



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DENES KAIC ALVES DO ROSÁRIO

EFEITOS ISOLADOS E COMBINADOS DE ULTRASSOM E DE COMPOSTOS  
QUÍMICOS EM MORANGOS (*Fragaria x ananassa* Duch.)

ALEGRE / ES

2016

DENES KAIC ALVES DO ROSÁRIO

EFEITOS ISOLADOS E COMBINADOS DE ULTRASSOM E DE COMPOSTOS  
QUÍMICOS EM MORANGOS (*Fragaria x ananassa* Duch.)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof. DSc. Patrícia Campos Bernardes.

Coorientadoras: Prof. DSc. Jackline Freitas Brilhante de São José e Prof. DSc. Raquel Vieira de Carvalho

ALEGRE - ES

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

R789e Rosário, Denes Kaic Alves do, 1991-  
Efeitos isolados e combinados de ultrassom e de compostos químicos em morangos (Fragaria x ananassa Duch.) / Denes Kaic Alves do Rosário. – 2016.

81 f. : il.

Orientadora: Patrícia Campos Bernardes.

Coorientadoras: Jackline Freitas Brilhante de São José ; Raquel Vieira de Carvalho.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Morango – Descontaminação. 2. Sanitização. 3. Ultrassom. 4. Ácido peracético. 5. Salmonella. I. Bernardes, Patrícia Campos. II. São José, Jackline Freitas Brilhante de. III. Carvalho, Raquel Vieira de Carvalho. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. V. Título.

CDU: 664

---

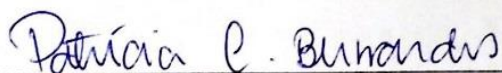
**DENES KAIC ALVES DO ROSÁRIO**

**“ EFEITOS ISOLADOS E COMBINADOS DE ULTRASSOM E DE  
COMPOSTOS QUÍMICOS EM MORANGOS (*Fragaria x ananassa* Duch) ”**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 18 de fevereiro de 2015.

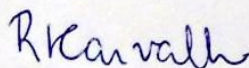
**COMISSÃO EXAMINADORA:**



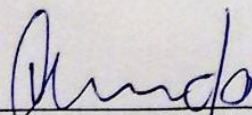
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Campos Bernardes  
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES  
Orientadora



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Jackline Freitas Brilhante de São José  
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES  
Co-orientadora



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Vieira de Carvalho  
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES  
Co-orientadora



Pesquisador Dr. Tarcísio Lima Filho  
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES  
Examinador Externo

Aos meus pais, Valdir e Ileusa e minha  
irmã Daiane, eu dedico.

*"É preciso que todos tenham fé e  
esperança em um futuro melhor"*

(Maria Rita de Sousa Brito Lopes Pontes –  
Irmão Dulce dos Pobres).

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Alegre / ES. Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do CCA / UFES. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e demais recursos financeiros concedidos.

À Professora Patrícia Campos Bernardes pela orientação, confiança, disposição, motivação e compartilhamento de conhecimentos.

À Professora Jackline Freitas Brilhante de São José pela coorientação, paciência e compartilhamento de conhecimentos. À Professora Raquel Vieira de Carvalho pela coorientação e pela oportunidade concedida.

Ao Professor Joel Camilo Souza Carneiro e à Professora Suzana Maria Della Lucia pela grande ajuda nas análises estatísticas e análise sensorial.

Às laboratoristas Letícia Ricieri Bastos e Amanda Inácia de Souza pelo excelente apoio durante as análises.

Ao Sandro, produtor de morangos da região de Santa Maria de Jetibá / ES.

Ao Yhan da Silva Mutz e à Jaqueline Curtis, pela ajuda durante as análises, pelo apoio, dedicação e paciência.

À Nayara Benedito por ter cedido a bactéria *Salmonella enterica* subsp. *enterica*.

Aos meus familiares, meu pai Valdir, minha mãe Ileusa, minhas irmãs Daiane e Cristiane, minhas sobrinhas Mirella e Marjorie (afilhada), ao Eliezer, minha madrinha Luci e meu Padrinho Sérgio, pelo amor e confiança. Ao Armando pelo companheirismo, paciência, compreensão e carinho.

À todos os docentes que me inspiram e me motivaram a seguir os estudos.

À todos meus queridos amigos que estiveram junto comigo durante a graduação e mestrado, dando todo o apoio e atenção.

## **BIOGRAFIA**

DENES KAIC ALVES DO ROSÁRIO, filho de Valdir Pereira do Rosário e Ileusa Alves do Rosário, nasceu em Itarana, Espírito Santo no dia 20 de Setembro de 1991.

Em fevereiro de 2006, iniciou o curso Técnico em Agropecuária no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, campus Santa Teresa / ES, obtendo o título em dezembro de 2008.

Em março de 2009, iniciou o curso de Engenharia de Alimentos no centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, colando grau em março de 2014.

Em março de 2014, iniciou o curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal do Espírito Santo.

Em fevereiro de 2016, submeteu-se à defesa de dissertação.



## RESUMO

ROSÁRIO, Denes Kaic Alves do. **Efeitos isolados e combinados de ultrassom e de compostos químicos em morangos (*Fragaria x ananassa* Duch.)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre / ES. Orientadora: Prof<sup>a</sup>. DSc. Patrícia Campos Bernardes. Coorientadoras: Prof<sup>a</sup>. DSc. Jackline Freitas Brilhante de São José e Prof<sup>a</sup>. DSc. Raquel Vieira de Carvalho.

Os consumidores têm se interessado cada vez mais por alimentos com segurança microbiológica, vida útil longa, e que apresentem alterações mínimas na qualidade nutricional e sensorial após as etapas de processamento. Assim, tem-se buscado métodos de sanitização mais eficientes para remoção de microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos, especialmente os que são consumidos *in natura* como o morango. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito isolado e combinado do uso de diferentes compostos químicos (ácido acético, dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DBSS) e ácido peracético) e ultrassom (40 kHz) na sanitização de morangos e suas influências nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais, logo após a sanitização e durante o tempo de armazenamento de até 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. Foram realizadas análises de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, bactérias lácticas, coliformes totais, *E. coli*, acidez total titulável, pH, teor de sólidos solúveis totais, cor, vitamina C, perda de massa, perfil de textura (firmeza, coesividade e adesividade), e inativação / remoção de *S. enterica* intencionalmente aderidas ao morango. Foi realizada também análise sensorial dos morangos tratados com ultrassom associado ao ácido peracético e controle (sem sanitização). Os resultados foram analisados por ANOVA, análise de regressão e teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Após a aplicação dos tratamentos de sanitização dos morangos, a contagem de mesófilos aeróbios foi reduzida entre 0,2 a 1,8 log de UFC.g<sup>-1</sup>, fungos filamentosos e leveduras, entre 0,2 e 2,0 log de UFC.g<sup>-1</sup>, bactérias lácticas 0,4 e 2,0 log de UFC.g<sup>-1</sup> e *S. enterica* entre 0,5 a 2,1 log de UFC.g<sup>-1</sup>. O ultrassom combinado com ácido peracético e o ácido peracético isolado se destacaram, obtendo as maiores reduções. O ácido acético e o DBSS tiveram seus efeitos potencializados pelo ultrassom, atingindo reduções de

até 1,0 e 1,1 log de UFC.g<sup>-1</sup> para fungos filamentosos e leveduras. Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para as características físico-químicas entre os tratamentos de sanitização, exceto para perda de massa, em que os tratamentos com DBSS implicaram em maior perda. As características sensoriais e a aceitação sensorial dos morangos tratados por ácido peracético combinado ao ultrassom não diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) do tratamento controle (morangos não sanitizados). O presente estudo demonstrou a alta eficiência do ácido peracético quando combinado ao ultrassom na sanitização de morangos e que o ultrassom não causou alterações nas características físico-químicas e sensoriais avaliadas.

**Palavras-chave:** sanitização, ultrassom, ácido peracético, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*.

## ABSTRACT

ROSÁRIO, Denes Kaic Alves do. **Isolated and combined effects of ultrasound and chemicals compounds on strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.)**. 2016. Dissertation (MSc in Food Science and Technology) – Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES. Advisor: Prof. Dr. Patrícia Campos Bernardes. Co-advisors: Prof. Dr. Jackline Freitas Brilhante de São José and Prof. Dr. Raquel Vieira de Carvalho.

Consumers have become increasingly interested in food with microbiological safety, long self-life, and with minimal changes in the nutritional and sensory quality after processing. Then researchers have tried more efficient sanitization methods for removal of pathogenic and spoilage microorganisms in foods especially those consumed fresh like strawberries. This study aimed to evaluate the isolated and combined effect of using different chemicals (acetic acid, sodium dodecyl benzene sulphonate (DBSS), peracetic acid) and ultrasound (40 kHz) for the sanitization of strawberries and their influence on microbiological, physico-chemical and sensorial parameters, after sanitization and during the storage time of up to 9 days at  $8 \pm 1$  °C. Analyses of aerobic mesophilic, filamentous fungi and yeast, lactic acid bacteria, total coliforms, *E. coli*, titratable acidity, pH, total soluble solids, color, vitamin C, weight loss, texture profile (firmness, cohesiveness and adhesion), and inactivation / removal of *S. enterica*, intentionally adhered to strawberry, were performed. It also carried out sensory analysis of ultrasound treatments associated with peracetic acid and washed with water. Results were analyzed by ANOVA, regression analysis and Duncan test at the 5% level of probability. After application of the sanitizing treatments on strawberries, the aerobic mesophilic count was reduced from 0.2 to 1.8 log CFU.g<sup>-1</sup>, filamentous fungi and yeast, between 0.2 and 2.0 log CFU.g<sup>-1</sup>, lactic acid bacteria from 0.4 to 2.0 log CFU.g<sup>-1</sup> and *S. enterica* from 0.5 to 2.1 log CFU.g<sup>-1</sup>. The ultrasound combined with peracetic acid and peracetic acid isolated stood out, obtaining the largest reductions. Acetic acid and DBSS have its effects enhanced by ultrasound, achieving reductions of up to 1.0 and 1.1 log CFU.g<sup>-1</sup> for filamentous fungi and yeasts. There were no significant difference ( $p < 0.05$ ) for physico-chemical parameters between sanitization treatments, except for weight loss, in which treatments with DBSS led to more loss. There was no significant sensory difference

( $p < 0.05$ ) among the treatments. This study demonstrated the high efficiency of peracetic acid when combined with ultrasound in sanitizing of strawberries and that ultrasound did not cause changes in physicochemical and sensory parameters evaluated.

**Keywords:** sanitization, ultrasound, peracetic acid, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*.

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1: Tratamentos testados nos morangos durante 5 minutos à $7 \pm 1$ °C.....	26
Tabela 2: Valores médios e desvio-padrão de pH das soluções utilizadas nos procedimentos de sanitização .....	35
Tabela 3: Resumo da Análise de Variância (ANOVA) da contagem de mesófilos aeróbios, fungos filamentos e leveduras e bactérias lácticas em morangos durante o armazenamento de 9 dias a $8 \pm 1$ °C .....	36
Tabela 4: Valores dos coeficientes angulares, lineares e de determinação para as equações das contagens de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, bactérias lácticas em morangos armazenados durante 9 dias a $8 \pm 1$ °C.....	42
Tabela 5: Valores médios e desvio-padrão da contagem de <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> nas soluções sanitizantes após a sanitização (5 minutos à $7 \pm 1$ °C.....	46
Tabela 6: Resumo da Análise de Variância (ANOVA) para o resultados de pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável, relação sólidos solúveis totais / acidez total titulável, vitamina C e perda de massa em morangos durante o armazenamento de 9 dias a $8 \pm 1$ °C .....	48
Tabela 7: Valores das médias e desvio-padrão das variáveis acidez total titulável (mg de ácido cítrico /100 g de morango) e relação SST / ATT de cada tratamento de sanitização de morangos armazenados durante 9 dias a $8 \pm 1$ °C.....	49
Tabela 8: Valores das médias e desvio-padrão da perda de massa (%) de cada tratamento de sanitização de morangos armazenados durante 9 dias a $8 \pm 1$ °C.....	51
Tabela 9: Valores dos coeficientes angulares, lineares e de determinação para equação de cada tratamento durante o tempo o armazenamento de 9 dias a $8 \pm 1$ °C.....	52
Tabela 10: Valores das médias e desvio-padrão das variáveis pH, sólidos solúveis totais (SST) (°Brix) e vitamina C (mg de ácido ascórbico / 100g gramas de morango) de cada tratamento de sanitização.....	53
Tabela 11: Resumo da Análise de Variância (ANOVA) para os atributos de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , c e H) durante o armazenamento de 9 dias a $8 \pm 1$ °C.....	57
Tabela 12: Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , c e H) para cada tratamento de sanitização, em morangos durante o armazenamento de 9 dias a $8 \pm 1$ °C .....	59
Tabela 13: Resumo da Análise de variância (ANOVA) para os valores de perfil de textura firmeza (N), adesividade (g.mm) e coesividade em morangos durante o armazenamento de 9 dias a $8 \pm 1$ °C .....	63
Tabela 14: Valores médios e desvio-padrão de firmeza (N), adesividade (g.mm) e coesividade em morangos durante o armazenamento de 9 dias a $8 \pm 1$ °C.....	64

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Aquênio em morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) (MAPA, 2011). ..... 18
- Figura 2: Reduções decimais da contagem de mesófilos aeróbios em relação ao tratamento controle (sem sanitização) em morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo teste de comparação de médias. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom. ....37
- Figura 3: Reduções decimais da contagem de fungos filamentosos e leveduras em relação ao tratamento controle (sem sanitização) em morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom. ....39
- Figura 4: Reduções decimais da contagem de bactérias lácticas em relação ao tratamento controle (sem sanitização) em morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.....41
- Figura 5: Reduções decimais da contagem de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* aderidas em superfície de morangos em relação ao tratamento controle (sem sanitização). Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.....44
- Figura 6: Valores médios de acidez total titulável (D) em mg de ácido cítrico / 100 mg de fruto, sólidos solúveis totais (E) em ° Brix, relação SST / ATT (F), equações das curvas e coeficiente de determinação, em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. ....54
- Figura 7: Valores médios de vitamina C expressos em mg de ácido ascórbico / 100 g de fruto, equação da curva e coeficiente de determinação, em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. ....56
- Figura 8: Valores de delta E ( $\Delta E^*$ ) calculados em relação ao tratamento controle (sem sanitização) com 0 dias de armazenamento para cada tratamento em cada tempo, em morangos durante o armazenamento de 9 dias à  $8 \pm 1$  °C.60
- Figura 9: Valores médios de cada tempo de armazenamento para as coordenadas de cor  $L^*$  (G),  $a^*$  (H),  $c^*$  (I), h (J) em morangos durante o armazenamento de 9 dias à  $8 \pm 1$  °C. ....62
- Figura 10: Valores médios dos parâmetros de perfil de textura firmeza (N) (K), adesividade (g.mm) (L) e coesividade (M) em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. ....65

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	17
2.1 Morango.....	17
2.2 Microrganismos veiculados por frutas e hortaliças.....	18
2.3 Sanitizantes .....	19
2.4 Surfactantes.....	22
2.5 Ultrassom.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 Procedimentos de sanitização .....	25
3.2 Avaliação do pH das soluções de sanitização dos morangos.....	26
3.3 Avaliação da microbiota natural contaminante dos morangos .....	26
3.3.1 Contagem de mesófilos aeróbios.....	27
3.3.2 Contagem de fungos filamentosos e leveduras .....	27
3.3.3 Contagem de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> .....	27
3.4 Avaliação da eficiência na inativação / remoção de células de <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> intencionalmente adicionadas em morangos .....	28
3.4.1 Preparo das amostras.....	28
3.4.2 Preparo do inóculo.....	28
3.5 Quantificação das células de <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> aderidas.....	29
3.5.1 Acidez total titulável .....	30
3.5.2 pH .....	30
3.5.3 Teor de sólidos solúveis totais.....	30
3.5.4 Cor instrumental.....	30
3.5.5 Perda de massa.....	31
3.5.6 Determinação do teor de vitamina C.....	31
3.5.7 Perfil de textura.....	32
3.6 Análise sensorial dos morangos .....	32
3.6.1 Testes triangulares .....	32
3.6.2 Testes de aceitação.....	33
3.7 Planejamento Experimental e Análise Estatística dos Dados .....	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 pH das soluções sanitizantes.....	35
4.2 Efeito dos tratamentos na microbiota natural contaminante dos morangos.....	35

4.3 Efeito dos tratamentos sobre <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> aderidas em superfície de morangos.....	43
4.4 Efeito dos tratamentos sobre <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> presentes nas soluções sanitizante após a sanitização .....	45
4.5 Efeito dos tratamentos de sanitização sobre as características físico-químicas dos morangos .....	47
4.6 Efeito da sanitização sobre as características sensoriais dos morangos.....	66
5 CONCLUSÕES .....	67
6 REFERÊNCIAS.....	68



## 1 INTRODUÇÃO

O morango é matéria-prima utilizada pela indústria de alimentos e também é produto consumido *in natura*. É considerado um dos frutos de maior importância, além de apresentar crescente demanda pelos consumidores. O aumento da preferência do consumo de alimentos *in natura*, sem aplicação de tratamento térmico, tem preocupado os órgãos públicos de saúde devido ao maior risco de veicular patógenos causadores de doenças. Diversas bactérias patogênicas têm sido relatadas como causadoras de surtos de doenças de origem alimentar. Algumas cepas possuem capacidade de aderir em superfícies e formar biofilme, e fungos têm capacidade de produzir enzimas proteolíticas, lipolíticas em alimentos ácidos, e também produzir toxinas termorresistentes.

