prateleira de alface americana tratada com água
510 ozonizada. *Ciência Rural*, 45(11), 2089–2096.
511 <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130952>
- 512 Cullen, P. J., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Patil, S., Bourke, P., & O'Donnell,
513 C. P. (2010). Ozone Processing for Food Preservation: An Overview on
514 Fruit Juice Treatments. *Ozone: Science & Engineering*, 32(3), 166–179.
515 <https://doi.org/10.1080/01919511003785361>
- 516 Furukawa, T. A., Barbui, C., Cipriani, A., Brambilla, P., & Watanabe, N. (2006).
517 Imputing missing standard deviations in meta-analyses can provide
518 accurate results. *Journal of Clinical Epidemiology*, 59(1), 7–10.
519 <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2005.06.006>
- 520 Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F.
521 (2018). Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods.
522 *Frontiers in Microbiology*, 9(MAY).
523 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898>
- 524 Garcia, A., Mount, J. R., & Davidson, P. M. (2003). Ozone and Chlorine
525 Treatment of Minimally Processed Lettuce. *Journal of Food Science*, 68(9),
526 2747–2751. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05799.x>
- 527 Gil, M. I., Selma, M. V., López-Gálvez, F., & Allende, A. (2009). Fresh-cut
528 product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions.
529 *International Journal of Food Microbiology*, 134(1–2), 37–45.
530 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.021>
- 531 Glowacz, M., Colgan, R., & Rees, D. (2015). The use of ozone to extend the
532 shelf-life and maintain quality of fresh produce. *Journal of the Science of*
533 *Food and Agriculture*, 95(4), 662–671. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6776>
- 534 Glowacz, M., & Rees, D. (2016). The practicality of using ozone with fruit and
535 vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(14), 4637–
536 4643. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7763>

- 537 Hambidge, A. (2001). Reviewing efficacy of alternative water treatment
538 techniques. *Health Estate*, 55(6), 23–25. Retrieved from
539 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11447890>
- 540 Hogg, R. A., Holmes, J. P., Ghebrehewet, S., Elders, K., Hart, J., Whiteside, C.,
541 ... Pritchard, G. C. (2009). Probable zoonotic transmission of
542 verocytotoxigenic *Escherichia coli* O 157 by dogs. *The Veterinary Record*,
543 164(10), 304–305. Retrieved from
544 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19270322>
- 545 How, Z. T., Kristiana, I., Buseti, F., Linge, K. L., & Joll, C. A. (2017). Organic
546 chloramines in chlorine-based disinfected water systems: A critical review.
547 *Journal of Environmental Sciences*, 58, 2–18.
548 <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.05.025>
- 549 Inatsu, Y., Kitagawa, T., Nakamura, N., Kawasaki, S., Nei, D., Bari, M. L., &
550 Kawamoto, S. (2013). Effectiveness of stable ozone microbubble
551 containing water on reducing bacteria load on selected leafy vegetables.
552 *Acta Horticulturae*, (989), 161–166.
553 <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.989.20>
- 554 Inatsu, Yasuhiro, Kitagawa, T., Nakamura, N., Kawasaki, S., Nei, D., Bari, M. D.
555 L., & Kawamoto, S. (2011). Effectiveness of Stable Ozone Microbubble
556 Water on Reducing Bacteria on the Surface of Selected Leafy Vegetables.
557 *Food Science and Technology Research*, 17(6), 479–485.
558 <https://doi.org/10.3136/fstr.17.479>
- 559 Jensen, D. A., Friedrich, L. M., Harris, L. J., Danyluk, M. D., & Schaffner, D. W.
560 (2013). Quantifying transfer rates of *Salmonella* and *Escherichia coli*
561 O157:H7 between fresh-cut produce and common kitchen surfaces.
562 *Journal of Food Protection*, 76(9), 1530–1538.
563 <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-098>
- 564 Kang, S.-N., Kim, K.-J., Park, J.-H., & Lee, O.-H. (2013). Effect of a
565 Combination of Low Level Ozone and Metal Ions on Reducing *Escherichia*
566 *coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Molecules*, 18(4), 4018–4025.
567 <https://doi.org/10.3390/molecules18044018>

- 568 Karaca, H., & Velioglu, Y. S. (2014). Effects of ozone treatments on microbial
569 quality and some chemical properties of lettuce, spinach, and parsley.
570 *Postharvest Biology and Technology*, 88, 46–53.
571 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.09.003>
- 572 Kim, J.G., Yousef, A. E., & Khadre, M. A. (2003). Ozone and its current and
573 future application in the food industry. *Advances in Food and Nutrition*
574 *Research*, 45, 167–218. Retrieved from
575 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12402681>
- 576 Kroupitski, Y., Golberg, D., Belausov, E., Pinto, R., Swartzberg, D., Granot, D.,
577 & Sela, S. (2009). Internalization of *Salmonella enterica* in Leaves Is
578 Induced by Light and Involves Chemotaxis and Penetration through Open
579 Stomata. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(19), 6076–6086.
580 <https://doi.org/10.1128/AEM.01084-09>
- 581 Kroupitski, Y., Gollop, R., Belausov, E., Pinto, R., & Sela (Saldinger), S. (2019).
582 *Salmonella enterica* Growth Conditions Influence Lettuce Leaf
583 Internalization. *Frontiers in Microbiology*, 10.
584 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00639>
- 585 Kumar, D.G., & Ravishankar, S. (2019). Ozonized water with plant
586 antimicrobials: An effective method to inactivate *Salmonella enterica* on
587 iceberg lettuce in the produce wash water. *Environmental Research*, 171,
588 213–217. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.023>
- 589 Lajeunesse, M. J. (2016). Facilitating systematic reviews, data extraction and
590 meta-analysis with the `metagear` package for `r`.
591 *Methods in Ecology and Evolution*, 7(3), 323–330.
592 <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12472>
- 593 Lee, Y. H. (2018). An overview of meta-analysis for clinicians. *The Korean*
594 *Journal of Internal Medicine*, 33(2), 277–283.
595 <https://doi.org/10.3904/kjim.2016.195>
- 596 Luna-Guevara, J. J., Arenas-Hernandez, M. M. P., Martínez De La Peña, C.,
597 Silva, J. L., & Luna-Guevara, M. L. (2019). The Role of Pathogenic *E. coli*

