

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Água ozonizada como sanitizante em sistemas cleaning-in-place (CIP) para a
remoção de biofilme de *Candida intermedia* para aplicação na indústria de
sucos**

Jocássia Reis Silva
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

JOCÁSSIA REIS SILVA

Água ozonizada como sanitizante em sistemas cleaning-in-place (CIP) para a remoção de biofilme de *Candida intermedia* para aplicação na indústria de sucos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Leda Rita Dantonino Faroni

Coorientadores: Solimar G. Machado
Marcus V. de A. Silva

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586a
2026

Silva, Jocássia Reis, 1997-

Água ozonizada como sanitizante em sistemas
cleaning-in-place (CIP) para a remoção de biofilme de *Candida*
intermedia para aplicação na indústria de sucos / Jocássia Reis
Silva. – Viçosa, MG, 2026.

1 dissertação eletrônica (37 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Lêda Rita D'Antonino Faroni.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Engenharia Agrícola, 2026.

Referências bibliográficas: f. 32-37.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.517>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Sucos - Indústria - Limpeza. 2. Biofilmes. 3. Alimentos -
Conservação. 4. Ozônio. I. Faroni, Lêda Rita D'Antonino, 1953-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia
Agrícola. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola.
III. Título.

CDD 22. ed. 628.51

JOCÁSSIA REIS SILVA

Água ozonizada como sanitizante em sistemas cleaning-in-place (CIP) para a remoção de biofilme de *Candida intermedia* para aplicação na indústria de sucos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de julho de 2026.

Assentimento:

Jocássia Reis Silva
Autora

Leda Rita Dantonino Faroni
Orientadora

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 02/09/2026 às 16:15:34 e pela orientadora em 02/09/2026 às 16:37:49. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **AS7U.WWB4.M9J6** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela dádiva da vida.

Aos meus pais, Josias e Estelita, pelo apoio incondicional, incentivo constante.

Ao Octávio por toda força, encorajamento e compreensão todos os dias.

À minha orientadora, Professora Lêda Rita D'Antonino Faroni, e aos meus coorientadores, Professores Marcus Vinicius de Assis Silva e Solimar Gonçalves Machado, pela dedicação, orientação, apoio e valiosas contribuições ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Paulo Roberto Cecon, pela valiosa contribuição nas análises estatísticas, e à Letícia Rossi pelo apoio nas contribuições e aprimoramento deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, pelo apoio, incentivo e companheirismo ao longo desta jornada.

À Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos, oportunidades e valores que contribuíram para a minha formação acadêmica e profissional.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

E a todos que, de alguma forma, estiveram presentes durante esta trajetória e contribuíram para a realização deste trabalho, os meus mais sinceros agradecimentos.

RESUMO

SILVA, Jocássia Reis, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2026. **Água ozonizada como sanitizante em sistemas cleaning-in-place (CIP) para a remoção de biofilme de *Candida intermedia* para aplicação na indústria de sucos.** Orientadora: Leda Rita Dantonino Faroni. Coorientadores: Solimar Goncalves Machado e Marcus Vinicius de Assis Silva.

A formação de biofilmes em superfícies de aço inoxidável constitui um dos principais desafios higiênico-sanitários para a indústria de sucos, por favorecer a persistência de microrganismos e aumentar o risco de contaminação dos alimentos. Nesse contexto, a água ozonizada em sistema de microbolhas destaca-se como uma alternativa aos sanitizantes convencionais, em razão do seu elevado potencial oxidante e da ausência de resíduos químicos. Assim, objetivou-se determinar a eficácia da água ozonizada em sistema de microbolhas na remoção e inativação de biofilmes de *Candida intermedia* em sistema de limpeza Cleaning-in-Place (CIP), comparando seu desempenho ao do hipoclorito de sódio e ao tratamento controle com água. O estudo foi conduzido em planta piloto de sistema CIP, utilizando corpos de prova de aço inoxidável com geometria linear e curva de 90°, previamente colonizados por biofilmes de *C. intermedia*. Foram avaliados três tratamentos sanitizantes (água, hipoclorito de sódio e água ozonizada), dois tempos de exposição (20 e 30 min), a influência da geometria da tubulação, a variação da temperatura durante a recirculação e a contagem de células planctônicas (bactérias e leveduras) na água de recirculação. O tipo de sanitizante foi o único fator que influenciou significativamente a redução da carga microbiana ($p < 0,05$), não sendo observados efeitos do tempo de exposição, da geometria dos corpos de prova ou da interação entre esses fatores. Em comparação ao tratamento controle (água), o hipoclorito de sódio apresentou maior eficiência na remoção do biofilme, promovendo reduções de 1,62 e 1,72 log UFC/cm² nos corpos de prova linear e curvo, respectivamente, enquanto a água ozonizada proporcionou reduções de 0,15 e 0,95 log UFC/cm². Observou-se, ainda, aumento da temperatura durante a recirculação da água ozonizada, condição que pode ter comprometido a estabilidade do ozônio dissolvido e, conseqüentemente, sua eficiência antimicrobiana. Embora a água ozonizada tenha reduzido a carga microbiana do biofilme e a concentração de células planctônicas na água de recirculação, nas condições avaliadas seu desempenho foi inferior ao do hipoclorito de sódio, evidenciando que sua aplicação em sistemas CIP requer a otimização das condições operacionais, especialmente aquelas relacionadas à manutenção da estabilidade do ozônio, visando

potencializar sua eficiência como agente sanitizante.

Palavras-chave: levedura; higienização; microbolhas; segurança de alimentos; ozônio dissolvido; incrustação

ABSTRACT

SILVA, Jocássia Reis, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2026. **Ozonated water as a sanitizing agent in cleaning-in-place (CIP) systems for the removal of *Candida intermedia* biofilm for application in the juice industry.** Adviser: Leda Rita Dantonino Faroni. Co-advisers: Solimar Goncalves Machado and Marcus Vinicius de Assis Silva.

Biofilm formation on stainless steel surfaces represents one of the major hygienic and sanitary challenges in the juice industry, as it promotes microbial persistence and increases the risk of food contamination. In this context, ozonated water in a microbubble system has emerged as a promising alternative to conventional sanitizing agents due to its high oxidative potential and the absence of chemical residues. Therefore, this study aimed to determine the efficacy of ozonated water in a microbubble system for the removal and inactivation of *Candida intermedia* biofilms in a Cleaning-in-Place (CIP) system, comparing its performance with that of sodium hypochlorite and water as the control treatment. The experiments were conducted in a pilot-scale CIP system using stainless steel coupons with straight and 90° curved geometries, previously colonized by *C. intermedia* biofilms. Three sanitizing treatments (water, sodium hypochlorite, and ozonated water), two exposure times (20 and 30 min), the influence of pipeline geometry, temperature variation during recirculation, and the concentration of planktonic cells (molds and yeasts) in the recirculation water were evaluated. The type of sanitizer was the only factor that significantly affected microbial load reduction ($p < 0.05$), whereas exposure time, coupon geometry, and the interaction among these factors had no significant effect. Compared with the control treatment, sodium hypochlorite exhibited the highest biofilm removal efficiency, achieving microbial load reductions of 1.62 and 1.72 log CFU/cm² on the straight and curved coupons, respectively, whereas ozonated water achieved reductions of 0.15 and 0.95 log CFU/cm². In addition, an increase in temperature was observed during ozonated water recirculation, which may have compromised the stability of dissolved ozone and, consequently, its antimicrobial efficacy. Although ozonated water reduced both the microbial load of the biofilm and the concentration of planktonic cells in the recirculation water, its performance under the evaluated conditions was inferior to that of sodium hypochlorite, indicating that its application in CIP systems requires optimization of operational parameters, particularly those related to maintaining ozone stability, in order to maximize its sanitizing efficacy.

Keywords: yeast; sanitization; microbubbles; food safety; dissolved ozone; fouling

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
2.1 Microrganismos e condições de cultivo.....	12
2.2 Formação de biofilme nos corpos de prova	13
2.3 Sanitização em sistema de limpeza (CIP).....	13
2.3.1 Caracterização da água de distribuição	15
2.3.2 Formação do biofilme e sanitização dos corpos de prova na planta piloto	16
2.3.3 Quantificação das células aderidas nos corpos de prova.....	20
2.4 Delineamento experimental	20
2.4.1. Análise estatística.....	21
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4 CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

A indústria de processamento de frutas representa um setor de expressiva relevância econômica e social, especialmente no Brasil, onde a fruticultura desempenha papel importante na geração de renda, empregos e no agronegócio nacional (BRASIL, 2025). Entretanto, as operações industriais envolvidas na produção desses produtos podem favorecer a contaminação e a proliferação de microrganismos, tornando o controle higiênico-sanitário um desafio constante para a manutenção da qualidade e da segurança dos produtos. Entre os principais contaminantes associados às plantas processadoras de sucos destacam-se as leveduras (RICO-MUNOZ; DOS SANTOS, 2019). Dentre os gêneros mais frequentemente encontrados nesse ambiente, *Candida* spp. e *Rhodotorula* spp. merecem atenção especial devido à capacidade de aderir a superfícies, formar biofilmes e persistir mesmo após a sanitização (SALO; WIRTANEN, 2005; RAMÍREZ-CASTRILLÓN *et al.*, 2019; AGUSTÍN *et al.*, 2023; WONDIMAGEGN; MOHAMMED, 2025).

Na forma de biofilme, essas leveduras se aderem às paredes internas das tubulações (WAGNER *et al.*, 2021), contribuindo para a formação de incrustações (LI *et al.*, 2019). Fatores como a umidade, disponibilidade de nutrientes e o tipo de matéria orgânica presente favorecem o desenvolvimento dessas estruturas. Quando há desprendimento de células ou fragmentos do biofilme, pode ocorrer contaminação dos alimentos, reduzindo o tempo de prateleira dos produtos e, em alguns casos, provocar surtos de doença (VISHWAKARMA, 2020; WAGNER *et al.*, 2021).