A operação de lavagem associada à sanitização é considerada a etapa crítica para a redução do número de microrganismos em alimentos. Os compostos clorados são sanitizantes amplamente utilizados na indústria, porém alguns países têm proibido a utilização. Esta restrição está relacionada à formação de subprodutos tóxicos pela combinação de matéria orgânica com compostos clorados. Este fato torna ainda mais importante o estudo de novas técnicas de sanitização. Somado a este fato, há necessidade de avaliar métodos de sanitização que podem ser mais eficientes na remoção e inativação de microrganismos, o que pode contribuir com a qualidade e segurança de alimentos. O ultrassom vem sendo estudado na sanitização de frutas e tem demonstrado capacidade de remoção e inativação de células microbianas, além de ser uma técnica rápida e limpa, que não gera resíduos.

Assim, considera-se que estudos que avaliem o potencial do uso do ultrassom combinado ou não com compostos químicos na sanitização de frutas possam trazer resultados de interesse para indústria de alimentos. Espera-se que estes tratamentos permitam a obtenção de frutas seguras do ponto de vista microbiológico e que mantenham características físico-químicas e sensoriais.

Objetivou-se avaliar os efeitos do uso de ácido acético, ácido peracético e dodecilbenzeno sulfonato de sódio isolados e combinados com ultrassom nas características microbiológicas, físico-químicas, reológicas e sensoriais de morangos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Morango

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) é uma hortaliça pertencente à família Rosaceae e é considerado um fruto de grande importância, uma vez que possui sabor atrativo, alta produtividade e alto valor comercial, principalmente no mercado *in natura* (EMBRAPA, 1993; FRANÇOSO et al., 2008; FILGUEIRA, 2008). Além disso possui ao alto teor de vitamina C, dentre outras vitaminas, em menor grau, como a tiamina, riboflavina, niacina, vitaminas B6, K, A e E (SCALZO et al., 2005; GIAMPIERI et al., 2012)

No Espírito Santo, o morango é cultivado em aproximadamente 400 propriedades, de forma que 89% destas áreas são inferiores a 0,4 hectares. Os principais municípios produtores são Venda Nova do Imigrante, Domingos Martins, Castelo, Vargem Alta, Santa Maria de Jetibá e Muniz Freire (EMBRAPA, 2005). Em destaque, o município de Santa Maria de Jetibá é o maior produtor de morango do estado, com 375.640 kg comercializados no CEASA / ES (Central de Abastecimento do Espírito Santo) em 2012, e em média 70% da produção capixaba é vendida para os estados do nordeste (INCAPER, 2010; SEAG, 2011; CEASA / ES, 2012). No ranking mundial, os Estados Unidos, é o maior produtor do fruto fresco com cerca de 900 mil toneladas anuais (EMBRAPA, 2005).

Os morangos são frutos muito perecíveis, portanto se não houver aplicação de técnicas corretas de colheita e pós-colheita, as perdas pós-colheita podem alcançar níveis importantes (EMBRAPA, 2005). A vida útil do morango é limitada, geralmente, devido à deterioração microbiana (WSZELAKI e MITCHAM, 2003; GAMBOA-SANTOS et al., 2014). Em geral, o morango pode ser conservado à temperatura de 0 °C durante 3 a 5 dias (EMBRAPA, 2005).

Além do morango ser um fruto altamente perecível, a localização dos aquênios existentes na superfície (Figura 1) proporcionam condições topográficas ideais para deposição de nutrientes e microrganismos, o que facilita a possível adesão e formação de biofilmes microbianos na superfície de morangos. Os aquênios são os minúsculos caroços pretos localizados ao redor da polpa (NITSCH, 1950).

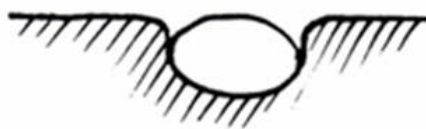


Figura 1: Aquênio em morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) (MAPA, 2011).

Microrganismos patogênicos como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* possuem capacidade de aderir em superfícies e formar biofilme em frutas e hortaliças (LIAO e SAPERS, 2000; ANNOUS et al., 2005; UKUKU e FETT, 2006; SOLOMON e SHARMA, 2009; ELHARIRY, 2011), o que coloca ainda mais em risco a saúde dos consumidores.

## 2.2 Microrganismos veiculados por frutas e hortaliças

A incidência de surtos de origem alimentar causada por consumo de frutas e hortaliças frescas tem aumentado nos últimos anos (CDC, 2013). Os patógenos mais envolvidos nos surtos são *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, alguns tipos de vírus e protozoários (ABADIAS et al., 2008; HEATON e JONES, 2008; CDC, 2012; CDC, 2014; CDC, 2015d). Nos Estados Unidos, uma a cada seis pessoas são vítimas de doenças veiculadas por alimentos anualmente, e *Salmonella* é a bactéria mais causadora (CDC, 2015c).

*Salmonella* é o microrganismo mais comum em causar doença bacteriana de origem alimentar nos Estados Unidos, e em relação ao número de casos, fica em segundo lugar, atrás apenas do norovírus (SCALLAN et al., 2011). Nos Estados Unidos, estima-se que há anualmente cerca de 1,2 milhões de casos de salmonelose e aproximadamente 450 casos são fatais (CDC, 2015b). No Brasil, o patógeno mais identificado em surtos alimentares foi *Salmonella* (BRASIL, 2013).

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae, e são bastonetes gram-negativos, não esporulados, anaeróbios facultativos e oxidase negativos. Possuem capacidade de multiplicação entre o pH 3,8 e 9,5, e ótimo entre 7,0 e 7,5. São capazes de se multiplicarem entre as temperaturas de 5 e 46 °C, e ótima entre 35 e 43 °C (JAY, 2005).

As fontes predominantes de *Salmonella* são alimentos de origem animal, como carne de aves, ovos e produtos lácteos (ABULREESH, 2012). Entretanto, diversos surtos de salmonelose foram registrados envolvendo consumo de frutas e vegetais crus (FDA, 2014), e estes alimentos estão cada vez mais implicados como veículos de *Salmonella* spp. em doenças de origem alimentar (ZHENG et al., 2013). Nos Estados Unidos, 838 pessoas foram vítimas de infecção com *Salmonella* Ponna ao consumir pepino, 165 doentes foram hospitalizados e houve 4 mortes (CDC, 2015a).

Microrganismos patogênicos podem se manter viáveis por vários dias na superfície de frutas e hortaliças, esta sobrevivência pode variar com o tipo de microrganismo e a localização no tecido vegetal (BARTZ et al., 2015).

Patógenos podem se transportar para regiões internas de frutas e hortaliças, por meio de água externa ou locomoção independente, através de aberturas como estômatos, hidatódios, lenticelas e injúrias na superfície. Além disso, podem colonizar essas regiões, onde estão protegidos de fatores ambientais e ação de sanitizantes (OLAIMAT e HOLLEY, 2012; FDA, 2014; BARTZ et al., 2015). Diversos fatores podem contribuir para internalização de bactérias. Alguns microrganismos como fungos, quando presentes, podem causar ruptura no tecido dos frutos, o que facilita a penetração de bactérias (RICHARDS e BEUCHAT, 2005). Fatores de virulência, como fímbrias, potencializam a interação entre *S. enterica* e vegetais (BARAK et al. 2004).

O biofilme é outra forma de microrganismos manterem-se viáveis em superfície de alimentos. De acordo com Morris e Monier (2003), entre 30% e 80% da população total de bactérias numa superfície de uma hortaliça é decorrente de biofilmes. Os biofilmes constituem em um arranjo de microrganismos em uma matriz exopolissacarídica associada a superfícies de forma irreversível, e esta condição dificulta o efeito sanitizante de compostos químicos (ZOTTOLA e SASAHARA, 1994; ANDRADE, 2008).

### **2.3 Sanitizantes**

A operação de lavagem associada à sanitização é considerada a etapa crítica para a redução do número de microrganismos em alimentos. Os compostos clorados

são amplamente utilizados na indústria, porém alguns países têm proibido a utilização como sanitizantes em alimentos devido à formação de subprodutos tóxicos (trihalometanos) pela combinação de matéria orgânica com compostos clorados (ALVARO et al., 2009; GRAÇA et al., 2011; CHEN e ZHU, 2011; RAHMAN et al., 2011) e a eficiência na inativação microbiana tem sido questionada.

A baixa eficiência dos sanitizantes usados para descontaminação das superfícies pode ser atribuída à incapacidade dos componentes ativos da solução de tratamento em alcançar os sítios de colonização das células microbianas e a remoção dos microrganismos pode ser dificultada por infiltração das células em fissuras e espaços intercelulares, além da possibilidade de formação de biofilmes no tecido vegetal, nos equipamentos e utensílios de contato com o alimento (MORETTI, 2008; SANGO et al., 2014). Além disso, há estudos sobre patógenos emergentes que seriam mais tolerantes a compostos muito utilizados na indústria, como compostos clorados (ALLENDE et al., 2008; ALVARO et al., 2009).

Para potencializar a inativação / remoção de microrganismos, novas alternativas para sanitização têm o objetivo de assegurar a conservação de alimentos, mantendo valor nutritivo e características sensoriais (textura, cor e sabor) inalterados, com baixo consumo de energia, a custo competitivo, respeito pelo ambiente e alto grau de segurança (CHEMAT et al., 2011). Além disso, os consumidores têm se interessado cada vez mais por produtos que têm segurança microbiológica, vida útil longa, e alterações mínimas na qualidade nutricional e sensorial dos alimentos (ROLLIN et al., 2011).

Algumas frutas e hortaliças, por apresentarem natureza delicada, possuem sensibilidade à imersão em água. De acordo com Cenci (2006), o morango é um fruto suscetível a redução da vida útil se for exposto a lavagens com água. Com isso, tem-se o objetivo de reduzir o tempo de sanitização, sem comprometer a eficiência do agente sanitizante.

Dentre os diversos agentes sanitizantes, os ácidos orgânicos têm sido usados há décadas na sanitização de alimentos, com o objetivo de retardar a deterioração por bactérias e fungos e inativar patógenos envolvidos em surtos de doenças de origem alimentar (BJORNSDOTTIR et al., 2006; AKBAS e ÖLMEZ, 2007).

Ácido láctico, ácido cítrico, ácido tartárico e ácido acético têm sido avaliados como antimicrobianos eficientes contra microrganismos mesófilos e psicrófilos em

frutas e hortaliças (UYTTENDAELE et al., 2004; BARI et al., 2005). O ácido acético é também reconhecido como um agente antimicrobiano seguro, e quando utilizado em baixas concentrações, em geral, não causa efeitos secundários (WILLAMIL et al., 2011; FEEDAP, 2012).

O mecanismo de inativação de microrganismos pelo ácido acético é compreendido a partir do momento em que este entra na célula por um processo de difusão facilitada através da membrana, e quando o pH intracelular é maior que o do extracelular, se dissociam, liberando prótons acidificando o meio intracelular. (LUDOVICO et al., 2001; RICKE, 2003; MOLLAPOUR e PIPER, 2007; HUANG e CHEN, 2011). Para manter o pH, as células gastam considerável quantidade de energia, o que provoca alteração da permeabilidade da membrana e redução da força promotora (RAYBAUDI- MASSILA et al., 2009; HUANG e CHEN, 2011).

Além dos ácidos orgânicos, dentre os sanitizantes existentes no mercado, destaque-se o ácido peracético, que é um composto com excelente ação contra bactérias gram-positivas, gram-negativas, fungos filamentosos e leveduras, vírus e esporos bacterianos (ANDRADE, 2008). O ácido peracético é obtido pela reação entre ácido acético com peróxido de hidrogênio na presença de ácido sulfúrico, é um agente oxidante forte, com potencial oxidativo maior que o do cloro e do dióxido de cloro. Sua ação não é afetada pela temperatura, pH e pela presença de matéria orgânica no meio (KITIS, 2004; ANDRADE, 2008), por esse motivo é eficiente no processamento de vegetais (ARTÉS et al., 2009).

O ácido peracético apresenta vantagens como não produzir compostos tóxicos ou carcinogênicos quando em contato com proteínas, possuir baixo impacto ambiental, devido aos produtos de decomposição serem o ácido acético e a água, e ainda dificultar a formação de biofilmes (ANDRADE, 2008; SREY et al., 2013).

O mecanismo de inativação do ácido peracético é baseado na liberação de oxigênio ativo, precursor da oxidação de ligações sulfidrilas de proteínas, enzimas e outros metabólitos essenciais para a célula, e redução do pH intracelular (KITIS, 2004).

O *Food and Drug Administration* (FDA) aprova a utilização de ácido peracético na etapa de sanitização de produtos vegetais em concentrações de até 80 mg.L<sup>-1</sup> (RUÍZ-CRUZ et al., 2007).

## 2.4 Surfactantes

Surfactantes são moléculas com propriedades tensoativas que possuem em sua estrutura química grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, que determinam funções como adsorção, formação de micelas, ação espumante ou antiespumante, capacidade molhante, solubilização e detergência. Estes compostos podem ser obtidos quimicamente (surfactantes sintéticos) ou por síntese biológica (biossurfactantes). Os surfactantes são classificados em catiônicos, aniônicos, não-iônicos e zwitteriônicos, de acordo com a carga do grupo hidrofílico da molécula (CHRISTOFI e IVSHINA, 2002; ANDRADE, 2008; RIZZATTI e ZANETTE, 2009; CHABBA et al., 2015).

O mecanismo de ação do surfactante é descrito pela interação da parte hidrofílica da molécula com a fase aquosa por meio de forças do tipo dipolo-dipolo e a outra parte hidrofóbica se liga a fase orgânica. Tal fenômeno faz com que a região de maior estabilidade da molécula tensoativa seja na interface entre os dois compostos. Este fato é de grande importância para o procedimento de higienização, que para ser eficiente exige o contato entre os agentes de limpeza e os resíduos a serem removidos (ANDRADE, 2008; TOLEDO et al., 2014).

Por apresentar alta tensão superficial, equivalente a  $72 \text{ mJ.m}^{-2}$ , a água não molha bem a superfície. Essa tensão deve ser diminuída por volta de  $36 \text{ mJ.m}^{-2}$  para otimizar o contato entre o surfactante e o resíduo a ser removido (WOODS, 2004, ANDRADE, 2008). Essa redução da tensão superficial da água é possível com o uso de tensoativos. Estes compostos são caracterizados pela capacidade de alterar propriedades superficiais e interfaciais de um líquido, e permitem a formação de agregados chamados micelas. A concentração mínima na qual se inicia formação de micelas é definida como Concentração Micelar Crítica (CMC), sendo esta importante característica do surfactante, pois, ao atingir o CMC o valor da tensão interfacial é mínimo (BARROS et al., 2007, ANDRADE, 2008).

De maneira geral, os tensoativos são: i) solúveis em água fria; ii) ativos em concentrações muito baixas, podendo níveis de 0,1% diminuir a tensão superficial da água em torno de 50%; iii) indiferentes à dureza da água, à exceção dos sabões; iv) não formam precipitados; v) atuam em diferentes pH; vi) em alguns casos, são bactericidas; e vii) não são corrosivos às superfícies (ANDRADE, 2008).

Dentre os surfactantes tem-se o dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DBSS), tensoativo aniônico e biodegradável (ANDRADE, 2008).

Surfactantes podem ser muito eficientes, possuem a capacidade de agir em superfícies a tal ponto de causar o rompimento das interações dessas com os microrganismos e, assim, remover patógenos mais rapidamente. Este processo pode apresentar variação de acordo com a composição química da superfície do produto e a interação química com o microrganismo (RAIDEN, 2002).

Diversos trabalhos demonstram a eficiência de surfactantes na higienização de maçã (ROCHA et al., 2010), alface (COSTA et al., 2012) e tomate cereja (WANG et al., 2013).

## **2.5 Ultrassom**

O ultrassom é definido como ondas sonoras com frequência que excede a capacidade de audição humana (> 20 kHz) (KNORR et al., 2011).

A aplicação do ultrassom gera ondas sonoras de intensidade e amplitude específicas, dependendo da frequência operacional, e pode ser classificado em duas categorias principais, o de baixa potência (> 100 kHz) e o de alta potência (de 20 a 100 kHz), ambos os quais têm sido utilizados na indústria de alimentos (SANGO et al., 2014).

Tem-se usado o ultrassom de baixa potência para avaliar as propriedades físico-químicas dos produtos alimentares, tais como a composição e estrutura, e outras avaliações de controle de qualidade (DEMIRDÖVEN e BAYSAL 2008; AWAD et al., 2012), enquanto o ultrassom de alta potência tem sido aplicado em processos de cristalização, emulsificação, secagem, processos de congelamento, inativação de enzimas e inativação de microrganismos durante os tratamentos de higienização (ARZENI et al., 2012; SANGO et al., 2014).

