

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO INTEGRADA EM SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

Priscila Donatti Leão Alvarenga

**APLICAÇÃO DO ULTRASSOM E ÁCIDOS ORGÂNICOS NA  
SANITIZAÇÃO DE MORANGOS (*Fragaria x ananassa* Duch.)**

VITÓRIA  
2018

**PRISCILA DONATTI LEÃO ALVARENGA**

**APLICAÇÃO DO ULTRASSOM E ÁCIDOS ORGÂNICOS NA SANITIZAÇÃO DE  
MORANGOS (*Fragaria x ananassa* Duch.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde, na área de concentração Qualidade e Inovação em Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jackline Freitas Brilhante de São José.

**VITÓRIA  
2018**

**PRISCILA DONATTI LEÃO ALVARENGA**

**APLICAÇÃO DO ULTRASSOM E ÁCIDOS ORGÂNICOS NA  
SANITIZAÇÃO DE MORANGOS (*Fragaria x ananassa* Duch.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde, na área de concentração Qualidade e Inovação em Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jackline Freitas Brilhante de São José.

\_\_\_\_\_ em 05 de junho de 2018

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Jackline F. Brilhante de São José  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Erika Madeira Moreira da Silva  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Membro interno

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Christiane Mileib Vasconcelos  
Universidade de Vila Velha  
Membro externo

Aos meus pais, Mário (in memoriam) e Angela, que com grande esforço e dedicação me ensinaram a andar no caminho de Deus, e aprendi que vale a pena alcançar a sabedoria, ter honestidade e perseverança.

Ao meu noivo, Perlyson, que com muito carinho me apoiou e incentivou desde o início desta jornada. Meu companheiro, conselheiro, amigo, amor da minha vida. Te Amo!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus por abrir esta porta que eu tanto almejava e por ter sido privilegiada em ter pessoas ao meu redor que me apoiaram e me ajudaram nestes dois anos de estudo.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde pela oportunidade e pelo grandioso aprendizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e à Inovação do Espírito Santo (FAPES), pelo financiamento do projeto.

Agradeço especialmente a minha orientadora, Professora Dra. Jackline Freitas Brilhante de São José, pela paciência, dedicação e compreensão nos momentos de dificuldade. Muito obrigada pelas correções quando foram preciso com tanta sutileza e sem me desincentivar.

Quero agradecer a minha mãe, por ser o meu alicerce durante toda a minha vida, principalmente neste período do mestrado, que não mediu esforços para me ajudar em tudo o que eu precisei. Sempre com paciência, me faz acreditar que tudo é possível conquistar com esforço. Não tenho palavras para agradecer pelo amor que tem por mim.

Meu noivo, por tantos momentos que me incentivou, me fez sorrir quando estava triste, se privou dos seus afazeres para me ajudar, me deu carinho quando precisei. Muito obrigada pelos conselhos e pelas orações. Agradeço ao meu Deus por me dar este presente maravilhoso que é você.

Quero agradecer também aos alunos do curso de Nutrição, Karina Covre, Arthur Spaviero, Bárbara Morandi, Clarice Ruas e Erlany Ribeiro, pelas horas que me ajudaram nas análises no laboratório de microbiologia, vocês foram muito importantes neste trabalho, obrigada de coração.

Igualmente gostaria de agradecer às técnicas em alimentos, Bruna Ferreira, Lislye Samya, Raquel dos Santos, Endy Campos e Ludmila Nascimento, por se prontificarem em ajudar nas análises em plenas férias escolares, pelo apoio e entusiasmo durante os dias passados nos laboratórios, vocês contribuíram muito para que eu tivesse esta vitória, então esta vitória também é de vocês.

Agradeço as minhas amigas da linha 1, Camila Soares e Gleicyane Almeida, sempre prestativas e companheiras durante todo curso, muito obrigada pela amizade e por cada momento de incentivo e apoio.

Aos meus familiares, muito obrigada pela compreensão nos dias em que precisava fazer o trabalho e não pude estar ao lado de vocês, sem o apoio de cada um eu não conseguiria chegar na reta final.

Agradeço a igreja Cristã Maranata do bairro Nossa Senhora da Penha, pelas orações dos irmãos, pelo carinho e pelos conselhos. Agradeço aos irmãos, e principalmente ao Pr. Eloy Paste e Robson Bretas, por me acolherem nos momentos difíceis.

Raquel, minha amiga, agradeço de coração pelos instantes que me escutou e me encorajou a prosseguir firme confiando no Senhor.

Agradeço ao SENAI pela contribuição, apoio e flexibilidade para que eu tivesse esta oportunidade de crescimento profissional.

“Bem-aventurado o homem que acha sabedoria, e o homem que adquire conhecimento. Mais preciosa é do que rubis; e tudo o que podes desejar não se pode comparar a ela.”

Provérbios 3:13 e 15

## RESUMO

Os consumidores têm interesse no consumo de alimentos seguros, com tempo de armazenamento longo e que não apresentem alterações significativas na qualidade nutricional e sensorial após o processamento. Neste sentido, o consumo de frutas e hortaliças prontas para o consumo tem crescido. Para estes alimentos, a etapa de sanitização é considerada a etapa crucial para o controle da contaminação microbiológica. Os compostos clorados são os principais agentes sanitizantes utilizados. Entretanto, há indícios que estes agentes sanitizantes quando combinados a matéria orgânica em estado inicial de decomposição podem ocasionar a formação de subprodutos considerados como tóxicos. Desta forma, atualmente, há interesse em estudar sanitizantes e processos alternativos a aplicação de compostos clorados em frutas e hortaliças. Dentre as estratégias propostos, têm-se a aplicação de ácido acético, ácido peracético e do ultrassom. Os ácidos orgânicos têm ação antimicrobiana reconhecida e não produzem subprodutos durante sua aplicação. Já a utilização de ultrassom em alimentos tem sido estudada por tratar-se de método não-térmico que reduz a carga microbiana de alimentos. Trata-se de uma tecnologia que gera ondas de alta amplitude com baixa frequência, onde os efeitos físicos e químicos têm capacidade de danificar a parede celular de alguns micro-organismos. O objetivo do trabalho foi avaliar a aplicação de ultrassom combinado ou não a ácidos orgânicos como tratamentos alternativos na sanitização de morangos. Foram realizadas análises microbiológicas (mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, coliformes a 35 °C e *E. coli* intencionalmente inoculada) e análises físico-químicas (pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, relação sólidos solúveis totais e acidez total titulável, vitamina C, antocianinas totais e perda de massa) nos dias 1, 3, 6 e 9 de armazenamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), análise de regressão, teste de correlação de Pearson e teste de Duncan a 5% de probabilidade. Foi observado que o tempo de armazenamento interferiu significativamente nos valores de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais e relação sólidos solúveis totais e acidez total titulável ( $p < 0,05$ ). Verificou-se que os tratamentos promoveram redução do conteúdo de vitamina C nas amostras entre o 1º dia até o 3º dia, exceto na amostra tratada com ultrassom. Após o 6º dia ocorreu queda do conteúdo de vitamina C em todos os tratamentos, fato que pode estar relacionado a senescência do tecido vegetal. Os



valores de antocianinas não variaram em relação ao tratamento ou ao tempo e apresentaram média geral de 13,47 mg de antocianina/100g de morangos. A perda de massa não foi afetada significativamente pelos tratamentos aplicados ( $p > 0,05$ ). As contagens de mesófilos aeróbios e coliformes a 35 °C não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos de sanitização aplicados. Os tratamentos executados promoveram redução entre 1,09 a 2,48 log de UFC/g e 0,89 e 1,45 log de UFC/g de mesófilos aeróbios e coliformes a 35 °C, respectivamente. Para fungos filamentosos e leveduras observou-se que houve diferença significativa em relação ao tratamento e ao tempo ( $p < 0,05$ ). Observou-se reduções entre 0,76 e 1,99 log de UFC/g na contagem de fungos filamentosos e leveduras. Os tratamentos com ultrassom em combinação com ácido peracético e ácido acético permitiram redução decimal de fungos filamentosos e leveduras ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre o tratamento com hipoclorito de sódio e o ultrassom ( $p < 0,05$ ). Todos os tratamentos avaliados promoveram redução significativa da contagem de *E. coli* ( $p < 0,05$ ). Os tratamentos com ácido peracético, ácido acético, hipoclorito de sódio, ultrassom e ultrassom combinado ao ácido acético promoveram reduções estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ). Por meio da microscopia eletrônica de varredura foi possível observar células de *E. coli* fragmentadas devido ao tratamento com ácido acético e ultrassom. Nos tratamentos com ácido peracético e este combinado ao ultrassom pode-se observar reduzido número de micro-organismos na superfície do morango, alteração da morfologia e fragmentos de células de *E. coli*. Conclui-se que a combinação de ultrassom e ácido peracético pode ser uma alternativa para garantir a segurança microbiológica sem provocar alterações significativas nas características físico-químicas de morangos.

**Palavras-chave:** Morango. Sanitização. Ultrassom. Ácidos orgânicos.

fibers.

## ABSTRACT

Consumers are interested in the consumption of safe foods with long storage time and that do not show changes in nutritional and sensory quality after processing. Thus, the consumption of fresh cut fruits and vegetables has grown. For these foods, the sanitization step is considered the crucial step for microbiological control. Chlorinated compounds are the main sanitizing agents used. However, there are indications that these sanitizers when combined organic matter in the state of decomposition can cause the formation of by-products considered as toxic. Therefore, there is an interest in the study of sanitizers and alternative processes in the application of chlorinated compounds in fruits and vegetables. Among the proposed strategies, we have the application of acetic acid, peracetic acid and ultrasound. Organic acids have recognized antimicrobial action and do not produce by-products during their application. The use of ultrasound in food has been studied because it is a non-thermal method that reduces the microbial load of food. It is a technology that generates high amplitude waves with low frequency, where the physical and chemical effects have the capacity to damage the cell wall of some microorganisms. Microbiological analyzes (aerobic mesophiles, molds and yeasts, coliforms at 35 °C and intentionally inoculated *Escherichia coli*), physico-chemical analyzes (pH, titratable total acidity, total soluble solids, ratio acidity, vitamin C, total anthocyanins and loss of mass) on days 1, 3, 6 and 9 of storage. Scanning electron microscopy was conducted too. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA), regression analysis, Pearson correlation and Duncan test at 5% probability. It was observed that storage time significantly interfered with pH values, titratable total acidity, total soluble solids and total soluble solids ratio and titratable total acidity ( $p < 0.05$ ). Treatments promoted reduction of the vitamin C content in the samples between the 1st day and the 3rd day, except in the sample treated with ultrasound. After the 6th day, there was a reduction of vitamin C content in all treatments, a fact that may be related to plant tissue senescence. Anthocyanin values did not change in relation to treatment or time and had a general average of 13.47 mg of anthocyanin/100 g of strawberries. The mass loss was not significantly affected by the applied treatments ( $p > 0.05$ ). The counts of aerobic mesophilic and coliform at 35°C did not present a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the applied sanitization treatments. The treatments promoted reduction between 1.09 to 2.48 log

of CFU/g and 0.89 and 1.45 log of CFU/g of aerobic mesophilic and coliform at 35 °C, respectively. For molds and yeasts it was observed that there was a significant difference in relation to treatment and time ( $p < 0.05$ ). Reductions between 0.76 and 1.99 log CFU/g were observed in the count of molds and yeast. Ultrasound treatments in combination with peracetic acid and acetic acid allowed a decimal reduction of molds and yeasts ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference between treatment with sodium hypochlorite and ultrasound ( $p < 0.05$ ). All evaluated treatments promoted reduction of the *E. coli* count ( $p < 0.05$ ). The treatments with peracetic acid, acetic acid, sodium hypochlorite, ultrasound and ultrasound combined with acetic acid promoted statistically equal reductions ( $p > 0.05$ ). Scanning electron microscopy revealed fragmented *E. coli* cells due to treatment with acetic acid and ultrasound. In the treatments with peracetic acid and this combined to the ultrasound one can observe reduced number of microorganisms in the surface of the strawberry, alteration of the morphology and fragments of cells of *E. coli*. Thus, the combination of ultrasound and peracetic acid may be an alternative to ensure microbiological safety without causing significant changes in the physico-chemical characteristics of strawberries.

**Keywords:** Strawberry. Sanitization. Ultrasound. Organic acids.

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo da Análise de Variância (ANOVA) para os resultados de pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável, relação sólidos solúveis / acidez total titulável, vitamina C e antocianinas em morangos sanitizados e mantidos em armazenamento por 9 dias a $6 \pm 1$ °C.....	43
Tabela 2 – Coeficiente de correlação entre os parâmetros físico-químicos de morango submetido a diferentes procedimentos de sanitização.....	50
Tabela 3 – Valores de perda de massa (%) de amostras de morangos submetidos a diferentes tratamentos de sanitização e armazenados durante 9 dias a $6 \pm 1$ °C.....	52
Tabela 4 – Resumo da Análise de Variância (ANOVA) da contagem de mesófilos aeróbios, fungos filamentos e leveduras e coliformes a 35 °C em morangos durante o armazenamento de 9 dias a $6 \pm 1$ °C.....	53
Tabela 5 – Contagem média de mesófilos aeróbios em log de UFC/g em morangos sem sanitizar e submetidos a diferentes procedimentos de sanitização e armazenados durante 9 dias a $6 \pm 1$ °C.....	53
Tabela 6 - Contagem média de coliformes a 35 C° em log de UFC/g em morangos sem sanitizar e submetidos a diferentes procedimentos de sanitização e armazenados durante 9 dias a $6 \pm 1$ °C.....	55
Tabela 7 - Contagem de fungos filamentosos e leveduras em log de UFC/g em morangos sem sanitizar e submetidos a diferentes procedimentos de sanitização e armazenados durante 9 dias a $6 \pm 1$ °C.....	56
Tabela 8 - Contagem de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229 em log de UFC/g aderidas em superfície de morangos sem sanitizar e submetidos a diferentes procedimentos de sanitização e redução comparada aos morangos sem sanitização.....	58

## LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Morfologia do morango.....	18
Figura 2 – Fluxograma do preparo das amostras às análises.....	36
Figura 3 – Variação média e desvio padrão de pH avaliados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.....	44
Figura 4 –Variação média e desvio padrão da acidez total titulável avaliados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.....	45
Figura 5 – Variação média e desvio padrão dos sólidos solúveis totais avaliados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.....	46
Figura 6 – Variação média e desvio padrão da relação de sólidos solúveis totais/acidez total titulável avaliados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.....	46
Figura 7 – Variação média e desvio padrão da vitamina C analisados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.....	47
Figura 8 – Variação média geral da contagem de mesófilos aeróbios em Log de UFC/g avaliados em morangos de cada tratamento durante 10 dias de armazenamento.....	54
Figura 9 – Variação média geral da contagem de fungos e leveduras em Log de UFC/g avaliados em morangos de cada tratamento durante 10 dias de armazenamento.....	57
Figura 10 - Fotomicrografias de cortes de morango intencionalmente contaminada com células de <i>E. coli</i> ATCC 11229 e observadas por microscopia eletrônica de varredura. A- Sem Sanitizar, B- Hipoclorito de sódio, C- Ultrassom 40 kHz.....	60
Figura 11 - Fotomicrografias de cortes de morango intencionalmente contaminada com células de <i>E. coli</i> ATCC 11229 submetidos a diferentes tratamentos de sanitização por 5 min e observadas por microscopia eletrônica de varredura. A- Ácido Acético, B- Ultrassom 40 kHz + Ácido Acético 1%, C- Ácido Peracético 20 mg/L, D- Ultrassom 40 kHz + Ácido Peracético 20 mg/L.....	62

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
2.1 Morango ( <i>Fragaria x ananassa</i> Duch.) .....	17
2.2 Frutas prontas para consumo .....	21
2.3 Micro-organismos contaminantes em frutas e hortaliças .....	22
2.3.1 <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ) .....	23
2.4 Sanitizantes .....	24
2.4.1 Aplicação de ácidos orgânicos .....	26
2.5 Ultrassom.....	30
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
3.1 Objetivo geral.....	33
3.2 Objetivos específicos .....	33
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
4.1 Delineamento experimental .....	34
4.2 Obtenção do morango .....	34
4.3 Tratamentos de sanitização .....	35
4.4 Análises físico-químicas .....	35
4.4.1 Acidez total titulável.....	36
4.4.2 pH.....	36
4.4.3 Teor de sólidos solúveis totais .....	36
4.4.4 Determinação do teor vitamina C.....	36
4.4.5 Determinação do teor antocianinas.....	37
4.4.6 Perda de massa .....	37
4.5 Avaliação da microbiota natural.....	37
4.5.1 Contagem de mesófilos aeróbios.....	38

4.5.2 Contagem de fungos filamentosos e leveduras .....	38
4.5.3 Contagem de coliformes totais e <i>E.coli</i> .....	38
4.6 Avaliação dos procedimentos de sanitização na inativação de células de <i>Escherichia coli</i> intencionalmente inoculadas em morangos .....	39
4.6.1 Preparo das amostras e do inóculo .....	39
4.6.2 Inoculação .....	39
4.6.3 Quantificação de células aderidas.....	40
4.6.4 Preparo dos cortes para observações microscópicas .....	40
4.6.5 Microscopia eletrônica de varredura .....	40
4.7 Análise estatística dos dados .....	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
5.1 Efeito dos tratamentos de sanitização sobre as características físico-químicas dos morangos .....	42
5.2 Efeito dos tratamentos de sanitização na microbiota natural contaminante ....	51
5.3 Efeito dos tratamentos sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229 aderidas em superfície de morangos .....	56
5.3.1 Microscopia Eletrônica de varredura .....	58
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Os consumidores estão mais conscientes sobre a qualidade nutricional dos alimentos. Desta forma, buscam por alimentos saudáveis, frescos e que apresentem os atributos sensoriais preservados como sabor, textura, aparência e aroma. O consumo de alimentos frescos é considerado parte essencial de uma dieta saudável, pois se sabe que estes podem ter efeito protetor à saúde (YU et al., 2017; MY et al., 2017; YASEEN et al., 2017; WANG; QIU, 2016). Além disso, atualmente, há interesse por parte dos consumidores em requerer produtos de consumo “verde”, no qual é desejada aplicação de menos aditivos alimentares sintéticos e uso de compostos que causam menor impacto ao ambiente nas etapas de produção (ONCÜL; KARABIYIKLI, 2016). Assim, a indústria de alimentos, tendo o conhecimento destas informações, busca atender a esta demanda (VAN BOXSTAEEL et al., 2013) com a oferta de produtos de acordo com os anseios dos consumidores, mas que também tenham qualidade assegurada (KNOERZER, 2016).

Associado ao crescimento do mercado e consumo desses produtos observa-se o aumento da incidência de surtos alimentares devido à ingestão de frutas e hortaliças contaminadas por micro-organismos patogênicos (WARRINER et al., 2009). O aumento do número de novos casos de doenças envolvendo alimentos contaminados pode estar relacionado à mudança dos hábitos alimentares, a falhas durante etapas de produção e processamento dos produtos (FERNANDES et al., 2014).

Os registros de surtos que envolvem o consumo de alimentos frescos contaminados por micro-organismos patogênicos ressaltam a relevância de um aprimoramento na sanitização pós-colheita destes produtos. Um surto de *E. coli* O157: H7 relacionado à alface romana ocorreu neste ano em 16 estados dos EUA com 53 casos (CDC, 2018a). Brotos de trevo crus também foram responsáveis por um surto de *Salmonella* em três estados dos EUA apresentando 10 casos de contaminação (CDC, 2018b). Em 2017, nos EUA houve outro surto de infecções por *Salmonella* associada ao mamão maradol importados do México, com 220 casos, 68 hospitalizações e uma morte (CDC, 2017).

Os produtos minimamente processados e produtos prontos que são consumidos são considerados como um possível veículo de transmissão de



patógenos causadores de Doenças de Origem Alimentar (DOA). Assim, é preciso reduzir a contaminação microbiana por meio de processos de lavagem e sanitização que poderão influenciar diretamente na qualidade microbiológica do produto final (RAMOS et al., 2013; OLAIMAT; HOLLEY, 2012; CARADONNA et al., 2017; MIR et al., 2018).

A lavagem com água potável permite a remoção de componentes do solo e parte do número de patógenos, porém não é suficiente para reduzir significativamente a carga microbiana presente nos alimentos (JOSHI et al., 2013). Desse modo, a etapa de sanitização durante o processamento constitui-se como ponto chave para o controle microbiológico (GIL et al., 2009; JOSHI et al., 2013) a fim de reduzir a quantidade de células de micro-organismos aderidos e garantir a segurança microbiológica do alimento (SÃO JOSÉ et al., 2014).

Para realizar este controle é comum a utilização de compostos a base de cloro durante a etapa de sanitização das hortaliças, principalmente o hipoclorito de sódio (SREBERNICH, 2007; SÃO JOSÉ; VANETTI, 2012). Entretanto, há indicações dos riscos à saúde devido à formação de subprodutos tóxicos (HOW et al., 2017; HUNG et al., 2017). Por este motivo, os compostos clorados são proibidos em alguns países europeus como Alemanha, Suíça, Países Baixos, Dinamarca e Bélgica (GIL et al., 2009).

Deste modo, a utilização do cloro é indesejada e, conseqüentemente, foco de preocupação ambiental (SÃO JOSÉ; VANETTI, 2012; GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2014; AHMED et al., 2017). Assim, é necessário o estudo de estratégias alternativas aos compostos clorados que sejam capazes de contribuir para a segurança microbiológica do alimento e não gerar subprodutos tóxicos (HUANG; CHEN, 2011; SAGONG et al., 2011; SÃO JOSÉ; VANETTI, 2012; JOSHI et al., 2013).

Ácido peracético, ácido acético, ácido cítrico e ácido láctico podem ser uma alternativa para a etapa de sanitização (HAUTE et al., 2013; DAVIDSON et al., 2017; AMRUTHA et al., 2017). Ácidos orgânicos, são compostos bastante usados na indústria de alimentos como conservantes, aromatizantes, acidulantes, antioxidantes e reguladores de pH, também apresentam a eficiência na inativação de micro-organismos patogênicos como agente sanitizante (SÃO JOSÉ et al., 2014; SSEMANDA et al., 2018; KIM et al., 2018).