- 598 in Fresh Vegetables: Behavior, Contamination Factors, and Preventive
599 Measures. *International Journal of Microbiology*, 2019.
600 <https://doi.org/10.1155/2019/2894328>
- 601 Melotto, M., Panchal, S., & Roy, D. (2014). Plant innate immunity against
602 human bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 5, 411.
603 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00411>
- 604 Meslin, F. X. (1997). Global aspects of emerging and potential zoonoses: a
605 WHO perspective. *Emerging Infectious Diseases*, 3(2), 223–228.
606 <https://doi.org/10.3201/eid0302.970220>
- 607 Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., ...
608 Stewart, L. A. (2015). Preferred reporting items for systematic review and
609 meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews*,
610 4(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1>
- 611 Nakagawa, S., & Cuthill, I. C. (2007). Effect size, confidence interval and
612 statistical significance: A practical guide for biologists. *Biological Reviews*.
613 <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2007.00027.x>
- 614 Ngwenya, N., Ncube, E. J., & Parsons, J. (2013). Recent Advances in Drinking
615 Water Disinfection: Successes and Challenges. In *Reviews of*
616 *environmental contamination and toxicology* (Vol. 222, pp. 111–170).
617 https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4717-7_4
- 618 Nunes-Carvalho, M. C., Jayme, M. M. A., Do Carmo, F. L., Dos Santos Pyrrho,
619 A., Leite, S. G. F., & De Araujo, F. V. (2020). Influence of different sources
620 of contamination on the microbiological quality of lettuce in the Teresópolis
621 region, RJ, Brazil. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 25(2), 229–235.
622 <https://doi.org/10.1590/s1413-41522020144815>
- 623 Ölmez, H. (2010). Effect of different sanitizing methods and incubation time and
624 temperature on inactivation of *Escherichia coli* on lettuce. *Journal of Food*
625 *Safety*, 30(2), 288–299. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2009.00206.x>
- 626 Ölmez, H., & Akbas, M. Y. (2009). Optimization of ozone treatment of fresh-cut
627 green leaf lettuce. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 487–494.

- 628 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.026>
- 629 Pang, Y.-H., & Hung, Y.-C. (2016). Efficacy of Slightly Acidic Electrolyzed Water
630 and UV-Ozonated Water Combination for Inactivating Escherichia Coli
631 O157:H7 on Romaine and Iceberg Lettuce during Spray Washing Process.
632 *Journal of Food Science*, 81(7), M1743-8. [https://doi.org/10.1111/1750-](https://doi.org/10.1111/1750-3841.13364)
633 3841.13364
- 634 Pires, S. M., Vieira, A. R., Hald, T., & Cole, D. (2014). Source attribution of
635 human salmonellosis: an overview of methods and estimates. *Foodborne*
636 *Pathogens and Disease*, 11(9), 667–676.
637 <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1744>
- 638 Prado-Silva, L., Cadavez, V., Gonzales-Barron, U., Rezende, A. C. B., &
639 Sant’Ana, A. S. (2015). Meta-analysis of the Effects of Sanitizing
640 Treatments on Salmonella, Escherichia coli O157:H7, and Listeria
641 monocytogenes Inactivation in Fresh Produce. *Applied and Environmental*
642 *Microbiology*, 81(23), 8008–8021. <https://doi.org/10.1128/AEM.02216-15>
- 643 Restaino, L., Frampton, E. W., Hemphill, J. B., & Palnikar, P. (1995). Efficacy of
644 ozonated water against various food-related microorganisms. *Applied and*
645 *Environmental Microbiology*, 61(9), 3471–3475.
646 <https://doi.org/10.1128/AEM.61.9.3471-3475.1995>
- 647 Rosiak, E., Kajak-Siemaszko, K., Trzaskowska, M., & Kołozyn-Krajewska, D.
648 (2018). Predictive microbiology of food. *Postepy Mikrobiologii*, 57(3).
649 <https://doi.org/10.21307/pm-2018.57.3.229>
- 650 Sengun, I.Y., & Kendirci, P. (2018). Potential of Ozonated Water at Different
651 Temperatures to Improve Safety and Shelf-Life of Fresh Cut Lettuce.
652 *Ozone: Science and Engineering*, 40(3), 216–227.
653 <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1416284>
- 654 Sengun, I. Y. (2013). Effects of Ozone Wash for Inactivation of S. Typhimurium
655 and Background Microbiota on Lettuce and Parsley. *Journal of Food*
656 *Safety*, 33(3), 273–281. <https://doi.org/10.1111/jfs.12050>
- 657 Shatilov, M. V., Razin, A. F., & Ivanova, M. I. (2019). Analysis of the world