A aplicação de ultrassom requer a presença de uma fase líquida, para isso há ultrassom de banhos ou sondas ultrassônicas de imersão (AWAD et al. 2012; SANGO et al., 2014)

Durante cavitação acústica, gerada por altas potências, ondas longitudinais são criadas, e estas causam áreas de compressão e expansão alternada. No ciclo de expansão, pequenas bolhas em meio líquido tendem a crescer devido à redução



na pressão local abaixo da pressão de vapor do líquido. Na fase de compressão, a área de superfície da bolha é reduzida. Durante estes movimentos alternados pode ocorrer implosão das bolhas, gerando zonas de alta temperatura (até 5000 °C) e pressão elevada (até 1000 atm) (PATIST e BATES 2008, MUKHOPADHYAY e RAMASWAMY, 2012).

Durante a implosão podem ser formados radicais livres, que possuem poder oxidativo e causam danos no DNA de microrganismos, por meio de rupturas e fragmentação ao longo de sua extensão (GOGATE e KABADI, 2009; SÃO JOSÉ et al., 2014b)

O processo de sanitização pode ser intensificado pelo ultrassom devido ao aumento a difusão de soluções antimicrobianas na membrana celular. Este fenômeno pode ser explicado pela implosão das bolhas gerar microjatos, que podem causar danos a membrana celular (KNORR et al., 2004; LAMMINEN et al., 2004, GOGATE e KABADI 2009, SANGO et al., 2014).

A propagação das ondas também provoca um regime de turbulência no meio aquoso, gerando correntes fluídicas que promovem maior transferência de energia na forma de calor (LEGAY et al. 2011).

A resistência de diferentes microrganismos depende de muitos fatores tais como as propriedades do meio, o tempo, a intensidade do tratamento, da temperatura e do pH (CHANDRAPALA et al. 2012).

A intensa pressão gerada pela cavitação pode contribuir para a penetração de oxidantes químicos através da membrana celular e o processo de cavitação auxilia na desagregação de microrganismos, o que culmina no aumento da eficiência do sanitizante (GUERRERO et al., 2001; GIL et al., 2009; GOGATE e KABADI, 2009; SANGO, et al. 2014).

Vários trabalhos avaliaram a eficiência do ultrassom isolado ou combinado com sanitizantes em microrganismos patogênicos e deterioradores (CAO et al., 2010; SAGONG et al., 2011; SAGONG et al., 2011; ADAY e CANER, 2013; ADAY et al., 2013; ADAY e CANER, 2014; SÃO JOSÉ et al. 2014a; SÃO JOSÉ e VANETTI, 2015; SÃO JOSÉ et al. 2015) em biofilmes (OULAHAL-LAGSIR et al. 2003; OULAHAL et al. 2007) e esporos (GORMAN et al. 1990; RASO et al. 1998; Ha e Ha, 2012; SAGONG et al., 2013; FERRARIO et al., 2015).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivar Oso Grande foram obtidas do município de Santa Maria de Jetibá, região Serrana do estado do Espírito Santo durante o período de junho a novembro de 2015. Estes foram colhidos, selecionados, transportados em caixas isotérmicas até os laboratórios de Microbiologia de Alimentos e Química de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo e foram mantidas à  $7 \pm 1$  °C por no máximo 24h antes do início das análises. Os frutos foram selecionados antes das análises, descartando-se os danificados, retirados a sépala e o pedicelo, lavados, e após a aplicação dos tratamentos (Tabela 1) os morangos foram acondicionados em embalagem de polietileno tereftalato e armazenados sob refrigeração  $8 \pm 1$  °C (BRASIL, 2007).

#### 3.1 Procedimentos de sanitização

Na Tabela 1 encontram-se os tratamentos aplicados no presente estudo. Cada tratamento foi aplicado em 800 gramas de morango por um tempo de 5 minutos utilizando 1 L de solução sanitizante a  $7 \pm 1$  °C. Foi utilizado o ultrassom de banho modelo Soniclean 15 (Sanders Medical®, Minas Gerais, Brasil) com frequência de 40 kHz e potência de 500 W. Para o tratamento com ácido acético foi utilizado vinagre comercial, que possui 4% de ácido acético em sua composição. O tratamento controle consistiu na lavagem dos morangos em água potável.

Tabela 1: Tratamentos testados nos morangos durante 5 minutos à  $7 \pm 1$  °C

Tratamento	Concentração
Sem sanitização (controle)	-
Água esterilizada	-
Ácido acético	800 mg.L <sup>-1</sup>
Dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DBSS)	1200 mg.L <sup>-1</sup>
Ácido peracético	40 mg.L <sup>-1</sup>
Ultrassom 40 kHz (US)	-
Ácido acético + (US 40 kHz)	800 mg.L <sup>-1</sup>
Dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DBSS) + (US 40 kHz)	1200 mg.L <sup>-1</sup>
Ácido peracético + (US 40 kHz)	40 mg.L <sup>-1</sup>

### 3.2 Avaliação do pH das soluções de sanitização dos morangos

O pH das soluções sanitizantes foram determinadas de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (ADOLFO LUTZ, 2005), foi utilizado pHmetro digital modelo mPA-210, marca TecnoPON (São Paulo, Brasil).

### 3.3 Avaliação da microbiota natural contaminante dos morangos

Os procedimentos empregados nessa etapa do trabalho foram realizados de acordo com a metodologia da *American Public Health Association* (APHA, 2001), descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Foram determinadas as contagens de mesófilos aeróbios, coliformes totais, *Escherichia coli*, fungos filamentosos e leveduras e bactérias lácticas. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de morango (UFC.g<sup>-1</sup>).

Amostras de 25 gramas foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1%. A homogeneização foi feita utilizando *Stomacher* (Marconi®, Piracicaba, São Paulo) por 1 min. Logo após foram realizadas diluições decimais, seguidas de plaqueamento (DOWNES e ITO, 2001).

### **3.3.1 Contagem de mesófilos aeróbios**

A determinação de mesófilos aeróbios das amostras foi realizada pela técnica de plaqueamento por profundidade utilizando o ágar padrão para contagem (Himedia®, Mumbai, Índia), em que 1 mL das diluições apropriadas foram transferidas para placas de Petri, em seguida aproximadamente 15 mL de ágar padrão para contagem (PCA) no estado líquido (aproximadamente 45 °C) foram adicionados nas placas. Por fim, foi feita a homogeneização da amostra na placa e incubação destas invertidas em estufas bacteriológicas a 35 °C / 48 horas (DOWNES e ITO, 2001).

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

Para enumeração de fungos filamentosos e leveduras, foi utilizada a técnica de plaqueamento em superfície. Foi inoculado 0,1 mL, das diluições apropriadas sobre a superfície do meio Ágar Batata Dextrose (BDA) (Himedia®, Mumbai, Índia) acidificado com 1% ácido tartárico (Sigma-Aldrich®, Estados Unidos) a 10% (pH entre 3,5 e 3,7). 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<sup>-1</sup> (DOWNES e ITO, 2001).

### **3.3.3 Contagem de coliformes totais e *Escherichia coli***

Placas Petrifilm EC® (3M®, Maplewood, Estados Unidos) foram inoculadas com alíquotas de 1,0 mL das diluições apropriadas, seguindo as instruções do fabricante. Após incubação das placas a 35 °C por 24 h 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*.

### 3.3.4 Contagem de bactérias lácticas

A contagem de bactérias lácticas foi realizada por plaqueamento em profundidade utilizando ágar MRS (Merck®, Darmstadt, Alemanha). As placas foram acondicionadas em jarros de anaerobiose e incubadas à 35 °C por 72 h (SILVA et al., 2010).

### 3.4 Avaliação da eficiência na inativação / remoção de células de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* intencionalmente adicionadas em morangos

Esta etapa foi realizada de acordo com São José (2013), e teve como objetivo avaliar o potencial de remoção / inativação dos santizantes (5 minutos à  $7 \pm 1$  °C) sobre *S. enterica* pelo teste desafio, em que este microrganismo foi adicionado intencionalmente nos morangos.

#### 3.4.1 Preparo das amostras

Os morangos foram selecionados e em seguida lavados em água destilada esterilizada antes de serem inoculadas com células de *S. enterica* previamente ativas. A cultura de *S. enterica* foi proveniente do isolamento de hortaliças do município de Alegre / ES, e foi obtida do estoque de cultura do laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da UFES.

#### 3.4.2 Preparo do inóculo

A cultura foi mantida em tubos *Eppendorf* de 1 mL contendo BHI (Himedia®, Mumbai, Índia) e glicerol à temperatura de - 80 °C e foi feita sua ativação por duas repicagens consecutivas em BHI e incubada à 35 °C por 24 h até atingir a população entre  $10^8$  e  $10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

### 3.4.2 Inoculação dos morangos

Foram colocados 200 g de morango em sacos de polietileno previamente esterilizados e em seguida foi adicionado o inóculo (10 mL) juntamente com 500 mL de água peptonada 0,1%, obtendo-se uma solução com aproximadamente  $10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup> de células de *S. enterica*. O saco plástico, contendo o inóculo e a amostra, foi levemente agitado durante 5 min. Os morangos foram mantidas em contato com a suspensão de células por 60 min à  $25 \pm 1$  °C.

A suspensão de células foi drenada e os morangos contaminados com *S. enterica* foram colocados em sacos plásticos esterilizados e incubados a 25 °C por 24 h para permitir maior adesão da bactéria.

Posteriormente, 200 g das amostras contaminadas foram submetidas aos tratamentos descritos na Tabela 1 em que as amostras foram imersas em 500 mL das soluções de sanitização por 5 min a  $7 \pm 1$  °C.

### 3.5 Quantificação das células de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* aderidas

Logo após cada tratamento, 25 g de amostras de morango foram transferidos para sacos de polietileno esterilizados, contendo 225 mL de água peptonada 0,1% e então, homogeneizados em *stomacher* 1 min. Em seguida, foram retiradas alíquotas de 1 mL para preparar as diluições decimais a serem plaqueadas pela técnica de espalhamento em superfície em ágar Hecktoen (Himedia®, Mumbai, Índia). Após a incubação por 18 a 24 h, a 37 °C foi feita a contagem das colônias e o resultado foi expresso em UFC.g<sup>-1</sup> (DOWNES e ITO, 2001).

Foi realizada ainda análise da solução de sanitização, utilizando a mesma técnica e meio de cultura descritos anteriormente, após a sanitização para verificar se o tratamento aplicado promoveu remoção ou inativação das células de *S. enterica* e o resultado foi expresso em UFC.mL<sup>-1</sup>.

### 3.6 Análises físico-químicas dos morangos

As análises físico-químicas do morango foram realizadas com a finalidade de determinar se os tratamentos modificaram ou não estas características. Foram

realizadas as análises de acidez total titulável (ATT), pH, teor de sólidos solúveis totais (SST), perfil de textura, cor instrumental, perda de massa e vitamina C.

### **3.5.1 Acidez total titulável**

A determinação de acidez total titulável foi realizada por titulometria de acordo com a metodologia da AOAC (2005) modificada, em que 5 gramas da amostra triturada foram homogeneizadas a 200 mL de água destilada em erlenmeyer e foram adicionadas 3 gotas da solução de fenoftaleína. A titulação foi realizada com a solução de hidróxido de sódio  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  sob agitação constante, até a coloração rósea persistir por 30 segundos. Os resultados foram expressos em miligramas de ácido cítrico por 100 mg de polpa de morango.

### **3.5.2 pH**

O pH foi determinado em pHmetro digital modelo mPA-210, marca TecnoPON (São Paulo, Brasil), com inserção do eletrodo diretamente na amostra. Foram pesadas 10 gramas da amostra e estas foram homogeneizadas a 100 mL de água destilada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

### **3.5.3 Teor de sólidos solúveis totais**

O teor de sólidos solúveis foi determinado pelo método de refratometria, utilizando refratômetro de bancada Modelo HI 96804, HANNA® (Woonsocket, Estados Unidos). As leituras foram realizadas utilizando 3 gotas da polpa de morango. Os resultados foram expressos em °Brix (ADAY e CANER, 2014).

### **3.5.4 Cor instrumental**

A cor instrumental dos morangos foi realizada pela leitura direta de reflectância do sistema de coordenadas retangulares “L\*” (luminosidade), “a\*” (intensidade de vermelho e verde), “b\*” (intensidade de amarelo e azul), c\* (cromaticidade ou saturação de cor) e h (ângulo de tonalidade cromática)

empregando-se a escala de cor CIELAB, com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, utilizando-se colorímetro KONICA MINOLTA® modelo: CM-5 (Nova Jersey, Estados Unidos). E foi calculado o valor de  $\Delta E^*$  de acordo com Ramos e Gomide (2007).

### **3.5.5 Perda de massa**

Foi determinada pela pesagem das bandejas em balança analítica, Marconi® modelo 2014N (São Paulo, Brasil) contendo cada tratamento no tempo inicial de 0 dias e nos demais tempos (2, 5, 7 e 9 dias). A perda de massa para cada tempo foi calculado com base no peso inicial, e a perda no tempo de 0 dias foi considerada zero. Os resultados foram expressos em porcentagem de perda total (%).

### **3.5.6 Determinação do teor de vitamina C**

Essa análise foi realizada pelo método titulométrico com 2,6 diclorofenolindofenol de acordo com metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985) modificada.

Foram pesados 5 g de polpa de morango, os quais foram adicionados a um tubo juntamente com 5 mL de solução de extração (solução ácido metafosfórico – ácido acético), e em seguida estes foram misturados e centrifugados a 5000 rpm / 15 minutos.

Depois de realizar a centrifugação das amostras, foram retirados 2 mL de sobrenadante e foi adicionado a um balão de 25 mL e seu volume completado com água destilada. Em seguida, foram retirados 2 mL do diluído, e estes foram adicionados em um balão de 25 mL, sendo seu volume completado com água destilada.

Para a realização da titulação, foram retirados 2 mL do novo diluído e adicionados a um erlenmeyer juntamente com 5 mL de água destilada, sendo feita a titulação com solução de 2,6-diclorofenol-indofenol diluída com água destilada (1:10). O volume foi anotado e foi calculado o teor de vitamina C em mg de ácido ascórbico/ 100g da fruta.



### **3.5.7 Perfil de textura**

O perfil de textura dos morangos foi avaliado utilizando Analisador de Textura Brookfield®, modelo CT3 (São Paulo, Brasil). O analisador foi equipado com uma célula de carga de 10 kg, e foi utilizado o corpo de prova TA44. Os parâmetros de textura determinados foram firmeza, coesividade e adesividade. Para cada tratamento em cada tempo foram analisados 3 morangos e em cada fruto foram realizados 3 furos (ADAY e CANER; 2013,).

## **3.6 Análise sensorial dos morangos**

Os tratamentos com água e ácido peracético combinado com ultrassom foram selecionados para análise sensorial. Os testes foram realizados no laboratório de Análise Sensorial do CCA / UFES. Por envolver pesquisa com humanos o projeto foi submetido e aprovado por um comitê de ética (CAAE: 17560413.4.0000.5060 e número do parecer: 324.918).

### **3.6.1 Testes triangulares**

Foram realizados testes triangulares para verificar se existe diferença perceptível entre amostras controle de morangos (que foram lavadas apenas com água potável) e amostras sanitizadas com ácido peracético combinado com ultrassom. Um total de 41 avaliadores realizaram a sessão de testes triangulares para o objetivo proposto. Nestes testes, cada avaliador recebeu três amostras em estudo, sendo duas idênticas e uma diferente. A amostra diferente consistiu do morango sanitizado e as amostras idênticas corresponderam ao tratamento controle. Os avaliadores provaram as amostras e identificaram a amostra diferente. Os resultados dos testes foram analisados com uso de tabela própria para testes sensoriais triangulares (CHAVES, 2005).

### 3.6.2 Testes de aceitação

Amostras de morango sanitizados e a amostra controle foram submetidas ao teste de aceitação sensorial. Um total de 62 consumidores participaram da sessão de teste de aceitação. As amostras foram servidas em pratos descartáveis codificados, apresentadas de forma aleatória e monádica.

Cada julgador recebeu uma ficha contendo uma escala hedônica de nove pontos (variando de “gostei extremamente” a “desgostei extremamente”) para avaliar a aceitação global dos morangos.

Os resultados dos testes foram analisados por meio de ANOVA e teste de comparação de médias, para verificar diferença de aceitação dos morangos em relação aos tratamentos (REIS e MINIM, 2010).

### 3.7 Planejamento Experimental e Análise Estatística dos Dados

Para comparar o efeito dos diferentes tratamentos sobre a microbiota natural contaminante e características físico-químicas durante o período de armazenamento o experimento foi conduzido em esquema fatorial com delineamento em parcelas subdivididas, em que o tipo de sanitizante ou surfactante é a parcela e o tempo de armazenamento a sua subparcela. Foram um total de 9 parcelas (8 tratamentos: ácido acético 800 mg.L<sup>-1</sup> (Toscano®, Várzea Paulista, São Paulo, Brasil), ácido peracético 40 mg.L<sup>-1</sup> (Proxitane®, Paraná, Brasil) dodecilbenzeno sulfonato de sódio 1200 mg.L<sup>-1</sup> (Sigma-Aldrich®, Estados Unidos), todos os tratamentos anteriores combinados ao ultrassom (40 kHz, 500 W), somente ultrassom (40 kHz, 500 W), e 1 tratamento com água destilada esterilizada) e 1 tratamento sem sanitização (controle). Cada parcela foi subdividida em 5 parcelas (tempos de 0, 2, 5, 7 e 9 dias de armazenamento).