Alternativa que tem sido estudada para aplicação na etapa de sanitização é o uso do ultrassom (BILEK; TURANTAŞ, 2013; NGNITCHO et al., 2018). Esta

tecnologia baseia-se em ondas de alta amplitude com frequência geralmente acima de 20 kHz, onde um processo de propagação de vibração mecânica ocasiona efeitos físicos e químicos que tem a capacidade de danificar a parede celular de alguns micro-organismos (PINHEIRO et al., 2015). É uma tecnologia promissora, pois além de possuir efeito sanitizante, preserva as substâncias termossensíveis, por ser um processo considerado como não-térmico (CHANDRAPALA et al., 2012). Estudos relatam que a aplicação do ultrassom combinada a outros procedimentos e/ou antimicrobianos pode impulsionar a inativação de micro-organismos (KHANDPUR; GOGATE, 2015; ZINOVIADOU et al., 2015; ROSÁRIO et al., 2017).

O banho ultrassônico é uma tecnologia utilizada há tempos na desinfecção de materiais hospitalares (JATZWOUK et al., 2001). O emprego de uma nova tecnologia, como o ultrassom, por uma indústria de alimentos na etapa de sanitização de alimentos pode representar uma vantagem competitiva diante das concorrentes (RAIMUNDO et al., 2017). Uma tecnologia que atende a segurança alimentar é um investimento essencial para o desenvolvimento sustentável do país. O consumo de alimentos inseguros afeta desfavoravelmente outra base fundamental do desenvolvimento: a saúde pública (CFS, 2018).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Morango (*Fragaria x ananassa* Duch.)

O morangueiro é uma planta que pertence à família das rosáceas e apresenta espécies frutíferas de valor econômico (EMBRAPA, 2011). É originário de clima frio, porém não tolera geada e os cultivares podem adaptar-se a temperaturas amenas entre 15° e 25°C. É uma fruta não-climatérica e tem vida útil curta (EMBRAPA, 2010; PADMANABHAN et al., 2016). O morango fornecido comercialmente é uma mescla natural, derivado de um cruzamento eventual entre duas espécies americanas levadas à França (EMBRAPA, 2011).

Na ciência da botânica, o morango é um fruto anexado, oriundo do receptáculo dilatado da flor de morango (parte comestível), sendo os aquênios os frutos verdadeiros em forma de semente, que são ovários desenvolvidos no receptáculo conectado para a superfície externa do fruto. A extensão do receptáculo com aquênios é considerada uma baga, horticulturalmente. Os aquênios são providos da combinação do tecido de semente e ovário, embutidos na camada epidérmica do receptáculo e cada baga pode conter de 20 a 500 aquênios, dependendo das condições de crescimento e cultivar. O aquênio maduro integra um duro pericarpo, uma testa fina, um endosperma, que representa uma camada de célula e um pequeno embrião (PADMANABHAN et al., 2016). Na Figura 1 está apresentada a morfologia do morango.

O morango é basicamente consumido *in natura*, porém, por ser muito perecível, leva-se à fabricação de produtos processados, como polpa congelada, como aditivo de cor e sabor em produtos lácteos ou comercializados como suco e geleia (AREND et al., 2017).

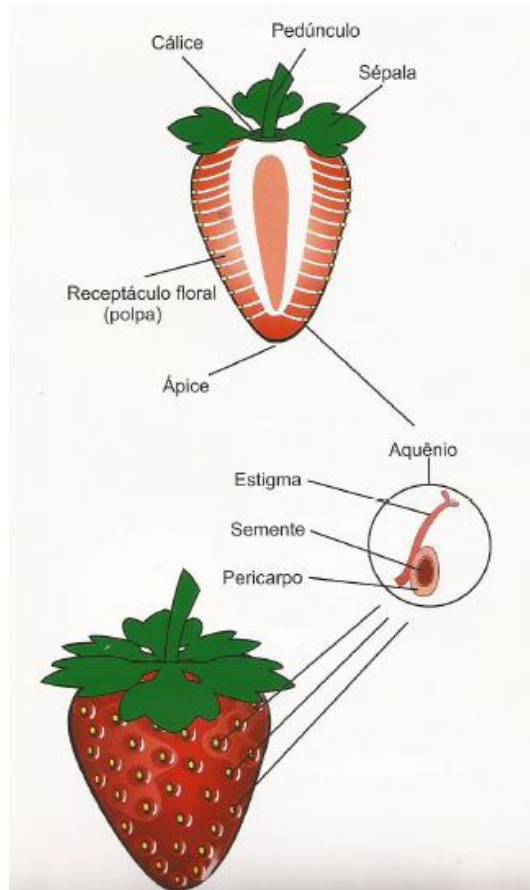


Figura 1 – Morfologia do morango.  
 Fonte: Site da Casa do Produtor Rural – Esalq/USP (2018).

A parte comestível do morango é um pseudofruto avermelhado, que contém teor considerável de vitamina A e C e sais minerais, e quando cultivadas em temperaturas elevadas favorecem o crescimento vegetativo e deixam os frutos muito azedos (EMBRAPA, 2010). O conteúdo principal do receptáculo do morango é umidade (90% em peso), e a quantidade de compostos fenólicos totais é de algumas centenas microgramas por 100 g de amostra (SATO et al., 2017). O cálcio que compõe a parede celular exerce uma importante tarefa na manutenção da parede celular e promove estabilização e integridade, interligando-se com o ácido urônico tendo como funções carboxílicas em cadeias de polissacarídeos de pectina para formar a conhecida caixa de ovo de pectina (VICENTE et al., 2007; CHEN et al., 2011).

As auxinas (hormônios responsáveis pela regulação do crescimento nos vegetais) declinam-se durante a maturação do aquênio. No desenvolvimento do fruto o tecido passa por quatro estágios consecutivos de cores: verde, branco, rosa e vermelho. Durante o amadurecimento inúmeras reações bioquímicas e fisiológicas

acontecem provocando alterações do fruto não comestível em comestível com características sensoriais, provenientes das alterações do tamanho, forma, textura e pigmentação da fruta e produção de compostos aromáticos (PADMANABHAN et al., 2016).

À medida que o amadurecimento prossegue, um aumento no teor de antocianinas é associado por uma redução na firmeza dos frutos (LIU et al., 2015). As outras modificações incluem elevação em sólidos solúveis, açúcares totais, ácido ascórbico, açúcares redutores, e pectinas solúveis em água e uma diminuição na acidez e celulose. O açúcar principal do morango (sacarose) é enviado constantemente no tecido fotossintético durante o desenvolvimento do fruto e hidrolisado em frutose e glicose durante senescência (LIU et al., 2015; PADMANABHAN et al., 2016).

As propriedades sensoriais (aroma, sabor, cor e textura) não são as únicas características que atraem o consumo do morango. O alto valor nutricional também se destaca dado pelo conteúdo mineral e vitamínico e propriedades antioxidantes derivadas de compostos tais como ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas (GARRIGA et al., 2015).

As antocianinas são substâncias que fazem parte de um grupo de compostos fenólicos em morango que recebem maior atenção. Isso se deve ao fato de serem responsáveis pela cor vermelha brilhante dos morangos, dos quais as mais conhecidas são cianidina-3-glicosídeo, pelargonidina-3-glucosídeo, 3-rutinosídeo e 3-malonil glucosídeo (PADMANABHAN et al., 2016). Isto faz com que a concentração e a composição das antocianinas sejam importantes para indicar frescor e alta qualidade. Sendo assim, estes são os principais atributos que influenciam na escolha do produto e aceitação dos consumidores a qualidade sensorial do morango (AABY et al., 2012; BUCHWEITZ et al., 2013). Outros compostos importantes também são os taninos hidrolisáveis (elagitaninos e galotaninos), ácidos fenólicos (hidroxibenzoicos ácidos graxos e ácidos hidroxicinâmicos) e taninos condensados (proantocianidinas).

De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO (2011), em 100 g de morango cru contêm 91,5% de umidade; 30 kcal; 0,9 g de proteínas; 0,3 g de lipídios; 6,8 g de carboidratos; 1,7 g de fibra alimentar; 0,5 g de cinzas; 11 mg de cálcio; 10 mg de magnésio; 0,33 mg de manganês; 22 mg de fósforo; 0,3 mg de ferro; traços de sódio; 184 mg de potássio; 0,06 mg de cobre; 0,2

mg de zinco; traços de tiamina; 0,03 mg de riboflavina; 0,03 mg de piridoxina; traços de niacina e 63,6 mg de vitamina C.

Por ser uma fruta fresca, faz parte de um grupo de materiais com instabilidade microbiana devido ao alto teor de umidade (SZADZINSKA et al., 2016). Os morangos são extremamente perecíveis devido à suscetibilidade a danos mecânicos, deterioração fisiológica, perda de água e deterioração por fungos (FAN et al., 2009).

O morango é pertencente ao grupo de frutos moles que são qualificados por uma elevada e acelerada perda de textura firme durante os estágios de maturação, assumindo uma textura de fusão em alguns dias após o amadurecimento (POSÉ et al., 2011). A textura é a característica que mais interfere na qualidade de frutas carnudas, sendo o amolecimento rápido a principal proveniência de perdas comerciais e ocasiona em reduzida vida útil e vulnerabilidade a doenças (PERKINS-VEAZIE, 1995). A decomposição da parede celular e a dissolução da lamela média, que modera a adesão célula-célula, são responsáveis pelo amaciamento, que é ocasionado pela ação de várias enzimas que atuam em diferentes polissacarídeos da parede celular, principalmente pela dissolução da pectina, extinção de galactose e arabinose e despolimerização do xiloglucano (GOULAO; OLIVEIRA, 2008; MERCADO et al., 2011; POSÉ et al., 2013).

No Brasil, a produção comercial do morango se estende em diversos estados, com cultivares diferentes, escolhidos de acordo com a adaptação dos cultivares ao clima da região de plantio, destacando-se oito estados brasileiros como os maiores produtores: Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, Espírito Santo, Santa Catarina, Goiás e Rio de Janeiro e Distrito Federal sendo cultivados cerca de 3,5 mil hectares, distribuídas em pequenas propriedades rurais familiares. Portanto, o cultivo do morango é considerado uma atividade de relevância econômica e social no Brasil (EMBRAPA, 2011).

O Estado do Espírito Santo, em comparação aos outros estados, não apresenta área significativa de produção do morango. No entanto essa atividade é de grande importância para o setor agrícola capixaba e, em termos sociais e econômicos, para as famílias da Região Serrana do estado. Essa região com uma área em torno de 300 hectares, mais de 4.000 agricultores diretamente na produção anual, concentrados principalmente nos Municípios de Santa Maria de Jetibá, Domingos Martins, Venda Nova do Imigrante, Castelo e Muniz Freire compõem a

região do Polo de Morango no Estado (INCAPER, 2016). Ademais, o Espírito Santo distribui o morango para quase todos os estados brasileiros, e em 2014, representou 0,8% do Valor Bruto da Produção Agropecuária do Estado, movimentando mais de R\$ 64 milhões (INCAPER, 2016).

## 2.2 Frutas prontas para consumo

A Organização Mundial da Saúde (World Health Organization - WHO) recomenda a ingestão diária de pelo menos 400 gramas de frutas e hortaliças, o que equivale, aproximadamente, ao consumo diário de cinco porções desses alimentos. Desde então estratégias globais para a promoção da inclusão de frutas e vegetais na dieta, como exemplo o programa “5 ao dia”, vem sendo desenvolvidas para estimular a prevenção das Doenças Não Transmissíveis (DNT) e promoção da saúde (WHO, 2003). Além do aumento do consumo das frutas e hortaliças *in natura*, os consumidores atuais têm buscado aliar a praticidade e a conveniência ao consumo de alimentos saudáveis. Desta forma, o consumo de alimentos prontos para consumo, como frutas e hortaliças embaladas ou refeições pré-cozidas, tornou-se uma parte considerável da dieta (FAJARDO et al., 2012).

Segundo a RDC nº 273, os alimentos semi-prontos ou prontos para consumo “são os alimentos preparados ou pré-cozidos ou cozidos, que para o seu consumo não necessitam da adição de outro(s) ingrediente(s). Podem requerer aquecimento ou cozimento complementar” (BRASIL, 2005). Alimentos prontos para consumo, segundo o Regulamento nº 2073/2005 da União Europeia, são “alimentos destinados pelo produtor ou fabricante ao consumo humano direto, sem necessidade de cozimento ou outra transformação, eficazes para eliminar ou reduzir para um nível aceitável os micro-organismos perigosos” (CE, 2005).

Nos últimos anos, o consumo de frutas e hortaliças prontas para consumo tem crescido continuamente na Europa e nos Estados Unidos devido à intensa procura por alimentos frescos, saudáveis, convenientes e fáceis de preparar (LOAN et al., 2016; PUTNIK et al., 2017). Segundo Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) houve um crescimento do consumo regular de frutas e hortaliças no Brasil entre o ano de 2008 e 2016, com variação na frequência do consumo de 33,0% para 35,2% no conjunto da população adulta estudada (BRASIL, 2017).

Porém, visto que os alimentos prontos para consumo muitas vezes não requerem uma etapa posterior para possível eliminação de contaminação, o risco de ocorrência de surtos torna-se elevado (NG et al., 2013). Em 2015, houve um surto de *Salmonella* Poona associadas ao consumo de pepinos nos EUA, resultando em 907 casos com 204 pessoas hospitalizadas e 6 mortes (CDC, 2016b). Outro surto que envolveu alimentos frescos ocorreu em 2017 no EUA, com hortaliças verdes as quais apresentavam contaminação por *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga O157:H7 com 25 casos e 1 morte (CDC, 2018c). Outro surto ocorreu em 9 estados dos EUA, porém, envolvendo *Listeria monocytogenes* que foi associado ao consumo de saladas empacotadas levando a uma morte e 19 casos em 2016 (CDC, 2016a).

Assim, a indústria de alimentos tem necessidade de avaliar e adotar tecnologias de processamento inovadoras de modo a atender às exigências de segurança dos alimentos (HARICH et al., 2017).

### **2.3 Micro-organismos contaminantes em frutas e hortaliças**

As doenças de origem alimentar (DOA) são consideradas como um problema de saúde pública global que acometem milhões de pessoas anualmente e são causadas por agentes patogênicos, como bactérias, vírus e parasitas (HU et al., 2016). A contaminação de hortaliças e frutas por micro-organismos patogênicos pode ocorrer durante a colheita e pós-colheita, via solo, água da irrigação contaminada, adubo com compostagem inadequada, ar, animais silvestres e domésticos, manipulação, equipamentos de colheita, reservatórios de transporte, veículos, armazenamento inadequado e embalagem (BERGER et al., 2010). Além disso, as hortaliças e frutas podem ser contaminadas durante a manipulação com uso de recipientes, tábuas, balcões e utensílios higienizados inadequadamente o que facilita a contaminação cruzada (BIRMPA et al., 2013; FAOUR-KLINGBEIL et al., 2016).

A contaminação por micro-organismos patogênicos em frutas e hortaliças é preocupante devido a indicações que esses se mantenham viáveis por vários dias na superfície destes alimentos, sendo que esta sobrevivência pode ser influenciada pelo tipo de micro-organismo e a localização no tecido vegetal (BARTZ et al., 2015).



As bactérias patogênicas podem alcançar regiões internas de frutas e hortaliças por meio da água ou locomoção independente ou por estruturas dos vegetais como estômatos, tricomas, lenticelas e injúrias na superfície (BARTZ et al., 2015). As bactérias podem ainda colonizar tais regiões e permanecerem protegidas de fatores ambientais aplicados nestes alimentos através da formação de biofilmes (MORRIS; MONIER, 2003). Dessa forma, é importante a escolha de sanitizantes eficientes bem como métodos adequados de sanitização.

*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, *Bacillus cereus* são bactérias patogênicas que possuem capacidade de aderir em superfícies e originar biofilme em frutas e hortaliças, o que culmina em maior risco a saúde dos consumidores (ELHARIRY, 2011; SÃO JOSÉ; VANETTI, 2012; SÃO JOSÉ et al., 2014; RAGAZZO-SÁNCHEZ et al., 2016; ROSÁRIO et al., 2017).

### **2.3.1 *Escherichia coli* (*E. coli*)**

*Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria gram-negativa e encontrada no trato intestinal de humanos, galinhas e outros animais, não formadoras de esporos, geralmente móveis por flagelos, anaeróbios facultativos com gás normalmente produzido a partir de carboidratos fermentáveis (VUTHY et al., 2017). Constituem células, em formato de bastonete com 2,0–6,0 µm de comprimento e 1,1–1,5 µm de largura. Apresentam diferentes tipos de fímbrias, sendo comum a formação de cápsulas ou microcápsulas compostas de polissacarídeos ácidos (PERCIVAL et al., 2004).

DOA associadas com contaminação por *E. coli* são de importante preocupação de saúde pública, pois podem causar uma ampla variedade de sintomas clínicos como diarreia, colite hemorrágica, síndrome hemolítica urêmica (HUS) e em caso mais graves, a morte (CALLON et al., 2016). Os tipos de *E. coli* que são capazes propiciar diarreia podem ser transmitidos através de água ou alimentos contaminados, ou por meio do contato com animais ou pessoas (CDC, 2015). Esta bactéria é especialmente alarmante devido à dose infecciosa ser baixa (menos de 1000 células) (PYATKOVSKYY et al., 2017).

A cepa de *E. coli* O104: H4, que gera a toxina shiga, provocou um grande surto na Europa em 2011, com 852 casos e 32 mortes (CDC, 2015). Em outro surto,

19 pessoas foram infectadas com a estirpe do foco de *Escherichia coli* O121 produtor de toxina shiga (STEC O121) sendo relatadas em 6 estados americanos no ano de 2014, devido ao consumo de broto de feijão. *E. coli* ainda é considerada como uma causa importante de doença transmitidas por alimentos nos Estados Unidos (CDC, 2014). Em 2011, houve um surto de *E. coli* O157: H7 relacionado ao consumo de morangos de uma fazenda em Oregon, nos EUA, que ocasionou uma morte e deixou 16 pessoas doentes (TERRY, 2011).

A legislação europeia, através do Regulamento (CE) nº 1441/2007, requisita a análise de *Escherichia coli* durante os processos de fabricação em frutas e hortaliças processadas. No Regulamento nº 2073/2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios, as frutas e produtos hortícolas pré-cortados (prontos para consumo) podem ter o limite entre 100 a 1000 UFC/g de *E. coli* dentre 2 amostras de 5 analisadas (CE, 2005).

No Brasil, o Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos, descrito na Resolução de Diretoria Colegiada nº 12, consta que é permitido no máximo  $2 \times 10^3$  UFC/g de coliformes a 45°C em morangos frescos e similares, "in natura", inteiras, selecionadas ou não. Enquanto em frutas frescas, "in natura", preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto, o máximo permitido para este grupo microbiano é de  $5 \times 10^2$  UFC/g (BRASIL, 2001).

## 2.4 Sanitizantes

A segurança microbiológica e a qualidade de frutas e hortaliças podem ser alcançadas por meio da lavagem, seguida da aplicação de sanitização com agentes químicos ou físicos, de forma a reduzir a população de micro-organismos deterioradores e eliminar os patogênicos. É importante que esses procedimentos ampliem a vida útil dos produtos sem prejudicar as características sensoriais e nutritivas dos alimentos (GIL, et al., 2009; JUNG et al., 2017).

Embora a lavagem com água possa ser uma ferramenta útil para reduzir o potencial de contaminação (PYATKOVSKYY et al., 2017), se faz necessário uma aplicação de sanitizantes para efetivamente eliminar os agentes patogênicos dos produtos (JUNG et al., 2017). Deste modo, a eficiência dos processos de limpeza e

sanitização influenciarão diretamente na qualidade microbiológica do produto final (RAMOS et al., 2013).

Os agentes clorados são os sanitizantes mais utilizados na indústria de alimentos devido ao amplo espectro de atividade antimicrobiana, relativamente baixo custo, facilidade de aplicação, dissolução completa em água, efeito negativo mínimo sobre a qualidade do produto (LUO et al., 2012; PETRI et al., 2015; SÃO JOSÉ; VANETTI, 2015). A eficácia antimicrobiana depende do teor de cloro livre ao preparar a solução. Porém, o excesso da quantidade de cloro livre pode causar uma reação com compostos orgânicos e produzir o aumento das concentrações de trihalometanos e outros subprodutos considerados tóxicos (COSTA et al., 2012; AHMED et al., 2017). Alguns países da União Europeia proibiram o uso de cloro para a lavagem de produtos frescos devido ao potencial risco de saúde associado a estas substâncias (CHEN; HUNG, 2017).

Na literatura há relatos que produtos utilizados para lavagem e sanitização à base de cloro têm a eficiência restrita no que se refere à redução de contaminantes patogênicos, com redução de cerca de um a dois ciclos logarítmicos na contagem de micro-organismos (HUANG; CHEN, 2011). Ademais, alguns estudos têm indicado que os micro-organismos possuem capacidade de tolerar a exposição de produtos à base de cloro, o que aponta que a utilização destas substâncias deve ser analisada com mais cuidado quanto à aplicação na indústria de alimentos (ALLENDE et al., 2008; SUN et al., 2013; LIU et al., 2018).

Em consequência destas questões com relação ao uso de compostos clorados, têm sido propostos métodos alternativos a fim de estender a vida de prateleira, eliminar micro-organismos indesejáveis, sem gerar impactos negativos sobre as propriedades nutricionais e sensoriais, e que também sejam ambientalmente seguros (BILEK; TURANTAŞ, 2013; GOMEZ-LOPEZ et al., 2015). Dentre os diferentes sanitizantes alternativos propostos destacam-se o ácido peracético, ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético e ultrassom (SÃO JOSÉ; VANETTI, 2012; JUNG et al., 2017; DAVIDSON et al., 2017; NGNITCHO et al., 2018; DOLAN et al., 2018; DUARTE et al., 2018; AL-ROUSAN et al., 2018).