- 658 lettuce market. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*,
659 395(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/395/1/012053>
- 660 Singh, N., Singh, R. K., Bhunia, A. K., & Stroshine, R. L. (2002a). Effect of
661 inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers
662 against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *Food Microbiology*, 19(2–3),
663 183–193. <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0471>
- 664 Singh, N., Singh, R. K., Bhunia, A. K., & Stroshine, R. L. (2002b). Efficacy of
665 Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing
666 in Killing *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. *LWT -*
667 *Food Scienc*Singh, N., Singh, R.K., Bhunia, A.K. and Stroshine, R.L., 2002.
668 *Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a*
669 *Sequential Washing in Killing Escherichia Coli O157:H7 on Lettuce and*
670 *Baby Carrots LWT - Food Science and Te*, 35(8), 720–729.
671 <https://doi.org/10.1006/fstl.2002.0933>
- 672 Singh, Nepal, Singh, R. K., Bhunia, A. K., Stroshine, R. L., & Simon, J. E.
673 (2001). Sequential disinfection of *E. coli* O157:H7 on shredded lettuce
674 leaves by aqueous chlorine dioxide, ozonated water and thyme essential
675 oil. In Y.-R. Chen & S.-I. Tu (Eds.), *Proceedings Volume 4206, Photonic*
676 *Detection and Intervention Technologies for Safe Food* (pp. 159–166).
677 Boston: SPIE conference. <https://doi.org/10.1117/12.418725>
- 678 Viechtbauer, W. (2010). Conducting Meta-Analyses in R with the metafor
679 Package. *Journal of Statistical Software*, 36(3).
680 <https://doi.org/10.18637/jss.v036.i03>
- 681 Xu, W., & Wu, C. (2014). Different efficiency of ozonated water washing to
682 inactivate *Salmonella enterica typhimurium* on green onions, grape
683 tomatoes, and green leaf lettuces. *Journal of Food Science*, 79(3), M378-
684 83. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12359>
- 685 Yuk, H.G., Yoo, M.-Y., Yoon, J.W., Moon, K.D., Marshall, D. L., & Oh, D.-H.
686 (2006). Effect of Combined Ozone and Organic Acid Treatment for Control
687 of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Lettuce.
688 *Journal of Food Science*, 71(3), M83–M87. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

689 2621.2006.tb15636.x

690

ANEXO A- NORMAS DA REVISTA FOOD CONTROL



FOOD CONTROL

An official scientific journal of the European Federation of Food Science and Technology (EFFoST) and the International Union of Food Science and Technology (IUFoST).

DESCRIPTION

Food Control is an international journal that provides essential information for those involved in food safety and process control.

Food Control covers the below areas that relate to food process control or to food safety of human foods:

- Microbial **food safety** and **antimicrobial** systems
- *Mycotoxins*
- Hazard analysis, **HACCP** and food safety objectives
- **Risk assessment**, including microbial and chemical hazards
- *Quality assurance*
- Good **manufacturing** practices
- Food **process systems** design and control
- Food **Packaging** technology and materials in contact with foods
- Rapid methods of **analysis** and **detection**, including sensor technology
- **Codes** of practice, **legislation** and international **harmonization**
- Consumer issues
- **Education**, training and research needs.

The scope of *Food Control* is comprehensive and includes original research papers, authoritative reviews, short communications, comment articles that report on new developments in food control, and position papers.

The work described should be innovative either in the approach or in the methods used. The significance of the results either for the science community or for the food industry must also be specified. Contributions that do not fulfil these requirements will not be considered for review and publication.

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#).

IMPACT FACTOR

2019: 4.258 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2020

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Food Control is an international journal that provides essential information for those involved in food safety and process control.

Food Control covers:

Microbial food safety and antimicrobial systems
Mycotoxins Hazard analysis, HACCP and food safety objectives
Risk assessment, including microbial risk assessment
Quality assurance and control
Good manufacturing practices
Food process systems design and control
Food Packaging
Rapid methods of analysis and detection, including sensor technology
Environmental control and safety
Codes of practice, legislation and international harmonization
Consumer issues
Education, training and research needs.

The scope of *Food Control* is comprehensive and includes original research papers, authoritative reviews, short communications, comment articles that report on new developments in food control, and position papers.

The work described should be innovative either in the approach or in the methods used. The significance of the results either for the science community or for the food industry must also be specified. Contributions that do not fulfil these requirements will not be considered for review and publication.

Types of paper

Original high-quality research papers (preferably no more than 7000 words, including tables and illustrations). Major review articles, up to 10,000 words
Short communications of up to 3000 words (not including references), describing work that may be of a preliminary nature but which merits immediate publication. Short reviews on topical subjects, up to 6000 words. Comment articles not exceeding 2000 words. Authoritative position papers from expert groups are also welcome.

Food Control also publishes book reviews, Letters to the Editor, conference reports and a calendar of forthcoming events.

The Editor-in-Chief has the right to decline formal review of a manuscript when it is deemed that the manuscript is 1) on a topic outside the scope of the Journal; 2) lacking technical merit; 3) of insufficient novelty for a wide international readership; 4) fragmentary and providing marginally incremental results; or 5) is poorly written.

All contributions deemed suitable for review are read by two or more referees to ensure both accuracy and relevance, and revisions to the script may thus be required. On acceptance, contributions are subject to editorial amendment to suit house style. When a manuscript is returned for revision prior to final acceptance, the revised version must be submitted as soon as possible after the author's receipt of the referees' reports. Revised manuscripts returned after four months will be considered as new submissions subject to full re-review.

Contact details for submission

Submission to this journal proceeds totally online. Use the following guidelines to prepare your article. Via the homepage of this journal

<https://www.editorialmanager.com/foodcont/default.aspx> you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
 - All figures (include relevant captions)
 - All tables (including titles, description, footnotes)
 - Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
 - Indicate clearly if color should be used for any figures
- inprint *Graphical Abstracts / Highlights files* (where applicable) *Supplemental files* (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and viceversa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This

summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright- holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work.

[More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Authors must provide and use an email address unique to themselves and not shared with another author registered in Editorial Manager, or a department.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review](#).