Para inativação / remoção de células de *S. enterica* inoculadas nos morangos o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo utilizados os mesmos tratamentos descritos anteriormente. A contagem deste microrganismo foi realizada nos morangos e nas soluções sanitizantes logo após a sanitização.

Para a análise sensorial dos morangos o experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, sendo utilizados apenas o tratamento lavado com água e o tratamento com ultrassom combinado ao ácido peracético durante 5 minutos a  $7 \pm 1$  °C.

Para analisar o efeito dos diferentes tratamentos sobre a microbiota natural contaminante e características físico-químicas durante o período de armazenamento, cada unidade experimental submetida a cada tratamento foi constituída de aproximadamente 800 g de morangos e para contagem de sanitização *S. enterica* foi 200 g.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software Genes® (Minas Gerais, Brasil). O experimento foi realizado com três repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan para variáveis qualitativas, e análise de regressão para quantitativas, a 5% de probabilidade. Foi realizado teste t para avaliar a significância dos parâmetros  $\beta$  da equação do modelo da regressão e foi calculado o coeficiente de determinação.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 pH das soluções sanitizantes

A solução de ácido acético obteve o menor valor se pH (Tabela 2), seguido pelo ácido peracético.

Tabela 2: Valores médios e desvio-padrão de pH das soluções utilizadas nos procedimentos de sanitização

Solução Sanitizante	Média $\pm$ desvio padrão*
Água	6,93 $\pm$ 0,04 b
Ácido acético	3,38 $\pm$ 0,01 d
DBSS	7,43 $\pm$ 0,03 a
Ácido peracético	3,87 $\pm$ 0,02 c

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ).

O pH tem efeito importante na inativação de microrganismos. Salleh-Mack e Roberts (2007) estudaram o efeito do pH sobre a inativação de *Escherichia coli* e observaram efeito significativo sobre a inativação com ultrassom (24 kHz / 9 min), em que o pH inferior reduziu significativamente a contagem deste microrganismo. Entretanto, no presente trabalho a solução de menor pH não foi a que proporcionou os melhores resultados.

### 4.2 Efeito dos tratamentos na microbiota natural contaminante dos morangos

Após a análise de dados das contagens de mesófilos aeróbios, fungos filamentos e leveduras e bactérias lácticas foi possível verificar que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos de sanitização para os três grupos de microrganismos estudados, o mesmo ocorre para os tempos de armazenamento, em que houve interação significativa entre os tempos ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3). Entretanto a interação entre estas fontes de variação não foi significativa ( $p > 0,05$ ), o que indica que ambas atuam de forma independente e devem ser estudadas separadamente,

ou seja, as alterações ou não entre cada tratamento ocorrem independentemente do tempo de armazenamento.

Tabela 3: Resumo da Análise de Variância (ANOVA) da contagem de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras e bactérias lácticas em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Variável	Fonte de variação	Grau de liberdade	Valor de F
Mesófilos aeróbios	Tratamento	8	9,21*
	Tempo	4	108,73*
	Interação	32	0,91 <sup>n.s.</sup>
Fungos filamentosos e leveduras	Tratamento	8	19,43*
	Tempo	4	94,9*
	Interação	32	0,67 <sup>n.s.</sup>
Bactérias lácticas	Tratamento	8	10,16*
	Tempo	4	148,09*
	Interação	32	1,17 <sup>n.s.</sup>

\* 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.

Após aplicação dos tratamentos de sanitização dos morangos, a contagem de mesófilos aeróbios foi reduzida entre 0,2 a 1,8 log de UFC.g<sup>-1</sup> em relação à contagem nos morangos não sanitizados.

As maiores reduções para contagem de mesófilos foram obtidas nos tratamentos com ácido peracético e ultrassom combinado com ácido peracético, que reduziram 1,4 e 1,8 log de UFC.g<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 2).

São José e Vanetti (2015) ao combinar o ultrassom (45 kHz) com ácido peracético a 40 mg.L<sup>-1</sup> por 10 minutos causaram uma redução de 4,1 log UFC.g<sup>-1</sup> para o número de bactérias mesófilas aeróbias em morangos, e o ácido peracético isolado 3,3 log de UFC.g<sup>-1</sup>. No presente trabalho foram encontradas reduções inferiores devido possivelmente ao menor tempo de sanitização, que foi de 5 minutos.

O tratamento com ultrassom combinado com ácido acético reduziu 0,9 log de UFC.g<sup>-1</sup> e foi maior ( $p < 0,05$ ) do que o ácido acético isolado, 0,3 log de UFC.g<sup>-1</sup>, o

que implica a potencialização do efeito sanitizante deste ácido orgânico quando combinado com ultrassom.

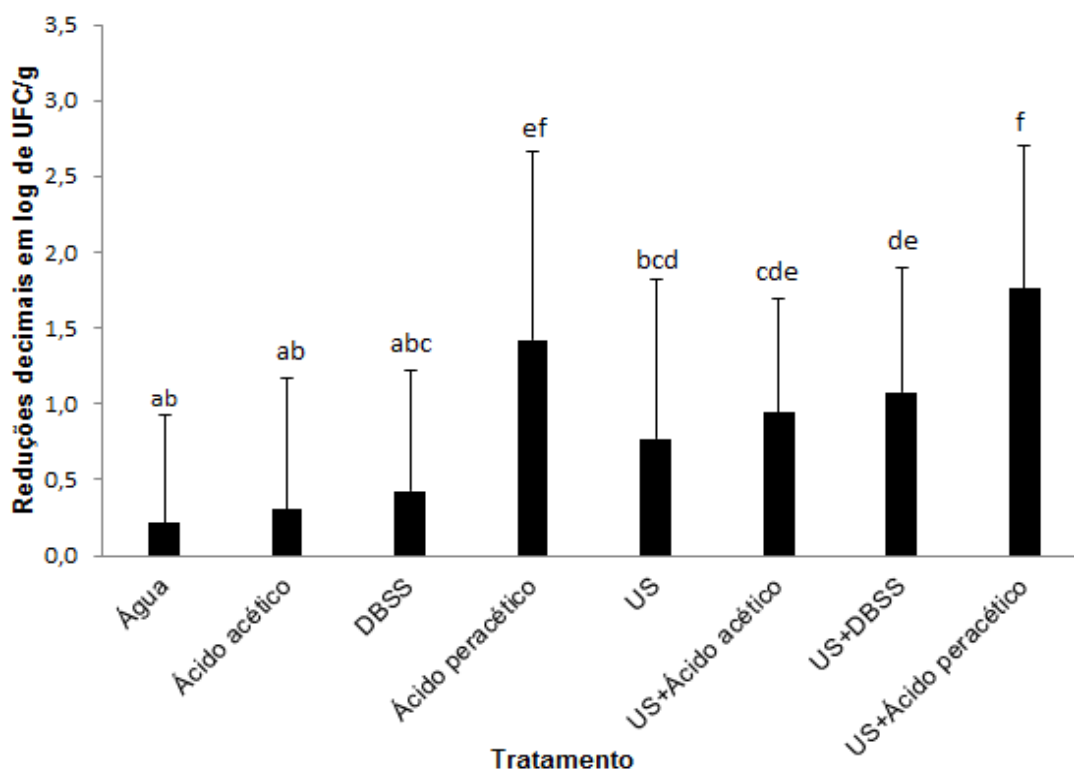


Figura 2: Reduções decimais da contagem de mesófilos aeróbios em relação ao tratamento controle (sem sanitização) em morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo teste de comparação de médias. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

O surfactante tem o efeito de diminuir a tensão interfacial de uma solução, por meio da redução das interações hidrofóbicas da superfície, que estão relacionados à adesão e formação de biofilmes (SAGONG et al., 2013). Além disso o ultrassom, devido a liberação de energia mecânica gerada pela cavitação (SANGO et al., 2014), facilita o contato do surfactante com a superfície.

O tratamento com ultrassom combinado com DBSS reduziu 1,1 log de UFC.g<sup>-1</sup> e foi maior do que o DBSS isolado, 0,4 log de UFC.g<sup>-1</sup>, o que indica que o ultrassom também potencializou o efeito deste surfactante.

O ultrassom isolado foi capaz de reduzir 0,8 log de UFC.g<sup>-1</sup>, não diferindo significativamente ( $p > 0,05$ ) dos tratamentos combinados com ácido acético e DBSS, com isso pode ser sugerido que ultrassom possui potencial de substituir

esses dois compostos químicos na etapa de sanitização de morangos para a contagem de mesófilos aeróbios. Segundo Yusaf e Al-Juboori (2014) o principal mecanismo de inativação do ultrassom é a formação de poros e / ou ruptura da membrana celular devido ao surgimento de uma força de cisalhamento, causada pelo fenômeno de cavitação. São José e Vanetti (2015) ao utilizarem somente ultrassom (45 kHz) em morangos durante 10 minutos obtiveram redução decimal de 1,2 log de UFC.g<sup>-1</sup> na contagem de mesófilos aeróbios.

Nascimento e Silva (2010) obtiveram reduções de 1,25 log de UFC.g<sup>-1</sup> utilizando hipoclorito de sódio 200 mg.L<sup>-1</sup> e 1,55 log de UFC.g<sup>-1</sup> com dicloroisocianurato de sódio 200 mg.L<sup>-1</sup> durante 15 minutos, em relação a contagem de mesófilos aeróbios em morangos. São José e Vanetti (2015) obtiveram reduções decimais de 0,7 e 1,4 log de UFC.g<sup>-1</sup> com dicloroisocianurato de sódio 50 e 200 mg.L<sup>-1</sup> durante 10 minutos, respectivamente, sobre a contagem de mesófilos aeróbios em morangos. Ao considerar as reduções obtidas nos trabalhos mencionados, o ácido peracético tem potencial para substituir os compostos clorados, pois obteve melhor efeito em tempo menor de sanitização.

Em relação a contagem de fungos filamentosos e leveduras, após os tratamentos de sanitização foram obtidas reduções entre 0,2 e 2,0 log de UFC.g<sup>-1</sup>.

Todos os tratamentos combinados com ultrassom obtiveram mais que uma redução decimal na contagem de fungos filamentosos e leveduras (Figura 3).

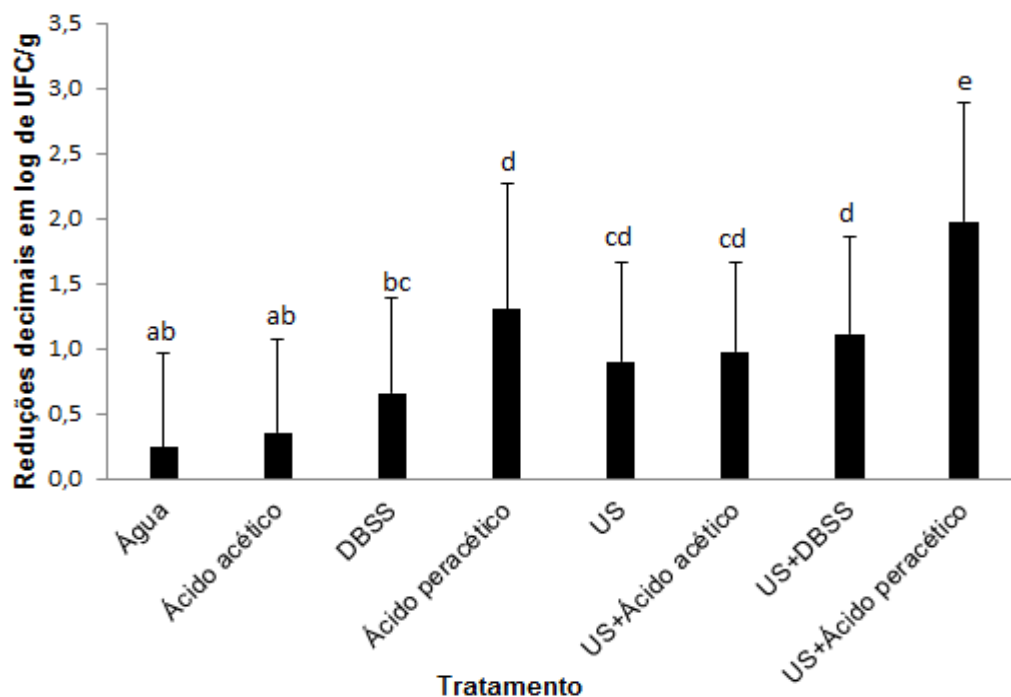


Figura 3: Reduções decimais da contagem de fungos filamentosos e leveduras em relação ao tratamento controle (sem sanitização) em morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

O tratamento mais eficiente foi ultrassom combinado com ácido peracético que reduziu  $2,0 \log$  de  $\text{UFC.g}^{-1}$ , enquanto o ácido peracético reduziu  $1,3 \log \text{UFC.g}^{-1}$ . Resultados semelhantes foram encontrados por Yang et al. (2011) que afirmaram que o ultrassom associado a um sanitizante ácido foi mais eficaz na inibição da deterioração por fungos em pêsego durante o armazenamento do que o tratamento com ácido isolado.

São José e Vanetti (2015) ao combinarem o ultrassom (10 minutos, 45 kHz) com ácido peracético a  $40 \text{ mg.L}^{-1}$  obtiveram uma redução de  $4 \log \text{UFC.g}^{-1}$  na população de fungos filamentosos e leveduras em morangos, enquanto o ácido peracético isoladamente obteve  $2,9 \log$  de  $\text{UFC.g}^{-1}$ . No presente trabalho foram encontradas reduções inferiores devido possivelmente ao menor tempo de sanitização, que foi de 5 minutos.

O ultrassom combinado com ácido acético reduziu  $1,0 \log$  de  $\text{UFC.g}^{-1}$  e foi maior ( $p < 0,05$ ) do que o ácido acético isolado,  $0,4 \log$  de  $\text{UFC.g}^{-1}$ , o que implica a



potencialização do efeito sanitizante deste ácido orgânico quando combinado com ultrassom na redução da contagem de fungos filamentosos e leveduras em morangos.

O tratamento com ultrassom combinado ao DBSS reduziu 1,1 log de UFC.g<sup>-1</sup> de fungos filamentosos e leveduras e foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) do que o DBSS isolado, 0,7 log de UFC.g<sup>-1</sup>, o que indica que o ultrassom potencializa o efeito deste surfactante. Sagong et al. (2013) estudaram o efeito do surfactante Tween 20 a 0,1% combinado com ultrassom 40 kHz em esporos de *Bacillus cereus* presentes em cenoura e alface durante 5 minutos, e obtiveram reduções de 2,49 e 2,22 log UFC.g<sup>-1</sup>. Além disso este tratamento não alterou as características físico-químicas do alface.

O ultrassom isolado foi capaz de reduzir 0,9 log de UFC.g<sup>-1</sup> da contagem de fungos filamentosos e leveduras, não diferindo significativamente ( $p > 0,05$ ) dos tratamentos com ácido peracético, ultrassom combinado com ácido acético e combinado com DBSS. Com isso é possível verificar que ultrassom possui potencial para ser substituído destes dois compostos químicos na redução da contagem de fungos filamentosos e leveduras em morangos.

São José e Vanetti (2015), ao utilizar ultrassom isolado (45 kHz) em morangos durante 10 minutos, obtiveram redução decimal de 1,3 log de UFC.g<sup>-1</sup> na contagem de fungos filamentosos e leveduras. As maiores reduções, tanto para mesófilos quanto para fungos e leveduras, encontradas por esses pesquisadores podem estar associadas ao maior tempo de tratamento utilizado.

Nascimento e Silva (2010) obtiveram reduções de 1,20 log de UFC.g<sup>-1</sup> utilizando hipoclorito de sódio 200 mg.L<sup>-1</sup> e 1,38 log de UFC.g<sup>-1</sup> com dicloroisocianurato de sódio 200 mg.L<sup>-1</sup> durante 15 minutos, em relação a contagem de fungos filamentosos e leveduras em morangos. São José e Vanetti (2015) obtiveram reduções decimais de 1 log de UFC.g<sup>-1</sup> com dicloroisocianurato de sódio 50 mg.L<sup>-1</sup> associado ao ultrassom e dicloroisocianurato de sódio 200 mg.L<sup>-1</sup> e 2,1 log de UFC.g<sup>-1</sup> com dióxido de cloro 10 mg.L<sup>-1</sup> durante 10 minutos, sobre a contagem de fungos filamentosos e leveduras em morangos. Ao considerar as reduções obtidas nos trabalhos mencionados, o ácido peracético tem potencial para substituir os compostos clorados, pois teve melhor efeito em tempo menor de sanitização.

Em relação à contagem de bactérias lácticas, após os tratamentos de sanitização foram obtidas reduções entre 0,4 e 2,0 log de UFC.g<sup>-1</sup>. Todos os tratamentos combinados com ultrassom obtiveram mais que uma redução decimal na contagem de bactérias lácticas (Figura 4).