O *Clean in Place* (CIP) é um sistema de higienização automatizado utilizado na indústria de alimentos e bebidas, sendo projetado para higienizar o interior de equipamentos e tubulações sem a necessidade de desmontagem ou intervenção manual significativa (ENGLEZOS *et al.*, 2019; PANT *et al.*, 2023). É considerado um sistema de limpeza rápido e eficaz e consiste na lavagem com circulação controlada de sanitizantes, detergentes e soluções de enxágue, permitindo a redução do tempo de parada dos equipamentos e maior padronização das operações de limpeza (MEMISI *et al.*, 2015; ENGLEZOS *et al.*, 2019; PANT *et al.*, 2023).

A etapa de sanitização é comumente realizada com uso de produtos à base de cloro devido ao seu baixo custo, pela eficácia na remoção de microrganismos e pela facilidade em sua aplicação (FAASEMA; ALAKALI; ABU, 2014; MOHAPATRA *et al.*, 2017; HOU *et al.*, 2022). No entanto, alguns sanitizantes à base de cloro podem formar subprodutos como bromatos e trihalometanos (GHEVARIYA; SALVI, 2025) e, apesar de serem métodos eficazes,

existem preocupações quanto à persistência desses compostos e aos seus efeitos prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente (LEE; KIM; OH, 2020).

Devido à demanda de alimentos com a ausência de resíduos desses produtos, existe uma busca por métodos de controle alternativos como água ativada por plasma (GHEVARIYA; SALVI, 2025), água eletrolisada (REBEZOV *et al.*, 2022), enzimas (GUERRERO-NAVARRO *et al.*, 2022), ozônio gasoso e aquoso (DUBEY; SINGH; YOUSUF, 2022) e ácido peracético (MARGALHO *et al.*, 2025). O ozônio é considerado uma tecnologia emergente que está sendo amplamente utilizada para sanitização de produtos alimentícios, por ser um tratamento eficaz durante as etapas de processamento e armazenamento, contribuindo para a manutenção da qualidade dos produtos e aumento da vida de prateleira (SINGH *et al.*, 2013; MODESTI *et al.*, 2019; DUBEY; SINGH; YOUSUF, 2022). O ozônio possui a capacidade de desinfecção e esterilização devido a sua característica oxidante e por ser altamente reativo (PANDISELVAM *et al.*, 2019). Além disso, é considerado seguro e eficiente, pois seu produto de degradação é o oxigênio, não deixando resíduos nos alimentos (GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004; ÖLMEZ; KRETZSCHMAR, 2009; DUBEY; SINGH; YOUSUF, 2022; KASSEM *et al.*, 2022).

O ozônio pode ser aplicado na forma gasosa, névoa ozonizada ou dissolvido em água (SHEZI *et al.*, 2020; CABRAL *et al.*, 2024). Entre as formas de incorporação do ozônio em água, destaca-se o sistema de microbolhas, que consiste na geração de bolhas com diâmetros inferiores a 100 μm (JOHN *et al.*, 2022; MO *et al.*, 2024). Em comparação às bolhas convencionais usadas na ozonização, com diâmetro entre 2 e 6 mm, as microbolhas apresentam maior área superficial e o maior tempo de residência. Isto implica em uma maior eficiência na transferência de ozônio da fase gasosa para a fase líquida (HOU *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2023).

O ozônio tem sido investigado como sanitizante nos sistemas de limpeza CIP para descontaminação microbiológica das superfícies internas das tubulações nas indústrias de processamento de alimentos (MODESTI *et al.*, 2019; DUBEY; SINGH; YOUSUF, 2022). Na literatura há registros da utilização do ozônio em sistemas de limpeza CIP para descontaminação de biofilmes de *Pseudomonas fluorescens* (TIRPanci SIVRI *et al.*, 2023), em indústrias vinícolas (GUILLEN; KECHINSKI; MANFROI, 2010) e em equipamentos de envase de vinhos (ENGLEZOS *et al.*, 2019), demonstrando que os parâmetros de ozonização podem ser estudados e adaptados para diferentes realidades industriais (NOGUEIRA LEITE *et al.*, 2024). No entanto, ainda são escassos os estudos que avaliam a eficácia da água ozonizada

em sistema de microbolhas em sistemas de limpeza CIP voltados para indústrias de processamento de sucos.

Com isso, objetivou-se, neste trabalho, determinar a eficácia da água ozonizada em sistema de microbolhas na remoção e inativação de biofilmes de *Candida intermedia* em sistemas de limpeza CIP para a indústria de sucos. Especificamente, buscou-se: (i) avaliar a eficácia da água ozonizada em sistema de microbolhas, em comparação ao hipoclorito de sódio e ao controle com água, na remoção e inativação de biofilmes de *C. intermedia* em corpos de prova de aço inoxidável submetidos ao sistema CIP; (ii) comparar o desempenho sanitizante dos tratamentos em corpos de prova com geometria linear e curva de 90°, verificando a influência da geometria da tubulação na redução da carga microbiana; (iii) investigar o efeito do tempo de exposição (20 e 30 min) sobre a eficiência de remoção do biofilme para cada agente sanitizante; (iv) avaliar a variação da temperatura durante a recirculação dos tratamentos no sistema CIP e sua relação com a estabilidade e a eficiência antimicrobiana da água ozonizada; e (v) avaliar a presença de bolores e leveduras na água de recirculação do sistema CIP após a aplicação dos diferentes tratamentos sanitizantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Microrganismos e condições de cultivo

Foi avaliada a cepa de *Candida intermedia* CE3, pertencente à coleção de culturas isoladas do Laboratório de Pesquisa em Qualidade e Segurança de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos (EAL) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

A cultura foi mantida em caldo Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) (extrato de levedura 1,0% (m/v); peptona 2% (m/v); glicose 2,0% (m/v)) acrescido de 20% (v/v) de glicerol a -80 °C. Antes de cada experimento, a cultura foi ativada em 10 mL de caldo YPD, na concentração de 1% (v/v) e incubada por 48 h na temperatura ótima de crescimento de 25 ± 1 °C. Em seguida, a cultura foi novamente ativada em 50 mL de suco de manga (Tabela 1), na concentração de 1% (v/v) e incubada por 48 h na temperatura ótima de crescimento de 25 ± 1 °C.

O suco utilizado para a ativação da cultura foi obtido em supermercado local da cidade de Viçosa, MG. Foram realizadas análises físico-químicas, incluindo:

- Sólidos solúveis totais (°Brix)

A concentração de sólidos solúveis totais foi determinada por meio de um refratômetro digital, modelo Poket Refractometer PAL-3 (Atago, Tóquio, Japão). Para a análise, uma gota de suco foi depositada sobre o prisma do equipamento para a medida do °Brix.

- Potencial hidrogeniônico (pH)

A determinação do pH foi realizada utilizando 100 mL de suco por meio de imersão do eletrodo de um pHmetro digital portátil modelo K39-0014PA (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil).

- Acidez total titulável

A acidez total titulável (% de ácido cítrico em 100 g de suco) foi determinada por meio de volumetria potenciométrica a partir de uma solução contendo 10 mL de suco diluído em 100 mL de água destilada. Utilizando-se um pHmetro digital portátil modelo K39-0014PA (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil), juntamente com a titulação da amostra com solução padronizada de hidróxido de sódio (NaOH 0,1M), o ponto de equivalência foi determinado quando o pH atingiu 8,2. A acidez total titulável foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$\text{Ácido cítrico (\% por 100 g)} = \frac{V_1 \cdot f \cdot 10}{m} \quad (1)$$

Em que,

Ácido cítrico (%/100g): acidez total titulável, expressa como percentual de ácido cítrico;

V₁: volume de hidróxido de sódio (NaOH) gasto na titulação (mL);

f: fator de correção;

m: massa da amostra (g).

Tabela 1. Caracterização físico-química do suco de manga empregado na ativação da cultura microbiana

PARÂMETROS	VALORES
Acidez total (g/L)	0,192
Sólidos solúveis totais (°Brix)	8,78
pH	3,80

2.2 Formação de biofilme nos corpos de prova

A formação do biofilme nos corpos de prova foi realizada de acordo com o método descrito por Tarifa *et al.* (2018). Para esse ensaio, foi utilizado um corpo de prova para o segmento de tubulação linear e um corpo de prova para a seção curva de 90°.

Inicialmente, os segmentos foram imersos em acetona concentrada por 30 min, seguido da imersão em solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 1% (m/v) por 1 h. Após esse procedimento de limpeza, as peças foram autoclavadas a 121 °C por 20 min.

Posteriormente, para a formação do biofilme, foram adicionados aos corpos de prova lineares uma alíquota de 1,6 mL (10% v/v) da cultura ativada em suco de manga, conforme descrito no item 2.1, juntamente com 14,4 mL de suco de manga. Para os corpos de prova curvos, foram adicionados 2,8 mL (10% v/v) da cultura ativada em suco de manga, juntamente com 25,2 mL de suco de manga para a formação do biofilme. Os corpos de prova inoculados com *C. intermedia* CE3 foram incubados por 72 h a 25 ± 1 °C. Após o período de incubação, os corpos de prova foram lavados três vezes consecutivas com solução salina a 0,85% (m/v) para remoção das células planctônicas. As células planctônicas correspondem às células microbianas livres em suspensão na solução, que não estão aderidas a superfícies (NOBILE; JOHNSON, 2015; LOHSE *et al.*, 2017).

2.3 Sanitização em sistema de limpeza (CIP)

Para determinar o potencial da água ozonizada na sanitização de tubulações e na remoção de biofilmes de leveduras, foi conduzido um experimento em uma planta piloto que simula o sistema de limpeza CIP com água ozonizada, localizada no Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da UFV.