### 2.4.1 Aplicação de ácidos orgânicos

Ácidos orgânicos fracos são utilizados em grande escala na indústria alimentícia como conservantes, antioxidantes, aromatizantes, acidulantes e reguladores de pH (MEIRELLES et al., 2016). Quando aplicados em concentrações moderadamente baixas apresentam efeitos inibitórios no crescimento microbiano e são usados para preservar alimentos ácidos e bebidas, e em concentrações mais altas, podem ser utilizados como descontaminantes de alimentos, como frutas, hortaliças e carcaças de carne (PIPER, 2011; MANI-LÓPEZ et al., 2012; HAUTE et al., 2013; NYHAN et al., 2018).

Estes agentes apresentam vantagens em referência aos compostos clorados quando utilizados como agentes antimicrobianos, posto que a dissolução em moléculas orgânicas não ocasiona a geração de resíduos tóxicos. Dessa forma, podem ser empregados na indústria de produtos minimamente processados e produtos prontos para o consumo (CARPENTER; BROADBENT, 2009; THERON; LUES, 2011; HIRSHFIELD et. al., 2003; LIANOU et. al., 2012; SÃO JOSÉ et al., 2018).

Os ácidos orgânicos são denominados 'geralmente reconhecidos como seguro' (GRAS) e apresentam atividade bactericida, com rápida ação e eliminação de vasto espectro de bactérias. Ademais, agem dentro de uma extensa escala de temperatura e não são afetados pela dureza da água (KANG; KANG, 2016).

Os ácidos na forma não dissociada são capazes de permear a membrana da célula microbiana e, caso o valor de pH intracelular seja maior do que o do meio circundante, estes ácidos se dissociarão e liberarão prótons, o que ocasionará a acidificação do citoplasma (HUANG; CHEN, 2011; SÃO JOSÉ, 2013). Como decorrência disso, a célula necessitará retirar os prótons em excedente para conservar o pH interno e assim gastará mais energia e causará alteração das atividades metabólica como transporte de nutrientes e redução da força próton motora (CAPOZZI et al., 2009; RAYBAUDI-MASSILA et al., 2009; HUANG; CHEN, 2011). A atividade bactericida de ácidos orgânicos ocorre devido às formas não dissociadas, que afetam as funções metabólicas de micro-organismos, como a produção de proteínas, a inibição da ATP e aumento na pressão osmótica (DOORES, 2005; BURIN et al., 2014).

Com relação às desvantagens, esses ácidos podem modificar o sabor de alguns produtos e podem corroer os equipamentos de processamento de acordo com a concentração aplicada (ÖLMEZ; KRETZSCHMAR, 2009). Estes compostos podem ter eficácia limitada em diminuir a carga microbiana na superfície dos produtos frescos devido à possibilidade de reação não específica com conteúdo orgânico de plantas. Além disso, a ação dos sanitizantes pode ser reduzida devido à presença de matriz de substâncias poliméricas extracelulares produzidas por bactérias na superfície da planta e devido aos atributos estruturais da superfície da planta (fendas, rachaduras e pequenas fissuras), juntamente com a natureza hidrofóbica da cutícula cerosa (UKUKU; FETT, 2002; HUANG; NITIN, 2017).

Dentre os ácidos orgânicos que têm sido propostos para a sanitização destacam-se o ácido acético e ácido peracético, por apresentarem melhores resultados em estudos pesquisados com ácidos orgânicos (KEERATIPIBUL et al., 2011; AHMED et al., 2017).

O ácido acético é uma solução incolor que em sua composição concentrada é mencionado como ácido acético glacial, com peso molecular de 60,05 (EFSA, 2012). Tem característica lipofílica e devido a isso é capaz de atravessar a membrana citoplasmática, desestabilizar o pH intracelular do micro-organismo e provocar a morte da célula (HIRSHFIELD et al., 2003; CARPENTER; BROADBENT, 2009). O ácido acético é um intermediário metabólico que é produzido de forma natural em algumas frutas e pode ter efeito tóxico sobre células microbianas devido à modificação do pH (TZORTZAKIS et al., 2016).

Este composto químico tem sido utilizado com agente antimicrobiano, melhorador de atributos sensoriais e extensor da vida útil de vários sistemas alimentares (CORTESI et al., 2009). É aceito como aditivo alimentar na União Europeia e internacionalmente pelo *Codex Alimentarius* para uso como reguladores de acidez e conservantes, sendo eficaz na prevenção ou redução da deterioração em concentrações compatíveis ao uso em alimentos (EFSA, 2012).

Um estudo realizado por Burin e outros (2014), foi avaliado o comportamento de *Salmonella* sob condições de estresse ácido em ácido acético e ácido láctico, e foi constatado que houve melhor desempenho do ácido acético no controle e na redução da contagem deste micro-organismo. Este resultado foi relacionado ao fato de que este ácido apresenta menor capacidade de dissociação em comparação com o ácido láctico. Outro estudo realizado com sanitização de folha de betel (*Piper Betle*

L.) mostrou que a aplicação de ácido acético a 2% foi capaz de reduzir a contagem de patógenos em 4,0 log UFC/g (AHMED et al., 2017).

Gurtler e outros (2014) analisaram a eficiência de diferentes soluções sanitizantes, aplicadas durante dois minutos, na redução de contagem de cepas de *E.coli* O157:H7 e *Salmonella* em morangos artificialmente inoculados e verificaram que a solução de 1% de ácido acético promoveu redução de 1,15 log UFC/g e 1% de ácido acético combinada a 1% de peróxido de hidrogênio promoveu redução de 3,25 log UFC/g.

Al-Rousan e outros (2018) avaliaram a atividade antimicrobiana de diferentes concentrações de ácido acético (0,4% e 0,3%) na inativação de *E. coli* O157: H7 em tabules armazenados à 4, 10 e 21° C e constataram que o ácido acético era mais ativo a 21°C. Nesta condição, células de *E. coli* O157: H7 viáveis não foram detectadas nas amostras tratadas com 0,4% de ácido acético em 21°C e na concentração a 0,3% reduziu gradualmente os números de *E. coli* O157: H7 até 6 dias. Depois disso, o patógeno aumentou de forma semelhante ao controle.

Mukhopadhyay e outros (2018) realizaram pesquisas para testar a inativação da microbiota natural e de *Salmonella* na cicatriz do caule do tomateiro. A solução sanitizante de ácido orgânico (0,5% de ácido acético e 0,5% ácido fórmico) em imersão por 1 minuto e posteriormente tratado com revestimento antimicrobiano (quitosana, isotiocianato de alilo e 100 mL de solução ácida com 2% ácido acético, 2% ácido láctico e 2% ácido levulínico) mostrou redução significativa da microbiota natural contaminante para 1,5 log CFU/g no 1º dia de tratamento. O tratamento também inativou significativamente as populações de fungos filamentosos e leveduras nos tomates imediatamente no 1º dia e não foi observado crescimento durante os 21 dias de armazenamento.

O ácido peracético é um líquido acromático, com aroma azedo característico, diferenciando do ácido acético somente em possuir oxigênio extra, sendo um agente antimicrobiano ideal devido a alta capacidade de oxidação, proveniente do radical hidroxila, sendo deste o principal responsável pela eficiência da degradação de moléculas (CRITTENDEN et al., 1999; CARETTI; LUBELLO, 2003). É um agente altamente efetivo contra micro-organismos e não é desativado por enzimas que quebram o peróxido de hidrogênio (catalase ou peroxidase). Porém, pode ser corrosivo, sendo capaz de provocar irritação na pele, olhos e sistema respiratório, e

a exposição prolongada pode causar danos pulmonares permanentes (WEXLER, 2014).

A combinação de peróxido de hidrogênio com molécula de ácido acético produz o ácido peracético, que possui alto poder de oxidação e também uma ligeira ação contra bactérias cultivadas sob diferentes temperaturas (HIRSHFIELD et al., 2003; SAGONG et al., 2011; MARTÍN-ESPADA et. al., 2014; LIANOU et al., 2012; MEIRELLES et al., 2016). Esta mistura (peróxido de hidrogênio com ácido acético) é praticamente inalterada pelas mudanças de temperatura e atividade biocida, mesmo na presença de matéria orgânica (ALVARO et al., 2009).

O efeito bactericida do ácido peracético é fundamentado na liberação de oxigênio ativo, o que causa ruptura das paredes celulares e tem função quimiosmótica da lipoproteína da membrana citoplasmática. Este agente sanitizante é um composto de baixo teor molecular, de modo que pode atravessar a membrana bacteriana e reagir com componentes celulares internos, ocasionar danos nas estruturas celulares e liberação de componentes intracelulares (BARBOSA et al., 2016). Além do mais, o uso do ácido peracético não prejudica o meio ambiente, uma vez que em sua decomposição forma-se ácido acético, que é decomposto e possivelmente entra no meio ambiente como átomos de oxigênio (ALVARO, et al, 2009).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) registrou o ácido peracético como um agente antimicrobiano em 1985 (ZHANG et al., 2018). A regulamentação espanhola autoriza o uso de peróxido de hidrogênio e ácido peracético na água potável e de lavagem de frutas e hortaliças (ALVARO et al., 2009). No Código de Regulamentos Federais dos Estados Unidos (CRF) a concentração de sanitizantes à base de ácido peracético não pode ultrapassar de 80 mg/L (CFR, 2012). No Brasil, de acordo com a Resolução RDC nº 2, de 08 de janeiro de 2004, o ácido peracético pode ser usado como coadjuvante de tecnologia na função de agente de controle de micro-organismos na lavagem de ovos, carcaças e ou partes de animais de açougue, peixes e crustáceos e hortifrutícolas em quantidade suficiente para obter o efeito desejado, sem deixar resíduos no produto final (BRASIL, 2004).

Keeratipibul e outros (2011) investigaram a eficácia de dois sanitizantes, ácido hipocloroso (soluções com 25, 50 e 75 mg/L de cloro) e ácido peracético (soluções de 30, 40 e 50 mg/L), na redução de coliformes e de *Escherichia coli* em frutos de

tomate e folhas de alface. Estes autores observaram que o ácido peracético apresentou maior eficiência na redução de micro-organismos em comparação com o ácido hipocloroso, com redução de 4,48 UFC/g de *E. coli* e 3,94 UFC/g de coliformes em tomates na concentração de 50 mg/L, enquanto em folha de alface houve uma redução de 2,47 UFC/g de *E. coli* e 2,40 UFC/g de coliformes na mesma concentração.

Em um estudo, realizado por Kim e outros (2018), foram analisados os efeitos bactericidas ao mergulhar maçãs por 2 minutos em combinação com bisulfato de soda (1% ou 3%) e ácido peracético (60 mg/L) e um surfactante (0,1% de Tween) em combinação com bisulfato de soda a 3% e ácido peracético (60 mg/L), como tratamento para eliminação de *Listeria innocua*. As maçãs foram armazenadas durante 14 dias e o melhor resultado foi a combinação de 3% de bisulfato de soda com 60 mg/L de ácido peracético, que proporcionou redução de 5,56 log UFC/g na contagem do patógeno.

## 2.5 Ultrassom

O ultrassom consiste em ondas sonoras com frequência que é superior a capacidade de audição humana (> 20 kHz) (KNORR et al., 2011; SÃO JOSÉ; VANETTI, 2015) e que gera ondas sonoras de intensidade e amplitude específica, de acordo com a frequência operacional (ROSÁRIO et al., 2017). O ultrassom é gerado por um dispositivo chamado transdutor que contém um cristal cerâmico que é ativado por um pulso elétrico que, por meio do efeito piezoelétrico, esta eletricidade é transformada em onda mecânica e é propagada como uma pulsação sônica curta à frequência substancial do transdutor sendo que a estrutura e a natureza do alimento são determinantes na mudança da velocidade de propagação da onda e na diminuição de energia do feixe de ultrassom (MIZRACH, 2008).

Ondas ultrassônicas (energia gerada por ondas sonoras de 20 KHz ou mais) produzem bolhas de gás em meio líquido, que geram alta temperatura e aumento de pressão e ocasionam a explosão das mesmas de forma imediata (BUTZ; TAUSCHER, 2002; MILLAN-SANGO et al., 2015). A aplicação das ondas ultrassônicas requer a presença de uma fase líquida, sendo possível o uso de equipamentos do tipo banho ou sonda ultrassônica de imersão (SÃO JOSÉ et al., 2014, MILLAN-SANGO et al., 2015).



O mecanismo básico do ultrassom é a cavitação acústica (CHANDRAPALA et al., 2012). Durante cavitação acústica, gerada por altas potências, ondas longitudinais são formadas, e estas provocam áreas de compressão e expansão alternada. No ciclo de expansão, pequenas bolhas em meio líquido tendem a crescer devido à menor pressão local e na fase de compressão, a área de superfície da bolha é reduzida. Durante estes movimentos alternados pode ocorrer implosão das bolhas o que gera regiões de alta temperatura (até 5000 °C) e pressão elevada (até 1000 atm) (MUKHOPADHYAY; RAMASWAMY, 2012; SÃO JOSÉ et al., 2014).

O colapso irregular de uma bolha de cavitação conduz a um jato de líquido impulsionado pelo centro do colapso da bolha com uma velocidade de algumas centenas de metros por segundo, o que ocasiona a corrosão na superfície sólida. Desta forma, a microtransmissão pode gerar uma erosão nas paredes das células, o que resulta na inativação dos micro-organismos (CHANDRAPALA et al., 2012).

A implosão da bolha gerada durante a cavitação permite a formação de radicais livres, que apresentam poder oxidativo e causa danos ao DNA de micro-organismos, por meio de rupturas e fragmentação ao longo de sua extensão, que é considerado também um fenômeno chamado sonólise. Este fenômeno, as altas temperaturas e pressões criadas dentro da bolha são responsáveis pela formação de átomos de hidrogênio e radicais hidroxílicos (GOGATE; KABADI, 2009; SÃO JOSÉ, et al. 2014; MILLAN-SANGO et al. 2016).

A utilização de ultrassom em alimentos tem diversas vantagens principalmente por se tratar de um processo não-térmico, que diminui a carga microbiana e aumenta o prazo de conservação, principalmente em alimentos com atributos sensorial, nutricional, sensíveis ao calor e funcionais (BILEK; TURANTAŞ, 2013). Assim, desde a metade do século passado, a aplicação do ultrassom tem despertado interesse no campo da ciência e tecnologia de alimentos e vem sendo estudada para finalidades no processamento, preservação e extração de diversas substâncias de alimentos (DOLATOWSKI et al., 2007; KNORR, 2011; CHEMAT et al., 2011, CHANDRAPALA et al., 2012; ROSELLO-SOTO, et al., 2015; ROJAS et al., 2017). Alguns estudos mostram que esta tecnologia vem sendo empregada como uma alternativa moderna capaz de melhorar as condições de processamento de muitos produtos (OLIVEIRA, 2014; FERRARIO et al., 2015; PANIWNKY, 2017; GUERRERO et al., 2017; BASTARRACHEA et al., 2017).

Diversos estudos têm mostrado, também, eficiência nos processos de cozimento, congelamento/descongelamento, cristalização, emulsificação, filtração, moldagem, corte, extração, secagem, desgaseificação, oxidação e maturação em diferentes matrizes alimentares (DOLATOWSKI et al., 2007; CHEMAT et al., 2011; CHANDRAPALA et al., 2012; CHENG et al., 2015; ALARCON-ROJO et al., 2015; GRABALOSA et al., 2016; SILVA et al., 2016; YILDIZ et al., 2016; KANG et al., 2016; PREECE et al., 2017; PANIWNYK, 2017; SÁNCHEZ-GARCÍA et al., 2018; MIANO; AUGUSTO, 2018; SAE-LEAW et al., 2018; BOREA et al., 2018; ROSELLI et al., 2018).

A inativação microbiana promovida pelo ultrassom dependerá dos fatores críticos de processamento, tais como a natureza das ondas ultrassônicas, o tempo de exposição com os micro-organismos, o tipo de micro-organismo, o volume de alimentos a processar, a composição dos alimentos e a temperatura do processamento (BUTZ; TAUSCHER, 2002; BILEK; TURANTAŞ, 2013).

São José e outros (2014) realizaram experimento com ultrassom de 40 kHz e ácidos orgânicos (soluções de 1,0% de ácido láctico e 1,0% de ácido acético) em superfícies de pimentão verde e melão e observaram que o tratamento de ácido acético 1% em combinação com ultrassom reduziu 2,8 log UFC/cm<sup>2</sup> de *Salmonella* e 2,9 log UFC/cm<sup>2</sup> de *E. coli* em pimentão verde. Para os melões, houve redução de 2,4 log UFC/cm<sup>2</sup> e 2,1 log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente.

Sagong e outros (2011) avaliaram a aplicação de ácidos orgânicos e ultrassom 40 kHz em alface fresca orgânica e observaram que o tratamento com ultrassom combinado com 2,0% de ácidos orgânicos (ácido málico, ácido acético, ácido láctico e ácido cítrico, combinados) foi o mais efetivo na redução dos patógenos, sendo a maior redução igual a 3,18 log UFC/g de *Salmonella Typhimurium* utilizando a combinação do ultrassom com ácido cítrico a 2,0%.

Palma-Salgado e outros (2014), ao sanitizar alface fresca com cloro (60 mg/L), ácido peracético (60mg/L) e ultrassom (25, 40 e 75 kHz) durante 1 minuto, observaram que ao combinar a aplicação do ultrassom com cloro e ultrassom com ácido peracético, houve redução de 2,43 e 2,24 log UFC/g de *Escherichia coli* O157:H7, respectivamente.

De acordo com este contexto, estudos que avaliem o uso do ultrassom combinado ou não a ácidos orgânicos na sanitização de frutas podem contribuir com informações a serem aplicadas na indústria de alimentos.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar a aplicação de ultrassom, ácido acético e ácido peracético como tratamentos alternativos na sanitização de morangos.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Determinar o efeito dos tratamentos na sanitização com ultrassom combinado ou não aos ácidos acético e peracético na redução da microbiota natural contaminante;

Avaliar os tratamentos de sanitização propostos em células de *Escherichia coli* intencionalmente inoculadas em morangos;

Analisar os impactos dos tratamentos de sanitização propostos nas características físico-químicas dos morangos;

Identificar quais são os melhores tratamentos propostos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho faz parte do projeto intitulado “Novas estratégias na sanitização de hortaliças: uso do ultrassom, ácidos orgânicos, ácido peracético e peróxido de hidrogênio” financiado pela FAPES no Edital N° 006/2014. Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Técnica Dietética (Departamento de Educação Integrada em Saúde), Laboratório de Microbiologia (Departamento de Ciências Farmacêuticas) da Universidade Federal do Espírito Santo e nos laboratórios do SENAI - ES (Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial).

### 4.1 Delineamento experimental

Para comparar o efeito dos diferentes tratamentos sobre a microbiota natural, *E. coli* e características físico-químicas durante o período de armazenamento o experimento foi conduzido o delineamento em parcelas subdivididas, em que o tipo de sanitizante é a parcela e o tempo de armazenamento a subparcela. O experimento foi conduzido em três repetições.

Foram realizados no total sete tratamentos (ultrassom 40 kHz; solução de ácido acético a 10 mL/L; solução de ácido peracético a 2 mL/L; solução de ácido acético a 10 mL/L combinado ao ultrassom 40 kHz; solução de ácido peracético a 2 mL/L combinado ao ultrassom 40 kHz) e mais 2 tratamentos controle (sem sanitizar e solução de hipoclorito de sódio a 1mL/L).

### 4.2 Obtenção do morango

As amostras de morango foram obtidas em comércio atacadista local (CEASA, Cariacica-ES), sendo proveniente da cidade de Santa Maria de Jetibá-ES, conforme Figura 2. Após a aquisição, as amostras foram transportadas até laboratório e armazenadas por no máximo 24 h antes do início das análises. Em seguida, foram lavadas em água corrente para retirada de sujidades aderidas a superfície e posteriormente dispostas em recipientes previamente higienizados com álcool 70%. Após os tratamentos, os morangos foram acondicionados sob refrigeração em embalagem, previamente higienizada, de polietileno tereftalato a  $7 \pm 1$  °C e analisados logo após a sanitização e nos dias 1, 3, 6 e 9 de armazenamento.

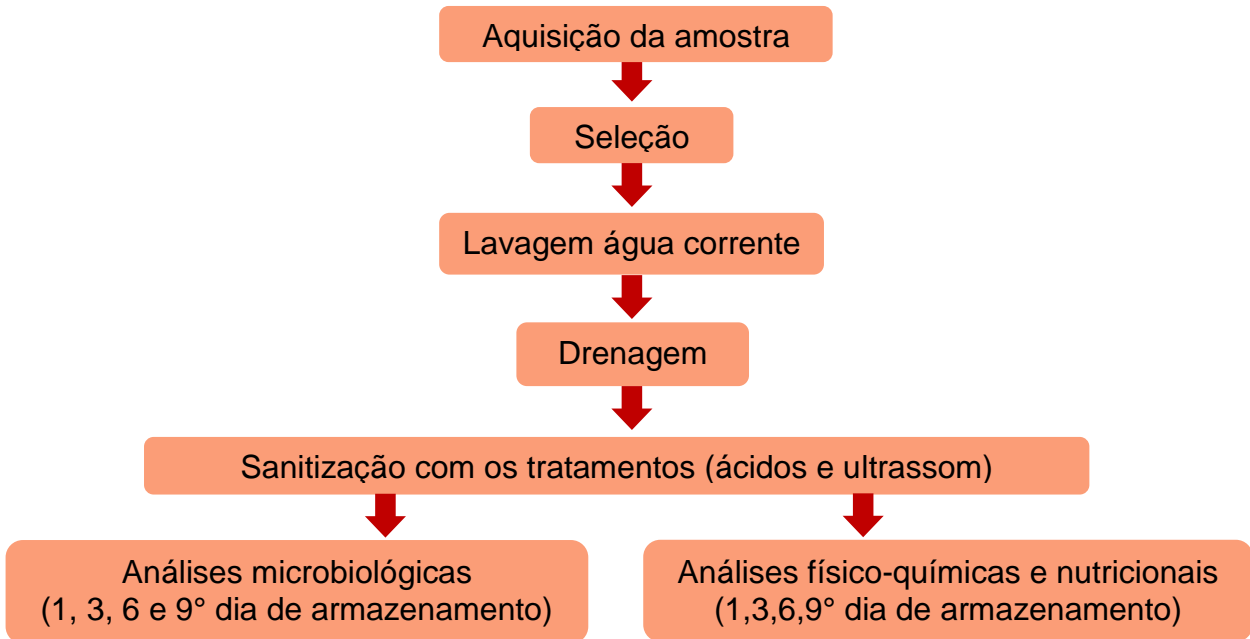


Figura 2 – Fluxograma de obtenção, sanitização e análises dos morangos.