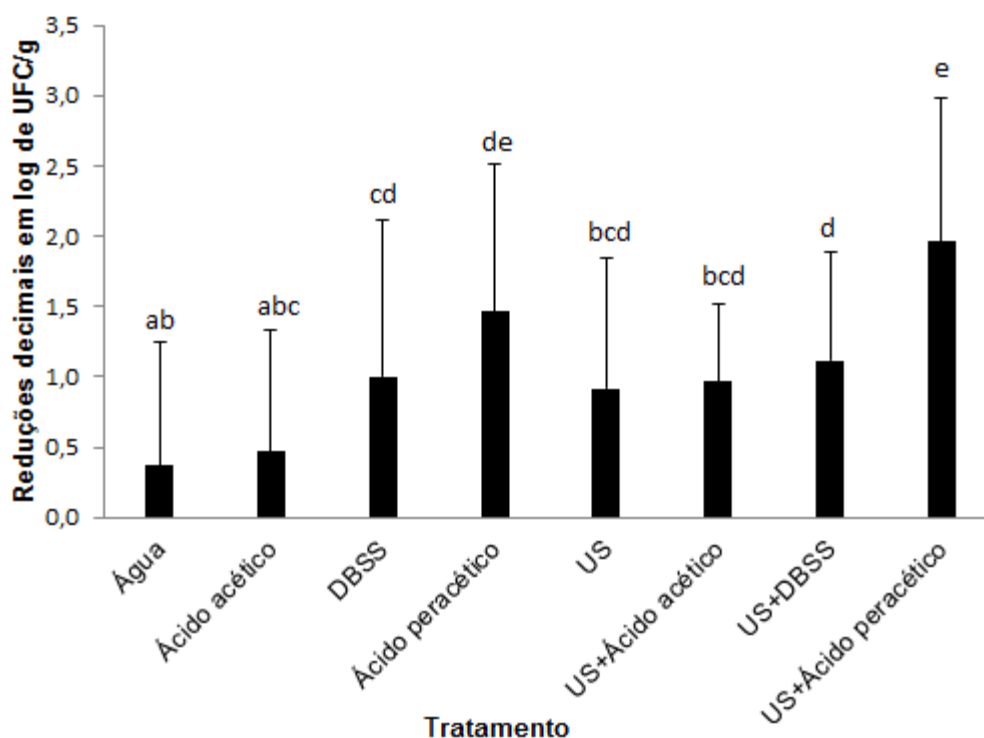


Figura 4: Reduções decimais da contagem de bactérias lácticas em relação ao tratamento controle (sem sanitização) em morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C. Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

As maiores reduções para contagem de bactérias lácticas foram obtidas nos tratamentos com ácido peracético e ultrassom combinado com ácido peracético, que reduziram 1,5 e 2,0 log de UFC.g<sup>-1</sup>, respectivamente.

O ultrassom combinado com ácido acético reduziu 1,0 log de UFC.g<sup>-1</sup> e não diferiu significativamente ( $p > 0,05$ ) do ácido acético isolado, 0,5 log de UFC.g<sup>-1</sup>, o que implica a não potencialização do efeito sanitizante deste ácido orgânico quando combinado com ultrassom para redução de bactérias lácticas.

O tratamento com ultrassom combinado ao DBSS reduziu 1,1 log de UFC.g<sup>-1</sup> e não diferenciou significativamente ( $p > 0,05$ ) do DBSS isolado, 1,0 log de UFC.g<sup>-1</sup>, o que indica que o ultrassom também não potencializou o efeito deste surfactante.

O ultrassom não foi capaz de potencializar significativamente nenhum composto químico na inativação de bactérias lácticas, este fato pode ser explicado devido às bactérias gram-positivas e em formas de cocos sofrerem menos efeitos da cavitação (VILLAMIEL e JONG, 2000; ANANTA et al., 2005; CHANDRAPALA et al., 2012), o que resulta em um efeito aditivo não significativo nos tratamentos combinados com ultrassom sobre as bactérias lácticas.

Em estudo realizado por São José (2013), a autora obteve redução de 2,14 log de UFC.g<sup>-1</sup> de bactérias lácticas em tomate cereja utilizando ultrassom combinado ao ácido láctico 1%.

Não foram detectados coliformes totais e *Escherichia coli* nos morangos. Estes resultados estão de acordo com a RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Ao analisar as contagens de microrganismos durante o tempo de armazenamento, o modelo linear ajustou-se adequadamente aos dados ( $p < 0,05$ ) descrevendo o comportamento crescente dos valores das contagens de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras e bactérias lácticas (Tabela 4). Desta forma pode-se afirmar que a temperatura de 8 °C de armazenamento não impede a multiplicação da microbiota natural contaminante dos morangos.

Tabela 4: Valores dos coeficientes angulares, lineares e de determinação para as equações das contagens de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, bactérias lácticas em morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Tratamento	Coefficiente angular	Coefficiente linear	r <sup>2</sup>
Mesófilos aeróbios	0,24	4,65	0,98
Fungos filamentosos e leveduras	0,24	4,87	0,99
Bactérias lácticas	0,28	4,29	0,95

As bactérias lácticas tiveram a maior taxa de multiplicação, comparado aos demais microrganismos, como indica o valor do coeficiente angular da reta que foi de 0,28, enquanto os demais microrganismos obtiveram 0,24. Bactérias lácticas se

desenvolvem bem em meio ácido, pH baixo e rico em micronutrientes (COSTA, 2006; SALMINEN et al., 2004), por apresentar estas características o morango torna-se meio propenso para a multiplicação destes microrganismos.

Cao et al. (2010) ao avaliarem o efeito do ultrassom em morangos verificaram que o ultrassom 40 kHz manteve a contagem de mesófilos aeróbios e fungos filamentosos menores durante o tempo de armazenamento de 8 dias quando comparado as frequências de 0, 25, 28 e 59 kHz.

#### **4.3 Efeito dos tratamentos sobre *Salmonella enterica* subsp. *enterica* aderidas em superfície de morangos**

A contagem inicial de células de *S. enterica* foi de 6,8 log de UFC.g<sup>-1</sup>, o que indica que esta bactéria possui capacidade de aderir na superfície de morangos.

Após aplicação dos tratamentos de sanitização dos morangos, a contagem de *S. enterica* foi reduzida entre 0,5 a 2,1 log de UFC.g<sup>-1</sup> em relação à contagem nos morangos não sanitizados. As características topográficas da superfície dos morangos (MAPA, 2011) propiciam a adesão das células microbianas e possível formação de biofilmes, o que dificulta o efeito dos sanitizantes (AZEVEDO e CERCA, 2012).

Atualmente têm sido discutido outro possível fenômeno, que diz respeito à internalização de patógenos em frutas e hortaliças que pode ocorrer por meio de injúrias, raízes e estômatos. Microrganismos internalizados podem estar protegidos dos efeitos de lavagem e sanitização, e bactérias como *Salmonella* podem ser armazenadas dentro do fruto, sem evidência de deterioração (HOU et al., 2013; BARTZ et al., 2015).

As condições da superfície do morango facilitam o surgimento de injúrias imperceptíveis, o que contribui para o processo de internalização de microrganismos. Além disso, as condições de inoculação utilizadas neste trabalho possivelmente favoreceram a internalização do patógeno no fruto, principalmente pelo processo de difusão.

A Figura 5 apresenta os resultados da redução na contagem de *S. enterica*, intencionalmente adicionada ao morango, após a aplicação dos tratamentos.

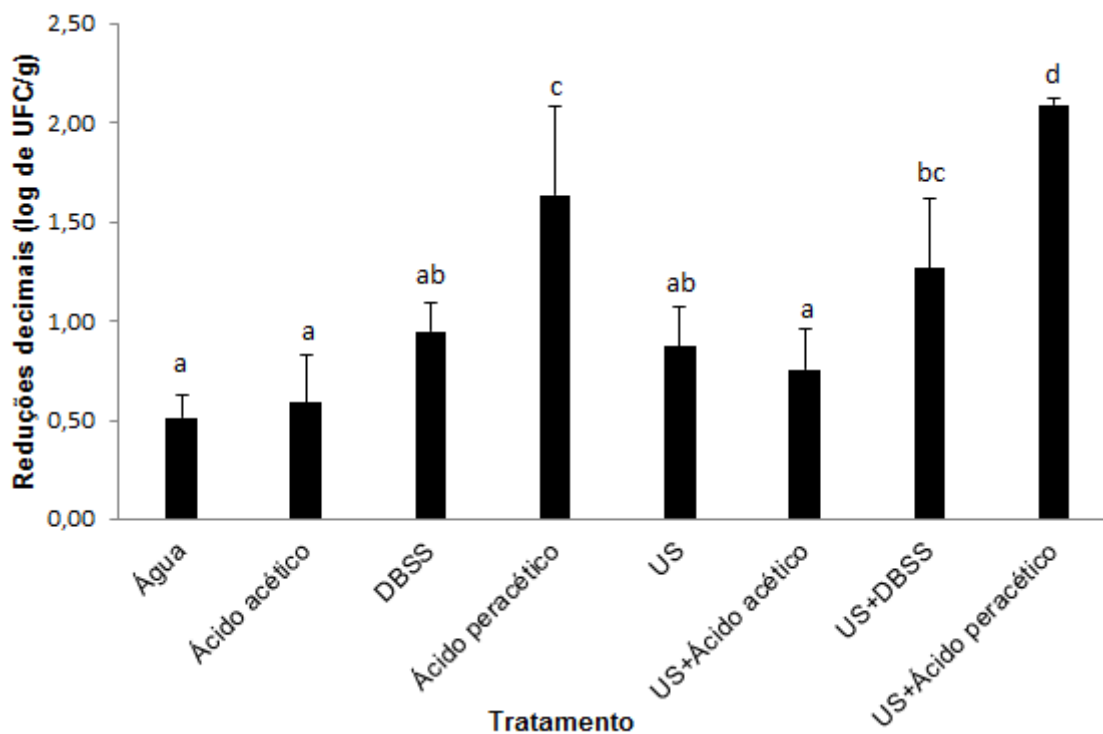


Figura 5: Reduções decimais da contagem de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* aderidas em superfície de morangos em relação ao tratamento controle (sem sanitização). Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) entre si. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

O tratamento mais eficiente foi ultrassom combinado com ácido peracético que reduziu 2,1 log de UFC.g<sup>-1</sup>, enquanto o ácido peracético reduziu 1,6 log UFC.g<sup>-1</sup>. Diversos trabalhos (GOGATE e KABADI, 2009, SAGONG et al., 2011, SÃO JOSÉ e VANETTI, 2012) afirmam que o ultrassom possui capacidade de auxiliar o sanitizante a penetrar locais como dobras e ranhuras de superfícies de frutas e hortaliças e camadas hidrofóbicas, e além disso a contínua e intensa pressão gerada durante o processo de cavitação auxilia na penetração da solução sanitizante através da membrana celular do microrganismo, assim potencializa o efeito da sanitização.

São José e Vanetti (2012) sanitizaram por 10 minutos tomates cereja com células de *Salmonella enterica* Typhimurium aderidas intencionalmente e obtiveram reduções decimais de 2,73 log de UFC.g<sup>-1</sup> para ácido peracético e 3,88 log de UFC.g<sup>-1</sup> para ultrassom (45 kHz) combinado com ácido peracético. As maiores

reduções encontradas por esses pesquisadores podem estar associadas ao maior tempo de tratamento utilizado.

Sagong et al. (2011) estudaram a inativação de *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, e *Listeria monocytogenes* em alface com diferentes tempos de sanitização utilizando ácidos orgânicos combinados com ultrassom e afirmaram que tratamentos muito longos podem alterar as características físico-químicas e reológicas de hortaliças. Esses mesmos autores, afirmaram que a redução da contagem destes patógenos ocorreu principalmente nos 5 primeiros minutos de tratamento, e não aumentou significativamente após este tempo.

O ácido acético e o DBSS combinados com ultrassom obtiveram reduções de 0,8 e 1,3 log de UFC.g<sup>-1</sup> respectivamente, não apresentando diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos tratamentos isolados, 0,6 e 0,9 log de UFC.g<sup>-1</sup>, respectivamente.

O ultrassom isolado obteve redução de 0,9 log de UFC.g<sup>-1</sup>, não diferindo significativamente do ácido acético (0,6 log de UFC.g<sup>-1</sup>), ácido acético combinado com ultrassom, (0,8 log de UFC.g<sup>-1</sup>) e o DBSS (0,9 log de UFC.g<sup>-1</sup>). Todas estas reduções abaixo de 1,0 log de UFC.g<sup>-1</sup> podem ser explicadas devido a possível internalização das células de *S. enterica*, que dificultam o acesso do sanitizante ao patógeno.

#### **4.4 Efeito dos tratamentos sobre *Salmonella enterica* subsp. *enterica* presentes nas soluções sanitizante após a sanitização**

O tratamento com ácido peracético combinado com ultrassom e ácido peracético promoveram máxima inativação das células de *S. enterica* possíveis de serem quantificadas pela técnica utilizada. O que demonstra que o ácido peracético é um sanitizante eficiente para inativação deste patógeno. Entretanto os demais tratamentos permitiram a sobrevivência de *S. enterica*, com contagens acima de 5 log de UFC/mL<sup>-1</sup> (Tabela 5).

A contagem inicial de *S. enterica* aderidas na superfície de morango foi de 6,80 log de UFC.g<sup>-1</sup>, com isso apenas os tratamentos com ácido peracético e ultrassom combinado com ácido peracético reduziram a contagem de células de *S.*

*enterica* a níveis não detectáveis pela técnica de quantificação utilizada, que foi a contagem padrão em placa (Tabela 5).

Tabela 5: Valores médios e desvio-padrão da contagem de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* nas soluções sanitizantes após a sanitização (5 minutos à  $7 \pm 1$  °C

Solução	Log de UFC.mL <sup>-1</sup> *
Água esterelizada	6,02 ± 0,26 a
Ácido acético	5,51 ± 0,29 bc
DBSS	5,87 ± 0,12 a
Ácido peracético	Nd
US	5,40 ± 0,04 c
US+Ácido acético	5,68 ± 0,17 ab
US+DBSS	5,85 ± 0,05 ab
US+Ácido peracético	Nd

Nd = não detectado na menor diluição plaqueada ( $10^{-2}$ ), \* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ), DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

A importância da avaliação da presença de células de *S. enterica* nas soluções sanitizantes dá-se devido à possibilidade de contaminação cruzada após o tratamento de sanitização, principalmente quando a água de lavagem / sanitização é reutilizada na planta de processamento de alimentos. De acordo com Gil et al. (2009), a reutilização da água de processo pode levar à acumulação de sujidades, matéria orgânica e agentes patogênicos, permitindo a contaminação cruzada de alimentos. No presente estudo, pode-se afirmar que a sanitização com ácido peracético combinado ou não ao ultrassom, proporcionou mais de 6 reduções decimais na contagem de células de *S. enterica* na solução sanitizante quando comparado ao controle com água.

O valor médio da contagem de *S. enterica* do tratamento com água esterilizada diferiu do com ácido acético, com isso é possível afirmar que este ácido orgânico teve poder de inativação deste patógeno. E o valor médio da contagem de *S. enterica* do tratamento com água esterilizada não diferiu do com ultrassom associado ao ácido acético, este fenômeno afirma o efeito do ultrassom na remoção de patógenos em superfície de morangos.

Ferrario et al.(2015) obtiveram 6 reduções decimais de *E. coli* O157: H7 em água de lavagem de alface com ultrassom (20 kHz) sem controle de temperatura, a ponto deste fator contribuir para inativação das células.

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

Após a análise de dados foi possível verificar que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos de sanitização para os valores de acidez titulável, relação sólidos solúveis / acidez titulável e perda de massa, e não houve diferença significava para pH, sólidos solúveis totais e vitamina C (Tabela 6).

Em relação aos tempos de armazenamento houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para acidez total titulável, sólidos solúveis totais, relação SST / ATT, perda de massa e vitamina C, e não houve efeito significavo para pH (Tabela 6).

A interação entre tempos de armazenamento e os tratamentos de sanitização foi significativa ( $p < 0,05$ ) para a variável perda de massa, o que afirma que os sanitizantes possuem efeitos distintos durante o tempo de armazenamento.

A interação entre tempos de armazenamento e os tratamentos de sanitização foi não significativa ( $p > 0,05$ ) entre as variáveis estudadas ATT, SST, relação SST / ATT, perda de massa e vitamina C e pH (Tabela 6), o que afirma que o tempo e o sanitizante atuam de forma independente e devem ser estudadas separadamente, ou seja, as alterações ou não entre cada tratamento de determinada variável ocorrem independentemente do tempo de armazenamento.



Tabela 6: Resumo da Análise de Variância (ANOVA) para o resultados de pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável, relação sólidos solúveis totais / acidez total titulável, vitamina C e perda de massa em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Variável	Fonte de variação	Grau de liberdade	Valor de F
pH	Tratamento	8	1,05 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	0,95 <sup>n.s.</sup>
	Interação	32	0,34 <sup>n.s.</sup>
Sólidos solúveis totais (SST)	Tratamento	8	1,61 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	5,73*
	Interação	32	0,82 <sup>n.s.</sup>
Ácidez Total titulável (ATT)	Tratamento	8	4,24*
	Tempo	4	23,46*
	Interação	32	0,45 <sup>n.s.</sup>
Relação SST / ATT	Tratamento	8	2,67*
	Tempo	4	32,4*
	Interação	32	0,94 <sup>n.s.</sup>
Vitamina C	Tratamento	8	0,44 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	25,58*
	Interação	32	0,24 <sup>n.s.</sup>
Perda de massa	Tratamento	8	4,14*
	Tempo	4	738,23*
	Interação	32	5,96*

\* 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.