A planta piloto do sistema de limpeza CIP consiste em um tanque jaquetado com volume de 100 L, um tanque para recirculação das soluções sanitizantes com volume de 50 L, um gerador de microbolha modelo MB800 (myOZONE, Jaguariúna, SP, Brasil) e 16 metros lineares de tubulação em aço inoxidável 304 com 2,54 cm de diâmetro (Figura 1).

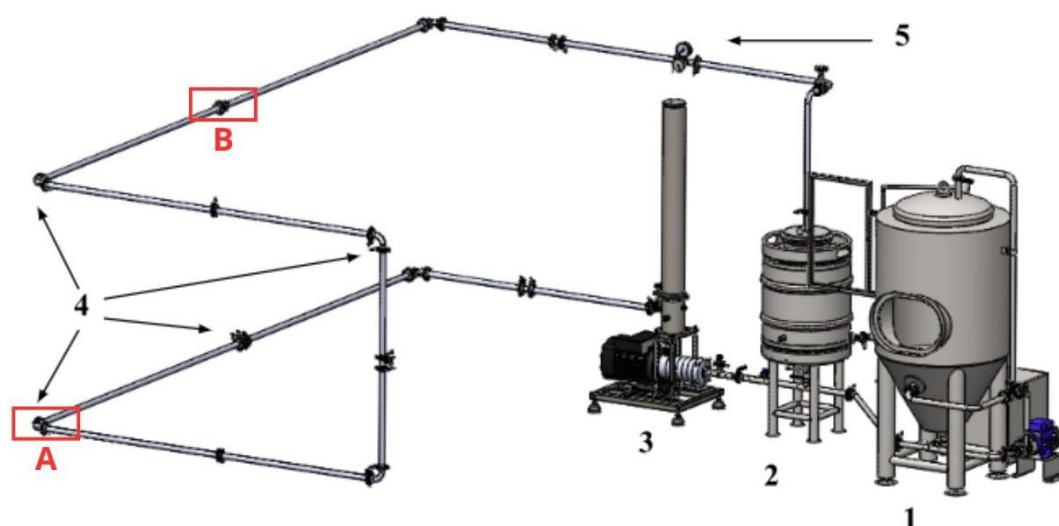


Figura 1. Vista isométrica da planta piloto para simulação de um sistema CIP. 1 - Tanque jaquetado com controle de temperatura para incorporação de ozônio na água; 2 - Tanque para recirculação das soluções de limpeza e soluções sanitizantes; 3 - Gerador de microbolha; 4 - Corpos de prova; 5 - Sensor de temperatura, pressão e vazão; A – Local de inserção do corpo de prova curva; B - Local de inserção do corpo de prova linear.

Ao longo da tubulação, há pontos para coleta de amostras de água, manômetros, sensores de temperatura e sensores de vazão para monitoramento da concentração de ozônio na água, pressão, vazão volumétrica e temperatura na linha durante o processo de sanitização.

O ozônio foi incorporado por meio de um injetor do tipo superventuri dentro do tanque jaquetado. Após o preparo da água ozonizada, foi realizada a transferência de 25 L da solução para o tanque de capacidade volumétrica de 50 L. Este tanque está ligado ao gerador de

microbolha, que é responsável pela recirculação das soluções sanitizantes e pela incorporação de ozônio durante o processo de sanitização. Além disso, o sistema dispõe de corpos de prova utilizados para a inoculação da levedura formadora de biofilme.

Os corpos de prova, assim como toda a tubulação do circuito CIP, foram construídos em aço inox 304 e apresentam diâmetro interno de 23,0 mm e diâmetro externo de 25,4 mm. Os corpos de prova referentes aos segmentos de tubulação linear apresentam volume interno de 22 mL e área superficial interna de 36,12 cm², enquanto os corpos de prova referentes às curvas de 90° apresentam volume interno de 34 mL e área superficial interna de 58,91 cm².

2.3.1 Caracterização da água de distribuição

Da mesma forma que foi realizada para o tratamento com ozônio, descrito no item 2.3, a condução dos tratamentos realizados com água e com hipoclorito de sódio foi feita utilizando 25 L de solução, adicionados diretamente no tanque de 50 L (tanque utilizado para as soluções sanitizantes). A Tabela 2 apresenta a caracterização prévia da água utilizada na realização do experimento.

Tabela 2. Caracterização dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água de distribuição utilizada no sistema de Limpeza no Local (CIP)

Análise	Resultado	LQ*	LD**	Incerteza
Cloro Residual Livre	0,37 mg/L	0,10	0,03	0,02
Ferro Total	< 0,08 mg/L	0,08	0,02	-
Cor Aparente	< 10 uH	10	3	-
Dureza Total	26,3 mg/L	6,0	1,8	1,1
Turbidez	0,92 UNT	0,10	0,03	0,04
pH	7,04	2,00	-	0,11
Coliformes Totais	Ausente	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	-	-	-

*LQ: Limite de Quantificação.

**LD: Limite de Detecção.

“- “: Dado inexistente ou não aplicável.

2.3.2 Formação do biofilme e sanitização dos corpos de prova na planta piloto

Após o procedimento descrito no item 2.2, os corpos de prova linear e curvo contendo biofilme de *Candida intermedia* foram instalados, separadamente para cada tratamento (T1 a T6), no sistema CIP piloto, nas posições indicadas na Figura 1, sendo a posição A correspondente ao corpo de prova curvo e a posição B ao corpo de prova linear.

Os ensaios foram realizados individualmente, obedecendo à sequência T1, T2, T3, T4, T5 e T6. Antes de cada ensaio, o tanque de recirculação das soluções sanitizantes do sistema CIP era abastecido com uma solução recém-preparada correspondente ao tratamento avaliado. O tratamento T7 não foi submetido ao sistema CIP, sendo utilizado para a determinação da população inicial de células aderidas do biofilme de *C. intermedia* nos corpos de prova, utilizada como referência para o cálculo da redução microbiológica dos demais tratamentos.

Após a conclusão de cada tratamento, os corpos de prova foram removidos para a realização das análises microbiológicas. Em seguida, a solução sanitizante utilizada era

descartada e o sistema CIP era submetido a um enxágue com água, com o objetivo de remover resíduos do tratamento anterior e minimizar possíveis interferências nos ensaios subsequentes.

Cada tratamento foi realizado com quatro repetições independentes. Para cada repetição experimental, os corpos de prova foram novamente submetidos ao processo de preparo e formação do biofilme, utilizando-se um novo inóculo de *C. intermedia*. Dessa forma, cada repetição foi conduzida com um novo biofilme formado sob as mesmas condições experimentais.

Ao término do tempo de recirculação das soluções sanitizantes correspondente a cada tratamento (T1, T2, T3, T4, T5 e T6), foi coletada uma amostra do fluido circulante por meio de uma torneira instalada no circuito do sistema CIP. As amostras foram acondicionadas em recipientes estéreis e destinadas à realização das análises microbiológicas, com o objetivo de avaliar as células planctônicas de *C. intermedia* provenientes do desprendimento do biofilme. Para cada tratamento, foi coletada uma amostra em cada uma das quatro repetições experimentais.

Os parâmetros operacionais de temperatura (°C), vazão volumétrica (m³/h), velocidade de escoamento e pressão no vaso de pressão (kgf/cm²) foram monitorados ao longo dos experimentos. Os valores obtidos, apresentados na Tabela 3, caracterizam as condições operacionais do sistema CIP sob as quais cada tratamento foi conduzido.

A quantificação da concentração de ozônio dissolvido na água foi realizada a partir do método iodométrico adaptado de Rakness *et al.* (1996). Esse método consiste em adicionar 50 mL de água ozonizada a um Erlenmeyer contendo as soluções de 50 mL de solução de iodeto de potássio (KI 2%) e 2,5 mL de ácido sulfúrico 0,05 mol/L (H₂SO₄). Em seguida, foi realizada a titulação utilizando tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃) na concentração de 0,01 mol/L. A concentração de ozônio gerada para a alimentação do sistema foi de 51,6 mg/L enquanto a concentração de ozônio dissolvido na água foi de 7,8 mg/L.

O regime de escoamento do sistema CIP foi classificado com base no número de Reynolds (Tabela 3). O número de Reynolds foi obtido pela Equação 2, conforme descrito por Prabhukhot *et al.* (2024); Muthuraman; Palmer; Flint (2026).

$$Re = \frac{\rho \vartheta D}{\mu} = \frac{\vartheta D}{\eta} \quad (2)$$

Em que,

Re: Número de Reynolds;

v : velocidade hidrodinâmica (m/s);

D: diâmetro da tubulação (m);

ρ : densidade do fluido (kg/m³);

μ : viscosidade dinâmica (kg/(m·s));

η : viscosidade cinemática (m²/s).

Tabela 3. Parâmetros de controle no sistema Clean in Place (CIP). As medidas apresentadas representam a média das quatro repetições independentes do experimento de ozonização.

PARÂMETROS	TRATAMENTOS					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Vazão volumétrica (m³/h)	4,2	4,3	4,3	4,2	3,9	3,9
Velocidade (m/s)	2,4	2,4	2,4	2,4	2,2	2,2
Pressão no vaso de pressão (kgf/cm²)	1,3	1,4	1,3	1,3	1,1	1,1
Temperatura inicial da água (°C)	16	14	22	21	19	18
Temperatura final da água (°C)	25	28	30	33	27	30
Reynolds	61503,20 ± 5781,83	62852,77 ± 7656,10	68895,43 ± 7592,86	70460,59 ± 7536,57	59700,09 ± 4084,00	61342,55 ± 6324,53
Fluxo	Turbulento	Turbulento	Turbulento	Turbulento	Turbulento	Turbulento

T1: Água (20 min); T2: Água (30 min); T3: Hipoclorito de sódio (20 min); T4: Hipoclorito de sódio (30 min); T5: Água ozonizada (20 min); T6:Água ozonizada (30 min).