### 4.3 Tratamentos de sanitização

A etapa de sanitização consistiu na imersão dos morangos em cada tipo de solução sanitizante, na qual foi aplicada a proporção de 1:10 (100 g de morango para cada 1 L de solução) durante 5 minutos à temperatura de  $23 \pm 1$  °C.

Os tratamentos realizados foram definidos como: sem sanitização; solução sanitizantes à base de hipoclorito de sódio (Hidrosteril<sup>®</sup>, Indaiatuba, SP, Brasil) (composição no rótulo: hipoclorito de sódio: 2,5%; cloreto de sódio 1%; água deionizada q.s.p 100%) preparada na concentração de 1 mL/L (tratamento referência); ultrassom 40 kHz modelo 3800 a 25°C (Branson<sup>®</sup>, Danbury, USA); Solução de ácido acético (Vetec<sup>®</sup>, São Paulo, SP, Brasil) na concentração de 10 mL/L; solução de ácido peracético na concentração de 2 mL/L (Nippo-Lat 2000 AP, NipponChemical<sup>®</sup>, Indaiatuba, SP, Brasil); solução de ácido acético na concentração de 10 mL/L combinado ao ultrassom 40 kHz e solução de ácido peracético na concentração de 2 mL/L combinado ao ultrassom 40 kHz.

### 4.4 Análises físico-químicas

As amostras foram avaliadas quanto às características físico-químicas após os tratamentos de sanitização. Foram realizadas as análises de acidez total titulável,

pH, teor de sólidos solúveis totais, vitamina C, antocianinas e perda de massa logo após a sanitização (1 dia), 3, 6 e 9 dias de armazenamento à  $6 \pm 1$  °C, em triplicata. Estas análises visaram identificar possíveis mudanças na qualidade das hortaliças após os tratamentos de sanitização e amostras não sanitizadas (controle). As amostras utilizadas nessa etapa não continham micro-organismos inoculados.

#### **4.4.1 Acidez total titulável**

A determinação de acidez total titulável foi realizada por titulometria de acordo com a metodologia da AOAC (2005), em que 10 g da amostra + 50 mL de água destilada + 4 gotas da solução fenolftaleína e titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1N, com auxílio de pHâmetro até atingir pH=8,2.

#### **4.4.2 pH**

A medição de pH foi realizada pela metodologia do IAL (Instituto Adolfo Lutz, 2005) com pHmetro modelo mPA-210 (Tecnopon®, Piracicaba, SP, Brasil) previamente calibrado de acordo com as instruções do manual do fabricante.

#### **4.4.3 Teor de sólidos solúveis totais**

O teor de sólidos solúveis foi determinado com auxílio de refratômetro analógico modelo 103 (Biobrix®, Campohermoso, Almería, Espanha). As amostras foram maceradas em um almofariz, com o auxílio de pistilo. Em seguida, cerca de 1 g de amostra foi depositada sobre o visor de leitura do equipamento. Os resultados foram expressos em °Brix. As medidas foram realizadas a 25°C.

#### **4.4.4 Determinação do teor vitamina C**

Realizou-se a análise do teor de vitamina C pelo método titulométrico com 2,6 diclorofenolindofenol (Sigma®, Aldrich, St Louis, MO), de acordo com metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985). O teor de vitamina C foi expresso em mg de ácido ascórbico/100 g de amostra.

#### 4.4.5 Determinação do teor antocianinas

Esta análise foi conduzida seguindo metodologia proposta por Francis (1982). Para preparo do extrato foi utilizado 1 g de amostra e 60 mL de metanol/água (70:30 v/v). O pH foi ajustado para 2 utilizando uma solução de HCl 3 mol/L. O extrato foi armazenado em vidro âmbar, por 24 horas a 3°C. Após, o extrato foi filtrado a vácuo e diluído (1:10 v/v) em metanol-HCl 1,5 mol/L (85:15%). Em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotômetro modelo SP-22 (Biospectro®, Curitiba, Paraná, Brasil) em comprimento de onda de 535 nm. Para o cálculo foi adotada a equação:

$$\text{Antocianinas totais (mg/100g)} = (A \times MM \times FD \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

Em que A é a absorvância da amostra, MM é a massa molecular referente à cianidina-3-glicosídeo (449,2 g/mol), FD é o fator de diluição, e  $\epsilon$  é a coeficiente de absorvância molar = 26900 L.cm<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>.

#### 4.4.6 Perda de massa

Cada embalagem contendo morango foi pesada em balança de precisão modelo AS-5500C (Marte®, São Paulo, SP, Brasil). O percentual de perda de massa de cada embalagem foi determinado de acordo com a expressão a seguir:

$$\% \text{ Perda de massa } (t) = \frac{[M_0 - M(t)]}{M_0} \times 100$$

Onde % perda de massa (t) é a perda de massa em um determinado tempo, M<sub>0</sub> é massa inicial da amostra e M<sub>t</sub> é o peso da amostra no tempo t.

#### 4.5 Avaliação da microbiota natural

Os procedimentos empregados nessa etapa foram realizados de acordo com a metodologia da *American Public Health Association* (APHA), descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (DOWNES; ITO, 2001). Foram realizadas as análises de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, coliformes a 35 °C e *Escherichia coli*.

Amostras de 25 g foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1 % sendo utilizado o homogeneizador de amostras tipo *stomacher* digital (YK tecnologia, Sapiranga, RS, Brasil) por 2 min, em velocidade normal. Diluições decimais apropriadas foram preparadas e alíquotas dessas diluições transferidas para meios de cultura específicos para a determinação de cada grupo microbiano. O plaqueamento das alíquotas foi realizado em duplicata e o resultado expresso em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

#### **4.5.1 Contagem de mesófilos aeróbios**

A determinação de mesófilos aeróbios das amostras foi realizada pela técnica de plaqueamento por profundidade sendo utilizado o ágar padrão para contagem (PCA) (Acumedia®, Indaiatuba, SP, Brasil). A partir de cada diluição preparada, 1 mL foi transferido para placas de Petri e em seguida aproximadamente 15 mL de ágar PCA foram adicionados. Na sequência foi feita a homogeneização e, por fim, aguardou-se a solidificação do ágar. As placas foram invertidas e incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 48 horas.

#### **4.5.2 Contagem de fungos filamentosos e leveduras**

Para contagem de fungos filamentosos e leveduras, foi utilizada a técnica de plaqueamento em superfície. De cada diluição preparada, foi transferida a alíquota de 0,1 mL e esta foi disposta na superfície do ágar Sabouraud Dextrose (Kasvi®, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil). Com auxílio de uma alça de Drigalski, o inóculo foi espalhado por toda a superfície do meio, e logo após as placas foram incubadas a 25 °C por 5 a 7 dias. Os resultados foram expressos em UFC/g.

#### **4.5.3 Contagem de coliformes totais e *E.coli***

Para contagem de coliformes a 35 °C e *E. coli* foram utilizadas placas Petrifilm EC® (3M®, Sumaré, SP, Brasil). Após o preparo das diluições apropriadas, alíquotas de 1,0 mL foram transferidas seguindo as instruções do fabricante. Após incubação das placas a 35 °C por 24 e 48 h, as colônias azuis e vermelhas com gás foram



consideradas colônias de coliformes totais e colônias azuis com gás foram consideradas de *E. coli*. Os resultados da contagem foram expressos em UFC/g.

#### **4.6 Avaliação dos procedimentos de sanitização na inativação de células de *Escherichia coli* intencionalmente inoculadas em morangos**

##### **4.6.1 Preparo das amostras e do inóculo**

Amostras de morangos foram obtidas como descrito no item 4.1., selecionadas e em seguida, limpas e lavadas em água destilada esterilizada.

As bactérias *Escherichia coli* ATCC 11229 foram obtidas do estoque de cultura do laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo, no campus de Alegre-ES. A cultura foi mantida em microtubos (Eppendorf®, São Paulo, SP, Brasil) de 1 mL contendo ágar BHI (Difco™, Sparks, USA) à temperatura de -80 °C e feita a ativação por duas repicagens consecutivas em BHI e incubada à 37 °C por 24 h até atingir a população de 10<sup>8</sup> e 10<sup>9</sup> UFC/mL.

##### **4.6.2 Inoculação**

Para avaliar o efeito dos tratamentos foi realizada a inoculação em 100 g de morangos em sacos plásticos previamente esterilizados e em seguida foi adicionado o inóculo (10 mL) juntamente com 200 mL de água peptonada 0,1% obtendo-se uma solução com aproximadamente 10<sup>6</sup> UFC mL/L. O saco plástico, contendo o inóculo e a amostra, foi levemente agitado durante 5 min. Os morangos foram mantidos em contato estático com a suspensão de células por 60 min a 24 ± 1°C. Em seguida, a suspensão de células foi drenada e os morangos intencionalmente inoculados foram submetidos aos tratamentos de sanitização. Os procedimentos de sanitização foram conduzidos conforme descrição no item 4.2.

As amostras que foram tratadas no ultrassom foram colocadas em sacos plásticos previamente esterilizados e em seguida dispostas dentro do equipamento. Tal procedimento teve como objetivo impedir a contaminação do equipamento com a bactéria.

#### **4.6.3 Quantificação de células aderidas**

Após cada tratamento, as amostras foram transferidas para sacos plásticos esterilizados, com água peptonada 0,1% e então, foram homogeneizados por dois minutos. Em seguida, foi retirada a alíquota de 1 mL para preparar as diluições decimais. As diluições apropriadas foram plaqueadas pela técnica de espalhamento em superfície em ágar MacConkey (Acumedia<sup>®</sup>, Indaiatuba, SP, Brasil). Após o plaqueamento e incubação por 48 h, a 35 °C foi realizada a contagem das colônias.

#### **4.6.4 Preparo dos cortes para observações microscópicas**

Os morangos foram selecionados, lavados e em seguida foram feitos cortes de 1,0 cm x 1,0 cm com auxílio de bisturi previamente esterilizado. Os cortes foram dispostos em placas de Petri contendo água esterilizada para lavagem e remoção de resíduos do tecido vegetal. Células das bactérias foram previamente cultivadas em caldo BHI (Acumedia<sup>®</sup>, Indaiatuba, SP, Brasil) por 24 horas a 37 °C. Após essa etapa, o caldo BHI foi distribuído em placas de Petri com 13,5 cm de diâmetro contendo os cortes, que estiveram imersos durante 60 min. Os cortes (n=10) foram distribuídos em tubos esterilizados contendo água destilada esterilizada por 1 minuto, para remoção de células planctônicas. Em seguida, os cortes foram submetidos aos tratamentos de sanitização descritos no item 4.2. Para o tratamento de sanitização foram utilizados 10 mL de cada solução sanitizante previamente preparada. Para os tratamentos com ultrassom, os cortes foram colocados em sacos plásticos esterilizados e em seguida foi efetuado cada tratamento. Após a realização de cada tratamento de sanitização, os cortes foram submetidos às etapas de preparo para microscopia.

#### **4.6.5 Microscopia eletrônica de varredura**

A análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi realizada com objetivo de avaliar visualmente o efeito de remoção dos sanitizantes sobre as células de *Escherichia coli* aderidas à superfície de morangos bem como possíveis alterações morfológicas nas estruturas das células. Esta análise foi realizada no

Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins do Centro de Ciências da Saúde na Universidade Federal do Espírito Santo em Vitória- ES.

Após a sanitização, os cortes de morangos foram enxaguados em tampão fosfato (PBS) 0,1 mol/L, pH 6,8 a 7,2, para remoção dos resíduos dos sanitizantes e células não aderidas. Na etapa de fixação utilizou-se o tratamento com agente fixador glutaraldeído (Vetec<sup>®</sup>, São Paulo, SP, Brasil) a 5% e tampão PBS 0,1 mol/L, na proporção de 1:1 por uma hora em temperatura ambiente. Em seguida, foram realizadas seis lavagens, de 10 minutos cada, em tampão PBS a 0,1 mol/L, pH 6,8 a 7,2. A etapa da desidratação consistiu de tratamentos seriados com etanol, nas graduações de 30°, 50°, 70°, 80°, 95° Gay Lussak (GL), por 10 minutos cada e três tratamentos de 15 min, em etanol 100 ° GL. Os cortes foram transferidos para o secador ao ponto crítico modelo autosamdri-815 (Tousimis<sup>®</sup>, Maryland, USA) para a desidratação total das amostras. Em seguida, os cortes das amostras foram submetidos ao metalizador modelo Desk V (Denton Vacuum<sup>®</sup>, Cherry Hill, NJ, Estados Unidos) para deposição com fina camada de 30 nanômetros de ouro e em seguida os cortes foram encaminhados para observação ao microscópio eletrônico de varredura modelo JSM- 6610LV (Scanning Eletron Microscope<sup>®</sup>, Jeol) e realização do registro das imagens. Para cada tratamento foram feitas imagens com aumento de vezes de 10 µm, 20 µm, 50 µm, 100 µm e 200 µm.

#### **4.7 Análise estatística dos dados**

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), análise de regressão, teste de correlação de Pearson e teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software InfoStat<sup>®</sup>, versão para estudantes, 2017.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Efeito dos tratamentos de sanitização sobre as características físico-químicas dos morangos

Na Tabela 1 estão dispostos os dados referentes às características físico-químicas dos morangos submetidos aos diferentes procedimentos de sanitização.

Tabela 1 - Resumo da Análise de Variância (ANOVA) para os resultados de pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável, relação sólidos solúveis / acidez total titulável, vitamina C e antocianinas em morangos sanitizados e mantidos em armazenamento por 9 dias a  $6 \pm 1$  °C.

Variáveis	Fonte de variação	Graus de Liberdade	Valor de F	Valor de p
pH	Tratamento	6	0,36 <sup>n.s.</sup>	0,8917
	Tempo	3	8,23*	0,0003
	Interação	18	0,07 <sup>n.s.</sup>	1,000
Sólidos solúveis totais (SST)	Tratamento	6	2,27 <sup>n.s.</sup>	0,0967
	Tempo	3	2,90*	0,0491
	Interação	18	1,19 <sup>n.s.</sup>	0,3248
Acidez Total Titulável (ATT)	Tratamento	6	0,26 <sup>n.s.</sup>	0,9459
	Tempo	3	9,38*	0,0001
	Interação	18	0,10 <sup>n.s.</sup>	1,0000
Relação sólidos solúveis / acidez titulável	Tratamento	6	0,38 <sup>n.s.</sup>	0,8797
	Tempo	3	8,72*	0,0002
	Interação	18	0,43 <sup>n.s.</sup>	0,9714
Vitamina C	Tratamento	6	2,43 <sup>n.s.</sup>	0,0806
	Tempo	3	2,33 <sup>n.s.</sup>	0,0925
	Interação	18	6,76*	0,0001
Antocianinas	Tratamento	6	0,42 <sup>n.s.</sup>	0,8503
	Tempo	3	1,05 <sup>n.s.</sup>	0,3897
	Interação	18	0,53 <sup>n.s.</sup>	0,8808

\* Valor de F significativo ( $p < 0,05$ ) após análise de variância. n.s. Valor de F não significativo ( $p > 0,05$ ) após análise de variância.

Avaliar estas características de qualidade é muito importante, pois sabe-se que alguns sanitizantes podem ocasionar modificações nos valores de pH de frutas

e hortaliças e em alguns casos acelerar a deterioração do alimento (RICO et al., 2007).

Foi observado que o tempo de armazenamento interferiu significativamente nos valores de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais e relação sólidos solúveis totais e acidez total titulável. Porém, como não foi possível ajustar uma equação linear ou quadrática para verificar esses parâmetros avaliados em função do tempo, os valores médios e desvio padrão foram plotados nas Figuras 3, 4, 5 e 6.

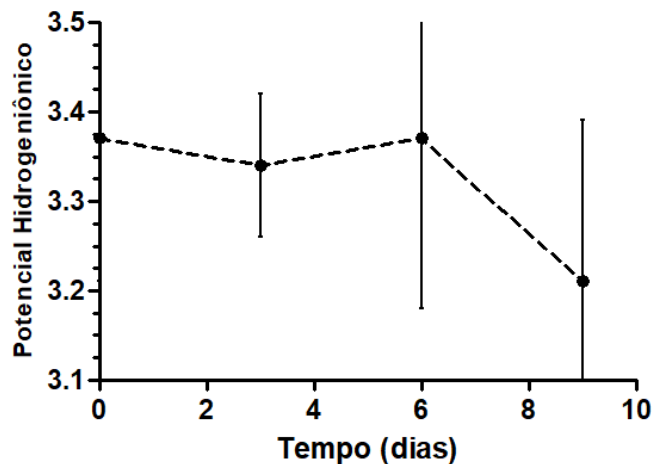


Figura 3 – Variação média e desvio padrão de pH avaliados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento

Na análise de pH, foi observada média geral de todos os tratamentos no 1º dia igual 3,37 e no 9º dia igual 3,21. A média de pH apresentou queda nos primeiros dias de armazenamento. Este resultado pode estar relacionado à aplicação dos ácidos orgânicos que provavelmente ocasionou a redução do pH (PARK et al., 2006) devido a incorporação de parte da solução ácida utilizada. A elevação do pH entre o terceiro e o sexto dia pode ser atribuída ao consumo de ácidos orgânicos naturais no metabolismo dos frutos, por exemplo, os ácidos podem servir de substrato para a respiração (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A partir do sexto dia houve declínio de pH, e este resultado, segundo Rahman e outros (2016), pode estar associado a senescência do morango.

Ao avaliarem o efeito do ultrassom 20 kHz em morangos, Aday e outros (2013) observaram que o tratamento com ultrassom não provocou alteração significativa para os valores de pH em relação a amostras não tratadas, sendo observado valores próximos a 3,5. Rosário e outros (2016) também não observaram alteração significativa nos valores de pH em relação aos diferentes tratamentos

aplicados (com ácido acético e ácido peracético) e entre o tempo de armazenamento, sendo registrada média de pH igual a 3,47. Porém, São José e Vanetti (2015) observaram valores de pH significativamente menores em morangos tratados com ácido peracético por 10 minutos.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), amostras com pH mais próximos de 7 são mais suscetíveis a proliferação de micro-organismos patogênicos. Assim, os morangos após a aplicação dos procedimentos de sanitização, apresentando pH de 3,37 no primeiro dia e assim podem se tornarmais estáveis quando ao crescimento de micro-organismos. Resultado importante no sentido que se trata de alimentos prontos para consumo que não requerem nenhuma etapa posterior para eliminação de micro-organismos.

Na Figura 4 é possível observar a variação da média geral para acidez total titulável durante os dias de armazenamento.

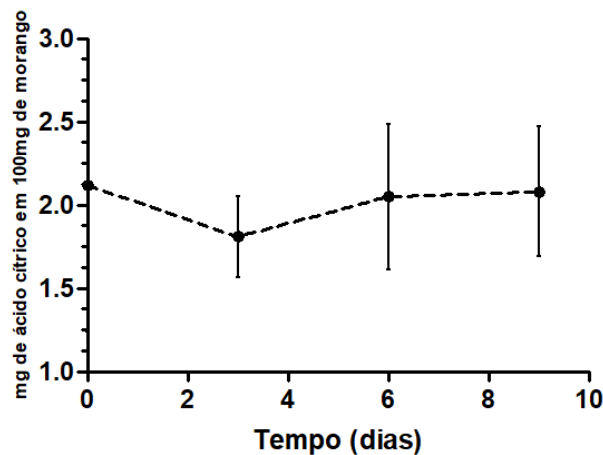


Figura 4 – Variação média e desvio padrão da acidez total titulável avaliados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.

Entre o 3º e 9º dia houve elevação da acidez, que pode estar associado ao crescimento de micro-organismos produtores de substâncias ácidas (SAICHANA et al., 2015).

A análise da acidez total titulável é importante, pois está relacionada ao estado de conservação de um alimento, pois em casos de decomposição do alimento há modificação na concentração de íons de hidrogênio. Outro aspecto está relacionado a influência deste parâmetro nas características sensoriais dos alimentos.

Na Figura 5 é apresentada a variação geral do teor de sólidos solúveis totais. Observa-se uma diminuição da média geral inicial foi de 7,32 °Brix, para 6,85 °Brix no último dia.

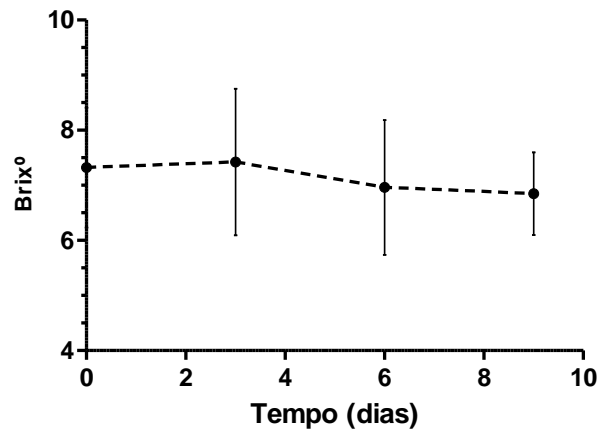


Figura 5 – Variação média e desvio padrão dos sólidos solúveis totais avaliados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.

Entre o primeiro e o terceiro dia observamos uma pequena elevação de sólidos solúveis totais. Este resultado pode estar relacionado a produção de antocianinas apresentadas nestes dias, já que nas análises de correlação entre estas duas variáveis obteve resultado significativo e positivo (Tabela 2). Os sólidos solúveis totais elevam-se de acordo com o tempo de senescência, devido à degradação da sacarose em fruto e glicose, produção de antocianinas e decomposição de ácidos orgânicos em açúcares.