Os tratamentos que apresentaram maior valor de acidez titulável foram o ácido acético, água esterilizada e o não sanitizado, com valores de 1,12, 1,14 e 1,18 mg de ácido cítrico / 100 g de morango (Tabela 7), respectivamente. Este resultado pode ser atribuído ao fato destes tratamentos serem os que apresentaram menor redução decimal da contagem de microrganismos, principalmente bactérias lácticas e leveduras que possuem compostos ácidos como produtos de suas vias metabólicas.

Todos os tratamentos combinados com ultrassom tiveram os menores valores para acidez total titulável.

A relação SST / ATT diferiu ( $p < 0,05$ ) entre o tratamento com ultrassom combinado ao ácido peracético (6,64) e o não sanitizado (6,02). A relação SST/ATT é considerado um indicador de qualidade de frutos, com isso o tratamento com ultrassom e ácido peracético obteve destaque quanto a esse atributo (MANICA et al., 1998; NASCIMENTO et al., 1998).

Tabela 7: Valores das médias e desvio-padrão das variáveis acidez total titulável (mg de ácido cítrico /100 g de morango) e relação SST / ATT de cada tratamento de sanitização de morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Tratamento	Acidez total titulável*	Relação SST / ATT*
Sem sanitizar	1,18 ± 0,15 a	6,02 ± 0,91 b
Água	1,14 ± 0,15 ab	6,43 ± 1,36 ab
Ácido acético	1,13 ± 0,11 ab	6,23 ± 0,86 ab
DBSS	1,11 ± 0,13 b	6,26 ± 0,89 ab
Ácido peracético	1,12 ± 0,12 b	6,23 ± 0,65 ab
US	1,10 ± 0,13 b	6,21 ± 0,74 ab
US+Ácido acético	1,10 ± 0,14 b	6,40 ± 0,96 ab
US+DBSS	1,10 ± 0,12 b	6,13 ± 0,62 ab
US+Ácido peracético	1,10 ± 0,12 b	6,64 ± 0,93 a

\* Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ), DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) nos valores de pH entre os tratamentos e entre o tempo de armazenamento, obtendo-se a média geral dos morangos de 3,47. Aday et al. (2013) ao avaliarem o efeito do ultrassom (20 kHz) em morangos, verificaram que o tratamento com ultrassom não diferenciou do tratamento controle e os valores de pH foram em torno de 3,5, o mesmo encontrado neste trabalho. São José e Vanetti, (2015) encontram valores de pH diferentes entre o controle (sem sanitização) e o tratamento com ácido peracético (10 minutos) em morangos, de forma que esse sanitizante reduziu o pH do fruto.

Cao et al. (2010) verificaram que não houve diferença significativa para os valores de SST e ATT entre o tratamento com ultrassom 40 kHz e o tratamento controle (sem aplicação do ultrassom) em morangos.

Em relação à perda de massa, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos até o segundo dia de armazenamento, e a partir do sétimo dia de armazenamento os tratamentos com DBSS se destacaram com os maiores valores percentuais.

Em relação ao período total de armazenamento, as maiores porcentagens ( $p < 0,05$ ) de perda durante o tempo de armazenamento de 9 dias foram para DBSS, 15,37%, e ultrassom combinado com DBSS 14,63% (Tabela 8). O efeito do surfactante de diminuir a tensão interfacial de líquidos pode ter facilitado a penetração de água nos morangos durante a etapa de sanitização, o que pode ter acarretado na presença de maior massa de água a ser perdida durante o tempo de armazenamento.

As etapas de lavagem e sanitização expõem os morangos a efeito negativos da água, pelo fato de hidratarem o fruto, o que proporciona maior fragilidade a este. O dodecilbenzeno sulfonato de sódio potencializou este efeito, devido a sua capacidade de diminuição da tensão interfacial do líquido. Assim, o tratamento com DBSS não foi satisfatório na manutenção das características físico-químicas do morango.

Os tratamentos ultrassom combinado ao ácido peracético e o não sanitizado obtiveram os menores percentuais ( $p < 0,05$ ) para perda de massa, 10,96% e 10,38% (Tabela 6) durante o armazenamento de 9 dias, respectivamente. Para o ultrassom combinado ao ácido peracético esse resultado pode ser explicado pelo fato deste tratamento ter obtido o melhor resultado de reduções decimais dos microrganismos da microbiota natural contaminante, logo manteve o menor índice de deterioração e conseqüentemente menor descaracterização do fruto. Para o tratamento sem sanitização o resultado pode ser explicado por este tratamento consistir em apenas lavagem dos morangos, sem ocorrer imersão dos frutos em meio líquido durante 5 minutos como nos demais tratamentos, assim a absorção de água é menor, o que implica em menor massa deste líquido a ser perdida durante o tempo de armazenamento.

Tabela 8: Valores das médias e desvio-padrão da perda de massa (%) de cada tratamento de sanitização de morangos armazenados durante 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Tratamento	Tempo de armazenamento*					Média geral (%)
	0 dias (%)	2 dias (%)	5 dias (%)	7 dias (%)	9 dias (%)	
Sem sanitizar	0 ± 0,00 a	4,01 ± 0,37 a	8,29 ± 1,26 cd	12,27 ± 0,36 d	16,96 ± 0,39 d	10,38 ± 4,64 e
Água	0 ± 0,00 a	5,36 ± 0,89 a	10,78 ± 0,77 abc	14,88 ± 1,81 bcd	19,98 ± 1,50 bcd	12,75 ± 4,78 bc
Ácido acético	0 ± 0,00 a	3,88 ± 1,17 a	7,29 ± 2,02 d	12,49 ± 2,19 d	17,22 ± 1,54 d	12,22 ± 4,69 bc
DBSS	0 ± 0,00 a	6,59 ± 0,40 a	12,14 ± 1,11 a	18,72 ± 2,65 a	24,03 ± 2,78 a	15,37 ± 6,09 a
Ácido peracético	0 ± 0,00 a	5,98 ± 0,87 a	9,91 ± 0,30 abcd	16,25 ± 1,51 abc	20,57 ± 1,40 bc	13,18 ± 5,23 b
US	0 ± 0,00 a	4,88 ± 0,55 a	9,34 ± 1,17 abcd	14,76 ± 1,13 bcd	19,38 ± 0,43 cd	12,08 ± 4,98 bc
US+Ácido acético	0 ± 0,00 a	5,01 ± 1,71 a	9,21 ± 1,23 abcd	13,35 ± 2,35 cd	18,12 ± 1,89 cd	11,42 ± 4,37 cd
US+DBSS	0 ± 0,00 a	6,18 ± 0,64 a	11,89 ± 1,65 ab	17,24 ± 1,00 ab	23,18 ± 3,01 ab	14,63 ± 5,59 a
US+Ácido peracético	0 ± 0,00 a	4,85 ± 0,86 a	8,73 ± 0,80 bcd	12,74 ± 0,65 d	17,52 ± 0,91 cd	10,96 ± 4,17 de

\* Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ), DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

Ao analisar as porcentagens de perda de massa durante o tempo de armazenamento, o modelo linear ajustou-se adequadamente aos dados ( $p < 0,05$ ) de cada tratamento, descrevendo o comportamento crescente dos valores do percentual de perda.

Os tratamentos DBSS e ultrassom combinado ao DBSS obtiveram os maiores coeficientes angulares das retas, 2,6 e 2,48 respectivamente (Tabela 9). Isso indica que nestes tratamentos houve maior velocidade de perda de massa.

Tabela 9: Valores dos coeficientes angulares, lineares e de determinação para equação de cada tratamento durante o tempo o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Tratamento	Coeficiente angular	Coeficiente linear	$r^2$
Sem sanitizar	1,82	-0,08	0,99
Água	2,14	0,34	0,99
Ácido acético	1,85	-0,35	0,98
DBSS	2,6	0,33	0,99
Ácido peracético	2,22	0,34	0,98
US	2,1	0,01	0,99
US+Ácido acético	1,92	0,28	0,99
US+DBSS	2,48	0,28	0,99
US+Ácido peracético	1,85	0,25	0,99

DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

Chitarra e Chitarra (2005) afirmam que para os frutos e hortaliças não terem prejuízo na aparência durante o armazenamento, é necessário que a perda de massa seja da ordem de, aproximadamente, até 10%. Com isso, ao utilizar as equações descritas por cada tratamento (Tabela 9) o ultrassom associado ao ácido peracético atinge o valor de 10% aos 5,3 dias de armazenamento, DBSS aos 3,7 dias e ultrassom combinado com DBSS aos 3,9 dias. Estes resultados corroboram o fato do surfactante diminuir a tensão interfacial de líquidos e aumentar a absorção de água pelos frutos. Com isso, aproximadamente aos 5 dias foi verificado a perda de 10% da massa fresca, o que compromete a qualidade dos morangos armazenado a 8 °C.

Os tratamentos de sanitização não influenciaram ( $p > 0,05$ ) nos valores de SST, pH e vitamina C (Tabela 10). Este fato é importante para que haja redução da microbiota deterioradora e patogênica em morangos sem ocorrer alterações nas características físico-químicas do fruto, e principalmente não afetar nutrientes importantes como vitamina C.

Yang et al. (2011) avaliaram o efeito isolado e combinado de ácido salicílico e ultrassom em pêssegos e não foi verificada diferença significativa nos valores de SST, ATT e vitamina C, entre os tratamentos durante o tempo de armazenamento de 6 dias a 20 °C.

Alexandre et al. (2012) não encontraram diferença significativa de pH em morangos sanitizados com peróxido de hidrogênio, hipoclorito de sódio e ultrassom (35 kHz), tanto entre os tratamentos quanto entre os tempos de armazenamento. Os mesmos autores não encontram diferença significativa para os tratamentos em relação ao teor de vitamina C.

Tabela 10: Valores das médias e desvio-padrão das variáveis pH, sólidos solúveis totais (SST) (°Brix) e vitamina C (mg de ácido ascórbico / 100g gramas de morango) de cada tratamento de sanitização

Tratamento	SST*	pH*	Vitamina C*
Sem sanitização	6,95 ± 0,38	3,46 ± 0,10	61,09 ± 08,41
Água esterelizada	7,10 ± 0,76	3,47 ± 0,11	60,91 ± 10,64
Ácido acético	6,95 ± 0,54	3,47 ± 0,12	61,19 ± 10,02
DBSS	6,79 ± 0,43	3,46 ± 0,10	61,09 ± 10,32
Ácido peracético	6,85 ± 0,39	3,44 ± 0,10	59,30 ± 11,99
US	6,71 ± 0,27	3,46 ± 0,10	59,83 ± 10,74
US+Ácido acético	6,89 ± 0,61	3,47 ± 0,10	59,55 ± 11,33
US+DBSS	6,66 ± 0,33	3,48 ± 0,10	59,92 ± 13,22
US+Ácido peracético	7,17 ± 0,46	3,49 ± 0,12	60,65 ± 11,86

\* Valores médios na mesma coluna não diferem entre si ( $p > 0,05$ ), DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

Ao estudar a ATT no tempo de armazenamento, o modelo linear ajustou aos dados ( $p < 0,05$ ). É possível verificar o aumento da acidez (Figura 6) e este fato pode ser atribuído à presença abundante de bactérias lácticas e leveduras, que produzem substâncias ácidas durante o crescimento microbiano. De forma, pode-se sugerir que a taxa de produção destes compostos são maiores do que a degradação de ácidos orgânicos naturais do morango, como ácido cítrico e ácido ascórbico.

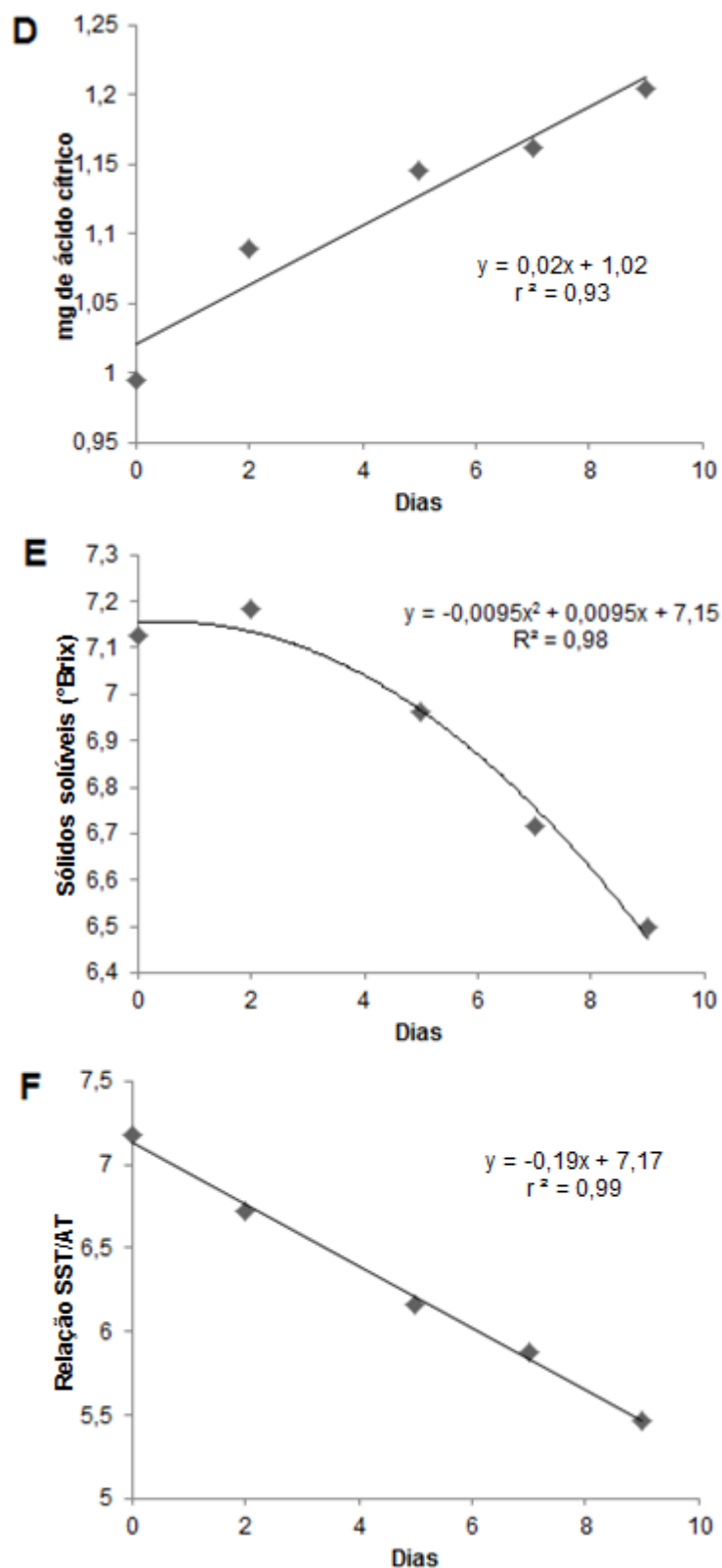


Figura 6: Valores médios de acidez total titulável (D) em mg de ácido cítrico / 100 mg de fruto, sólidos solúveis totais (E) em ° Brix, relação SST / ATT (F), equações das curvas e coeficiente de determinação, em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C.

O modelo polinomial de grau 2 ajustou-se adequadamente aos valores médios ( $p < 0,05$ ) de SST (Figura 6). Os valores de SST mantiveram constantes até o segundo dia de armazenamento, após este período teve início um decréscimo contínuo. A respiração do morango faz com que os SST sejam utilizados como fonte de energia para o fruto, e substrato para multiplicação microbiana, estes fatos colaboram para diminuição dos SST no tempo de armazenamento.

Para a relação SST / ATT o modelo linear ajustou-se adequadamente aos dados ( $p < 0,05$ ). É possível verificar a diminuição desta relação (Figura 8) e isso pode ser explicado devido a qualidade do morango diminuir com o tempo de armazenamento, pois o numerador da relação (SST) diminui e denominador (ATT) aumenta, dois fatores estes importantes que caracterizam o estado de *in natura* ou não dos morangos.

Em relação ao teor de vitamina C, o modelo polinomial de grau 3 ajustou-se adequadamente aos dados ( $p < 0,05$ ). Até o segundo dia houve aumento do teor de vitamina C (Figura 7), possivelmente devido ao morango continuar o processo de respiração e biossíntese de substâncias específicas do fruto (FRANÇOSO et al. 2008), após o segundo dia houve queda do teor deste composto até aproximadamente o sétimo dia.

Ao final do tempo estudado houve aumento no teor de vitamina C o que pode estar relacionado ao aumento da perda de massa ao longo do armazenamento, levando a concentração de alguns compostos presentes nos morangos. Nunes et al. (1998) afirmam que valores constantes de vitamina C após 5 dias, são explicados principalmente pela elevada perda de água durante a armazenagem de morangos, que tende a mascarar as perdas de vitamina C quando esses valores são expressos na base do peso do fruto fresco.

De acordo com o descrito na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011), os morangos apresentam em média 63,6 mg de ácido ascórbico/100g de fruta. Alexandre et al. (2012) encontram 46,77 mg em morangos frescos, enquanto no presente trabalho o valor de ácido ascórbico logo após a sanitização foi superior, 71,47 mg / 100 g de fruto.