2.3.3 Quantificação das células aderidas nos corpos de prova

Os segmentos expostos aos diferentes tratamentos no sistema CIP foram removidos para a realização das análises microbiológicas. Inicialmente, os corpos de prova linear e curvo foram preenchidos três vezes com solução salina a 0,85% (m/v), sendo a solução descartada para que as células planctônicas eventualmente presentes fossem removidas. Posteriormente, foram novamente preenchidos com a mesma solução salina (16,0 mL para o corpo de prova linear e 28,0 mL para o corpo de prova curvo) e submetidos à sonicação na frequência de 42 kHz durante 30 min para a remoção das células aderidas. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas em solução salina a 0,85% (m/v), seguidas de plaqueamento em superfície em meio Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) (extrato de levedura 1,0% (m/v); peptona 2% (m/v); glicose 2,0% (m/v); ágar bacteriológico 2,0% (m/v)). As placas foram incubadas a 25 °C por 5 dias. Após a incubação, foi realizada a contagem das colônias, sendo os resultados expressos em log (UFC/cm²).

As amostras de fluido circulante também foram submetidas à análise microbiológica para quantificação de células planctônicas. Para tal, foi realizado o plaqueamento direto, sem diluições. Para a quantificação de bolores e leveduras, foi realizado o plaqueamento em superfície em Potato Dextrose Agar (PDA) acidificado com ácido tartárico a 10% (m/v), com o objetivo de reduzir o crescimento de bactérias interferentes. Após o plaqueamento, as placas foram incubadas a 25 °C por 5 a 7 dias. Em seguida, foi realizada a contagem das colônias, sendo os resultados expressos em log (UFC/mL).

Todo o procedimento das análises microbiológicas foi realizado em condições assépticas em câmara de fluxo laminar vertical, modelo PCR FLV-1266/4 (Filterflux, Piracicaba, SP, Brasil).

2.4 Delineamento experimental

Para avaliar o potencial da água ozonizada nas operações de sanitização em sistemas CIP, para cada corpo de prova foi adotado um esquema fatorial (3S x 2T) + 2, correspondente a três sanitizantes (água, hipoclorito de sódio e água ozonizada), dois tempos de exposição (20 e 30 min) e duas testemunhas (1 corpo de prova linear e 1 corpo de prova curvo), no delineamento em blocos casualizados com quatro repetições.

Foram realizados 7 tratamentos (Figura 2): dois tratamentos com circulação apenas de água, com temperatura inicial fixada em 15 °C, sendo um realizado por 20 min (T1) e o outro por 30 min (T2) utilizados como controle experimental; dois tratamentos com recirculação de hipoclorito de sódio (NaClO) dissolvido em água à temperatura ambiente, na concentração de 1:400 (ppm) (SPARTAN DO BRASIL, 2023), utilizando o produto SANIT-CHLOR da Spartan, sendo um realizado por 20 min (T3) e o outro por 30 min (T4); dois tratamentos com circulação de água ozonizada na concentração de 7,8 mg/L, com temperatura inicial fixada em 15 °C, sendo um realizado por 20 min (T5) e o outro por 30 min (T6); e um tratamento (T7) utilizado como testemunha, constituído por corpos de prova contendo biofilme que não foram submetidos ao sistema CIP, sendo empregada para a determinação da contagem microbiológica inicial e como referência para o cálculo da redução microbiológica dos demais tratamentos

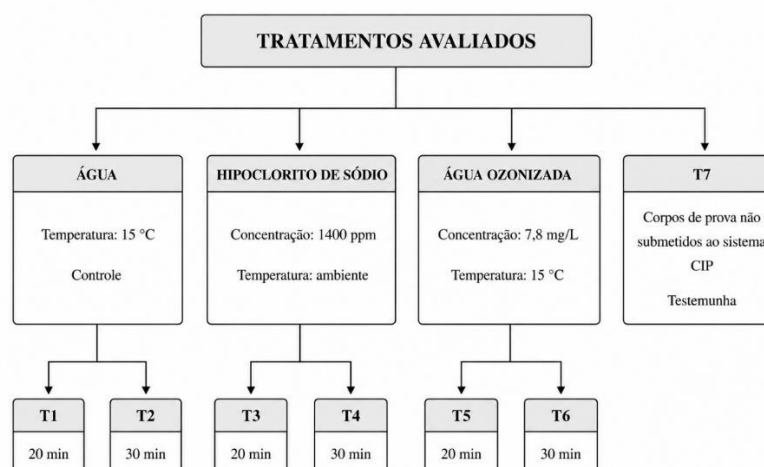


Figura 2. Esquema dos tratamentos experimentais empregados na avaliação da eficiência da sanitização em sistema CIP.

2.4.1. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando-se um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software SAEG, versão 9.1.

Adicionalmente, foram conduzidas análises de regressão linear com o objetivo de avaliar a relação entre o tempo de exposição e a temperatura ao longo do processo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 4 apresenta o resumo da Análise de Variância (ANOVA) para a variável resposta contagem de células aderidas do biofilme da levedura estudada, *C. intermedia*, expressa em log (UFC/cm²) nos corpos de prova linear e curvo (Tabela 4). Foram considerados os fatores experimentais avaliados no estudo, incluindo os efeitos dos tratamentos (água, hipoclorito de sódio e água ozonizada), do tempo de exposição (20 e 30 min), bem como as interações entre esses fatores, permitindo a identificação dos efeitos significativos sobre a variável resposta por meio do teste F.

Tabela 4. Análise de variância (ANOVA) para a contagem de células aderidas do biofilme de *C. intermedia* (log UFC/cm²), em função dos tratamentos (água, hipoclorito de sódio e água ozonizada) e dos tempos de exposição, considerando os efeitos de blocos e a interação entre os fatores

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio (Corpo de prova Linear)	Quadrado Médio (Corpo de prova Curvo)
Blocos	3		
Tratamentos (TR)	2	6,45*	5,99*
Tempo de Exposição (TE)	1	0,40 ^{NS}	0,030 ^{NS}
TR*TE	2	0,73 ^{NS}	0,19 ^{NS}
Resíduo	15	0,45	0,25

¹Dados submetidos à transformação log(x+1) para análise estatística. Os valores apresentados correspondem às médias transformadas.

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

^{NS} Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

A análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 4 demonstra que houve efeito significativo apenas para o fator tratamento (TR), ao nível de 5% de probabilidade. Esse resultado indica que os diferentes tratamentos aplicados (água, hipoclorito de sódio e água ozonizada) influenciaram de forma significativa a contagem de células aderidas de *Candida intermedia*, expressa em log (UFC/cm²) nos dois tipos de corpos de prova utilizados. Esse

resultado reforça a influência direta do tipo de agente sanitizante utilizado na eficiência da redução microbiológica no sistema de limpeza CIP.

Por outro lado, o tipo de corpo de prova, o tempo de exposição e a interação entre tratamentos e tempo de exposição não apresentaram efeito significativo, indicando que essas fontes de variação não influenciaram de forma estatisticamente relevante a variável resposta nas condições avaliadas. Desta forma, os resultados demonstram que o desempenho dos tratamentos foi consistente nos diferentes períodos avaliados, indicando que sua eficiência relativa não dependeu do tempo de recirculação. Assim, o principal fator associado à redução da carga microbiana foi o tipo de tratamento aplicado, independentemente do tempo analisado.

Em contrapartida, a literatura demonstra que o aumento do tempo de exposição ao ozônio pode potencializar a inativação de biofilmes. Em biofilmes de *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens* e *Staphylococcus aureus* aderidos a superfícies de aço inoxidável, a aplicação de água ozonizada na concentração de 0,5mg/L, em sistema de fluxo contínuo e por tempos de exposição de 20 s a 20 min, promoveu reduções progressivas da viabilidade microbiana à medida que o tempo de contato aumentou (MARINO *et al.*, 2018). Da mesma forma, em biofilmes de *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus subtilis* formados sobre cupons de aço inoxidável a aplicação de água ozonizada contendo 1,4 ppm de ozônio promoveu a completa inativação dos biofilmes após 150 e 270 s de exposição, respectivamente, evidenciando a influência do tempo sobre a eficácia do tratamento (TIWARI *et al.*, 2017). Resultados semelhantes foram observados com a aplicação de ozônio gasoso na concentração de 50 ppm, em que exposições de longo prazo (1 e 6 h) promoveram reduções significativamente maiores na carga microbiana de biofilmes de *Bacillus cereus* e *B. subtilis*, formados sobre superfícies de aço inoxidável em comparação ao tratamento de curto prazo (10 min) (CATANIA *et al.*, 2025).

Assim, embora diversos estudos demonstrem que o aumento do tempo de exposição favorece a inativação de biofilmes, esse comportamento não foi observado nas condições experimentais avaliadas no presente trabalho. Uma possível explicação é que a diferença entre os tempos de exposição avaliados (20 e 30 min) não tenha sido suficiente para promover diferenças detectáveis na remoção das células aderidas, uma vez que ambos os períodos podem ter proporcionado efeito sanitizante semelhante. Contudo, essa hipótese não exclui a influência das características relacionadas ao sistema de ozonização, incluindo concentração de ozônio, temperatura empregada e sua cinética em meio aquoso, que podem influenciar a disponibilidade e a eficácia do agente oxidante.

Em relação ao tipo de corpo de prova, a literatura relata que regiões curvas podem representar pontos críticos em sistemas de limpeza CIP, uma vez que alterações na geometria da tubulação modificam o padrão de escoamento, promovendo distribuição não uniforme das velocidades e das tensões de cisalhamento na parede, o que pode comprometer a remoção de biofilmes quando comparadas a tubulações retilíneas (LI *et al.*, 2019). Evidências experimentais corroboram essa hipótese, uma vez que Silva *et al.* (2024) e De Andrade *et al.* (2009) verificaram maior eficiência de sanitização em tubos cilíndricos retos quando comparados a cotovelos de 90°, para biofilmes de *Listeria* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente.