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Request you to kindly submit your manuscript with continuous line numbers.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered

1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Materials and Methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Key Resources Table

To enable reproducibility of the research, we encourage authors to submit a Key Resources Table, which helps make the resources clear to readers. The Key Resources Table highlights the genetically modified organisms and strains, cell lines, reagents and other resources essential to reproduce the results presented in a paper. More information is available here <https://www.elsevier.com/authors/author-resources/key-resources-table>

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Mathematical and technical settings

Use the appropriate number of significant figures to express your data - they should be justifiable and reflect the necessary level of accuracy of the method. A normal maximum should be 3 - e.g. 37.1, 2.53). Detailed mathematical discussion should be placed in an appendix. Equations and formulae should be typewritten. Equations should be numbered consecutively with Arabic numerals in parentheses on the right hand side of the page. Special symbols should be identified in the margin, and the meaning of all symbols should be explained in the text where they first occur. If you use several symbols, a list of definitions (not necessarily for publication) will help the editor. Type mathematical equations exactly as they should appear in print. Journal style for letter symbols is as follows: italic (indicated by underlining); constants, roman type; matrices and vectors, bold type (indicated by wavy underlining).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.

- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired colorvision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/food-control>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style

Text: Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association. You are referred to the Publication Manual of the American

Psychological Association, Seventh Edition, ISBN 978-1-4338-3215-4, copies of which may be [ordered online](#).

List: references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article. *Journal of Scientific Communications*, 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.sc.2010.00372>. Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2018). The art of writing a scientific article. *Heliyon*, 19, Article e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). *The elements of style* (4th ed.). Longman (Chapter 4).

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). E-Publishing Inc.

Reference to a website:

Powertech Systems. (2015). *Lithium-ion vs lead-acid cost analysis*. Retrieved from <http://www.powertechsystems.eu/home/tech-corner/lithium-ion-vs-lead-acid-cost-analysis/>. Accessed January 6, 2016

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., & Nakashizuka, T. (2015). *Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions*. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to a conference paper or poster presentation:

Engle, E.K., Cash, T.F., & Jarry, J.L. (2009, November). *The Body Image Behaviours Inventory-3: Development and validation of the Body Image Compulsive Actions and Body Image Avoidance Scales*. Poster session presentation at the meeting of the Association for Behavioural and Cognitive Therapies, New York, NY.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will

be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods)

associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Author Services](#). Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

ANEXOB- NORMAS DA REVISTA BRITISH FOOD JOURNAL

Journal description

For over 120 years, the British Food Journal (BFJ) continues to be highly respected worldwide for its broad and unique interdisciplinary coverage of the latest food-related double blind peer-reviewed research. It links all sectors of this dynamic industry, keeping abreast of emerging trends, topical and controversial issues and informing and stimulating debate.

Aims & scope

The *British Food Journal* (BFJ) welcomes empirical and applied research articles, viewpoint articles, case studies and literature, and general reviews from all disciplines relating to:

Consumption

- Consumer choice, preferences and concerns
- Consumer attitudes, experiences, perceptions and decision-making

Business, Management and Marketing

- Food Marketing and promotion
- Distribution and retailing, including pricing, market models, labelling and branding
- Quality assurance practices and strategies, including traceability
- Brand equity
- Food supply, including supply chain and logistics
- Economics
- Innovation and technology

Health, welfare and education

- Food safety / quality, including prerequisite programmes, HACCP, hygiene and culture, traceability, training, etc.
- Food-related health education: risk assessment, management, communication
- Food handlers' knowledge, attitudes and practices
- Consumer aspects of nutrition, nutritional epidemiology and the promotion of healthy eating

Sustainability and Environment

- Food sustainability and economics, including food and water security
- Corporate responsibility

- Environmental protection, including environmental and agricultural law and policy,
- Food systems and agriculture
- Climate change

BFJ is key reading for academics, researchers and students in all social science/management/public health disciplines who are interested in food, as well as nutritionists and dietitians, food and agricultural companies who manufacture, market or supply food, food research institutes, and managers and professionals who work in the food industry.

BFJ welcomes proposals for potential Special Issues on topical subjects. If you'd like to propose a special issue, please get in touch with the Editors or the Publisher for a proposal form.

Author guidelines

Author responsibilities

Our goal is to provide you with a professional and courteous experience at each stage of the review and publication process. There are also some responsibilities that sit with you as the author. Our expectation is that you will:

- Respond swiftly to any queries during the publication process.
- Be accountable for all aspects of your work. This includes investigating and resolving any questions about accuracy or [research integrity](#)
- Treat communications between you and the journal editor as confidential until an editorial decision has been made.
- Read about our [research ethics](#) for authorship. These state that you must:
 - Include anyone who has made a substantial and meaningful contribution to the submission (anyone else involved in the paper should be listed in the acknowledgements).
 - Exclude anyone who hasn't contributed to the paper, or who has chosen not to be associated with the research.

Research and publishing ethics

Our editors and employees work hard to ensure the content we publish is ethically sound. To help us achieve that goal, we closely follow the advice laid out in the guidelines and flowcharts on the [COPE \(Committee on Publication Ethics\) website](#).

We have also developed our [research and publishing ethics guidelines](#). If you haven't already read these, we urge you to do so – they will help you avoid the most common publishing ethics issues.

A few key points:

- Any manuscript you submit to this journal should be original. That means it should not have been published before in its current, or similar, form. Exceptions to this rule are outlined in our [pre-print and conference paper policies](#). If any substantial element of your paper has been previously published, you need to declare this to the journal editor upon submission. Please note, the journal editor may use [Crossref Similarity Check](#) to check on the originality of submissions received. This service compares submissions against a database of 49 million works from 800 scholarly publishers.
- Your work should not have been submitted elsewhere and should not be under consideration by any other publication.
- If you have a conflict of interest, you must declare it upon submission; this allows the editor to decide how they would like to proceed. Read about conflict of interest in our [research and publishing ethics guidelines](#).
- By submitting your work to Emerald, you are guaranteeing that the work is not in infringement of any existing copyright.