Ao utilizar a equação do modelo descrita pelos dados, aos 4 dias de armazenamento, aproximadamente, o morango estudado no presente trabalho apresentou o valor de ácido ascórbico como descrito na Tabela TACO, entretanto o



valor mínimo encontrado aos 8 dias ainda é superior ao encontrado por Alexandre et al. (2012).

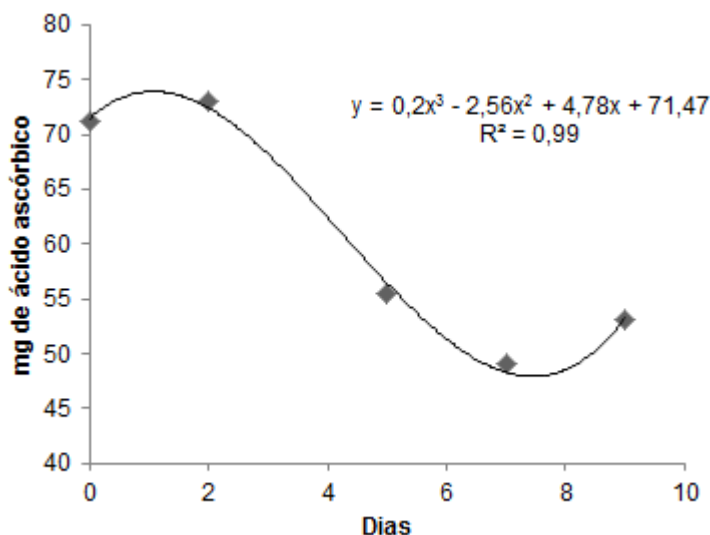


Figura 7: Valores médios de vitamina C expressos em mg de ácido ascórbico / 100 g de fruto, equação da curva e coeficiente de determinação, em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C.

Após a análise de dados dos atributos de cor, foi possível verificar que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos de sanitização apenas para os valores de  $L^*$ , e não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c$  e  $H$  (Tabela 11).

Em relação aos tempos de armazenamento houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $c$  e  $H$ , e não significativo para os valores de  $b^*$  (Tabela 11).

A interação entre tempos de armazenamento e os tratamentos de sanitização foi não significativa ( $p > 0,05$ ) entre as variáveis estudadas na Tabela 11, o que demonstra que o tempo e o sanitizante atuam de forma independente e devem ser estudadas separadamente, ou seja, as alterações ou não entre cada tratamento de determinada variável ocorrem independentemente do tempo de armazenamento.

Tabela 11: Resumo da Análise de Variância (ANOVA) para os atributos de cor (L\*, a\*, b\*, c e H) durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Variável	Fonte de variação	Grau de Liberdade	Valor de F
L*	Tratamento	8	2,9*
	Tempo	4	19,44*
	Interação	32	0,88 <sup>n.s.</sup>
a*	Tratamento	8	1,18 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	50,04*
	Interação	32	0,31 <sup>n.s.</sup>
b*	Tratamento	8	1,29 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	0,53 <sup>n.s.</sup>
	Interação	32	0,3 <sup>n.s.</sup>
c	Tratamento	8	1,24 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	28,24*
	Interação	32	0,21 <sup>n.s.</sup>
H	Tratamento	8	1,38 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	31,43*
	Interação	32	0,78 <sup>n.s.</sup>

\* 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.

Os valores de L\* variam entre preto (0) e branco (100) e é denominado luminosidade (RAMOS e GOMIDE, 2007). Os morangos que obtiveram os menores valores ( $p < 0,05$ ) foram os tratamentos sem sanitização e ácido acético, o que pode classificá-los como mais escuros. Estes tratamentos foram alguns dos que apresentaram menor redução da microbiota natural contaminante, com isso a deterioração dos morangos pode justificar essa característica.

Os valores de a\* variam de verde (- 60) ao vermelho (+ 60), o parâmetro b\* varia entre azul (- 60) e amarelo (+ 60) (RAMOS e GOMIDE, 2007), e de acordo com os valores encontrados no presente estudo (Tabela 9), pode afirmar que os morangos apresentaram a coloração avermelhada. O parâmetro c\*, ou chroma está relacionado a intensidade ou pureza da cor, e indica a homogeneidade com o cinza, preto ou branco, e o ângulo hue (H) é determinado pela tonalidade, e está

relacionada a grandeza da cor, que caracteriza o vermelho, verde, amarelo e etc (RAMOS e GOMIDE, 2007), o que possibilita a diferenciação das cores.

Em relação as coordenadas de cor não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos de sanitização para os valores de  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c$  e  $H$  (Tabela 12). Este resultado é muito importante devido ao efeito dos sanitizantes não alterarem essas características do fruto. Segundo Conti et al. (2002), valores de  $c^*$  acima de 36,08, como encontrados no presente trabalho, são considerados frutos com maior homogeneidade de cor. De acordo com Ramos e Gomide, (2007) os valores de  $H$  variam entre  $0^\circ$  e  $360^\circ$ , e até  $90^\circ$  o vermelho é a cor predominante. No presente estudo os valores foram em torno de  $30^\circ$ , o que caracteriza os morangos como tom avermelhado.

Aday et al. (2013) ao avaliarem o efeito do ultrassom (20 kHz) nas coordenadas de cor  $L^*$  e  $a^*$ , verificaram que o tratamento com ultrassom não diferiu do tratamento controle em morangos. Alexandre et al. (2012) verificaram que houve diferença significativa de cor em morangos tratados com os sanitizantes hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio.

Tabela 12: Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c$  e  $H$ ) para cada tratamento de sanitização, em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Tratamento	$L^{*e}$	$a^{*f}$	$b^{*f}$	$C^f$	$H^f$
Sem Sanitização	34,80 ± 1,51 b	31,77 ± 2,17	18,90 ± 1,34	37,03 ± 2,27	30,78 ± 1,19
Água esterelizada	36,03 ± 2,03 a	30,72 ± 3,25	19,40 ± 1,30	36,63 ± 2,74	31,64 ± 3,58
Ácido acético	35,71 ± 1,04 ab	31,63 ± 2,16	19,31 ± 1,19	37,12 ± 2,11	31,47 ± 1,83
DBBS	36,18 ± 1,93 a	31,15 ± 2,57	19,45 ± 1,20	36,77 ± 2,47	32,00 ± 1,99
Ácido peracético	36,28 ± 1,41 a	31,36 ± 2,82	19,41 ± 1,46	36,85 ± 2,74	31,97 ± 2,21
US	36,83 ± 2,06 a	30,37 ± 3,18	19,38 ± 1,17	36,00 ± 2,76	32,72 ± 3,04
US+Ácido acético	36,50 ± 1,67 a	31,05 ± 2,65	19,25 ± 1,42	36,51 ± 2,51	32,03 ± 2,49
US+DBBS	35,92 ± 1,04 a	30,35 ± 2,59	18,93 ± 1,16	35,77 ± 2,50	32,00 ± 2,12
US+Ácido peracético	36,41 ± 1,46 a	31,05 ± 2,91	19,38 ± 1,00	36,26 ± 2,84	32,31 ± 2,44

<sup>e</sup> Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ), <sup>f</sup> Valores médios na mesma coluna não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si, DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

São José e Vanetti (2015) verificaram que morangos tratados com ultrassom (45 kHz, 10 minutos) tiveram valores de  $b^*$  e  $L^*$  maiores do que o tratamento controle (sem sanitização). As mesmas autoras obtiveram valores maiores de  $L^*$  para os tratamentos com ácido peracético (40 mg.L<sup>-1</sup>) e ultrassom combinado com ácido peracético, quando comparados com o controle, e isso indica que os morangos ficaram mais claros após os tratamentos.

Na Figura 8, é possível verificar que os valores de  $\Delta E^*$  aumentaram com o tempo, mas apenas os tratamentos combinados com ultrassom e o ácido acético tiveram valores menores que 5 no sétimo dia de armazenamento. Segundo Ramos e Gomide (2007) o  $\Delta E^*$  é conhecido como diferença global de cor, e que diferenças maiores que 5 podem ser facilmente detectadas visualmente.

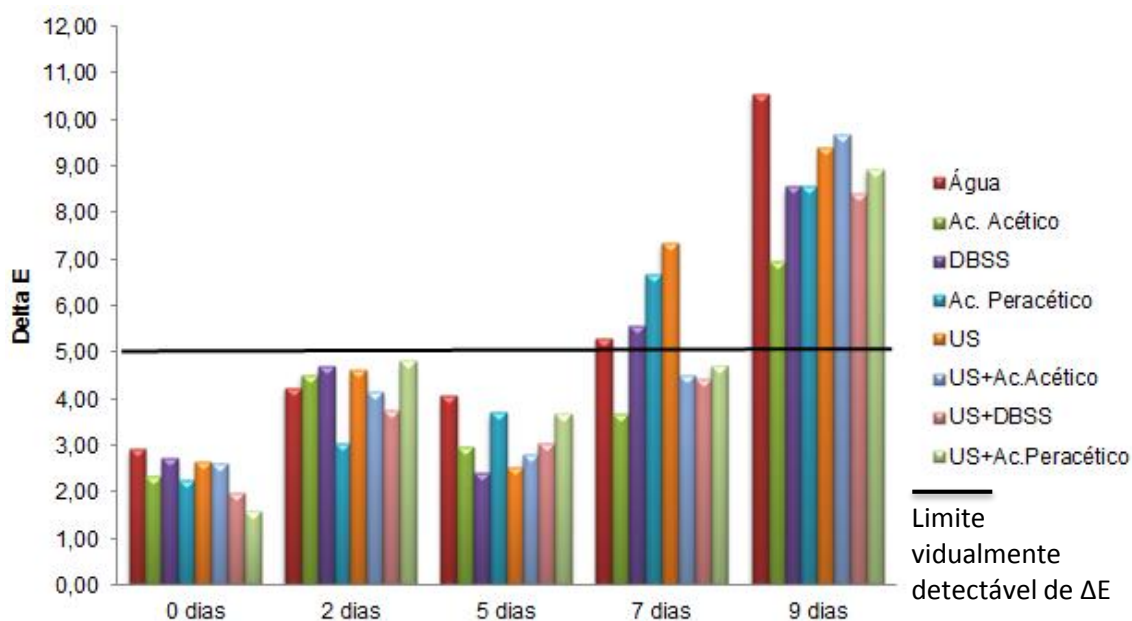


Figura 8: Valores de delta E ( $\Delta E^*$ ) calculados em relação ao tratamento controle (sem sanitização) com 0 dias de armazenamento para cada tratamento em cada tempo, em morangos durante o armazenamento de 9 dias à  $8 \pm 1$  °C. DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

Os tratamentos com ultrassom podem ter obtido menores valores devido ao fenômeno de cavitação possuir o poder de retirar o oxigênio dissolvido no fruto, e reduzir as reações de oxidação (AWAD et al., 2012) e possivelmente devido a maior redução de microrganismos da microbiota natural contaminante, o que implica em menor taxa de deterioração.

O tratamento com ácido peracético manteve o valor de  $\Delta E^*$  abaixo de 5 até o quinto dia de armazenamento, enquanto que São José e Vanetti, (2015) obtiveram valor acima de 5 logo após a sanitização de morangos com ácido peracético (45 kHz, 10 minutos). As mesmas autoras encontraram valor de  $\Delta E^*$  maiores que 5 para o ultrassom isolado e combinado com ácido peracético, enquanto no presente trabalho o valor de  $\Delta E^*$  foi menor que 5 até o sétimo dia de armazenamento.

Para as coordenadas de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $c$  e  $H$  modelos polinomiais de grau 2 ajustaram adequadamente aos dados ( $p < 0,05$ ). Os valores positivos de  $a^*$  indicam a tonalidade vermelha, e de acordo com a Figura 9, esta tonalidade diminui durante o tempo de armazenamento, exceto até o segundo dia de armazenamento. Este aumento até o segundo dia pode ser explicado pelo fato do morango continuar a biossíntese de compostos após a colheita (FRANÇOSO et al., 2008). Essa característica do morango explica também o comportamento do valor de  $c^*$  até o segundo dia de armazenamento.

Os valores de  $c^*$  diminuíram após o quarto dia, o que pode-se afirmar que o morango diminuiu a homogeneidade de cor no tempo de armazenamento, assim como a tonalidade vermelha ( $a^*$ ) (Figura 9). A partir do sétimo dia pode-se afirmar que foi apresentando heterogeneidade de cor, por terem valor de  $c^*$  menor que 36,08 (CONTI et al. 2002). Os valores de  $H$  e  $L^*$  aumentam a partir do quarto dia de armazenamento, possivelmente devido ao aumento das tonalidades de cores claras, em comparação com as cores escuras, intensificadas pela perda da cor vermelha ( $a^*$ ).

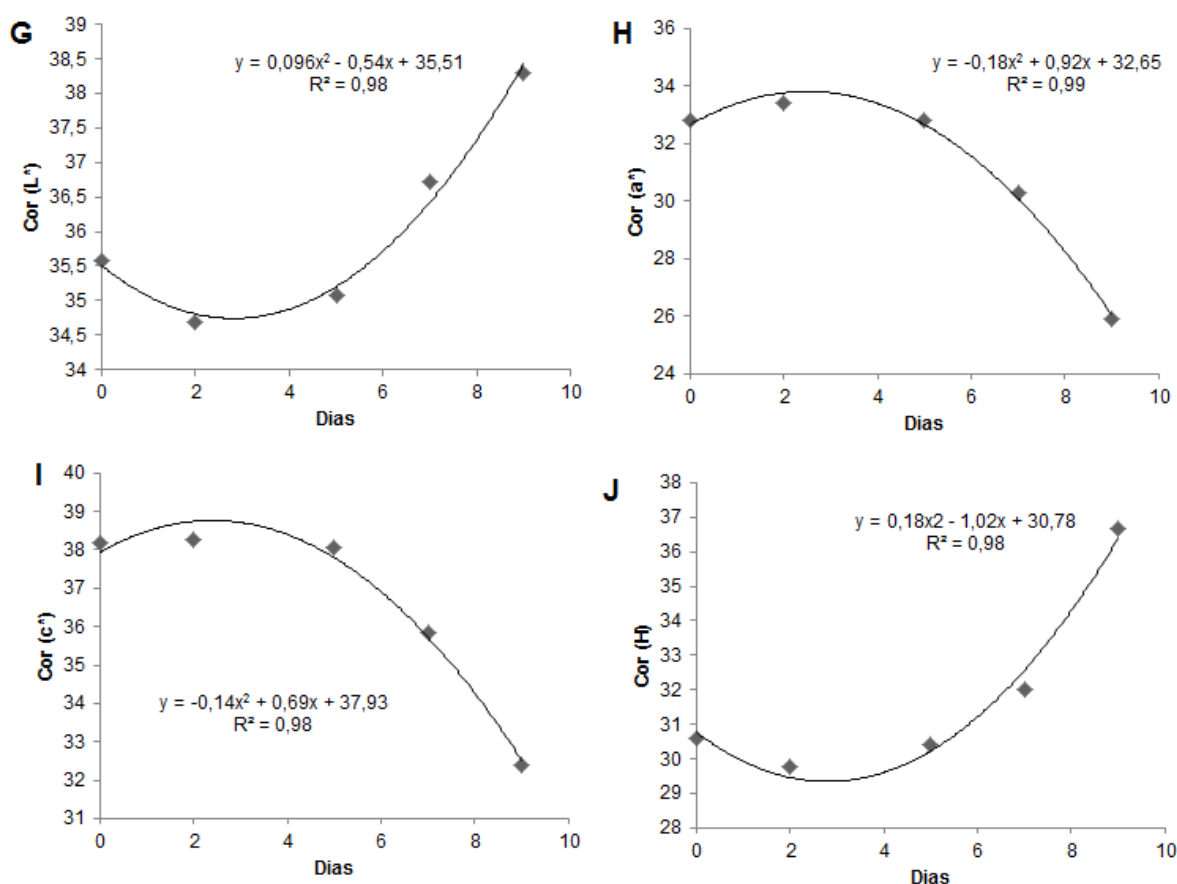


Figura 9: Valores médios de cada tempo de armazenamento para as coordenadas de cor L\* (G), a\* (H), c\* (I), h (J) em morangos durante o armazenamento de 9 dias à  $8 \pm 1$  °C.

Após a análise de dados de perfil de textura, foi possível verificar que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos de sanitização em relação à firmeza, adesividade e coesividade (Tabela 13).

Na análise de regressão houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) do tempo de armazenamento nos valores dos parâmetros de textura.

A interação entre tempos de armazenamento e os tratamentos de sanitização foi não significativa ( $p > 0,05$ ) para essas variáveis estudadas (Tabela 13), o que demonstra que o tempo e o sanitizante atuam de forma independente e devem ser estudadas separadamente, ou seja, as alterações ou não entre cada tratamento de determinada variável ocorrem independentemente do tempo de armazenamento.