No presente estudo, entretanto, não foi observado efeito significativo ($p > 0,05$) do tipo de corpo de prova sobre a redução de *C. intermedia*. Esse resultado sugere que, nas condições experimentais avaliadas, a geometria dos corpos de prova não constituiu um fator determinante para a eficácia da sanitização. Considerando que o sistema operou sob regime de escoamento turbulento (Tabela 3), é possível que as condições hidrodinâmicas tenham reduzido a influência da geometria sobre a distribuição das soluções ao longo da tubulação, tornando semelhantes as condições de contato entre as soluções empregadas e a superfície dos corpos de prova. Consequentemente, eventuais diferenças de velocidade e tensão de cisalhamento entre as geometrias avaliadas podem não ter sido suficientes para produzir diferenças detectáveis na remoção das células aderidas.

A Tabela 5 apresenta os valores médios da redução da contagem de células aderidas do biofilme de *C. intermedia* obtidos em função da aplicação dos diferentes tratamentos sanitizantes avaliados nos corpos de prova linear e curvo, permitindo a comparação do desempenho de cada tratamento quanto à redução da carga microbiana. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p \leq 0,05$).

Tabela 5. Redução da contagem de células aderidas do biofilme de *C. intermedia* em função dos tratamentos (água, água ozonizada e hipoclorito de sódio), considerando os corpos de prova linear e curvo, em relação à contagem inicial do inóculo.

Tratamentos	Corpos de prova	
	Linear (log (UFC/cm ²))	Curvo (log(UFC/cm ²))
Água	2,57 ¹ A	2,62 ¹ A
Água ozonizada	2,72 ¹ A	3,57 ¹ B
Hipoclorito de sódio	4,19 ¹ B	4,35 ¹ C

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não difere entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

¹ Dados transformados em $\log(x+1)$

A população inicial do biofilme de *C. intermedia* aderida aos corpos de prova, determinada por meio do tratamento T7, utilizado como referência para o cálculo da redução microbiológica, foi de 5,56 log UFC/cm² no corpo de prova linear e de 5,48 log UFC/cm² no corpo de prova curvo.

Os resultados apresentados na Tabela 5 demonstraram que o tratamento realizado com hipoclorito de sódio foi o mais eficiente na redução da carga microbiana de *C. intermedia* em ambos os corpos de prova conforme indicado pelo teste de Tukey a 5% de significância. No corpo de prova linear, o hipoclorito de sódio promoveu redução de 4,19 log UFC/cm², diferindo estatisticamente dos tratamentos com água e água ozonizada, que não apresentaram diferença entre si e resultaram em reduções de 2,57 e 2,72 log UFC/cm², respectivamente. Já no corpo de prova curvo, todos os tratamentos diferiram estatisticamente, sendo observadas reduções da carga microbiana de 4,35 log UFC/cm² para o hipoclorito de sódio, 3,57 log UFC/cm² para a água ozonizada e 2,62 log UFC/cm² para a água. Em comparação ao tratamento com água, a água ozonizada promoveu reduções de 0,15 log UFC/cm² no corpo de prova linear e de 0,95 log UFC/cm² no corpo de prova curvo, enquanto o hipoclorito de sódio apresentou reduções de 1,62 no corpo de prova linear e 1,72 log UFC/cm² no corpo de prova curvo.

O tratamento de lavagem apenas com água promoveu redução da carga microbiana em 2,47 e 2,52 log (UFC/cm²) para os corpos de prova linear e curvo, respectivamente. Essa redução pode ser atribuída à ação mecânica promovida pelo fluxo da água, que contribuiu para a remoção parcial dos microrganismos aderidos às superfícies das tubulações. Resultados semelhantes foram relatados por Lee; Kim; Oh, (2020), que observaram reduções entre 2,3 e 4,0 log (UFC/cm²) de *B. cereus* inoculados em chips de aço inoxidável após lavagem com água.

De forma semelhante, Englezos *et al.* (2019) verificaram que a lavagem de tubulações com água promoveu redução das populações de leveduras e bactérias, variando entre 0,7 e 3,8 log (UFC/mL). Além disso, outro estudo relatou que a água foi capaz de reduzir aproximadamente 1 log na contagem de biofilmes formados por *Pseudomonas lundensis* e *Pseudomonas cedrina* (MUTHURAMAN; PALMER; FLINT, 2026). Em conjunto, esses resultados reforçam que, embora a lavagem com água promova a remoção física de células fracamente aderidas, essa etapa isoladamente não é suficiente para eliminação completa dos biofilmes, evidenciando a necessidade da aplicação complementar de agentes sanitizantes para garantir maior eficiência microbiológica no processo de higienização.

O hipoclorito de sódio (NaClO) consolida-se como um dos sanitizantes mais utilizados na indústria de alimentos devido à sua ação rápida, facilidade de aplicação e elevada capacidade oxidante (MARGALHO *et al.*, 2025; MO *et al.*, 2024). Como agente oxidante ativo, o cloro atua diretamente na destruição da atividade proteica celular, comprometendo a viabilidade microbiana (MOGOTSI *et al.*, 2014; VAN HOUDT; MICHIELS, 2010). Esse dano estrutural ocorre por meio da inibição de enzimas-chave vitais, o que desencadeia um estresse oxidativo deletério no interior da célula (LEE; KIM; OH, 2020). A eficiência do NaClO é amplamente documentada na desinfecção de superfícies industriais. Estudos conduzidos em sistemas CIP convencionais e simulados mostram reduções de 1,8 log em biofilmes mistos de *Listeria innocua* e *Escherichia coli* (GHEVARIYA; SALVI, 2025), além da erradicação completa de células viáveis de *Candida albicans* e outras bactérias em superfícies de aço inoxidável (AVILA-SIERRA *et al.*, 2021; DAHLAN *et al.*, 2011).

Apesar desse histórico de amplo espectro, os resultados do presente estudo revelaram limitação, uma vez que nenhum dos tratamentos (hipoclorito de sódio, água ozonizada, tratamento controle com água) foi capaz de promover a completa inativação do biofilme de *C. intermedia*. Essa resistência está alinhada com os achados de Margalho *et al.* (2025), que demonstraram que esporos fúngicos de *C. intermedia* exibiram tolerância ao cloro em concentrações de 0,0125 e 0,05 mg/L. Complementarmente, Ilknur, Yasemin e Nuri (2012) não observaram remoção completa de biofilmes de *Candida* spp. após a aplicação de sanitizantes à base de cloro. Esses achados evidenciam que a eficácia do hipoclorito de sódio é dependente da espécie microbiana, do tempo de contato, da concentração e da força mecânica do escoamento.

A água ozonizada apresenta um potencial antimicrobiano, podendo ser utilizada como uma ferramenta promissora no controle de biofilmes em sistemas de limpeza CIP na indústria de alimentos (MARINO *et al.*, 2018). Essa ação biocida tem se mostrado eficaz mesmo em

baixas concentrações contra espécies de bactérias, fungos filamentosos, leveduras e vírus (ENGLEZOS *et al.*, 2019). Em ensaios *in vitro*, a água ozonizada promoveu elevadas taxas de mortalidade para patógenos como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* e *C. albicans*, devido ao seu mecanismo oxidativo sobre as membranas celulares (DOS SANTOS *et al.*, 2021). Sua eficiência está intimamente ligada à sua característica oxidante, sendo capaz de degradar não apenas os componentes celulares sésseis, mas também a matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), responsável pela proteção estrutural do biofilme (TIRPANCIVRI *et al.*, 2023).

Essa capacidade de desestruturação pode ser observada em estudos conduzidos em superfícies de aço inoxidável. Sob condições dinâmicas, o ozônio aquoso promoveu reduções superiores a 3 log (UFC/mL) para *S. aureus*, *P. fluorescens* e *L. monocytogenes* em curtos períodos de exposição (MARINO *et al.*, 2018), além de reduzir populações bacterianas e fúngicas a níveis indetectáveis após 30 min de exposição (ENGLEZOS *et al.*, 2019). No cenário industrial, sua viabilidade foi demonstrada tanto na redução da carga microbiana em sistemas CIP de máquinas de engarrafamento de vinho (ENGLEZOS *et al.*, 2019) quanto na eliminação completa de biofilmes de *Pseudomonas spp.* em sistemas CIP em escala piloto (TIRPANCIVRI *et al.*, 2023). Esses dados reforçam que a sanitização atua como uma etapa complementar indispensável no sistema de limpeza CIP, uma vez que as etapas de limpeza avaliadas isoladamente falham em remover as células mais aderidas (TIRPANCIVRI *et al.*, 2023).

Por outro lado, é possível observar na literatura que a eficiência do ozônio é fortemente dependente do tempo de contato e da concentração empregada (TIRPANCIVRI *et al.*, 2023). Avila Sierra *et al.* (2021) não verificaram diferenças significativas na remoção de biofilmes de *Pseudomonas putida* e *L. innocua* ao comparar formulações alcalinas puras com aquelas associadas ao ozônio. Essas divergências metodológicas e a ausência de dados específicos sobre a resistência de células em biofilmes de *C. intermedia* evidenciam que a eficácia antimicrobiana varia conforme a espécie e a maturidade do biofilme.

A Figura 3 apresenta a relação entre o tempo de duração dos tratamentos (min) e a temperatura (°C) durante todo o processo de sanitização, abrangendo os três tipos de sanitizantes utilizados: água, hipoclorito de sódio e água ozonizada.