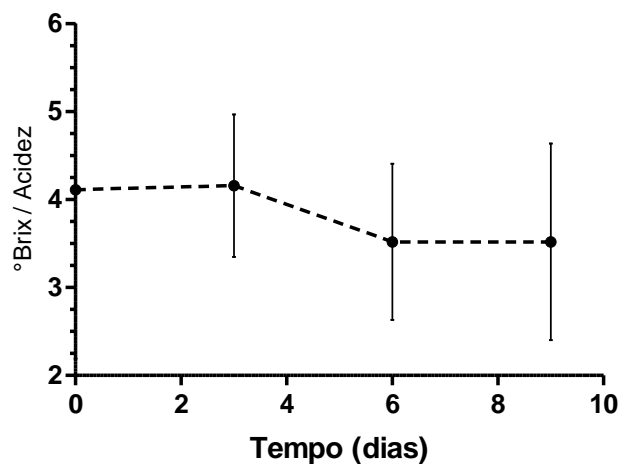


Figura 6 - Variação média e desvio padrão da relação sólidos solúveis totais/ acidez total titulável avaliados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.

Para relação de sólidos solúveis totais e acidez total titulável (Figura 6) foi possível observar que durante o armazenamento houve decréscimo nos valores, resultado este que demonstra que os tratamentos podem ter contribuído para aceleração da perda de qualidade do morango.

A relação entre sólidos solúveis totais e acidez é um fator importante para avaliar a qualidade da fruta e uma das formas utilizadas para avaliação do sabor, sendo mais representativa que as medidas isoladas dos teores de açúcares ou de acidez. Essa relação demonstra o equilíbrio entre esses dois componentes (COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010; AKHATOU; RECAMALES, 2014). Segundo o Instituto Adolfo Lutz (2008), esta relação pode estar pautada às características sensoriais dos alimentos, e pode revelar o grau de maturação da matéria-prima. Durante o armazenamento refrigerado, presume-se que a síntese de sacarose ocorra, o que resultada em um declínio dos componentes de ácidos orgânicos e um aumento no grau de sólidos solúveis totais em morangos (OCTAVIA; CHOO, 2017).

Para valores de vitamina C foi observada interação significativa entre tempo e tratamento. Assim, foi feito um desmembramento da interação (Figura 7). Foram testados modelos lineares e quadráticos para explicar o comportamento das variáveis analisadas em função do tempo, contudo, não foi possível obter falta de ajuste significativa e modelos da regressão significativos. Sendo assim, foi elaborada a Figura 7 no intuito de compreender o comportamento da variável.

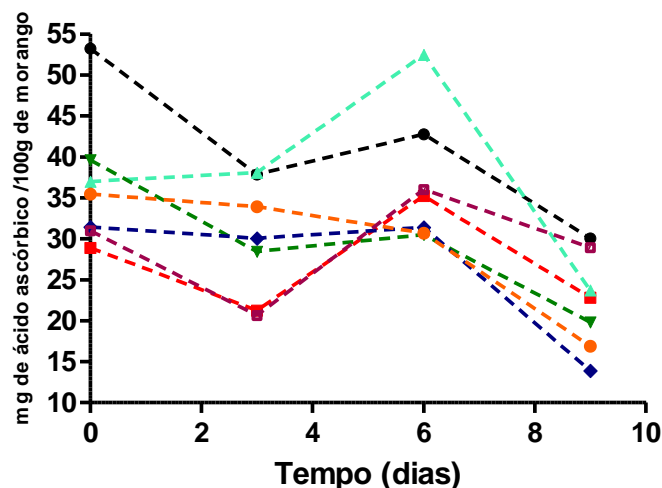


Figura 7 – Variação média e desvio padrão da vitamina C analisados em morangos de todos os tratamentos e controle durante 10 dias de armazenamento.

—●— Sem sanitização    —▲— Ultrassom 40 KHz    —▼— Ácido acético    —◆— Ácido Peracético  
 —■— Ácido Peracético + US    —■— Hipoclorito de sódio    —◆— Ácido acético + US



Após os tratamentos serem aplicados nas amostras, observou-se que no 1º dia até o 3º dia houve queda no conteúdo de vitamina C (Figura 7), com exceção de morangos tratados por ultrassom. Com relação à aplicação do ultrassom e os impactos no conteúdo de vitamina C, é provável que os pontos quentes formados durante a cavitação não foram suficientes para causar degradação da vitamina C. A retenção de compostos bioativos pode ser atribuída à redução do oxigênio dissolvido devido à cavitação ou devido à inativação de enzimas que ocasionam a redução do conteúdo da vitamina (GANI et al., 2016).

Entre o 3º e 6º dia houve um aumento geral do teor de vitamina C nos tratamentos. O ácido ascórbico está envolvido na regulação de vários processos celulares fundamentais, como a fotoproteção, o ciclo celular, a expansão celular e em vias de metabolismo secundário, como a reciclagem de  $\alpha$ -tocoferol lipossolúvel e a biossíntese de etileno. A vitamina C pode ter sido sintetizada como defesa ao estresse oxidativo, pois a acumulação de ácido ascórbico em tecidos e órgãos da planta é alterada por fenômenos fisiológicos, tais como a senescência, o desenvolvimento e a expansão das células, vários estímulos bióticos e abióticos (DAVEY et al., 2003; DAVEY et al., 2006; ALHAGDOW et al., 2007). Após o 6º dia ocorreu uma queda do nível de ácido ascórbico, que pode ser decorrente à morte das células dos tecidos do fruto, o que paralisou a síntese de ácido ascórbico, juntamente com a aceleração da oxidação dos mesmos.

Os valores de antocianinas não variaram em relação ao tratamento ou ao tempo, tendo média geral de 13,47 mg de antocianina/100g de morangos ( $p > 0,05$ ). Este fato indica preservação do conteúdo destes compostos nas amostras submetidas a estes tratamentos. A concentração de antocianinas nas frutas é mais alta durante a fase de amadurecimento, quando a taxa de biossíntese é acelerada devido a ação do etileno, o que desencadeia a ativação de muitas enzimas envolvidas na biossíntese de antocianinas e declinando no final do estágio de maturação (LEONG; OEY, 2012). As condições de armazenamento e os tratamentos aplicados possivelmente interferiram no processo de amadurecimento e conseqüentemente no aumento destes compostos. Segundo Zhu e outros (2017), a degradação das antocianinas aumenta com o incremento de temperatura. Porém, como tempo de aplicação dos tratamentos com ultrassom foi de 5 minutos, possivelmente não houve condições para degradação destes compostos. Estudo com suco de amora indicou que após o tratamento com ultrassom, as antocianinas

apresentaram alto grau de estabilidade à sonicação (TIWARI et al., 2009). Antocianinas mostram melhor estabilidade perante condições ácidas, calor, umidade, luz, oxigênio, enzimas, igualmente na presença de ácido ascórbico, açúcares, dióxido de enxofre ou sais sulfito, íons e metal (HERNÁNDEZ-HERRERO; FRUTOS, 2014).

Devido ao fato do ultrassom e os sanitizantes atingirem as regiões mais superficiais do morango, o conteúdo interno de antocianinas do morango pode ter sido preservado. Além disso, a adoção de temperatura de refrigeração ao longo dos dias de armazenamento, provavelmente também atuou como fator protetor do conteúdo de compostos bioativos.

Foi verificada a correlação existente entre os parâmetros físico-químicos estudados, por meio do Coeficiente de Correlação de Pearson (Tabela 2).

Tabela 2 – Coeficiente de correlação entre os parâmetros físico-químicos de morangos submetido a diferentes procedimentos de sanitização.

	<b>pH</b>	<b>Acidez Total Titulável (ATT)</b>	<b>Sólidos Solúveis Totais (SST)</b>	<b>SST/ATT</b>	<b>Vitamina C</b>	<b>Antocianinas</b>
<b>pH</b>		-0,8335*	0,2992*	-0,7184*	0,14832	0,3901*
<b>ATT</b>			-0,2588*	0,7670*	-0,1665	-0,4835*
<b>SST</b>				-0,1115	-0,1378	0,4153*
<b>SST/ATT</b>					-0,2292*	-0,4226*
<b>Vitamina C</b>						0,1792
<b>Antocianinas</b>						

\*Significativo a 5 % de probabilidade.

Observa-se a correlação significativa e negativa ( $p < 0,05$ ) entre o pH e a acidez total titulável. O mesmo foi observado para pH e a relação de acidez com sólidos solúveis, visto que o pH é alterado de acordo com a concentração de ácidos e bases.

Nota-se que o pH e os sólidos solúveis totais obtiveram uma correlação significativa e positiva ( $p < 0,05$ ). Quando no processo de senescência do morango ocorre diminuição da acidez, conseqüentemente há elevação do valor de pH, e a sacarose é hidrolisada em frutose e glicose o que contribui para o aumento dos sólidos solúveis totais (LIU et al., 2015; PADMANABHAN et al., 2016).

De acordo com a análise de correlação, o pH é diretamente proporcional as antocianinas. Durante a senescência do fruto a hidrólise da ligação glicosídica, catalisada por enzimas ou ácidos, reduz severamente a estabilidade dos pigmentos e pode finalmente resultar em degradação de antocianinas (WEBER; LARSEN, 2017).

A correlação entre sólidos solúveis totais e quantificação das antocianinas foi significativa e positiva. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que durante senescência do fruto houve produção de antocianinas juntamente com a produção de açúcares proveniente da degradação da sacarose.

A relação de acidez com sólidos solúveis totais mostrou-se inversamente proporcional a vitamina C. O ácido ascórbico demanda um ambiente ácido para beneficiar a estabilidade, desta forma, o aumento de sólidos solúveis totais e a diminuição da acidez (relação acidez e sólido solúvel alta) podem levar a efeitos danosos no conteúdo de vitamina C, pois a acidez provoca o aumento da atividade da peroxidase e a oxidação da vitamina C (PINTÓ et al., 2001; ODRIOZOLA-SERRANO et al., 2010).

A perda de massa não foi afetada significativamente pelos tratamentos aplicados ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3). A perda de peso da fruta está ligada principalmente à respiração e evaporação da umidade através da pele. A taxa na qual a água é perdida depende do gradiente de pressão da água entre o tecido da fruta e a atmosfera circundante, e a temperatura de armazenamento (HERNANDEZ-MUÑOZ et al., 2008).

Tabela 3 – Valores de perda de massa (%) de amostras de morangos submetidos a diferentes tratamentos de sanitização e armazenados durante 9 dias a  $6 \pm 1$  °C.

TRATAMENTO	Perda de massa* (%)
Sem Sanitizar	0,62 ± 0,23
Hipoclorito de sódio 1 mL/L	0,40 ± 0,22
Ácido Acético 10 mL/L	0,36 ± 0,36
Ácido Peracético 2 mL/L	0,42 ± 0,15
Ultrassom 40 kHz	0,42 ± 0,10
Ultrassom 40 kHz + Ácido Acético 10 mL/L	0,63 ± 0,49
Ultrassom 40 kHz + Ácido Peracético 2 mL/L	0,60 ± 0,27

\*Tratamentos não se diferenciam significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo teste de comparação de médias Tukey.

Rosário e outros (2016) observaram que morangos tratados com ultrassom combinado ao ácido peracético e o não sanitizado obtiveram perdas de massa iguais a 10,96 % e 10,38 %, respectivamente.

Recomenda-se o armazenamento de frutas e hortaliças em condições ambientais de temperatura e umidade controladas (CHITARRA, CHITARRA, 2005). Quando ocorre perda de água em excesso pelo tecido vegetal, devido a transpiração, pode ocorrer maior perda de massa, o que leva ao decréscimo em conteúdo nutricionais, modificação da firmeza da polpa e aroma (TSANIKLIDIS et. al., 2016).

## 5.2 Efeito dos tratamentos de sanitização na microbiota natural contaminante

Na Tabela 4 está apresentado o resumo da Análise de Variância (ANOVA) para as contagens dos diferentes grupos de micro-organismos analisados. Não houve interação significativa entre os tempos de armazenamento e os tratamentos para mesófilos aeróbios, coliformes a 35°C e fungos filamentosos e leveduras (Tabela 4).

Após a análise de dados das contagens de mesófilos aeróbios e coliformes a 35 °C foi possível verificar que não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos de sanitização aplicados.

Tabela 4 - Resumo da Análise de Variância (ANOVA) da contagem de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras e coliformes a 35 °C em morangos durante o armazenamento de 9 dias a 6 ± 1 °C.

Variável	Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Valor p
Mesófilos aeróbios	Tratamento	6	2,24 <sup>n.s.</sup>	0,6232
	Tempo	3	0,55 <sup>*</sup>	0,0288
	Interação	18	0,11 <sup>n.s.</sup>	0,7144
Coliformes a 35 °C	Tratamento	6	1,70 <sup>n.s.</sup>	0,1573
	Tempo	3	1,45 <sup>n.s.</sup>	0,2505
	Interação	18	0,38 <sup>n.s.</sup>	0,9817
Fungos filamentosos e leveduras	Tratamento	6	7,51 <sup>*</sup>	0,0089
	Tempo	3	5,75 <sup>*</sup>	0,0049
	Interação	18	0,29 <sup>n.s.</sup>	0,8952

\* Valor de p significativo ( $p \leq 0,05$ ). n.s. Valor de p não significativo ( $p \geq 0,05$ ).

A contagem inicial de mesófilos aeróbios para amostras de morango sem sanitizar foi igual a 6,40 Log UFC/g (Tabela 5). Após aplicação dos tratamentos de sanitização dos morangos, a contagem de mesófilos aeróbios foi reduzida entre 1,09 a 2,48 log de UFC/g em relação à contagem nos morangos não sanitizados.

Tabela 5 – Contagem média de mesófilos aeróbios em log de UFC/g em morangos sem sanitizar e submetidos a diferentes procedimentos de sanitização e armazenados durante 9 dias a 6 ± 1 °C.

TRATAMENTO	Log UFC/g	Redução Log UFC/g
Sem Sanitizar	6,40 ± 0,50	
Hipoclorito de sódio 1 mL/L	5,31 ± 0,74	1,09
Ácido Acético 10 mL/L	5,18 ± 0,79	1,22
Ácido Peracético 2 mL/L	4,86 ± 0,82	1,54
Ultrassom 40 kHz	5,34 ± 0,66	1,06
Ultrassom 40 kHz + Ácido Acético 10 mL/L	4,36 ± 0,84	2,04
Ultrassom 40 kHz + Ácido Peracético 2 mL/L	3,92 ± 0,81	2,48

Em estudo realizado por São José e Vanetti (2015) com morangos foi feito a sanitização com ultrassom em combinação com ácido peracético 40 mg/L durante 10 min e observou-se redução de 4,1 log UFC/g no número de bactérias mesófilas

aeróbias. Os mesmos autores ao utilizarem somente ultrassom (45 kHz) em morangos por 10 minutos registraram redução de 1,2 log de UFC/g na contagem do mesmo grupo microbiano. Ao analisar os dados dos resultados em comparação aos deste estudo, pode-se dizer que o uso de maior concentração do ácido peracético e maior tempo de sanitização podem ter favorecido a maior redução de mesófilos aeróbios nos morangos.

De acordo com a análise de variância, o tempo interferiu significativamente na contagem de mesófilos aeróbios porém não foi possível ajustar modelos linear e quadrático para entender o comportamento da variável. Desta forma, foi elaborado um gráfico para verificação da contagem de mesófilos aeróbios ao longo dos dias de armazenagem (Figura 8).

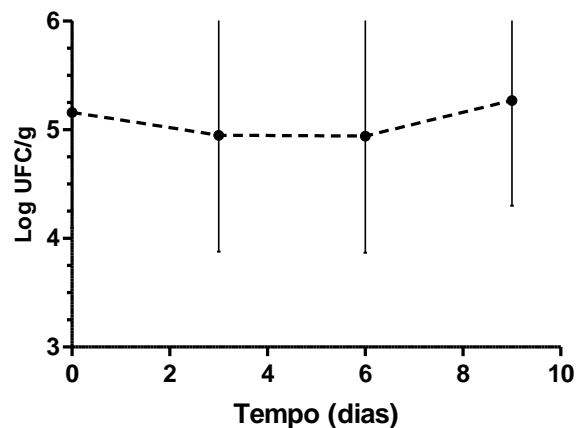


Figura 8 – Variação média geral da contagem de mesófilos aeróbios em Log de UFC/g avaliados em morangos de cada tratamento durante 10 dias de armazenagem.

A média geral inicial foi de 5,16 log de UFC/g, com redução até o 3º dia, fato este que pode estar relacionado ao pH reduzido nas amostras tratadas com os ácidos orgânicos, mantendo-se até o 6º dia e alcançando 5,27 log de UFC/g no 9º dia. Sabe-se que alguns mesófilos crescem em valores de pH baixos e contribuem para a produção de substâncias ácidas (ácido láctico, ácido acético e outros) e desenvolvimento de sabores desagradáveis (HÚNGARO et al., 2014; GRAÇA et al., 2017).

Em relação à contagem de coliformes a 35°C, não houveram diferenças significativas entre os tratamentos, tempo e interação, sendo que após os tratamentos de sanitização foram obtidas reduções entre 0,89 a 1,45 log de UFC/g.

De acordo com a técnica utilizada, não foi detectado crescimento de *E. coli*.

Tabela 6 – Contagem média de coliformes a 35 C° em log de UFC/g em morangos sem sanitizar e submetidos a diferentes procedimentos de sanitização e armazenados durante 9 dias a 6 ± 1 °C.

<b>TRATAMENTO</b>	<b>Log UFC/g</b>	<b>Redução Log UFC/g</b>
Sem Sanitizar	4,30 ± 0,75	
Hipoclorito de sódio 1 mL/L	3,27 ± 0,92	1,03
Ácido Acético 10 mL/L	3,03 ± 0,64	1,27
Ácido Peracético 2 mL/L	2,99 ± 0,73	1,31
Ultrassom 40 kHz	3,41 ± 0,69	0,89
Ultrassom 40 kHz + Ácido Acético 10 mL/L	2,98 ± 0,72	1,32
Ultrassom 40 kHz + Ácido Peracético 2 mL/L	2,85 ± 0,57	1,45

Foi observado que o tempo não interferiu significativamente nas contagens coliformes (Tabela 4), o que indica que não houve alteração significativa desde a sanitização até o último dia de armazenamento a 6 ± 1 °C. Para fungos filamentosos e leveduras, observou-se que houve diferença significativa em relação ao tratamento e ao tempo ( $p < 0,05$ ). Desta forma, estas variáveis foram estudadas separadamente. Observou-se que não houve interação significativa entre os tempos de armazenamento e os tratamentos aplicados ( $p > 0,05$ ).

Para estudar os efeitos dos tratamentos aplicados foi realizado teste de comparação de médias e observou-se que após os tratamentos de sanitização obtiveram-se reduções entre 0,76 e 1,99 log de UFC/g (Tabela 7). Os tratamentos com ultrassom em combinação com ácido peracético e ácido acético permitiram maior redução decimal de fungos filamentosos e leveduras ( $p < 0,05$ ).

Não houve diferença significativa entre o tratamento com hipoclorito de sódio e o ultrassom ( $p < 0,05$ ). Os tratamentos combinados de ultrassom com ácido acético e peracético apresentaram diferença significativa em comparação com o hipoclorito de sódio, o que indica que estes sanitizantes propostos têm maior eficiência no controle deste grupo microbiano do que o tratamento convencional. Porém, entre o tratamento de ultrassom com ácido acético e o tratamento do ultrassom com ácido peracético não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Rosário e outros (2017) ao avaliarem o ultrassom (40 kHz e 500 W) em combinação com sanitizantes ácido acético e ácido peracético observaram maior redução decimal com o tratamento do ultrassom em combinação com o ácido peracético 40 mg/L em morangos.



Tabela 7 – Contagem de fungos filamentosos e leveduras em log de UFC/g em morangos sem sanitizar e submetidos a diferentes procedimentos de sanitização e armazenados durante 9 dias a  $6 \pm 1$  °C.

<b>TRATAMENTO</b>	<b>Log UFC/g</b>	<b>Redução Log UFC/g</b>
Sem Sanitizar	5,07 ± 0,52a	
Hipoclorito de sódio 1 mL/L	4,20 ± 0,60b	0,87
Ácido Acético 10 mL/L	3,97 ± 0,66b	1,10
Ácido Peracético 2 mL/L	3,89 ± 0,60b	1,18
Ultrassom 40 kHz	4,31 ± 0,49b	0,76
Ultrassom 40 kHz + Ácido Acético 10 mL/L	3,34 ± 0,65c	1,73
Ultrassom 40 kHz + Ácido Peracético 2 mL/L	3,08 ± 0,63c	1,99

Tratamentos seguidos pela mesma letra não se diferenciam significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo teste de comparação de médias Duncan.

São José e Vanetti (2015) observaram redução superior ao do presente trabalho, alcançando valor de aproximadamente 4 log UFC/g na redução da contagem de fungos e leveduras. Entretanto, estes autores aplicaram uma concentração e tempo de sanitização superior à utilizada no presente estudo, fato que pode ter contribuído para maior inativação microbiana.

Cao e outros (2010) ao estudarem o efeito da aplicação do ultrassom a 0, 25, 28, 40 e 59 kHz em morangos, observaram que ao usar a frequência de 40 kHz a contagem de fungos filamentosos e leveduras obteve diminuição durante 8 dias de armazenamento.

Foi observado que o tempo de armazenamento interferiu significativamente na contagem de fungos filamentosos e leveduras. Porém, como não foi possível ajustar uma equação linear ou quadrática para verificar a contagem de fungos filamentosos e leveduras em função do tempo, os valores médios e desvio padrão foram plotados em um gráfico (Figura 9).

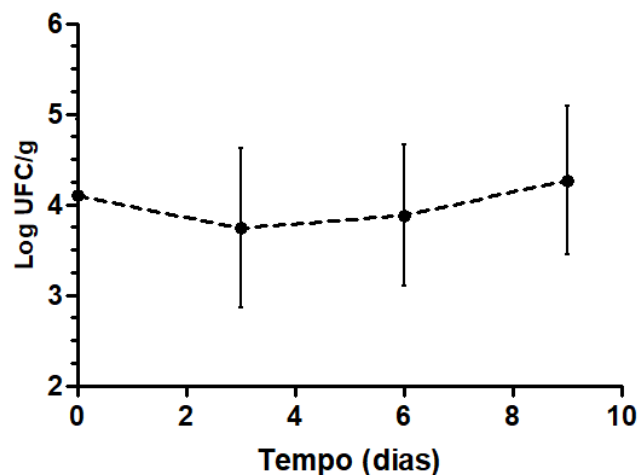


Figura 9 – Variação média geral da contagem de fungos filamentosos e leveduras em Log de UFC/g avaliados em morangos de cada tratamento durante 10 dias de armazenamento.