Third party copyright permissions

Prior to article submission, you need to ensure you've applied for, and received, written permission to use any material in your manuscript that has been created by a third party. Please note, we are unable to publish any article that still has permissions pending. The rights we require are:

- Non-exclusive rights to reproduce the material in the article or book chapter.
- Print and electronic rights.
- Worldwide English-language rights.
- To use the material for the life of the work. That means there should be no time restrictions on its re-use e.g. a one-year licence.

We are a member of the International Association of Scientific, Technical, and Medical Publishers (STM) and participate in the [STM permissions guidelines](#), a reciprocal free exchange of material with other STM publishers. In some cases, this may mean that you don't need permission to re-use content. If so, please highlight this at the submission stage.

Please take a few moments to read our [guide to publishing permissions](#) to ensure you have met all the requirements, so that we can process your submission without delay.

Open access submissions and information

All our journals currently offer two open access (OA) publishing paths; gold open access and green open access.

If you would like to, or are required to, make the branded publisher PDF (also known as the version of record) freely available immediately upon publication, you should select the gold open access route during the submission process.

If you've chosen to publish gold open access, this is the point you will be asked to pay the [APC \(article processing charge\)](#). This varies per journal and can be found on our APC price list or on the editorial system at the point of submission. Your article will be published with a [Creative Commons CC BY 4.0 user licence](#), which outlines how readers can reuse your work.

Alternatively, if you would like to, or are required to, publish open access but your funding doesn't cover the cost of the APC, you can choose the green open access, or self-archiving, route. As soon as your article is published, you can make the author accepted manuscript (the version accepted for publication) openly available, free from payment and embargo periods.

For UK journal article authors - if you wish to submit your work accepted by us to REF 2021, you must make a 'closed deposit' of your accepted manuscript to your respective institutional repository upon acceptance of your article. Articles accepted for publication after 1st April 2018 should be deposited as soon as possible, but no later than three months after the acceptance date. For further information and guidance, please refer to the [REF 2021](#) website.

You can find out more about our open access routes, our APCs and waivers and read our FAQs on our open research page.

[Find out about open](#)

Transparency and Openness Promotion (TOP) Guidelines

We are a signatory of the [Transparency and Openness Promotion \(TOP\) Guidelines](#), a framework that supports the reproducibility of research through the adoption of transparent research practices. That means we encourage you to:

- Cite and fully reference all data, program code, and other methods in your article.
- Include persistent identifiers, such as a Digital Object Identifier (DOI), in references for datasets and program codes. Persistent identifiers ensure future access to unique published digital objects, such as a piece of text or datasets. Persistent identifiers are assigned to datasets by digital archives, such as institutional repositories and partners in the Data Preservation Alliance for the Social Sciences (Data-PASS).
- Follow appropriate international and national procedures with respect to data protection, rights to privacy and other ethical considerations, whenever you cite data. For further guidance please refer to our [research and publishing ethics guidelines](#). For an example on how to cite datasets, please refer to the references section below.

Prepare your submission

Manuscript support services

We are pleased to partner with Editage, a platform that connects you with relevant experts in language support, translation, editing, visuals, consulting, and more. After you've agreed a fee, they will work with you to enhance your manuscript and get it submission-ready.

This is an optional service for authors who feel they need a little extra support. It does not guarantee your work will be accepted for review or publication.

Format	<p>Article files should be provided in Microsoft Word format</p> <p style="text-align: right;">80</p> <p>While you are welcome to submit a PDF of the document alongside the Word file, PDFs alone are not acceptable. LaTeX files can also be used but only if an accompanying PDF document is provided. Acceptable figure file types are listed further below.</p>
Article length / wordcount	<p>Articles should be between 4000 and 8000 words in length. This includes all text, for example, the structured abstract, references, all text in tables, and figures and appendices.</p> <p>Please allow 280 words for each figure or table.</p>
Article title	<p>A concisely worded title should be provided.</p>
Author details	<p>The names of all contributing authors should be added to the ScholarOne submission; please list them in the order in which you'd like them to be published. Each contributing author will need their own ScholarOne author account, from which we will extract the following details:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Author email address. • Author name. We will reproduce it exactly, so any middle names and/or initials they want featured must be included. • Author affiliation. This should be where they were based when the research for the paper was conducted. <p>In multi-authored papers, it's important that ALL authors that have made a significant contribution to the paper are listed. Those who have provided support but have not contributed to the research should be featured in an acknowledgements section. You should never include people who have not contributed to the paper or who don't want to be associated with the research. Read about our research ethics for authorship.</p>
Biographies and acknowledgements	<p>If you want to include these items, save them in a separate Microsoft Word document and upload the file with your submission. Where they are included, a brief professional biography of not more than 100 words should be supplied for each named author.</p>
Research funding	<p>Your article must reference all sources of external research funding in the acknowledgements section. You should describe the role of the funder or financial sponsor in the entire research process, from study design to submission.</p>
Structured abstract	<p>All submissions must include a structured abstract, following the format outlined below.</p>