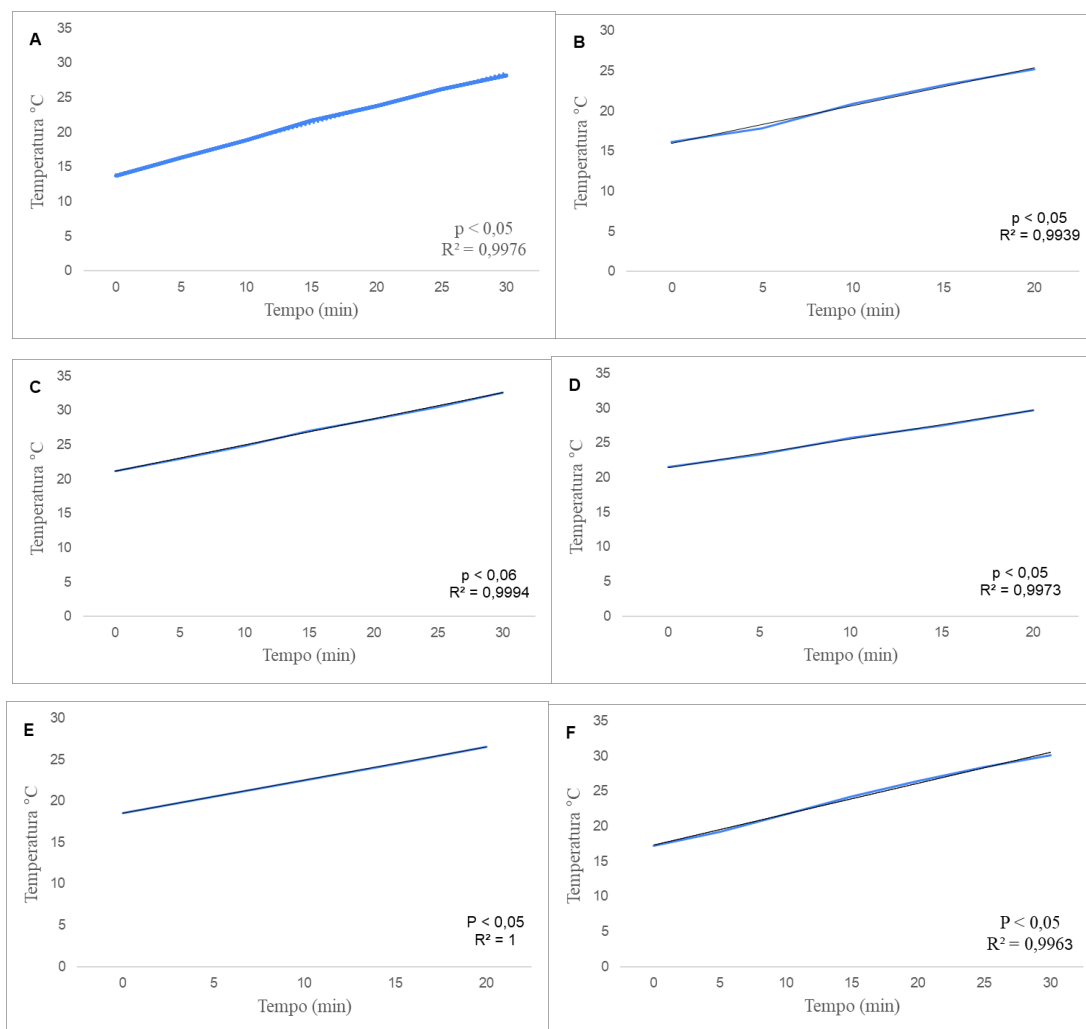


Figura 3. Correlação linear entre tempo de duração dos tratamentos (min) e a temperatura (°C) para os tratamentos com água, hipoclorito de sódio e água ozonizada. A: Tratamento com água no tempo de 30 min; B: Tratamento com água no tempo de 20 min; C: Tratamento com hipoclorito de sódio no tempo de 30 min; D: Tratamento com hipoclorito de sódio no tempo de 20 min; E: Tratamento com água ozonizada no tempo de 20 min; F: Tratamento com água ozonizada no tempo de 30 minutos.

Os resultados apresentados nas Figuras 3A-F demonstraram uma correlação linear positiva entre o tempo de tratamento e a temperatura ao longo do processo, independentemente da condição avaliada. Em todos os casos, observa-se um aumento progressivo da temperatura com o avanço do tempo, evidenciando um comportamento consistente de aquecimento durante a recirculação.

Embora o ozônio apresente reconhecido potencial antimicrobiano, os resultados obtidos neste estudo demonstraram que, nas condições avaliadas, a água ozonizada não promoveu redução microbiana adicional em relação ao hipoclorito de sódio. Esse comportamento está

diretamente associado à instabilidade termodinâmica do ozônio no sistema, uma vez que sua eficácia depende da concentração, do tempo de contato e das variáveis físico-químicas do meio. A literatura demonstra que temperaturas mais elevadas reduzem a solubilidade do gás ozônio em soluções aquosas, limitando sua disponibilidade como agente oxidante (VICARIA *et al.*, 2016). Sob essa ótica, Epelle *et al.* (2022) verificaram que a redução da temperatura favorece tanto a produção quanto a estabilidade do ozônio dissolvido em água, devido à maior estabilidade de ressonância da molécula em condições de menor energia térmica. Em contrapartida, o aquecimento do sistema eleva sua reatividade e acelera sua decomposição. Ensaio complementares corroboram que menores temperaturas são favoráveis para alcançar maiores concentrações iniciais de ozônio e prolongar seu tempo de meia vida em solução (DOS SANTOS *et al.*, 2021; ZIYAINA; RASCO, 2021).

Nesse contexto, a elevação da temperatura observada durante os tratamentos com água ozonizada, de aproximadamente $8 \pm 0,82$ °C no tratamento de 20 min (Figura 3E) e $13 \pm 1,18$ °C no tratamento de 30 min (Figura 3F), pode ter comprometido a estabilidade do ozônio e, conseqüentemente, reduzido sua eficiência durante o processo. Além disso, deve-se levar em consideração que o presente estudo investigou isoladamente a etapa sanitizante do processo CIP. Essa abordagem difere de protocolos industriais convencionais, como aqueles descritos na literatura, que utilizam ciclos completos compostos por etapas prévias de limpeza alcalina e ácida (ENGLEZOS *et al.*, 2019; TIRPANCİ SIVRI *et al.*, 2023). Essas fases preliminares são quimicamente projetadas para a remoção de resíduos orgânicos complexos, como proteínas e gorduras, bem como para a dissolução de depósitos minerais incrustantes (GHEVARIYA; SALVI, 2025). Dessa forma, a ausência dessas etapas de lavagem prévias pode ter favorecido a permanência de biofilme aderido às superfícies das tubulações.

Nas condições avaliadas neste estudo, o hipoclorito de sódio apresentou maior eficácia na inativação de *C. intermedia*, evidenciando que as limitações de estabilidade e de decomposição do ozônio podem comprometer sua eficiência microbiológica quando aplicado de forma isolada e sem o controle rigoroso das variáveis operacionais do sistema de limpeza.

A Tabela 6 apresenta a contagem de bolores e leveduras na água de recirculação coletada após a aplicação dos tratamentos com água, hipoclorito de sódio e água ozonizada, considerando os dois tempos de recirculação avaliados (20 e 30 min).

Tabela 6 – Contagem de bolores e leveduras na água de recirculação após os tratamentos com água, hipoclorito de sódio e água ozonizada

Tratamentos	Contagem de bolores e leveduras (log UFC/mL)
Água	1,78
Hipoclorito de sódio	1,60
Água ozonizada	1,48

No presente trabalho, os dados apresentados na Tabela 6 indicam que a contagem de bolores e leveduras na água de recirculação do sistema CIP apresentou redução de 0,30 log UFC/mL para o tratamento com água ozonizada e de 0,18 log UFC/mL para o tratamento com hipoclorito de sódio, em comparação ao tratamento com água. Embora nenhuma das condições tenha promovido a eliminação completa das células planctônicas, a água ozonizada apresentou a menor contagem microbiana, reforçando seu potencial biocida frente a bolores e leveduras. Esse comportamento pode estar associado à sensibilidade de células planctônicas à ação do ozônio, especialmente em microrganismos de vida livre, para os quais são descritas reduções consideráveis em curtos períodos de exposição.

Nesse contexto, Cabo *et al.* (2009) relataram efeito máximo do ozônio após aproximadamente 15 min de contato sobre células de *S. aureus* aderidas a superfícies de polipropileno. De forma semelhante, Silva *et al.* (2024) relataram redução total de *L. innocua* e *P. putida* na água residual de limpeza a 40 °C. Além disso, estudos demonstraram elevada suscetibilidade de células planctônicas de *L. monocytogenes* ao ozônio, com eliminação completa das células inoculadas em chips de aço inoxidável submetidos a baixas concentrações de ozônio gasoso (0,25 a 1,00 ppm) (ROBBINS *et al.*, 2005). Reduções também foram observadas após 10 e 30 min de exposição ao ozônio gasoso, com inativação total das células após 6 h de contato (PANEBIANCO *et al.*, 2021).

Em conjunto, esses achados reforçam a elevada eficiência do ozônio na inativação de células planctônicas. Entretanto, tal comportamento difere do observado no presente estudo, no qual as reduções microbianas foram discretas nas condições operacionais avaliadas. Essa diferença pode estar relacionada a fatores como o tempo de contato do sanitizante, à concentração de ozônio empregada, às características da matriz avaliada e à influência das etapas prévias de limpeza sobre a carga microbiana presente no sistema.