Entre o 1º dia e o 3º observa-se uma redução da contagem de fungos filamentosos e leveduras. Este resultado nos primeiros dias está associado a aplicação dos tratamentos de sanitização. Ao final dos dias de armazenamento verificou-se aumento nas contagens do grupo microbiano estudado, fato este que pode estar relacionado as alterações dos valores de pH nos morangos ao longo do armazenamento. Sabe-se que os fungos filamentosos e leveduras são capazes de tolerar escalas de pH mais reduzidas do que bactérias e estão associados com a deterioração de alimentos acidificados e produtos fabricados com frutas ácidas (HÚNGARO et al., 2014). A sobrevivência dos esporos aos tratamentos pode ter sido também a outra causa do crescimento dos fungos e leveduras (BERNARDI et al., 2018).

### 5.3 Efeito dos tratamentos sobre *Escherichia coli* ATCC 11229 aderidas em superfície de morangos

A contagem inicial de células de *E. coli* em amostras de morangos foi  $5,4 \pm 0,5$  log UFC/g, o que indica que esta bactéria tem capacidade de aderir a superfície do alimento.

As bactérias aderem somente a substratos complementares, podendo ser por interações iônicas, por pontes de hidrogênio, e por complexos de coordenação envolvendo íons metálicos multivalentes. Normalmente, a adesão é estereoespecífica, em que uma bactéria se unirá a um substrato exclusivamente se

este possuir um certo modelo de receptor, sendo essa interação dependente do arranjo espacial e da acessibilidade da adesina e seus receptores no substrato (OFEK; DOYLE, 1994). As fímbrias finas agregativas (estruturas que sustentam adesinas) são responsáveis pela ligação da bactéria as proteínas da matriz extracelular eucariótica das células vegetais e promovem a formação de biofilmes de *E. coli* em superfícies estáticas (GULLIAN-KLANIAN; SÁNCHEZ-SOLIS, 2018) a formação de biofilmes aumenta a probabilidade de sobrevivência de *E. coli* e, portanto, facilita sua proteção contra condições ambientais (TORRES et al., 2005), como por exemplo ação dos sanitizantes.

Após a realização dos tratamentos de sanitização, a contagem foi reduzida e obteve valores que variaram de 0,99 a 2,21 log UFC/g em relação à contagem de amostras não sanitizadas (Tabela 8).

Todos os tratamentos avaliados promoveram redução significativa da contagem de *E. coli* ( $p < 0,05$ ). Os tratamentos com ácido peracético, ácido acético, hipoclorito de sódio, ultrassom e ultrassom combinado ao ácido acético promoveram reduções estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ). Este resultado indica que os tratamentos são equivalentes. Assim, os tratamentos com ácido peracético, ácido acético, ultrassom e ultrassom combinado ao ácido acético podem substituir o tratamento com hipoclorito de sódio para inativação de células de *E. coli*.

Tabela 8 – Contagem de *Escherichia coli* ATCC 11229 em log de UFC/g aderidas em superfície de morangos sem sanitizar e submetidos a diferentes procedimentos de sanitização e redução comparada aos morangos sem sanitização.

TRATAMENTO	Log UFC/g	Redução Log UFC/g
Sem Sanitizar	5,38 ± 0,56a	
Hipoclorito de sódio 1 mL/L	4,39 ± 0,29b	0,99
Ácido Acético 10 mL/L	4,12 ± 0,42b	1,26
Ácido Peracético 2 mL/L	4,30 ± 0,49b	1,08
Ultrassom 40 kHz	4,34 ± 0,17b	1,04
Ultrassom 40 kHz + Ácido Acético 10 mL/L	3,92 ± 0,58bc	1,46
Ultrassom 40 kHz + Ácido Peracético 2 mL/L	3,17 ± 0,41c	2,21

O tratamento com ultrassom combinado ao ácido peracético promoveu maior redução na contagem de *E. coli* aderidas a superfície dos morangos ( $p < 0,05$ ), sendo

estatisticamente superior aos demais tratamentos. O tratamento com ácido peracético sozinho e combinado com ultrassom foram os que mais apresentaram diminuição do pH nos primeiros dias de tratamento, e isto pode ter influenciado na maior redução de *E. coli* (HAUTE et al., 2015).

Um estudo analisou a eficácia de solução de 1% de ácido acético na redução de um composto de sete cepas de *E. coli* O157: H7 em morangos artificialmente inoculados durante dois minutos e verificaram que houve redução de 1,15 Log UFC/g, mostrando que o resultado foi bem próximo ao tratamento realizado neste estudo (GURTLER et al., 2014). Rosário e outros (2017) estudaram o efeito do ultrassom (40 kHz) combinado com ácido peracético (40 mg/L) na sanitização de morangos e obteve a redução decimal de 2,1 log de UFC/g de *Salmonella enterica subsp. entérica*. Este resultado pode ser comparado a resultados com *E. coli*, já que ambos são enterobacterias.

Em estudo no qual tomates cereja foram tratados com ultrassom (45 kHz) por 10 min na presença de 40 mg/L de ácido peracético verificou-se redução igual a 3,88 log UFC/g de *Salmonella* intencionalmente inoculada (SÃO JOSÉ; VANETTI, 2012). Este resultado foi superior ao obtido com a aplicação isolada de ácido peracético (40 mg/L) e o tratamento somente com o ultrassom, que foram de 2,73 e 0,83 log UFC/g, respectivamente (SÃO JOSÉ; VANETTI, 2012).

Folhas frescas de espinafre foram sanitizadas com um pulverizador contendo ácido peracético (2mL/L) por 15 segundos e obteve redução de *E. coli* O157: H7 em 1,1 log CFU/g (NEAL et al., 2012), em comparação ao presente estudo, o tempo de exposição ao ácido peracético foi maior, portanto houve maior redução de *E. coli*.

### 5.3.1 Microscopia Eletrônica de varredura

Ao analisar as Figuras 10 e 11 pode-se observar a superfície do morango e fixação de *E. coli* no aquênio, na camada epidérmica e nos estômatos. Como é possível verificar na Figura 10A, a estrutura do morango é rugosa e este fato pode favorecer a adesão bacteriana. A rugosidade é um dos fatores relacionados à adesão de uma célula microbiana a uma superfície sólida (KATSIKOIANNI; MISSIRLIS, 2004). O aumento no valor de rugosidade média de uma superfície pode favorecer a maior retenção de micro-organismos (LIMA et al., 2013). O processo de adesão pode dificultar a ação dos sanitizantes aplicados.

*E. coli*, quando migra para uma superfície, é capaz de interagir com outros micro-organismos da superfície, formando biofilmes. Esta é uma das estratégias utilizadas para bactéria suportar estresses ambientais (CASTONGUAY et al., 2006; CHEN et al., 2015; GOMES et al., 2017).

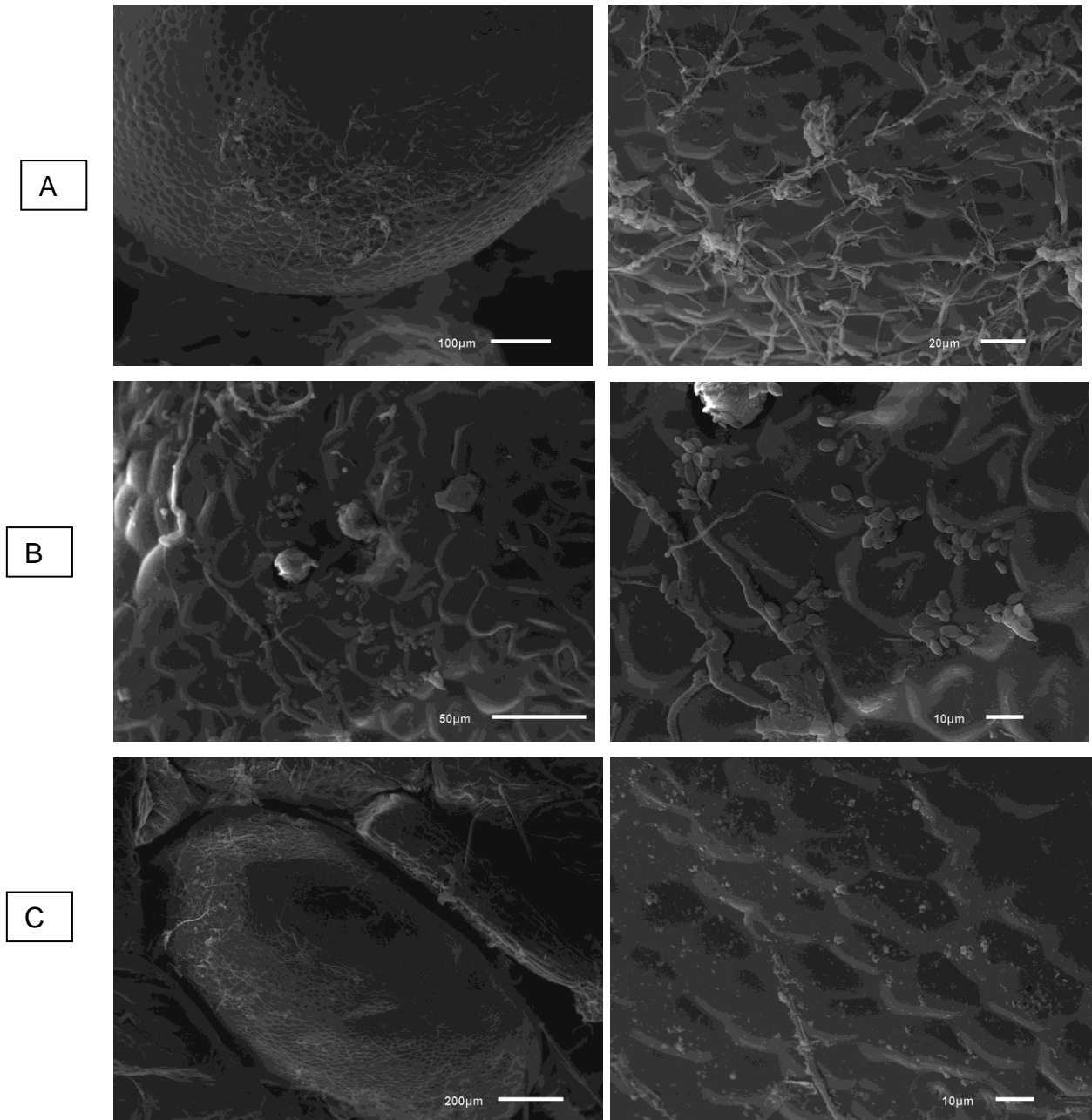


Figura 10 - Fotomicrografias de cortes de morango intencionalmente contaminada com células de *E. coli* ATCC 11229 e observadas por microscopia eletrônica de varredura. A- Sem Sanitizar, B- Hipoclorito de sódio, C- Ultrassom 40 kHz.

Na Figura 10B é possível observar a presença de células íntegras de *E. coli*. Já na Figura 10C, as células apresentaram-se fragmentados, o que pode indicar o

dano causado pelo tratamento com ultrassom, devido ao colapso irregular de bolhas de cavitação, o que ocasionou uma erosão nas paredes das células, resultando na inativação dos micro-organismos (CHANDRAPALA et al., 2012).

Na Figura 11A, observa-se a presença de células de *E. coli* com alteração de morfologia, fato este que pode estar relacionado ao tratamento aplicado com ácido acético. Este ácido tem característica lipofílica, sendo capaz de atravessar a membrana citoplasmática, desestabilizar o pH intracelular do micro-organismo e provocar a desintegração da célula (CARPENTER; BROADBENT, 2009; HIRSHFIELD et al., 2003).

Na Figura 11B, as células microbianas apresentam desintegradas e com alteração em sua morfologia. A acidificação utilizada para controlar o crescimento de micro-organismos pode levar a alterações na morfologia da célula bacteriana (JONES et al., 2013).

Na Figura 11C nota-se que bactérias *E. coli* desfragmentadas por decorrência do tratamento com ácido acético e ultrassom. Nos tratamentos com ácido peracético e este combinado ao ultrassom (Figuras 11C e 11D) pode-se observar reduzido número de micro-organismos na superfície do morango, alteração da morfologia e fragmentos de células de *E. coli*. O ácido peracético libera oxigênio ativo, é um composto de baixo teor molecular, sendo assim, pode atravessar a membrana bacteriana e reagir com componentes celulares internos e ocasionar danos nas estruturas celulares e liberação de componentes intracelulares (BARBOSA et al., 2016).

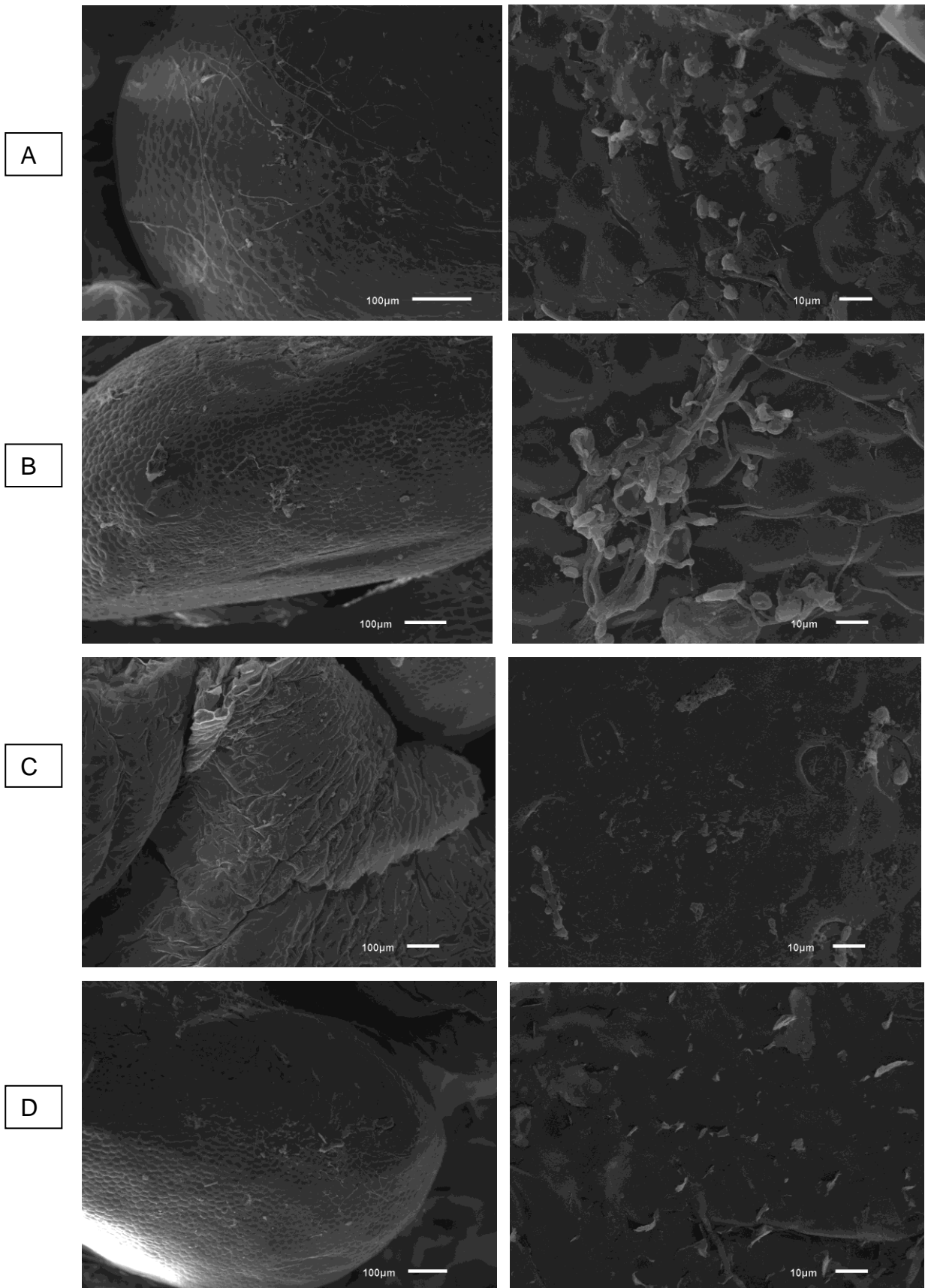


Figura 11 - Fotomicrografias de cortes de morango intencionalmente contaminada com células de *E. coli* ATCC 11229 submetidos a diferentes tratamentos de sanitização por 5 min e observadas por microscopia eletrônica de varredura. A- Ácido Acético, B- Ultrassom 40 kHz + Ácido Acético 1%, C- Ácido Peracético 20 mg/L, D- Ultrassom 40 kHz + Ácido Peracético 20 mg/L.

## 6 CONCLUSÃO

Os tratamentos de sanitização aplicados preservaram as características físico-químicas dos morangos. Sendo observado apenas que o tempo de armazenamento interferiu significativamente nos valores de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais e relação sólidos solúveis totais e acidez total titulável.

A associação do tratamento com ultrassom ao ácido peracético e ao ácido acético promoveram maior eficiência na inativação de fungos filamentosos e leveduras e em células de *Escherichia coli* intencionalmente inoculadas na superfície de morangos. Para estes mesmos micro-organismos, os demais tratamentos de sanitização avaliados no presente trabalho promoveram reduções significativamente iguais ao tratamento com hipoclorito de sódio. Isto indica que os sanitizantes propostos, com destaque para os tratamentos combinados, têm potencial para substituição do composto clorado comumente utilizado na sanitização.



## 7 REFERÊNCIAS

AABY, K.; MAZUR, S.; NES, A.; SKREDE, G. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, v.132, p. 86–97, 2012.

ADAY, M. S.; CANER, C. Individual and combined effects of ultrasound, ozone and chlorine dioxide on strawberry storage life. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 344-351, 2014.

AHMED, S.; ZAMAN, S.; AHMED, R.; UDDIN, N.; JUNIOR, A. A.; BARI, L. Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the safety and quality of fresh betel leaf. **Food Science and Technology**, v.78, p. 77-81, 2017.

AKHATOU, I.; RECAMALES, A. F. Influence of cultivar and culture system on nutritional and organoleptic quality of strawberry. **The Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, p. 866–875, 2014.

ALARCON-ROJO, A.D.; JANACUA, H.; RODRIGUEZ, J.C.; PANIWNKY, L.; MASON, T.J. Power ultrasound in meat processing. **Meat Science**, v. 107, p. 86-93, 2015.

ALHAGDOW, M.; MOUNET, F.; GILBERT, L.; NUNES-NESE, A.; GARCIA, V.; JUST, D.; PETIT, J.; BEAUVOIT, B.; FERNIE, A. R.; ROTHAN, C.; BALDET, P. Silencing of the Mitochondrial Ascorbate Synthesizing Enzyme L-Galactono-1,4-Lactone Dehydrogenase Affects Plant and Fruit Development in Tomato. **Plant Physiology**, v. 145, p. 1408–1422, 2007.

ALLENDE, A.; SELMA, M. V.; ÁLVEZ, F. L. G.; VILLAESCUSA, R.; GIL, M. I. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic micro-organisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, p. 155–163, 2008.

AL-ROUSAN, W. M.; OLAIMAT, A. N.; OSAILI, T. M.; AL-NABULSI, A. A.; AJO, R. Y.; HOLLEY, R. A. Use of acetic and citric acids to inhibit *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in tabbouleh salad. **Food Microbiology**, v. 73, p. 61-66, 2018.

ALVARO, J. E.; MORENO, S.; DIANEZ, F.; SANTOS, M.; CARRASCO, G.; URRESTARAZU, M. Effects of peracetic acid disinfectant on the postharvest of some fresh vegetables. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 11–15, 2009.

AMRUTHA, B.; SUNDAR, K.; SHETTY, P. H. Effect of organic acids on biofilm formation and quorum signaling of pathogens from fresh fruits and vegetables. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, p. 156-162, 2017.

AREND, G. D.; ADORNO, W. T.; REZZADORI, K.; LUCCIO, M. Di.; CHAVES, V. C.; REGINATTO, F. H.; REGINATTO, J. C. C. Concentration of phenolic compounds

from strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) juice by nanofiltration membrane. **Journal of Food Engineering**, v.201, p. 36-41, 2017.

BARBOSA, J.; CUPPINI, M.; FLACH, J.; STEFFENS, C.; CANSIAN, R. L.; TONIAZZO, G. Removal of *Escherichia coli* in boning knives with different sanitizers. **LWT - Food Science and Technology**, v.71, p. 309-315, 2016.

BARKAI-GOLAN, R. Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables. **Development and control**. Elsevier Science: Amsterdam, Netherlands. p. 25-32. 2001.

BARTZ, J. A.; YUK, H. G.; MAHOVIC, M. J.; WARREN, B. R.; SREEDHARAN, A.; SCHNEIDER, K. R. Internalization of *Salmonella enterica* by tomato fruit. **Food Control**, v.55, p. 141-150, 2015.

BASTARRACHEA, L. J.; WALSH, M.; WRENN, S. P.; TIKEKAR, R. V. Enhanced antimicrobial effect of ultrasound by the food colorant Erythrosin B. **Food Research International**, v. 100, p. 344–351, 2017.

BERNARDI, A. O.; STEFANELLO, A.; GARCIA, M. V.; PARUSSOLO, G.; STEFANELLO, R. F.; MORO, C. B.; COPETTI, M. V. Efficacy of commercial sanitizers against fungi of concern in the food industry, **LWT - Food Science and Technology**, v. 97, p. 25-30, 2018.

BERGER, C. N. SODHA, S. V.; SHAW, R. K.; GRIFFIN, P. M.; PINK, D.; HAND, P.; FRANKEL, G. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. **Environmental Microbiology**, p. 2385–2397, 2010.

BILEK, S. E.; TURANTAŞ, F. Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry, a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 155–162, 2013.

BIRMPA, A.; SFIKA, V.; VANTARAKIS, A. Ultraviolet light and Ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of micro-organisms in fresh ready-to-eat foods. **International Journal of Food Microbiology**, v.167, p. 96–102, 2013.