	<p>These four sub-headings and their accompanying explanations must always be included:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Purpose • Design/methodology/approach • Findings • Originality <p>The following three sub-headings are optional and can be included, if applicable:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Research limitations/implications • Practical implications • Social implications <p>You can find some useful tips in our write an article abstract how-to guide.</p> <p>The maximum length of your abstract should be 250 words in total, including keywords and article classification (see the sections below).</p>
Keywords	<p>Your submission should include up to 12 appropriate and short keywords that capture the principal topics of the paper. Our Creating an SEO-friendly manuscript how to guide contains some practical guidance on choosing search-engine friendly keywords.</p> <p>Please note, while we will always try to use the keywords you've suggested, the in-house editorial team may replace some of them with matching terms to ensure consistency across publications and improve your article's visibility.</p>
Article classification	<p>During the submission process, you will be asked to select a type for your paper; the options are listed below. If you don't see an exact match, please choose the best fit:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Book Review • Research Paper • Case Study • General Review • Short Communication • Letter to the Editor <p>You will also be asked to select a category for your paper. The options for this are listed below. If you don't see an exact match, please choose the best fit:</p> <p>Research paper. Reports on any type of research undertaken by the author(s), including:</p>

	<ul style="list-style-type: none"> • The construction or testing of a model or framework • Action research • Testing of data, market research or surveys • Empirical, scientific or clinical research • Papers with a practical focus <p>Viewpoint. Covers any paper where content is dependent on the author's opinion and interpretation. This includes journalistic and magazine-style pieces.</p> <p>Technical paper. Describes and evaluates technical products, processes or services.</p> <p>Conceptual paper. Focuses on developing hypotheses and is usually discursive. Covers philosophical discussions and comparative studies of other authors' work and thinking.</p> <p>Case study. Describes actual interventions or experiences within organizations. It can be subjective and doesn't generally report on research. Also covers a description of a legal case or a hypothetical case study used as a teaching exercise.</p> <p>Literature review. This category should only be used if the main purpose of the paper is to annotate and/or critique the literature in a particular field. It could be a selective bibliography providing advice on information sources, or the paper may aim to cover the main contributors to the development of a topic and explore their different views.</p> <p>General review. Provides an overview or historical examination of some concept, technique or phenomenon. Papers are likely to be more descriptive or instructional ('how to' papers) than discursive.</p>
Headings	<p>Headings must be concise, with a clear indication of the required hierarchy.</p> <p>The preferred format is for first level headings to be in bold, and subsequent sub-headings to be in medium italics.</p>
Notes/endnotes	<p>Notes or endnotes should only be used if absolutely necessary. They should be identified in the text by consecutive numbers enclosed in square brackets. These numbers should then be listed, and explained, at the end of the article.</p>
Figures	<p>All figures (charts, diagrams, line drawings, webpages/screenshots, and photographic images) should be submitted electronically. Both colour and black and white files are accepted.</p> <p>There are a few other important points to note:</p> <ul style="list-style-type: none"> • All figures should be supplied at the highest resolution/quality possible with numbers and text clearly legible. • Acceptable formats are .ai, .eps, .jpeg, .bmp, and .tif. • Electronic figures created in other applications should be supplied in their original formats and should also be either copied and pasted into a blank MS

	<p>Word document, or submitted as a PDF file.</p> <ul style="list-style-type: none"> • All figures should be numbered consecutively with Arabic numerals and have clear captions. • All photographs should be numbered as Plate 1, 2, 3, etc. and have clear captions.
Tables	<p>Tables should be typed and submitted in a separate file to the main body of the article. The position of each table should be clearly labelled in the main body of the article with corresponding labels clearly shown in the table file. Tables should be numbered consecutively in Roman numerals (e.g. I, II, etc.).</p> <p>Give each table a brief title. Ensure that any superscripts or asterisks are shown next to the relevant items and have explanations displayed as footnotes to the table, figure or plate.</p>
References	<p>All references in your manuscript must be formatted using one of the recognised Harvard styles. You are welcome to use the Harvard style Emerald has adopted – we’ve provided a detailed guide below. Want to use a different Harvard style? That’s fine, our typesetters will make any necessary changes to your manuscript if it is accepted. Please ensure you check all your citations for completeness, accuracy and consistency; this enables your readers to exploit the reference linking facility on the database and link back to the works you have cited through CrossRef.</p> <p>Emerald’s Harvard referencing style</p> <p>References to other publications in your text should be written as follows:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Single author: (Adams, 2006) • Two authors: (Adams and Brown, 2006) • Three or more authors: (Adams <i>et al.</i>, 2006) Please note, ‘<i>et al</i>’ should always be written in italics. <p>A few other style points. These apply to both the main body of text and your final list of references.</p> <ul style="list-style-type: none"> • When referring to pages in a publication, use ‘p.(page number)’ for a single page or ‘pp.(page numbers)’ to indicate a page range. • Page numbers should always be written out in full, e.g. 175-179, not 175-9. • Where a colon or dash appears in the title of an article or book chapter, the letter that follows that colon or dash should always be lower case. • When citing a work with multiple editors, use the abbreviation ‘Ed.s’. <p>At the end of your paper, please supply a reference list in alphabetical order using the style guidelines below. Where a DOI is available, this should be included at the end of</p>