4 CONCLUSÃO

Os achados deste estudo demonstram que nenhum dos tratamentos avaliados foi capaz de eliminar completamente o biofilme de *C. intermedia* nas superfícies de aço inoxidável do sistema CIP. Observou-se, ainda, que o hipoclorito de sódio apresentou maior eficácia na redução da carga microbiana quando comparado à água ozonizada e ao controle com água. Nas condições experimentais testadas, não foi verificada influência significativa do tempo de exposição nem da geometria dos corpos de prova sobre os resultados obtidos, indicando que esses fatores não alteraram de forma relevante a eficiência dos tratamentos avaliados.

Apesar disso, a incorporação do ozônio como etapa complementar de sanitização promoveu redução da carga microbiana de *C. intermedia* em relação ao controle, reforçando seu potencial como estratégia adicional em sistemas CIP, contribuindo para o aprimoramento dos processos de limpeza, a redução da dependência de compostos clorados e não biodegradáveis e o fortalecimento do controle microbiológico na indústria de alimentos. Contudo, a menor eficiência da água ozonizada pode estar associada à instabilidade do ozônio frente à elevação de temperatura observada durante a recirculação, uma vez que temperaturas mais altas aceleram a decomposição do ozônio e reduzem sua disponibilidade como agente oxidante. Adicionalmente, a ausência das etapas prévias de limpeza alcalina e ácida, características dos protocolos CIP completos, pode ter favorecido a permanência de resíduos orgânicos que comprometeram a eficiência do tratamento.

Sob a perspectiva da indústria de sucos, este estudo fornece informações relevantes sobre a aplicação da água ozonizada em sistemas CIP, demonstrando seu potencial como uma estratégia complementar de sanitização. Embora, nas condições avaliadas, o hipoclorito de sódio tenha apresentado maior eficiência microbiológica, os resultados obtidos indicam que a água ozonizada representa uma alternativa promissora para complementar os processos de higienização. Além disso, este trabalho fornece subsídios técnicos para o desenvolvimento e a otimização de tecnologias de sanitização aplicadas à indústria de sucos, contribuindo para a avaliação de novas estratégias de controle microbiológico em equipamentos e tubulações e para futuras aplicações dessa tecnologia em condições industriais.

Para trabalhos futuros, recomenda-se a avaliação de sistemas de limpeza CIP com a utilização de água ozonizada sob temperaturas controladas e mais baixas, a fim de manter a estabilidade e o poder biocida do ozônio, bem como a inclusão das etapas prévias de limpeza no protocolo CIP, contemplando um ciclo completo de higienização.

REFERÊNCIAS

- AGUSTÍN, María del Rosario et al. Application of natamycin and farnesol as bioprotection agents to inhibit biofilm formation of yeasts and foodborne bacterial pathogens in apple juice processing lines. **Food Microbiology** v. 109, p. 104123, 1 fev. 2023. Acesso em: 2 nov. 2024.
- AVILA-SIERRA, Alejandro et al. Insights into the optimisation of the Clean-In-Place technique: Cleaning, disinfection, and reduced environmental impact using ozone-based formulations. **Food and Bioproducts Processing** v. 129, p. 124–133, 1 set. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096030852100122X>>. Acesso em: 14 maio 2026.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). AgroStat: estatísticas de comércio exterior do agronegócio brasileiro. Brasília, DF: **MAPA**, 2025. Disponível em: <https://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat>. Acesso em: 10 jun. 2026.
- CABO, M. L. et al. Comparison among the effectiveness of ozone, nisin and benzalkonium chloride for the elimination of planktonic cells and biofilms of *Staphylococcus aureus* CECT4459 on polypropylene. **Food Control** v. 20, n. 5, p. 521–525, 1 maio 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713508002132>>. Acesso em: 24 jun. 2026.
- CABRAL, Kerolyn C. et al. Kinetic Modeling of *Escherichia coli* Inactivation by Ozone Mist. **Ozone: Science & Engineering** v. 46, n. 1, p. 64–77, 2 jan. 2024. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919512.2023.2210608>>. Acesso em: 13 nov. 2024.
- CATANIA, Angela Maria et al. Effect of gaseous ozone treatment on cells and biofilm of dairy *Bacillus* spp. isolates. **Frontiers in Microbiology** v. 16, p. 1538456, 17 mar. 2025. Disponível em: <<https://biorender.com/>>. Acesso em: 24 jun. 2026.
- CHEN, Hsiu Ling et al. Reduction of pesticides and bacteria on Napa cabbage by ozone microbubble water. **Postharvest Biology and Technology** v. 204, p. 112444, 1 out. 2023. Acesso em: 13 nov. 2024.
- DAHLAN, Afaf A. et al. Sodium hypochlorite, chlorhexidine gluconate, and commercial denture cleansers as disinfecting agents against *Candida albicans*: An in vitro comparison study. **General dentistry** v. 59, n. 6, nov. 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22313927/>>. Acesso em: 14 maio 2026.
- DE ANDRADE, Nelio Jose et al. Influência da velocidade de circulação do leite na adesão de *Pseudomonas aeruginosa* sobre aço inoxidável. **Food Science and Technology** v. 29, n. 3, p. 469–473, 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/j7JKQ63bKs7LHGfsc6nDWzK/?format=html&lang=pt>>. Acesso em: 24 jun. 2026.
- DOS SANTOS, Laerte Marlon Conceição et al. Ozonized water in microbial control: Analysis of the stability, in vitro biocidal potential, and cytotoxicity. **Biology** v. 10, n. 6, p. 525, 1 jun. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-7737/10/6/525/htm>>. Acesso em: 15 maio 2026.

DUBEY, Priyanka; SINGH, Anupama; YOUSUF, Owais. Ozonation: an Evolving Disinfectant Technology for the Food Industry. **Food and Bioprocess Technology** v. 15, n. 9, p. 2102–2113, 1 set. 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-022-02876-3>>. Acesso em: 18 set. 2024.

ENGLEZOS, Vasileios et al. Minimizing the environmental impact of cleaning in winemaking industry by using ozone for cleaning-in-place (CIP) of wine bottling machine. **Journal of Cleaner Production** v. 233, p. 582–589, 1 out. 2019. Acesso em: 1 nov. 2024.

EPELLE, Emmanuel I. et al. Stabilisation of Ozone in Water for Microbial Disinfection. **Environments** 2022, Vol. 9, Page 45 v. 9, n. 4, p. 45, 1 abr. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3298/9/4/45/htm>>. Acesso em: 15 maio 2026.

FAASEMA, J.; ALAKALI, J. S.; ABU, J. O. Effects of Storage Temperature on 1-Methylcyclopropene-Treated Mango (*Mangifera Indica*) Fruit Varieties. **Journal of Food Processing and Preservation** v. 38, n. 1, p. 289–295, 1 fev. 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1745-4549.2012.00775.x>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

GHEVARIYA, Dhruv; SALVI, Deepti. Assessing plasma-activated water as an acidic and sanitizer solution in clean-in-place (CIP) and comparing efficacy with other traditional CIP chemicals. **Journal of Food Science** v. 90, n. 1, p. e17632, 1 jan. 2025a. Disponível em: <[doi/pdf/10.1111/1750-3841.17632](https://doi.org/10.1111/1750-3841.17632)>. Acesso em: 14 maio 2026.

GUERRERO-NAVARRO, Alfons Eduard et al. Effectiveness of enzymatic treatment for reducing dairy fouling at pilot-plant scale under real cleaning conditions. **LWT - Food Science and Technology** v. 154, p. 112634, 15 jan. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821017874>>. Acesso em: 21 jul. 2026.

GUILLEN, Aline Cristina; KECHINSKI, Carolina Pereira; MANFROI, And Vitor. The Use of Ozone in a CIP System in the Wine Industry. **Ozone: Science & Engineering** v. 32, n. 5, p. 355–360, 2010. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919512.2010.508482>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

GUZEL-SEYDIM, Zeynep B.; GREENE, Annel K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT - Food Science and Technology** v. 37, n. 4, p. 453–460, 1 jun. 2004. Acesso em: 2 nov. 2024.

HOU, Chih Yao et al. Antibacterial Efficacy and Physiochemical Effects of Ozone Microbubble Water on Tomato. **Sustainability** 2022, Vol. 14, Page 6549 v. 14, n. 11, p. 6549, 27 maio 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2071-1050/14/11/6549/htm>>. Acesso em: 13 nov. 2024.

ILKNUR, Dag; YASEMIN, Oz; NURI, Kiraz. Effect of disinfectants on biofilm development by five species of *Candida*. **African Journal of Microbiology Research** v. 6, n. 10, p. 2380–2386, 2012. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/AJMR>>. Acesso em: 14 maio 2026.

JOHN, Alexander et al. Microbubbles and their application to ozonation in water treatment: A critical review exploring their benefit and future application. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology** v. 52, n. 9, p. 1561–1603, 2022. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2020.1860406>>. Acesso em: 22 nov. 2024.

KASSEM, Hazem S. et al. Effectiveness of Ozonated Water for Preserving Quality and Extending Storability of Star Ruby Grapefruit. **Processes** 2022, Vol. 10, Page 277 v. 10, n. 2, p. 277, 30 jan. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2227-9717/10/2/277/htm>>. Acesso em: 26 set. 2024.

LEE, Eun Seon; KIM, Jong Hui; OH, Mi Hwa. Inhibitory Effects of Combinations of Chemicals on Escherichia coli, Bacillus cereus, and Staphylococcus aureus Biofilms during the Clean-in-Place Process at an Experimental Dairy Plant. **Journal of Food Protection** v. 83, n. 8, p. 1302–1306, 1 ago. 2020a. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22103765>>. Acesso em: 14 maio 2026.

LI, Guozhen et al. A review of factors affecting the efficiency of clean-in-place procedures in closed processing systems. **Energy** v. 178, p. 57–71, 1 jul. 2019. Acesso em: 1 nov. 2024.