BOREA, L.; NADDEO, V.; SHALABY, M. S.; ZARRA, T.; BELGIORNO, V.; ABDALLA, H.; SHABAN, A. M. Wastewater treatment by membrane ultrafiltration enhanced with ultrasound: Effect of membrane flux and ultrasonic frequency. **Ultrasonics**, v. 83, p. 42-47, 2018.

BOXSTAEL, S. V. HABIB, I.; JACXSENS, L.; VOCHT, M. de.; BAERT, L.; PERRE, E. V. de.; RAJKOVIC, A.; GALVEZ, F. L.; SAMPERS, I.; SPANOGHE, P.; MEULENAER, B. de.; UYTENDAELE, M. Food safety issues in fresh produce: Bacterial pathogens, viruses and pesticide residues indicated as major concerns by stakeholders in the fresh produce chain. **Food Control**, v. 32, p. 190-197, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde – MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução nº 273, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 set. 2005. Seção 1, p. 375-376, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde – MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Resolução de diretoria colegiada - rdc nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde – MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Aprovação do uso do ÁCIDO PERACÉTICO como coadjuvante de tecnologia na função de agente de controle de microrganismos na lavagem de ovos, carcaças e ou partes de animais de açougue, peixes e crustáceos e hortifrutícolas em quantidade suficiente para obter o efeito desejado, sem deixar resíduos no produto final. Resolução RDC nº 2, de 08 de janeiro de 2004. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, 09 jan. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde - MS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2016. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2017.

BUCHWEITZ, M.; SPETH, M.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R. Stabilisation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) anthocyanins by different pectins. **Food Chemistry**, v.141, p. 2998–3006, 2013.

BURIN, R. C. K.; JÚNIOR, A. S.; NERO, L. A. Influence of lactic acid and acetic acid on *Salmonella spp.* growth and expression of acid tolerance-related genes. **Food Research International**, v.64, p. 726–732, 2014.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B.; Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, v.35, p. 279–284, 2002.

CALLON, C.; NDOB, A. I. M.; SAVIGNARD, A.; RIFA, E.; MONTEL, M. C. *Escherichia coli* O26:H11 growth in co-culture with an antagonistic strain of *Hafnia alvei* according to pH and temperature. **Food Control**, v.62, p. 117–124, 2016.

CAO, S.; HU, Z.; PANG, B.; WANG, H.; XIE, H.; WU, F. Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. **Food Control**, v. 21, p. 529–532, 2010.

CAPOZZI, V.; FIOCCO, D.; AMODIO, M. L.; GALLONE, A.; SPANO, G. Bacterial stressors in minimally processed food. **International Journal of Molecular Sciences**, v.10, p. 3076–3105, 2009.

CARADONNA, T.; MARANGI, M.; CHIERICO, F. D.; FERRARI, N.; REDDEL, S.; BRACAGLIA, G.; NORMANNO, G.; PUTIGNANI, L.; GIANGASPERO, A. Detection and prevalence of protozoan parasites in ready-to-eat packaged salads on sale in Italy. **Food Microbiology**, v. 67, p. 67-75, 2017.

CARETTI, C.; LUBELLO, C. Wastewater disinfection with PAA and UV combined treatment: a pilot plant study. **Water Research**, v. 37, p. 2365–2371, 2003.

CARPENTER, C. E.; BROADBENT, J. R. External concentration of organic acid anions and pH: Key independent variables for studying how organic acids inhibit growth of bacteria in mildly acidic foods. **Journal of Food Science**, v.74, n.1, p. 12–15, 2009.

CASTONGUAY, M.; SCHAAF, S. V. D.; KOESTER, W.; KROONEMAN, J.; MEER, W. V. D.; HARMSSEN, H.; LANDINI, P. Biofilm formation by *Escherichia coli* is stimulated by synergistic interactions and co-adhesion mechanisms with adherence-proficient bacteria. **Research in Microbiology**, v. 157, p. 471–478, 2006.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. *E.coli (Escherichia)*. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED)**. Atlanta, 2015. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html#what-are-shiga-toxin>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado (FINAL UPDATE). National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED)**. Atlanta, 2012. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index.html>>. Acesso em: 21 mar. 2018.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Multistate Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O121 Infections Linked to Raw Clover Sprouts (Final Update). National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED)**. Atlanta, 2014. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/2014/o121-05-14/index.html>>. Acesso em: 21 mar. 2018.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Multistate Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections Linked to Romaine Lettuce. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED)**. Atlanta, 2018. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/2018/o157h7-04-18/index.html>>. Acesso em: 21 mar. 2018a.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Multistate Outbreak of *Salmonella* Urbana Infections Linked to Imported Maradol Papayas (Final Update). National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED)**. Atlanta, 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/urbana-09-17/index.html>>. Acesso em: 21 mar. 2018.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Multistate Outbreak of *Salmonella* Montevideo Infections Linked to Raw Sprouts (Final Update). National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of**

**Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED).** Atlanta, 2018. Disponível em: < <https://www.cdc.gov/salmonella/montevideo-01-18/index.html>>. Acesso em: 21 mar. 2018b.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Packaged Salads Produced at Springfield, Ohio Dole Processing Facility (Final Update). National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED).** Atlanta, 2016a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/bagged-salads-01-16/index.html>>. Acesso em: 21 mar. 2018.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Multistate Outbreak of *Salmonella* Poona Infections Linked to Imported Cucumbers (Final Update). National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED).** Atlanta, 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/poona-09-15/index.html>>. Acesso em: 21 mar. 2018b.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Multistate Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 Infections Linked to Leafy Greens (Final Update). National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID). **Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED).** Atlanta, 2018. Disponível em: < <https://www.cdc.gov/ecoli/2017/o157h7-12-17/index.html>>. Acesso em: 21 mar. 2018c.

CHANDRAPALA A., J.; OLIVER, C.; KENTISHC, S.; ASHOKKUMARA, M. Ultrasonics in food processing e Food quality assurance and food safety. **Trends in Food Science & Technology**, v.26, p. 88-98, 2012.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; TIXIER, A. S. F.; VIAN, M. A. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. **Ultrason Sonochem**, v.18, p. 813–835, 2011.

CHEN, D.; ZHAO, T.; DOYLE, M. P. Single and mixed-species biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella*, and their sensitivity to levulinic acid plus sodium dodecyl sulfate. **Food Control**, v. 57, p. 48-53, 2015.

CHEN, F.; LIU, H.; YANG, H.; LAI, S.; CHENG, X.; XIN, Y.; YANG, B.; HOU, H.; YAO, Y.; ZHANG, S.; BU, G.; DENG, Y. Quality attributes and cell wall properties of strawberries (*Fragaria annanassa* Duch.) under calcium chloride treatment. **Food Chemistry**, v. 126, p. 450–459, 2011.

CHEN, J. Q.; HEALEY, S.; REGAN, P.; LAKSANALAMAI, P.; HU, Z. PCR-based methodologies for detection and characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria ivanovii* in foods and environmental sources. **Food Science and Human Wellness**, v.6, p. 39–59, 2017.

CHEN, X.; HUNG, Y. C. Effects of organic load, sanitizer pH and initial chlorine concentration of chlorine-based sanitizers on chlorine demand of fresh produce wash Waters. **Food Control**, v.77, p. 96-101, 2017.

CHENG, X.; ZHANG, M.; XU, B.; ADHIKARI, B.; SUN, J. The principles of ultrasound and its application in freezing related processes of food materials: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 576-585, 2015.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: **UFLA**, 2005. 785 p.

CFS – **Comitê do Secretariado da Segurança Alimentar Mundial**. 68 Investing in food safety for equitable and sustainable development. Disponível em: <<http://www.fao.org/cfs/cfs-home/plenary/cfs43/side-events/68/en/>>. Acesso em: 27 ago 2018.

Cominudades Europeias - CE. Regulamento N.º 1441/2007 da Comissão de 5 de dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. **Jornal Oficial da União Europeia**. 2007.

Cominudades Europeias – CE. Regulamento nº 2073/2005 Regulamento Da Comissão de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. **Jornal Oficial da União Europeia**. 2005.

CORTESI, M. L.; PANEBIANCO, A.; GIUFFRIDA, A.; ANASTASIO, A. Innovations in seafood preservation and storage. **Vet Res Commun**, v. 33, p. 15–23, 2009.

COSTA, E. de A.; FIGUEIREDO, E. A. T.; CHAVES, C. de S.; ALMEIDA, P. C.; VASCONCELOS, N. M.; MAGALHÃES, I. M. C.; MORAES, A. F.; PAIXÃO, L. M. N. Avaliação microbiológica de alfices (*Iacuta Sativa* l.) Convencionais e orgânicas e a Eficiência de dois processos de higienização. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 23, n. 3, p. 387-392, 2012.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantification of vitamin C and antioxidant capacity of citrus varieties. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 15-19, 2010.

CRITTENDEN, J. C.; HU, S.; HAND, D. W.; GREEN, S. A. A kinetic model for h<sub>2</sub>o<sub>2</sub>/uv process in a completely mixed batch reactor. **Water Research**, v. 33, n. 10, p. 2315-2328, 1999.

DAVEY, M.W.; DEKEMPENEER, E.; KEULEMANS, J. Rocket-powered high-performance liquid chromatographic analysis of plant ascorbate and glutathione. **Analytical Biochemistry**, v. 316, p. 74–81, 2003.

DAVEY, M. W.; KENIS, K.; KEULEMANS, J. Genetic Control of Fruit Vitamin C Contents. **Plant Physiology**, v. 142, p. 343–351, 2006.

DAVIDSON, G. R.; KAMINSKI-DAVIDSON, C. N. K.; RYSER, E. T. Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 during pilot-scale processing of iceberg lettuce using flume water containing peroxyacetic acid-based sanitizers and various organic loads. **International Journal of Food Microbiology**, v.248, p. 22–31, 2017.

DING, T.; GE, Z.; SHI, J.; XU, Y.; JONES D, C. L.; LIU, D. Impact of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) and ultrasound on microbial loads and quality of fresh fruits. **Food Science and Technology**, v. 60, p. 1195-1199, 2015.

DOLAN, H. L.; BASTARRACHEA, L. J.; TIKEKAR, R. V. Inactivation of *Listeria innocua* by a combined treatment of low-frequency ultrasound and zinc oxide. **LWT - Food Science and Technology**, n. 88 p. 146–151, 2018.

DOLATOWSKI, Z. J.; STADNIK, J.; STASIAK, D. Applications of Ultrasound in Food Technology. **ACTA Scientiarum Polonorum Technol. Aliment**, Lublin, p. 89-99, 2007.

DOORES, S. Organic acids. In: DAVIDSON, P.M.; SOFOS, J.N.; BRANEN, A.L. (Eds.). **Antimicrobials in Food**. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 91-142, 2005.

DOWNES, F.P., ITO, K., 2001. Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods. **American Public Health Association**, v. 4, 2001.

DUARTE, A. L. A.; ROSÁRIO, D. K. A. do; OLIVEIRA, S. B. S.; SOUZA, H. L. S. de; CARVALHO, R. V. de; CARNEIRO, J. C. S.; SILVA, P. I.; BERNARDES, P. C. Ultrasound improves antimicrobial effect of sodium dichloroisocyanurate to reduce *Salmonella Typhimurium* on purple cabbage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 269, p. 12–18, 2018.

DUARTE-MOLINA, F.; GÓMEZ, P. L; CASTRO, M. A.; ALZAMORA, S. M. Storage quality of strawberry fruit treated by pulsed light: Fungal decay, water loss and mechanical properties. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 34, p. 267–274, 2016.

ELHARIRY, H. M. Attachment strength and biofilm forming ability of *Bacillus cereus* on green-leafy vegetables: Cabbage and lettuce. **Food Microbiology**, v.28, p.1266-1274, 2011.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Agência de Informação Tecnológica. **A Cultura do Morango - Coleção Plantar**. 2 ed. Brasília, DF: 2011.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Catálogo Brasileiro de Hortaliças** – Saiba como plantar e aproveitar 50 das espécies mais comercializadas no país. Brasília, DF: 2010.

ESALQ-USP. Normas de Classificação – Morango. **Casa do Produtor Rural**. 2017. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/cprural/informacoes/mostra/232/normas-de-classificacao---morango.html>>. Acesso em: 07 abr. 2018.

European Food Safety Authority – EFSA. Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). Scientific Opinion on the safety and efficacy of acetic acid, sodium diacetate and calcium acetate as preservatives for feed for all animal species. **European Food Safety Authority(EFSA) Jornal**, Parma, Italy,; v.10, n. 2, p. 2571. 2012.

FAJARDO, V.; APERTE, E. A.; MOREIRAS, G. V. Lack of data on folate in convenience foods: Should ready-to-eat products be considered relevant for folate intake? The European challenge. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 28, p. 155–163, 2012.

FAN, Y.; XU, Y.; WANG, D.; ZHANG, L.; SUN, J.; SUN, L.; ZHANG, B. Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria x ananassa*) preservation quality. **Postharvest Biology and Technology**, v.53, p. 84–90, 2009.

FAOUR-KLINGBEIL, D.; KURI, V.; TODD, E. The transfer rate of *Salmonella Typhimurium* from contaminated parsley to other consecutively chopped batches via cutting boards under different food handling scenarios. **Food Research International**, v. 89, p. 495–503, 2016.

FERNANDES, P. E.; JOSÉ, J. F. B. S.; ZERDAS, E. R. M. A.; ANDRADE, N. J.; FERNANDES, C. M.; SILVA, L. D. Influence of the hydrophobicity and surface roughness of mangoes and tomatoes on the adhesion of *Salmonella enterica serovar Typhimurium* and evaluation of cleaning procedures using surfactin. **Food Control**, v. 41, p. 21-26, 2014.

FERRARIO, M.; ALZAMORA, S. M.; GUERRERO, S. Study of the inactivation of spoilage micro-organisms in apple juice by pulsed light and ultrasound. **Food Microbiology**, v.46, p. 635-642, 2015.

GANI, A., BABA, W.N., AHMAD, M., SHAH, U., KHAN, A.A., WANI, I.A., MASOODI, F.A., GANI, A., Effect of ultrasound treatment on physico-chemical, nutraceutical and microbial quality of strawberry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 496-502, 2016.

GARRIGA, M.; MUÑOZ, C. A.; CALIGARI, P. D. S.; RETAMALES, J. B. Effect of salt stress on genotypes of commercial (*Fragaria x ananassa*) and Chilean strawberry (*F. chiloensis*). **Scientia Horticulturae**, v.195, p. 37–47, 2015.

GIL, M. I.; Selma, M. V.; LOPEZ-GALVEZ, F.; ALLENDE, A. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. **International Journal of Food Microbiology**, v.134, p. 37-45, 2009.

GOGATE, P. R.; KABADI, A. M. A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, p. 60–72, 2009.

GOMES, L.C.; PIARD, J. C.; BRIANDET, R.; MERGULHÃO, F. J. Pseudomonas grimontii biofilm protects food contact surfaces from *Escherichia coli* colonization. **Food Science and Technology**, v. 85, p. 309-315, 2017.



GOMEZ-LOPEZ, V. M.; GIL, M. I.; ALLENDE, A.; VANHEE, B.; SELMA, M. V. Water reconditioning by high power ultrasound combined with residual chemical sanitizers to inactivate foodborne pathogens associated with fresh-cut products. **Food Control**, v.53, p. 29-34, 2015.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; LANNOO, A.; GIL, M. I.; ALLENDE, A. Minimum free chlorine residual level required for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and trihalomethane generation during dynamic washing of fresh-cut spinach. **Food Control**, v. 42, p. 132-138, 2014.

GOULAO, L. F.; OLIVEIRA, C. M. Cell wall modification during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. **Trends in Food Science and Technology**, v. 19, p. 4–25, 2008.

GRABALOSA, J.; FERRER, I.; ELÍAS-ZÚÑIGA, A.; CIURANA, J. Influence of processing conditions on manufacturing polyamide parts by ultrasonic molding. **Materials & Design**, v. 98, p. 20-30, 2016.

GRAÇA, A.; ESTEVES, E.; NUNES, C.; ABADIAS, M.; QUINTAS, C. Microbiological quality and safety of minimally processed fruits in the marketplace of southern Portugal. **Food Control**, v. 73, Part B, p. 775-783, 2017.

GUERRERO, S. N.; FERRARIO, M.; SCHENK, M.; CARRILLO, M. G. Chapter 3 - Hurdle Technology Using Ultrasound for Food Preservation. **Ultrasound: Advances for Food Processing and Preservation**, Academic Press, p. 39-99, 2017.

GULLIAN-KLANIAN, M.; SÁNCHEZ-SOLIS, M. J. Growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7 on the epicarp of fresh vegetables and fruits. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, p. 104–111, 2018.

GURTLER, J. B.; BAILEY, R. B.; JIN, T. Z.; FAN, X. Reduction of an *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* composite on fresh strawberries by varying antimicrobial washes and vacuum perfusion. **International Journal of Food Microbiology**, v. 189, p 113–118, 2014.

HARICH, M.; MAHERANI, B.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. Antibacterial activity of cranberry juice concentrate on freshness and sensory quality of ready to eat (RTE) foods. **Food Control**, v.75, p. 134-144, 2017.

HAUTE, S. V.; LÓPEZ-GÁLVEZ, F.; GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; ERIKSSON, M.; DEVLIEGHERE, F.; ALLENDE, A.; SAMPERS, I. Methodology for modeling the disinfection efficiency of fresh-cut leafy vegetables wash water applied on peracetic acid combined with lactic acid. **International Journal of Food Microbiology**, v. 208, p. 102–113, 2015.

HAUTE, S. V.; UYTENDAELE, M.; SAMPERS, I. Organic acid based sanitizers and free chlorine to improve the microbial quality and shelf-life of sugar snaps. **International Journal of Food Microbiology**, v.167, p. 161–169, 2013.

HIRSHFIELD, I. N.; TERZULLI, S.; O'BYRNE, C. Weak organic acids: a panoply of effects on bacteria. **Science Progress**, v. 86, n. 4, p. 245–269, 2003.

HOW, Z. T.; KRISTIANA, I.; Busetti, F.; LINGE, K. L.; JOLL, C. A. Organic chloramines in chlorine-based disinfected water systems: A critical review. **Journal Of Environmental Sciences**, v. 58, p. 2–18, 2017.

HU, K.; RENLY, S.; EDLUND, S.; DAVIS, M.; KAUFMAN, J. A modeling framework to accelerate food-borne outbreak investigations. **Food Control**, v.59, p. 53-58, 2016.

HUANG, K.; NITIN, N. Enhanced removal of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria innocua* from fresh lettuce leaves using surfactants during simulated washing. **Food Control**, v.79, p. 207-217, 2017.

HUANG, Y.; CHEN, H. Effect of organic acids, hydrogen peroxide and mild heat on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 on baby spinach. **Food Control**, v. 22, n. 8, p. 1178-1183, 2011.

HUNG, Y.; WATERS, B. W.; YEMMIREDDY, V. K.; HUANG, C. pH effect on the formation of THM and HAA disinfection byproducts and potential control strategies for food processing. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, n. 12, p. 2914–2923, 2017.

HÚNGARO, H.M.; PEÑA, W.E.L.; SILVA, N.B.M.; CARVALHO, R.V.; ALVARENGA, V.O.; SANT'ANA, A.S. Food Microbiology. Editor(s): Neal K. Van Alfen, **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**, Academic Press, p. 213-231, 2014.

INCAPER. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. **Polos de Fruticultura – Morango**. 2016. Disponível em: <<https://incaper.es.gov.br/fruticultura-morango>>. Acesso em: 4 mai de 2017.

Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JATZWALK, L.; SCHÖNE, H.; PIETSCH, H. How to improve instrument disinfection by ultrasound. **Journal of Hospital Infection**, v. 48, Supplement A, 2001.

JONES, T. H.; VAIL, K. M.; MCMULLEN, L. M. Filament formation by foodborne bacteria under sublethal stress. **International Journal of Food Microbiology**, v. 165, n.2, p. 97-110, 2013.

JOSHI, K.; MAHENDRANA, R.; ALAGUSUNDARAM, K.; NORTON, T.; TIWARI, B. K. Novel disinfectants for fresh produce – Review. **Trends in Food Science & Technology**. V. 34, p. 54-61, 2013.

JUNG, Y.; JANG, H.; GUO, M.; GAO, J.; MATTHEWS, K. R. Sanitizer efficacy in preventing cross-contamination of heads of lettuce during retail crisping. **Food Microbiology**, v. 64, p. 179-185, 2017.

KANG, D.; ZOU, Y.; CHENG, Y.; XING, L.; ZHOU, G.; ZHANG, W. Effects of power ultrasound on oxidation and structure of beef proteins during curing processing, **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 33, p. 47-53, 2016.

KANG, J. W.; KANG, D. H. Enhanced antimicrobial effect of organic acid washing against foodborne pathogens on broccoli by vacuum impregnation. **International Journal of Food Microbiology**, v.217, p. 85-93, 2016.

KEERATIPIBUL, S.; PHEWPAN, A.; LURSINSAP, C. Prediction of coliforms and *Escherichia coli* on tomato fruits and lettuce leaves after sanitizing by using Artificial Neural Networks. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n.1, p. 130-138, 2011.

KHANDPUR, P.; GOGATE, P. R. Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.27, p. 125–136, 2015.

KIM, S. A.; PARK, S. H.; KNUEVEN, C.; BASEL, R.; RICKE, S. C. A decontamination approach using a combination of bisulfate of soda and peracetic acid against *Listeria innocua* inoculated on whole apples. **Food Control**, v. 84, p. 106-110, 2018.

KNOERZER, K. Nonthermal and Innovative Food Processing Technologies. **Reference Module in Food Science**, CSIRO Food and Nutrition, Werribee, VIC, Australia. 2016. 4 p.

KNORR, D.; FROEHLING, A.; JAEGER, H.; REINEKE, K.; SCHLUETER, O.; SCHOESSLER, K. Emerging technologies in food processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, v.2, p. 203-235, 2011.

LEONG, S. Y; OEY, I. Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v.133, p. 1577–1587, 2012.