	the reference.
<i>For books</i>	Surname, initials (year), <i>title of book</i> , publisher, place of publication. e.g. Harrow, R. (2005), <i>No Place to Hide</i> , Simon & Schuster, New York, NY.
<i>For book chapters</i>	Surname, initials (year), "chapter title", editor's surname, initials (Ed.), <i>title of book</i> , publisher, place of publication, page numbers. e.g. Calabrese, F.A. (2005), "The early pathways: theory to practice – a continuum", Stankosky, M. (Ed.), <i>Creating the Discipline of Knowledge Management</i> , Elsevier, New York, NY, pp.15-20.
<i>For journals</i>	Surname, initials (year), "title of article", <i>journal name</i> , volume issue, page numbers. e.g. Capizzi, M.T. and Ferguson, R. (2005), "Loyalty trends for the twenty-first century", <i>Journal of Consumer Marketing</i> , Vol. 22 No. 2, pp.72-80.
<i>For published conference proceedings</i>	Surname, initials (year of publication), "title of paper", in editor's surname, initials (Ed.), <i>title of published proceeding which may include place and date(s) held</i> , publisher, place of publication, page numbers. e.g. Wilde, S. and Cox, C. (2008), "Principal factors contributing to the competitiveness of tourism destinations at varying stages of development", in Richardson, S., Fredline, L., Patiar A., & Ternel, M. (Ed.s), <i>CAUTHE 2008: Where the 'bloody hell' are we?</i> , Griffith University, Gold Coast, Qld, pp.115-118.
<i>For unpublished conference proceedings</i>	Surname, initials (year), "title of paper", paper presented at [name of conference], [date of conference], [place of conference], available at: URL if freely available on the internet (accessed date). e.g. Aumueller, D. (2005), "Semantic authoring and retrieval within a wiki", paper presented at the European Semantic Web Conference (ESWC), 29 May-1 June, Heraklion, Crete, available at: http://dbs.uni-leipzig.de/file/aumueller05wiksar.pdf (accessed 20 February 2007).
<i>For working papers</i>	Surname, initials (year), "title of article", working paper [number if available], institution or organization, place of organization, date. e.g. Moizer, P. (2003), "How published academic research can inform policy decisions: the case of mandatory rotation of audit appointments", working paper, Leeds University Business School, University of Leeds, Leeds, 28 March.
<i>For encyclopaedia entries (with no author or</i>	<i>Title of encyclopaedia</i> (year), "title of entry", volume, edition, title of encyclopaedia, publisher, place of publication, page numbers. e.g. <i>Encyclopaedia Britannica</i> (1926), "Psychology of culture contact", Vol. 1, 13th ed.,

<i>editor)</i>	Encyclopaedia Britannica, London and New York, NY, pp.765-771. (for authored entries, please refer to book chapter guidelines above)
<i>For newspaper articles (authored)</i>	Surname, initials (year), "article title", <i>newspaper</i> , date, page numbers. e.g. Smith, A. (2008), "Money for old rope", <i>Daily News</i> , 21 January, pp.1, 3-4.
<i>For newspaper articles (non-authored)</i>	<i>Newspaper</i> (year), "article title", date, page numbers. e.g. <i>Daily News</i> (2008), "Small change", 2 February, p.7.
<i>For archival or other unpublished sources</i>	Surname, initials (year), "title of document", unpublished manuscript, collection name, inventory record, name of archive, location of archive. e.g. Litman, S. (1902), "Mechanism & Technique of Commerce", unpublished manuscript, Simon Litman Papers, Record series 9/5/29 Box 3, University of Illinois Archives, Urbana-Champaign, IL.
<i>For electronic sources</i>	If available online, the full URL should be supplied at the end of the reference, as well as the date that the resource was accessed. Surname, initials (year), "title of electronic source", available at: persistent URL (accessed date month year). e.g. Weida, S. and Stolley, K. (2013), "Developing strong thesis statements", available at: https://owl.english.purdue.edu/owl/resource/588/1/ (accessed 20 June 2018) Standalone URLs, i.e. those without an author or date, should be included either inside parentheses within the main text, or preferably set as a note (roman numeral within square brackets within text followed by the full URL address at the end of the paper).
<i>For data</i>	Surname, initials (year), <i>title of dataset</i> , name of data repository, available at: persistent URL, (accessed date month year). e.g. Campbell, A. and Kahn, R.L. (2015), <i>American National Election Study, 1948</i> , ICPSR07218-v4, Inter-university Consortium for Political and Social Research (distributor), Ann Arbor, MI, available at: https://doi.org/10.3886/ICPSR07218.v4 (accessed 20 June 2018)

[Visit Editage](#)

Manuscript requirements

Before you submit your manuscript, it's important you read and follow the guidelines below. You will also find some useful tips in our [structure your journal submission](#) how-to guide.

Submit your manuscript

There are a number of key steps you should follow to ensure a smooth and trouble-free submission.

Double check your manuscript

Before submitting your work, it is your responsibility to check that the manuscript is complete, grammatically correct, and without spelling or typographical errors. A few other important points:

- Give the journal aims and scope a final read. Is your manuscript definitely a good fit? If it isn't, the editor may decline it without peer review.
- Does your manuscript comply with our [research and publishing ethics guidelines](#)?
- Have you cleared any necessary [publishing permissions](#)?
- Have you followed all the formatting requirements laid out in these author guidelines?
- Does the manuscript contain any information that might help the reviewer identify you? This could compromise the blind peer review process. A few tips:
 - If you need to refer to your own work, use wording such as 'previous research has demonstrated' not 'our previous research has demonstrated'.
 - If you need to refer to your own, currently unpublished work, don't include this work in the reference list.
 - Any acknowledgments or author biographies should be uploaded as separate files.
 - Carry out a final check to ensure that no author names appear anywhere in the manuscript. This includes in figures or captions.

You will find a helpful submission checklist on the website [Think.Check.Submit](#).

The submission process

All manuscripts should be submitted through our editorial system by the corresponding author.

A separate author account is required for each journal you submit to. If this is your first time submitting to this journal, please choose the Create an account or Register now option in the editorial system. If you already have an Emerald login, you are welcome to reuse the existing username and password here.

Please note, the next time you log into the system, you will be asked for your username. This will be the email address you entered when you set up your account.

In addition, we require all authors to provide an ORCID iD when submitting to this journal. If you do not already have an ORCID iD, please follow the instructions on how to create one [here](#). ORCID iD allows all researchers to distinguish themselves with a career-long identifier that groups all of their work together. It will be embedded in your published article, along with a link to the ORCID registry allowing others to easily match you with your work.

During the submission process, you will have the opportunity to indicate whether you would like to publish your paper via the gold open access route.