LOHSE, Matthew B. et al. Development and regulation of single- and multi-species Candida albicans biofilms. **Nature Reviews Microbiology** 2017 16:1 v. 16, n. 1, p. 19–31, 3 out. 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.107>>. Acesso em: 21 jul. 2026.

MARGALHO, Larissa Pereira et al. Fungi associated with orange juice production and assessment of adhesion ability and resistance to sanitizers. **International Journal of Food Microbiology** v. 430, p. 111035, 16 fev. 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160524004793>>. Acesso em: 14 maio 2026.

MARINO, Marilena et al. Inactivation of foodborne bacteria biofilms by aqueous and gaseous ozone. **Frontiers in Microbiology** v. 9, n. AUG, p. 406181, 28 ago. 2018. Disponível em: <www.frontiersin.org>. Acesso em: 15 maio 2026.

MEMISI, Nurgin et al. CIP Cleaning Processes in the Dairy Industry. **Procedia Food Science** v. 5, p. 184–186, 1 jan. 2015. Acesso em: 1 nov. 2024.

MO, Jiachen et al. Cleaning efficiency and mechanism of ozone micro-nano-bubbles on ceramic membrane fouling. **Separation and Purification Technology** v. 331, p. 125698, 1 mar. 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586623026060>>. Acesso em: 17 maio 2026.

MODESTI, Margherita et al. Effects of treatments with ozonated water in the vineyard (cv Vermentino) on microbial population and fruit quality parameters. **BIO Web of Conferences** v. 13, p. 04011, 2019. Disponível em: <https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/full_html/2019/02/bioconf_conavi2018_04011/bioconf_conavi2018_04011.html>. Acesso em: 1 nov. 2024.

MOGOTSI, Lerato et al. Influence of Sanitizers on the Lipopolysaccharide Toxicity of *Escherichia coli* Strains Cultivated in the Presence of *Zygosaccharomyces bailii*. **The Scientific World Journal** v. 2014, p. 135856, 2014. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4058207/>>. Acesso em: 14 maio 2026.

MOHAPATRA, Debabandya et al. Critical factors responsible for fungi growth in stored food grains and non-Chemical approaches for their control. **Industrial Crops and Products** v. 108, p. 162–182, 1 dez. 2017. Acesso em: 21 maio 2024.

MUTHURAMAN, Srinithi; PALMER, Jon; FLINT, Steve. Air-liquid interface biofilm formation of pseudomonads and the impact of traditional clean-in-place on biofilm removal. **Food Research International** v. 226, p. 118215, 28 fev. 2026b. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996925025554>>. Acesso em: 15 maio 2026.

NOBILE, Clarissa J.; JOHNSON, Alexander D. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. **Annual Review of Microbiology** v. 69, n. 1, p. 71–92, 15 out. 2015. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-micro-091014-104330>>. Acesso em: 21 jul. 2026.

NOGUEIRA LEITE, Nathália et al. Ozone as a promising method for controlling *Pseudomonas* spp. biofilm in the food industry: a systematic review. **Biofouling**, 21 out. 2024. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927014.2024.2420002>>. Acesso em: 9 dez. 2024.

ÖLMEZ, Hülya; KRETZSCHMAR, Ursula. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. **LWT - Food Science and Technology** v. 42, n. 3, p. 686–693, 1 abr. 2009. Acesso em: 2 nov. 2024.

PANDISELVAM, R. et al. Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. **Ozone: Science and Engineering** v. 41, n. 1, p. 17–34, 2 jan. 2019. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/326005975_Ozone_based_food_preservation_a_promising_green_technology_for_enhanced_food_safety>. Acesso em: 1 nov. 2024.

PANEBIANCO, Felice et al. Effect of Gaseous Ozone on *Listeria monocytogenes* Planktonic Cells and Biofilm: An In Vitro Study. **Foods** **2021**, Vol. 10, Page 1484 v. 10, n. 7, p. 1484, 26 jun. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/7/1484/htm>>. Acesso em: 24 jun. 2026.

PANT, Karan J. et al. Towards sustainable Cleaning-in-Place (CIP) in dairy processing: Exploring enzyme-based approaches to cleaning in the Cheese industry. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** v. 22, n. 5, p. 3602–3619, 1 set. 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1541-4337.13206>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

PRABHUKHOT, Grishma S. et al. Impact of surface topography and hydrodynamic flow conditions on single and multispecies biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in presence of promotor bacteria. **LWT - Food Science and Technology** v. 201, p. 116240, 1 jun. 2024. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364382400519X>>. Acesso em: 16 maio 2026.

RAKNESS, Kerwin et al. Guideline for Measurement of Ozone Concentration in the Process Gas From an Ozone Generator. **Ozone: Science and Engineering** v. 18, n. 3, p. 209–229, 1996. Acesso em: 11 nov. 2024.

RAMÍREZ-CASTRILLÓN, Mauricio et al. Dominant yeasts associated to mango (*Mangifera indica*) and rose apple (*Syzygium malaccense*) fruit pulps investigated by culture-based methods. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** v. 91, n. 4, p. e20190052, 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/aabc/a/ZKC3Xq99T3vywzzn4rVR6kP/?lang=en>>. Acesso em: 17 maio 2026.

REBEZOV, Maksim et al. Application of Electrolyzed Water in the Food Industry: A Review. **Applied Sciences** 2022, Vol. 12, Page 6639 v. 12, n. 13, p. 6639, 30 jun. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3417/12/13/6639/htm>>. Acesso em: 21 jul. 2026.

RICO-MUNOZ, Emilia; DOS SANTOS, Juliana Lane Paixão. The fungal problem in thermal processed beverages. **Current Opinion in Food Science** v. 29, p. 80–87, 1 out. 2019. Acesso em: 1 nov. 2024.

ROBBINS, Justin B. et al. Elimination of *Listeria monocytogenes* Biofilms by Ozone, Chlorine, and Hydrogen Peroxide. **Journal of Food Protection** v. 68, n. 3, p. 494–498, 1 mar. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22009504?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=a104d2ed8d693472>. Acesso em: 24 jun. 2026.

SALO, Satu; WIRTANEN, G. Disinfectant Efficacy on Foodborne Spoilage Yeast Strains. **Food and Bioproducts Processing** v. 83, n. 4, p. 288–296, 1 dez. 2005. Acesso em: 2 nov. 2024.

SHEZI, Sabelo et al. Changes in biochemistry of fresh produce in response to ozone postharvest treatment. **Scientia Horticulturae** v. 269, p. 109397, 27 jul. 2020. Acesso em: 13 nov. 2024.

SILVA, Lucas Donizete et al. Clean in place (CIP) process: Effects of geometry, microorganism, fluid dynamic and cold plasma. **Journal of Food Engineering** v. 377, p. 112081, 1 set. 2024a. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026087742400147X>>. Acesso em: 14 maio 2026.

SINGH, Zora et al. Mango - Postharvest Biology and Biotechnology. **Critical Reviews in Plant Sciences** v. 32, n. 4, p. 217–236, jul. 2013. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07352689.2012.743399>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

SPARTAN DO BRASIL. SANIT-CHLOR: Desinfetante para Indústria Alimentícia e Afins. Cotia: **Spartan do Brasil**, 2023. Disponível em: https://www.spartanbrasil.com.br/produtos/detalhes/85/sanitchlor.html?utm_source=chatgpt.com#info. Acesso em: 25 jun. 2026.

TARIFA, María C. et al. In situ microstructure and rheological behavior of yeast biofilms from the juice processing industries. **Biofouling** v. 34, n. 1, p. 74–85, 9 dez. 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927014.2017.1407758>>. Acesso em: 9 dez. 2024.

TIRPANJI SIVRI, Goksel et al. Removal of *Pseudomonas fluorescens* biofilms from pilot-scale food processing equipment using ozone-assisted cleaning-in-place. **Frontiers in Microbiology** v. 14, p. 1141907, 14 abr. 2023. Acesso em: 1 nov. 2024.

TIWARI M. SCANNELL A. O'DONNELL C. Effect of ozone in combination with cleaning in place reagent (CIP) to control biofilms of spore-formers in food process environment. **Biosystems and food engineering research**. eds. Cummins E. J. Curran T. P., 2017. (Dublin: University College Dublin).

VAN HOUTT, R.; MICHIELS, C. W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. **Journal of applied microbiology** v. 109, n. 4, p. 1117–1131, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20522145/>>. Acesso em: 14 maio 2026.

VICARIA, José M. et al. Experimental studies and modelling of a simplified CIP system using ozone and linear alkylbenzenesulfonate. **Chemical Engineering Journal** v. 287, p. 130–138, 1 mar. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894715015752>>. Acesso em: 15 maio 2026.

VISHWAKARMA, Vinita. Impact of environmental biofilms: Industrial components and its remediation. **Journal of Basic Microbiology** v. 60, n. 3, p. 198–206, 1 mar. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jobm.201900569>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

WAGNER, Eva M. et al. Presence of Microbial Contamination and Biofilms at a Beer Can Filling Production Line. **Journal of Food Protection** v. 84, n. 5, p. 896–902, 1 maio 2021. Acesso em: 1 nov. 2024.

WONDIMAGEGN, Moges Kibret; MOHAMMED, Siraj Assen. Microbiological quality of some selected fresh fruit juices served in Dessie town's charming cafes and restaurants, nestled in the heart of north-eastern Ethiopia. **Discover Food** 2025 5:1 v. 5, n. 1, p. 174-, 3 jun. 2025. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s44187-025-00479-3>>. Acesso em: 16 maio 2026.0123456789.

ZIYAINA, Mohamed; RASCO, Barbara. Inactivation of microbes by ozone in the food industry: A review. **African Journal of Food Science** v. 15, n. 3, p. 113–120, 31 mar. 2021. Disponível em: <<http://academicjournals.org/journal/AJFS/article-abstract/CEC00E266261>>. Acesso em: 17 maio 2026.