LIANOU, A.; KOUTSOUMANIS, K. P.; SOFOS, J. N. Organic acids and other chemical treatments for microbial decontamination of food. In A. Demirci, & M. O. Ngadi (Eds.), *Microbial decontamination in the food industry*. **Woodhead Publishing**, p. 592–664, 2012.

LIMA, P. M.; SÃO JOSÉ, J. F.B. de; ANDRADE, N. J.; PIRES, A. C. S.; FERREIRA, S. O. Interaction between natural microbiota and physicochemical characteristics of lettuce surfaces can influence the attachment of *Salmonella Enteritidis*. **Food Control**, v. 30, p. 157-161, 2013.

LIU, S.; QU, H.; YANG, D.; HU, H.; LIU, W.; QIU, Z.; HOU, A.; GUO, J.; LI, J.; SHEN, Z.; JIN, M. Chlorine disinfection increases both intracellular and extracellular

antibiotic resistance genes in a full-scale wastewater treatment plant. **Water Research**, v. 136, p. 131-136, 2018.

LIU, Z.; ZHAO, P.; CUI, L.; FANG, J.; JIA, H. Over-expression of Gene FaASR Promotes Strawberry Fruit Coloring. **Horticultural Plant Journal**, v. 1, n. 3, p. 147–154, 2015.

LOAN, H. N. B.; JACXSENS, L.; KURSHED, A. A. M.; MEULENAER, B. De. 3-Chlorotyrosine formation in ready-to-eat vegetables due to hypochlorite treatment and its dietary exposure and risk assessment. **Food Research International**, v. 90. p. 186–193, 2016.

LUO, Y.; NOU, X.; MILLNER, P.; ZHOU, B. A pilot plant scale evaluation of a new process aid for enhancing chlorine efficacy against pathogen survival and cross-contamination during produce wash. **Int. J. Food Microbiol**, v.158, p. 133–139, 2012.

MANI-LÓPEZ, E.; GARCÍA, H.S.; LÓPEZ-MALO, A. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. **Food Research International**, v. 45, p. 713–721, 2012.

MARTÍN-ESPADA, M. C.; D'ORS, A.; BARTOLOMÉ, M. C.; PEREIRA, M.; SÁNCHEZ-FORTÚN, S. Peracetic acid disinfectant efficacy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms on polystyrene surfaces and comparison between methods to measure it. **LWT-Food Science and Technology**, v.56, n.1, p. 58–61, 2014.

MEIRELLES, A.; GIAOURIS, E.; SIMÕES, M. Alternative disinfection methods to chlorine for use in the fresh-cut industry. **Food Research International**, v. 82, p. 71–85, 2016.

MERCADO, J. A.; PLIEGO-ALFARO F.; QUESADA M. A. Fruit shelf life and potential for its genetic improvement. In: JENKS, M. A.; BEBELI P. J. **Breeding for fruit quality**. Oxford: John Wiley & Sons, p. 81–104, 2011.

MIANO, A. C.; AUGUSTO, P. E. D. The ultrasound assisted hydration as an opportunity to incorporate nutrients into grains. **Food Research International**, v.106, p. 928–935, 2018.

MILLAN-SANGO, D.; GARRONI, E.; FARRUGIA, C.; IMPE, J. F. M. V.; VALDRAMIDIS, V. P. Determination of the efficacy of ultrasound combined with essential oils on the decontamination of *Salmonella* inoculated lettuce leaves. **Food Science and Technology**, v.73, p. 80-87, 2016.

MILLAN-SANGO, D.; MCELHATTON, A.; VALDRAMIDIS, V. P. Determination of the efficacy of ultrasound in combination with essential oil of oregano for the decontamination of *Escherichia coli* on inoculated lettuce leaves. **Food Research International**, v.67, p. 145-154, 2015.

MIR, S. A.; SHAH, M. A.; MIR, M. M.; DAR, B.N.; GREINER, R.; ROOHINEJAD, S. Microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salads in developing

countries and potential solutions in the supply chain to control microbial pathogens. **Food Control**, v. 85, p. 235-244, 2018.

MIZRACH, A. Ultrasonic technology for quality evaluation of fresh fruit and vegetables in pre and postharvest processes. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, p. 315–330, 2008.

MORRIS, C.E., MONIER, J. M. The ecological significance of biofilm formation by plant associated bacteria. **Ann. Rev. Phytopathol**, v. 41, p. 429-453, 2003.

MUKHOPADHYAY, S.; RAMASWAMY, R. Application of emerging technologies to control *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**, v.45, p. 666–677, 2012.

MUKHOPADHYAY, S.; SOKORAI, K.; UKUKU, D. O.; JIN, T.; FAN, X.; OLANYA, M.; JUNEJA, V. Inactivation of *Salmonella* in grape tomato stem scars by organic acid wash and chitosan-allyl isothiocyanate coating. **International Journal of Food Microbiology**, v.266, p. 234–240, 2018.

MY, N. H. D.; RUTSAERT, P.; LOO, E. J. V.; VERBEKE, W. Consumers' familiarity with and attitudes towards food quality certifications for rice and vegetables in Vietnam. **Food Control**, v. 82, p. 74-82, 2017.

NEAL, J. A.; MARQUEZ-GONZALEZ, M.; CABRERA-DIAZ, E.; LUCIA, L. M.; O'BRYAN, C. A.; CRANDALL, P. G.; RICKE, S. C.; CASTILLO, A. Comparison of multiple chemical sanitizers for reducing *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. **Food Research International**, v. 45, p. 1123–1128, 2012.

NG, Y. F.; WONG, S. L.; CHENG, H. L.; YU, P. H. F.; CHAN, S. W. The microbiological quality of ready-to-eat food in Siu Mei and Lo Mei shops in Hong Kong. **Food Control**, v.34, p. 547-553, 2013.

NGNITCHO, P. K.; TANGO, C. N. F.; KHAN, I.; DALIRI, E. B. M.; CHELLIAN, R.; D. Oh, H. The applicability of Weibull model for the kinetics inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 on soybean sprouts submitted to chemical sanitizers in combination with ultrasound at mild temperatures. **LWT - Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 91, p. 573–579, 2018.

NYHAN, L.; BEGLEY, M.; MUTEL, A.; QU, Y.; JOHNSON, N.; CALLANAN, M. Predicting the combinatorial effects of water activity, pH and organic acids on *Listeria* growth in media and complex food matrices. **Food Microbiology**, v. 74, p. 75-85, 2018.

OCTAVIA, L.; CHOO W. S. Folate, ascorbic acid, anthocyanin and colour changes in strawberry (*Fragaria annanasa*) during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 86, p. 652-659, 2017.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Changes in bioactive composition of fresh-cut strawberries stored under

superatmospheric oxygen, low-oxygen or passive atmospheres. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 37–43, 2010.

OFEK, I.; DOYLE, R. J. Bacterial Adhesion to Cells and Tissues. **Chapman & Hall**: New York, 1. ed. p. 1-5, 1994.

OLAIMAT, A. N.; HOLLEY, R. A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. **Food Microbiology**, p. 1-19, 2012.

OLIVEIRA, F. I. P. de. **Influência do pré-tratamento ultrassom e desidratação osmótica na secagem, cor, textura e enzimas do mamão formosa**. 2014. 120 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Programa De Pós-Graduação Em Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

ÖLMEZ, H.; KRETZSCHMAR, U. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 686-693, 2009.

ONCÜL, N.; KARABIYIKLI, E. Survival of foodborne pathogens in unripe grape products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 74, p. 168-175, 2016.

PADMANABHAN, P.; MIZRAN, A.; SULLIVAN, J. A.; PALIYATH, G. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 193-198, 2016.

PALMA-SALGADO, S.; PEARLSTEIN, A. J.; LUO, Y.; PARK, H. K.; FENG, H. Whole-head washing, prior to cutting, provides sanitization advantages for fresh-cut Iceberg lettuce (*Latuca sativa* L.). **International Journal of Food Microbiology**, v. 179, p. 18–23, 2014.

PANIWNYK, L. Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 794–806, 2017.

PARK, J. M.; LAIO, A.; IANNUZZI M.; PARRINELLO, M. Dissociation Mechanism of Acetic Acid in Water. **Jornal da American Chemical Society**, v. 128, n. 35, p. 11318-11319, 2006.

PERCIVAL, S.; CHALMERS, R.; EMBREY, M.; HUNTER, P.; SELLWOOD, J.; WYN-JONES, P. 7 - *Escherichia coli*. **Microbiology of Waterborne Diseases**. Academic Press, p. 71-90, 2004.

PERKINS-VEAZIE, P. Growth and ripening of strawberry fruit. **Horticultural Reviews**, v. 17, p. 267-297, 1995.

PETRI, E.; RODRÍGUEZ, M.; GARCÍA, S. Evaluation of Combined Disinfection Methods for Reducing *Escherichia coli* O157:H7 Population on Fresh-Cut Vegetables. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v.12, p. 8678-8690, 2015.

PINHEIRO, J.; ALEGRIA, C.; ABREU, M.; GONÇALVES, E. M.; SILVA, C. L. M. Influence of postharvest ultrasounds treatments on tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. *Zinac*) quality and microbial load during storage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.27, p. 552–559, 2015.

PINTÓ, E.; LENTHERIC, I.; VENDRELL, M.; LARRIGAUDIÈRE, C. Role of fermentative and antioxidant metabolisms in the induction of core browning in controlled-atmosphere stored pears. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 3, p. 364-370, 2001.

PIPER, P. W. Chapter 4 - Resistance of Yeasts to Weak Organic Acid Food Preservatives. **Advances in Applied Microbiology**, Academic Press, v. 77, p. 97-113, 2011.

POSÉ, S.; GARCÍA-GAGO, J. A.; SANTIAGO-DOMÉNECH, N.; PLIEGO-LFARO, F.; QUESADA, M. A.; MERCADO, J. A. Strawberry Fruit Softening: Role of Cell Wall Disassembly and its Manipulation in Transgenic Plants. *Genes, Genomes and Genomics*. **Global Science Books**, v. 5, n. 1, p. 40-48, 2011.

POSÉ, S.; PANIAGUA, C.; CIFUENTES, M.; BLANCO-PORTALES, R.; QUESADA, M. A.; MERCADO, J. A. Insights into the effects of polygalacturonase FaPG1 gene silencing on pectin matrix disassembly, enhanced tissue integrity, and firmness in ripe strawberry fruits. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 12, p. 3803–3815, 2013.

PREECE, K. E.; HOOSHYAR, N.; KRIJGSMAN, A.; FRYER, P. J.; ZUIDAM, N. J. Intensified soy protein extraction by ultrasound. *Chemical Engineering and Processing*. **Process Intensification**, v. 113, p. 94-101, 2017.

PUTNIK, P.; ROOHINEJAD, S.; GREINER, R.; GRANATO, D.; BEKHIT, A. E. A.; KOVACEVIC, D. B. Prediction and modeling of microbial growth in minimally processed fresh-cut apples packaged in a modified atmosphere: A review. **Food Control**, v. 80, p. 411-419, 2017.

PYATKOVSKYY, T.; SHYNKARYK, M.; YOUSEF, A.; SASTRY, S. K. Fresh produce sanitization by combination of gaseous ozone and liquid sanitizer. **Journal of Food Engineering**, v. 210, p.19-26, 2017.

RAGAZZO-SÁNCHEZ, J. A.; GONZÁLEZ-ESTRADA, R. R.; SANTANA-MARTÍNEZ, M. A.; WACHER-RODARTE, M. DEL C.; ESLAVA-CAMPOS, C. A.; CALDERÓN-SANTOYO, M. Data on enterobacteria activity on biofilm formation at surface mango fruit (*Mangifera indica L.*) cv *Ataulfo*. **Data in Brief**, v.9, p. 746–748, 2016.

RAIMUNDO, L. M. B.; BATALHA, M. O.; Torkomian, A. L. V. Technological dynamics of the Brazilian food and beverage industry (2000-2011). **Gestão da Produção**, São Carlos, v. 24, n. 2, p. 423-436, 2017.

RAHMAN, M. M.; MONIRUZZAMAN, M.; AHMAD, M. R.; SARKER, B.C.; ALAM, M. K. Maturity stages affect the postharvest quality and shelf-life of fruits of strawberry genotypes growing in subtropical regions. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 15, p. 28–37, 2016.

RAMOS, B.; MILLER, F. A.; BRANDÃO, T. R. S.; TEIXEIRA, P.; SILVA, C. L. M.. Fresh fruits and vegetables—an overview on applied methodologies to improve its

quality and safety. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.20, p.1-15, 2013.

RAYBAUDI-MASSILA, R. M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; SABRINO-LÓPEZ, A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Use of malic acid and other quality stabilizing compounds to assure the safety of fresh-cut 'Fuji' apples by inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7. **Journal of Food Safety**, v. 29, n. 1, p. 236-252, 2009.

RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 7, p. 373-386, 2007.

ROJAS, M. L.; TREVILIN, J. H.; FUNCIA, E. dos S.; GUT, J. A. W.; AUGUSTO, P. E. D. Using ultrasound technology for the inactivation and thermal sensitization of peroxidase in green coconut water. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.36, p. 173–181, 2017.

ROSÁRIO, D. K. A. do.; MUTZ, Y. da S.; PEIXOTO, J. M. C.; OLIVEIRA, S. B. S.; CARVALHO, R. V. de.; CARNEIRO, J. C. S.; JOSÉ, J. F. B. de S.; BERNARDES, P. C. Ultrasound improves chemical reduction of natural contaminant microbiota and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* on strawberries. **International Journal of Food Microbiology**, v.241, p. 23–29, 2017.

ROSELLI, L.; CICIA, G.; CAVALLO, C.; GIUDICE, T. D.; CARLUCCI, D.; CLODOVEO, M. L.; GENNARO, B. C. de. Consumers' willingness to buy innovative traditional food products: The case of extra-virgin olive oil extracted by ultrasound. **Food Research International**, v. 108, p. 482–490, 2018.

ROSELLO-SOTO, E.; GALANAKIS, C. M.; BRNČIĆ, M.; ORLIEN, V.; TRUJILLO, F. J.; MAWSON, R.; KNOERZER, Kai.; TIWARI, B. K.; BARBA, F. J. Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, byproducts and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. **Trends in Food Science & Technology**, v.42, p. 134-149, 2015.

SAE-LEAW, T.; BENJAKUL, S.; VONGKAMJAN, K. Retardation of melanosis and quality loss of pre-cooked Pacific white shrimp using epigallocatechin gallate with the aid of ultrasound. **Food Control**, v. 84, p. 75-82, 2018.

SAICHANA, N.; MATSUSHITA, K.; ADACHI, O.; FRÉBORT, I.; FREBORTOVA, J. Acetic acid bacteria: A group of bacteria with versatile biotechnological applications. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, Part 2, p.1260-1271, 2015.

SAGONG, H. G.; LEE, S. Y.; CHANG, P. S.; HEU, S.; RYU, S.; CHOI, Y. J.; KANG, D. H. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. **International Journal of Food Microbiology**, v.145, p. 287–292, 2011.

SÁNCHEZ-GARCÍA, Y. I.; GARCÍA-VEGA, K. S.; LEAL-RAMOS, M. Y.; SALMERON, I.; GUTIÉRREZ-MÉNDEZ. N. Ultrasound-assisted crystallization of



lactose in the presence of whey proteins and κ-carrageenan. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 42, p. 714–722, 2018.

SÃO JOSÉ, J. F. B. de; ANDRADE, N. J. de.; RAMOS, A. M.; VANETTI, M. C. D.; STRINGHETA, P. C.; CHAVES, J. B. P. Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. **Food Control**, v.45, p. 36-50, 2014.

SÃO JOSÉ, J. F. B. de; MEDEIROS, H. S. de. Use of ultrasound associated or not with sodium dichloroisocyanurate in the disinfection of cherry tomato (*Lycopersicon esculentum var. cerasiforme*). **Rev Inst Adolfo Lutz**. p.244-248, 2013.

SÃO JOSÉ, J. F. B. de; MEDEIROS, H. S. de; BERNARDES, P. C.; ANDRADE, N. J. de. Removal of *Salmonella enterica* Enteritidis and *Escherichia coli* from green peppers and melons by ultrasound and organic acids. **International Journal of Food Microbiology**, v. 190, p. 9–13, 2014.

SÃO JOSÉ, J. F. B. de; VANETTI, M. C. D. Application of Ultrasound Associated with Chemical Sanitizers for Food Products. **LWT - Food Science and Technology**, v.63, p. 946-952, 2015.

SÃO JOSÉ, J. F. B. de; VANETTI, M. C. D. Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica* Typhimurium on cherry tomatoes. **Food Control**, v.24, p. 95-99, 2012.

SATO, T.; FUKUDA, F.; NIHEI, K.; ITOH, N. Effect of temperature and pressure on the extraction of strawberry receptacles with a mixture of supercritical carbon dioxide and entrainers. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 130, p. 23–29, 2017.

SILVA, G. D. da; BARROS, Z. M. P.; MEDEIROS, R. A. B. de; CARVALHO, C. B. O. de; Brandão, S. C. R.; Azoubel, P. M. Pretreatments for melon drying implementing ultrasound and vacuum. **LWT - Food Science and Technology**, v. 74, p. 114-119, 2016.

SREBERNICH, S.M. Utilização de dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p.744-50, 2007.

SUN, W.; LIU, W. CUI, L.; ZHANG, M.; WANG, B. Characterization and identification of a chlorine-resistant bacterium, *Sphingomonas* TS001, from a model drinking water distribution system. **Science of the Total Environment**, v. 458–460, p. 169–175, 2013.

SZADZINSKA, J.; KOWALSKI, S. J.; STASIAK, M. Microwave and ultrasound enhancement of convective drying of strawberries: Experimental and modeling efficiency. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v.103, p. 1065–1074, 2016.

TERRY, L. *E. coli* em morangos Oregon: 1 morte, até 16 doenças rastreadas para a fazenda do condado de Washington. **The Oregonian**, 2011. Disponível em:

<[https://www.oregonlive.com/washingtoncounty/index.ssf/2011/08/1\\_death\\_16\\_illnesses\\_traced\\_to.html](https://www.oregonlive.com/washingtoncounty/index.ssf/2011/08/1_death_16_illnesses_traced_to.html)>. Acesso em: 28 jun. 2018.

THERON, M. M.; LUES, J. R. Organic acids and food preservation. Boca Raton: **CRC Press**. 2011.

TORRES, A. G.; JETER, C.; LANGLEY, W.; MATTHYSSE, A. G. Differential binding of *Escherichia coli* O157:H7 to alfalfa, human epithelial cells, and plastic is mediated by a variety of surface structures. **Appl Environ Microbiol.**, v. 71, p. 8008–8015, 2005.

TZORTZAKIS, N.; CHRYSARGYRIS, A.; SIVAKUMAR, D.; LOULAKAKIS, K. Vapour or dipping applications of methyl jasmonate, vinegar and sage oil for pepper fruit sanitation towards grey mould. **Postharvest Biology and Technology**, v. 118, p. 120–127, 2016.

TSANIKLIDIS, G.; KOTSIRAS, A.; TSAFOUROS, A.; ROUSSOS, P. A.; AIVALAKIS, G.; KATINAKIS, P.; DELIS, C. Spatial and temporal distribution of genes involved in polyamine metabolism during tomato fruit development. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 100, p. 27-36, 2016.

UKUKU, D. O.; FETT, W. F. Relationship of cell surface charge and hydrophobicity to strength of attachment of bacteria to cantaloupe rind. **Journal of Food Protection**, v.65, p. 1093-1099, 2002.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de estudos e pesquisas em alimentação. **TACO - Tabela brasileira de composição de alimentos**. Campinas: Ed. UNICAMP, 2011.

VICENTE, A. R.; SALADIÉ, M.; ROSE, J. K. C.; LABAVITCH, J. M. The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: Looking to the future. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 1435–1448, 2007.

VUTHY, Y.; LAY, K. S.; SEIHA, H.; KERLEGUER, A.; KANE, A. A. Antibiotic susceptibility and molecular characterization of resistance genes among *Escherichia coli* and among *Salmonella* subsp. in chicken food chains. **Asian Pac J Trop Biomed**, v. 7, p. 670–674, 2017.

WANG, H.; QIU, F. Fresh food access revisited. **Cities**, v.51, p. 64-73, 2016.

WARRINER, K.; HUBER, A.; FAN, W.; DUNFIELD, K. Recent advances in the microbial safety of fresh fruits and vegetables. **Advances in food and nutrition research**, v.57, p. 155-208, 2009.

WEBER, F.; LARSEN, L. R. Influence of fruit juice processing on anthocyanin stability. **Food Research International**, v. 100, p. 354–365, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Fruit and Vegetable Promotion Initiative – report of the meeting. Geneva: **World Health Organization**, p. 3–23, 2003.

YASEEN, T.; SUN, D. W.; CHENG, J. H. Raman imaging for food quality and safety evaluation: Fundamentals and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 62, p. 177-189, 2017.

YILDIZ, G.; RABABAH, T. M.; FENG, H. Ultrasound-assisted cutting of cheddar, mozzarella and Swiss cheeses – Effects on quality attributes during storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 37, part. A, p. 1-9, 2016.

YU, H.; GIBSON, K. E.; WRIGHT, K. G.; NEAL, J. A.; SIRSAT, S. A. Food safety and food quality perceptions of farmers' Market consumers in the United States. **Food Control**, v. 79, p. 266-271, 2017.

ZHANG, C.; BROWN, P. J. B.; HU, Z. Thermodynamic properties of an emerging chemical disinfectant, peracetic acid. **Science of the Total Environment**, v. 621, p. 948–959, 2018.

ZHU, J.; WANG, Y.; LI, X.; LI, B.; LIU, S.; CHANG, N.; JIE, D.; NING, C.; GAO, H.; MENG, X. Combined effect of ultrasound, heat, and pressure on *Escherichia coli* O157:H7, polyphenol oxidase activity, and anthocyanins in blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 37, p. 251–259, 2017.

ZINOVIADOU, K. G.; GALANAKIS, C. M.; BRNČIĆ, M.; GRIMI, N.; BOUSSETTA, N.; MOTA, M. J.; SARAIVA, J. A.; PATRAS, A.; TIWARI, B.; BARBA, F. J. Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. **Food Research International**, v.77, p. 743–752, 2015.