Visit the [ScholarOne support centre](#) for further help and guidance.

What you can expect next

You will receive an automated email from the journal editor, confirming your successful submission. It will provide you with a manuscript number, which will be used in all future correspondence about your submission. If you have any reason to suspect the confirmation email you receive might be fraudulent, please [contact our Rights team](#).

Post submission

Review and decision process

Each submission is checked by the editor. At this stage, they may choose to decline or unsubmit your manuscript if it doesn't fit the journal aims and scope, or they feel the language/manuscript quality is too low.

If they think it might be suitable for the publication, they will send it to at least two independent referees for double blind peer review. Once these reviewers have provided their feedback, the editor may decide to accept your manuscript, request minor or major revisions, or decline your work.

This journal offers an article transfer service. If the editor decides to decline your manuscript, either before or after peer review, they may offer to transfer it to a more relevant Emerald journal in this field. If you accept, your ScholarOne author account, and the accounts of your co-authors, will automatically transfer to the new journal, along with your manuscript and any accompanying peer review reports. However, you will still need to log in to ScholarOne to complete the submission process using your existing username and password. While accepting a transfer does not guarantee the receiving journal will publish your work, an editor will only suggest a transfer if they feel your article is a good fit with the new title.

While all journals work to different timescales, the goal is that the editor will inform you of their first decision within 60 days.

During this period, we will send you automated updates on the progress of your manuscript via our submission system, or you can log in to check on the current status of your paper. Each time we contact you, we will quote the manuscript number you were given at the point of submission. If you receive an email that does not match these criteria, it could be fraudulent and we recommend you email permissions@emeraldinsight.com.

If your submission is accepted

Open access

If you've chosen to publish gold open access, this is the point you will be asked to pay the APC (article processing charge). This varies per journal and can be found on our [APC price list](#) or on the editorial system at the point of submission. Your article will be published with a [Creative Commons CC BY 4.0 user licence](#), which outlines how readers can reuse your work.

For UK journal article authors - if you wish to submit your work accepted by Emerald to REF 2021, you must make a 'closed deposit' of your accepted manuscript to your respective institutional repository upon acceptance of your article. Articles accepted for publication after 1st April 2018 should be deposited as soon as possible,

but no later than three months after the acceptance date. For further information and guidance, please refer to the [REF 2021](#) website.

Copyright

<p><i>Is there a submission fee for the journal?</i></p>	<p>The only time we will ever ask you for money to publish in an Emerald journal is if you have chosen to publish via the gold open access route. You will be asked to pay an APC (article processing charge) once your paper has been accepted (unless it is a sponsored open access journal).</p> <p>Read about our APCs</p> <p>At no other time will you be asked to contribute financially towards your article's publication. If you haven't chosen gold open access and you receive an email which appears to be from Emerald, asking you for payment to publish, please contact our Rights team.</p>
<p><i>How can I become a reviewer for a journal?</i></p>	<p>Please contact the editor for the journal, with a copy of your CV. You will find their contact details on the editorial team tab on this page.</p>
<p><i>Who do I contact if I want to find out which volume and issue my accepted paper will appear in?</i></p>	<p>Typically, papers are added to an issue according to their date of publication. If you would like to know in advance which issue your paper will appear in, please contact the content editor of the journal. You will find their contact details on the editorial team tab on this page. Once your paper has been published in an issue, you will be notified by email.</p>
<p><i>Who do I contact if I have a query about my submission?</i></p>	<p>Please email the journal editor – you will find their contact details on the editorial team tab on this page. If you ever suspect an email you've received from Emerald might not be genuine, you are welcome to verify it with the content editor for the journal, whose contact details can be found on the editorial team tab on this page. Alternatively, you can email our Rights team.</p>
<p><i>Is my paper suitable for the journal?</i></p>	<p>If you've read the aims and scope on the journal landing page and are still unsure whether your paper is suitable for the journal, please email the editor and include your paper's title and structured abstract. They will be able to advise on your manuscript's suitability. You will find their contact details on the Editorial team tab on this page.</p>

How do I make a change to the list of authors once the manuscript has been submitted?

Authorship and the order in which the authors are listed on the paper should be agreed prior to submission. If you need to make any changes to the author information once the paper is under review or has been accepted, we will look into your request and closely follow the [Committee on Publication Ethics \(COPE\) authorship guidelines](#). We will also require a statement from each author confirming their agreement.

All accepted authors are sent an email with a link to a licence form. This should be checked for accuracy, for example whether contact and affiliation details are up to date and your name is spelled correctly, and then returned to us electronically. If there is a reason why you can't assign copyright to us, you should discuss this with your journal content editor. You will find their contact details on the editorial team section above.

Proofing and typesetting

Once we have received your completed licence form, the article will pass directly into the production process. We will carry out editorial checks, copyediting, and typesetting and then return proofs to you (if you are the corresponding author) for your review. This is your opportunity to correct any typographical errors, grammatical errors or incorrect author details. We can't accept requests to rewrite texts at this stage.

When the page proofs are finalised, the fully typeset and proofed version of record is published online. This is referred to as the EarlyCite version. While an EarlyCite article has yet to be assigned to a volume or issue, it does have a digital object identifier (DOI) and is fully citable. It will be compiled into an issue according to the journal's issue schedule, with papers being added by chronological date of publication.

How to share your paper

[Visit our author rights page](#) to find out how you can reuse and share your work.

To find tips on increasing the visibility of your published paper, read about [how to promote your work](#).

Correcting inaccuracies in your published paper

Sometimes errors are made during the research, writing and publishing processes. When these issues arise, we have the option of withdrawing the paper or introducing a correction notice. Find out more about our [article withdrawal and correction policies](#).

Need to make a change to the author list? See our frequently asked questions (FAQs) below.