Tabela 13: Resumo da Análise de variância (ANOVA) para os valores de perfil de textura firmeza (N), adesividade (g.mm) e coesividade em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Variável	Fonte de variação	Grau de Liberdade	Valor de F
Firmeza	Tratamento	8	1,48 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	15,55*
	Interação	32	0,6 <sup>n.s.</sup>
Adesividade	Tratamento	8	0,71 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	11,88*
	Interação	32	0,5 <sup>n.s.</sup>
Coesividade	Tratamento	8	1,22 <sup>n.s.</sup>
	Tempo	4	11,65*
	Interação	32	0,79 <sup>n.s.</sup>

\* 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.

Os tratamentos de sanitização não influenciaram ( $p > 0,05$ ) nos valores de firmeza, adesividade e coesividade (Tabela 14). Este fato é importante para que haja redução de patógenos em morangos sem que ocorram alterações nas características reológica dos frutos.

Aday e Caner (2014) ao avaliarem o efeito do ozônio, dióxido de cloro isolados e combinados com ultrassom (20 kHz) em morangos, não verificaram diferença de firmeza, adesividade e coesividade logo após a sanitização de 5 minutos.

Cao et al. (2010) verificaram que não houve diferença significativa para os valores de firmeza entre o tratamento com ultrassom 40 kHz e o tratamento controle em morangos.

São José e Vanetti (2015) verificaram redução de firmeza de morangos logo após a sanitização para os tratamentos com ultrassom (45 kHz), ácido peracético, e ácido peracético com ultrassom, em relação ao controle.

Para os resultados de firmeza e coesividade os modelos polinomiais de grau 2 ajustaram adequadamente aos dados ( $p < 0,05$ ) e para o parâmetro adesividade o modelo linear se ajustou adequadamente aos dados ( $p < 0,05$ ) (Figura 10).



Tabela 14: Valores médios e desvio-padrão de firmeza (N), adesividade (g.mm) e coesividade em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C

Tratamento	Firmeza (N)*	Adesividade (g.mm) *	Coesividade*
Sem sanitização	4,77 ± 1,00	1,60 ± 0,48	0,13 ± 0,03
Água	4,57 ± 1,22	1,50 ± 0,54	0,12 ± 0,02
Ácido acético	4,00 ± 0,83	1,43 ± 0,34	0,13 ± 0,02
DBSS	4,08 ± 0,84	1,51 ± 0,37	0,16 ± 0,06
Ácido peracético	4,64 ± 0,86	1,77 ± 0,44	0,16 ± 0,04
US	4,44 ± 1,39	1,48 ± 0,45	0,13 ± 0,04
US+Ácido acético	4,06 ± 0,88	1,37 ± 0,40	0,14 ± 0,04
US+DBSS	4,31 ± 1,24	1,63 ± 0,56	0,15 ± 0,05
US+Ácido peracético	4,11 ± 0,63	1,56 ± 0,44	0,15 ± 0,04

\* Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ), DBSS: dodecilbenzeno sulfonato de sódio, US: ultrassom.

Os valores de firmeza, de acordo com a Figura 10, diminuem durante o tempo de armazenamento, exceto até o segundo dia de armazenamento. Este aumento até o segundo dia pode ser explicado possivelmente devido ao morango continuar o processo de respiração e biossíntese de substâncias específicas do fruto (FRANÇOSO et al. 2008). Essa característica do morango explica também o comportamento da coesividade até o segundo dia de armazenamento.

Segundo Franco e Landgraf (2008), a redução da firmeza pode ser explicada devido à degradação da pectina e da celulose. Aday et al. (2013) também verificaram a diminuição da firmeza no tempo de armazenamento de morangos tratados com ultrassom (20 kHz).

Os valores de adesividade diminuíram (Figura 10), possivelmente devido a alto valor de perda de massa de água, que implica em uma característica de menos pegajoso (STEFFE, 1996). Aday e Caner (2014), ao avaliarem o efeito do ozônio e dióxido de cloro isolados e combinados com ultrassom (20 kHz) em morangos, verificaram aumento da adesividade durante o tempo de armazenamento, possivelmente devido aos morangos serem armazenados em embalagem de PLA (ácido polilático) isolados do ar ambiente.

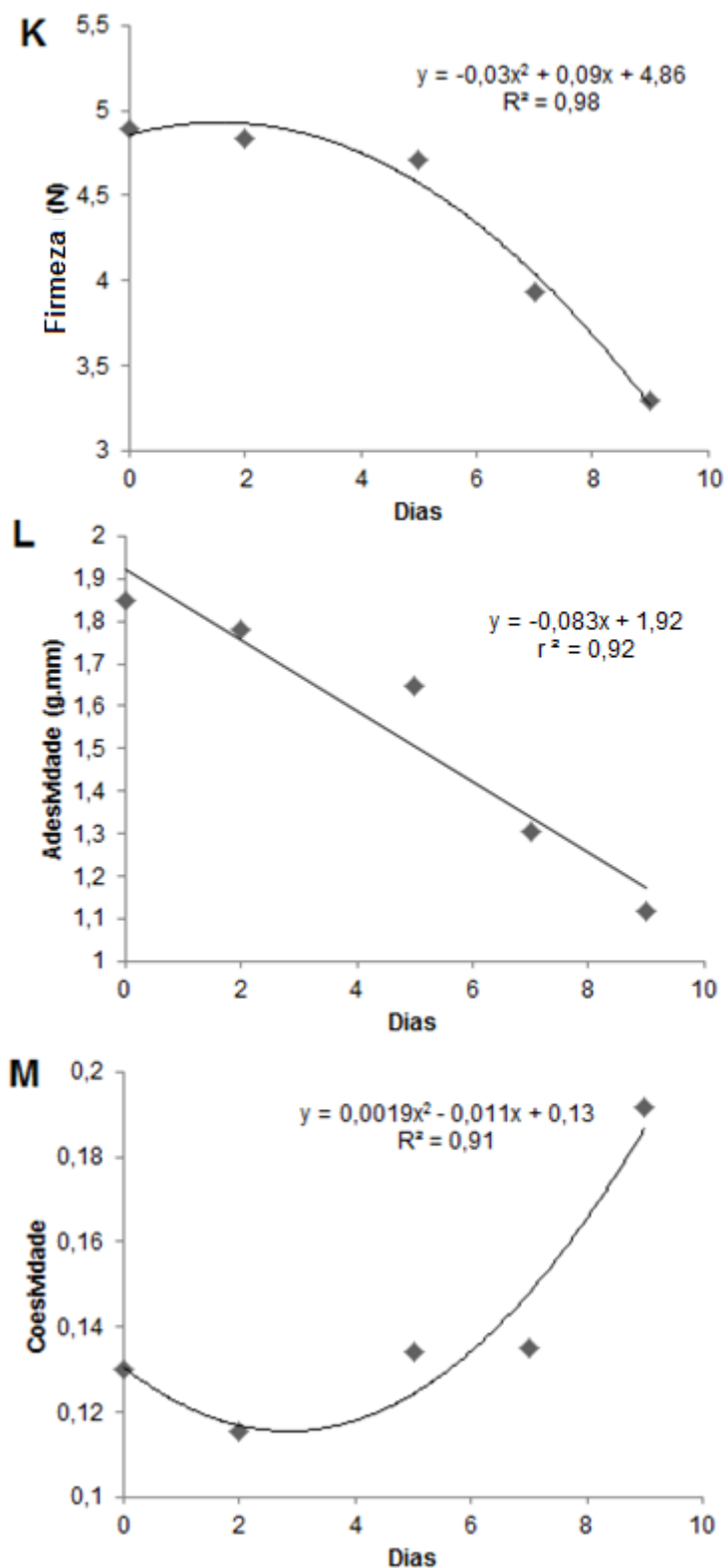


Figura 10: Valores médios dos parâmetros de perfil de textura firmeza (N) (K), adesividade (g.mm) (L) e coesividade (M) em morangos durante o armazenamento de 9 dias a  $8 \pm 1$  °C.

A coesividade está relacionado com fragilidade (STEFFE, 1996), logo, pode-se afirmar que os morangos a partir de dois de armazenamento foram se tornado mais frágeis (Figura 12). Aday e Caner (2014) verificaram o mesmo comportamento de coesividade em morangos sanitizados com dióxido de cloro e dióxido de cloro combinado com ultrassom até duas semanas de armazenamento.

#### **4.6 Efeito da sanitização sobre as características sensoriais dos morangos**

Foram submetidos dois tratamentos para a análise sensorial, o tratamento ultrassom combinado ao ácido peracético, por ter se destacado frente aos demais tratamentos em relação aos fatores físico-químicos e microbiológicos, e o tratamento controle, que consistiu em lavagem com água potável.

No teste triangular apenas 11 de 41 avaliadores notaram diferença entre o tratamento com ácido peracético combinado com ultrassom e o lavado com água, logo não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre tratamentos, já que o número mínimo de julgadores que deveriam detectar diferença era de 20 (CHAVES, 2005).

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quanto à aceitação de morangos tratados com ácido peracético combinado ao ultrassom e os morangos lavados com água, a notas atribuídas foram 7,5 e 7,7, respectivamente. Ambos os tratamentos foram aceitos pelos consumidores obtendo nota entre os termos hedônicos gostei muito e gostei moderadamente.

Há poucos trabalhos que avaliam sensorialmente frutas e vegetais sanitizados. Gomez-Lopez et al. (2010) verificaram alteração de características sensoriais em suco de laranja ao aplicar ultrassom (20 kHz) por 6, 8 e 10 minutos. Lima Filho et al. (2014) ao estudarem o efeito da irradiação na aceitação de morangos irradiados, observaram que a aceitação do morango irradiado a 3,6 kGy foi positiva, porém menor do que a do morango não irradiado.

## 5 CONCLUSÕES

O ácido peracético é reconhecido como um sanitizante muito eficiente, e no presente trabalho apresentou resultados satisfatórios na redução da microbiota natural contaminante do morango. Porém, o ultrassom combinado com ácido peracético foi o melhor tratamento em relação à inativação do patógeno *S. enterica* e fungos filamentosos e leveduras, além de não alterarem as características físico-químicas (ATT, pH, SST, perda de massa, cor), nutricionais (vitamina C), reológicas (firmeza, adesividade e coesividade) e sensoriais dos morangos.

Assim, foi possível confirmar que o ultrassom pode ser aplicado simultaneamente ao ácido peracético com alto potencial de inativação de microrganismos sem alterações significativas em morangos cultivar Oso Grande.

## 6 REFERÊNCIAS

- ABADIAS, M.; USALL, J.; ANGUERA, M.; SOLSONA, C.; VIÑAS, I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. **International Journal of Food Microbiology**, v.123, n.1-2, p. 121–129, 2008.
- ABULREESH, H. H., in ANNOUS B. A., J.B. GURTLER. *Salmonella* - distribution, adaptation, control measures and molecular technologies. **Salmonellae in the environment**. p. 19–50, 2012.
- ADAY, M. S., CANER. C. Individual and combined effects of ultrasound, ozone and chlorinedioxide on strawberry storage life. **LWT - Food Science and Technology**. v. 57, n. 1, p. 344-351, 2014.
- ADAY, M. S., CANER. C. The shelf life extension of fresh strawberries using an oxygen absorber in the biobased package. **LWT - Food Science and Technology**. v. 52, n. 2, p. 102- 109, 2013.
- ADAY, M. S., TEMIZKAN, R., BÜYÜKCAN, M. B., CANER, C. An innovative technique for extending shelf life of strawberry: ultrasound. **LWT - Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 93-101, 2013.
- AKBAS, M.Y.; ÖLMEZ, H. Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, n. 14. p. 2609–2616, 2007.
- ALEXANDRE, E. M. C., BRANDÃO, T. R. S., SILVA, C. L. M. Efficacy of non-thermal technologies and sanitizer solutions on microbial load reduction and quality retention of strawberries. **Journal of Food Engineering**. v. 108, n. 3, p. 417–426, 2012.
- ALLENDE, A.; SELMA, M.V.; LÓPEZ-GÁLVEZ; F.; GIL, M.I. Impact of wash water quality on sensory and microbial quality, including *Escherichia coli* cross-contamination, of fresh-cut escarole. **Journal of Food Protection**, v.71, n.3, p.2514-2518, 2008.
- 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, n. 1, p.11-15, 2009.
- ANANTA, E.; VOIGT, D.; ZENKER, M.; HEINZ, V.; KNORR, D. Cellular injuries upon exposure of *Escherichia coli* and *Lactobacillus rhamnosus* to high-intensity ultrasound. **Journal of Applied Microbiology**, v.99, n. 2, p. 271 – 278, 2005.

ANDRADE, N. J.; **Higiene na indústria de alimentos: Avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos.** São Paulo, v. 1, 1 e.d.: Varela, 2008. 410 p.

ANNOUS, A. B; SOLOMON, E. B.; COOKE, P. H.; BURKE, A. Biofilm formation by *Salmonella* spp. on cantaloupe melons. **Journal of Food Safety.** v.25, n. 4, p. 276–287, 2005.

AOAC. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. Washington DC, 1904p, 2005

ARTÉS, F.; GÓMEZ, P.; AGUAYO, E.; ESCALONA, V.; ARTÉS-HERNANDEZ, F. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. **Postharvest Biology and Technology,** v.51, n.3, p. 287-296, 2009.

ARZENI, C.; MARTINEZ, K.; ZEMA, P.; ARIAS, A.; PEREZ, O; PILOSOFF, A. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. **Journal of Food Engineering.** v. 108, n. 3, p. 463–472, 2012.

AWAD, T. S.; MOHARRAM, H. A.; SHALTOUT, O. E.; ASKER, D.; YOUSSEF, M. M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International.** v. 48, n. 2, p. 410 - 427, 2012.

AZEVEDO, N. F.; CERCA, N. **Biofilmes na saúde, no ambiente, na indústria.** Porto: Plublindústria Edições Técnicas, 396 p., 2012.

BARAK, J.D.; GORSKI, L.; NARAGHI-ARANI, P.; CHARKOWSK, A.O. *Salmonella enterica* virulence genes are required for bacterial attachment to plant tissue. **Applied and Environmental Microbiology.** v.71, n. 10, p. 5685–5691, 2004.

BARI, M.L.; UKUKU, D.O.; KAWASAKI, T.; INATSU, Y.; ISSHIKI, K.; KAWAMOTO, S. Combined efficacy of nisin and pediocin with sodium lactate, citric acid, phytic acid, and potassium sorbate and EDTA in reducing the *Listeria monocytogenes* population of inoculated fresh-cut produce. **Journal of Food Protection,** v.68, n.7, p. 1381–1387, 2005.

BARROS, F.F.C.; QUADROS, C.P.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R.; PASTORE, G.M. Surfactina: propriedade químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. **Química Nova,** v.30, n.2, p.409-414, 2007.

BARTZ, J. A, YUKE, H. G, MAHOVICC, M. J., WARREND, B. R., SREEDHARANA, A., SCHNEIDERA, K. R. Internalization of *Salmonella enterica* by tomato fruit. **Food Control.** v. 55, p. 141–150, 2015.

BJORNSDOTTIR, K.; BREIDT, F.; MCFEETERS, R. F. Protective effects of organic acids on survival of *Escherichia coli* O157: H7 in acidic environments. **Applied and Environmental Microbiology**. v.72, n. 1, p. 660–664, 2006.

BRANDL, M.T. Fitness of Human Enteric Pathogens on Plants and Implications for Food Safety. **Annual Review of Phytopathology**. v.44, n, 1, p. 367–392, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Etapas do processamento mínimo de morango. **Comunicado Técnico** 110, 4p. 2007.

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, n.4, p.529-532, 2010.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **CDC and Food Safety**. 2015c. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodsafety/cdc-and-food-safety.html>. Acesso: em 13 dez 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **General Information**. 2015b. Disponível em: <http://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html>. Acesso: em 13 dez 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **List of Selected Multistate Foodborne Outbreak Investigations**. 2015d. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodsafety/outbreaks/multistate-outbreaks/outbreaks-list.html>. Acesso: em 13 dez 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Multistate Outbreak of Salmonella Poona Infections Linked to Imported Cucumbers**. 2015a Disponível em: <http://www.cdc.gov/salmonella/poona-09-15/index.html>. Acesso: em 13 dez 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado. **Recall & Advice to Consumers**. 2012. Disponível em: <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/advice-consumers.html>. Acesso: em 13 dez 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Multistate Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O121 Infections Linked to Raw Clover Sprouts.** 2014. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ecoli/2014/O121-05-14/index.html>. Acesso: em 13 dez 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Trends in Foodborne Illness in the United States.** 2013. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodborneburden/trends-in-foodborne-illness.html>. Acesso: em 13 dez 2015.

CENCI, S. A. Boas práticas de pós-colheita de frutas e hortaliças na agricultura familiar. In: NASCIMENTO NETO, F. (Org.). *Recomendações básicas para a aplicação das boas práticas agropecuárias e de fabricação na agricultura familiar*. 1ª ed. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 67-80, 2006.

CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DO ESPÍRITO SANTO (CEASA/ES). **Oferta do morango teve crescimento de 49% no mês de agosto.** 2012. Disponível em < <http://www.es.gov.br/Noticias/153622/oferta-do-morango-teve-crescimento-de-49-nomes-de-agosto.htm> >. Acesso em: 18 nov. 2015.

CHABBA, S., KUMAR, S., ASWAL, V. K., KANG, T. S., MAHAJAN, R. K. Interfacial and aggregation behavior of aqueous mixtures of imidazolium based surface active ionic liquids and anionic surfactant sodium dodecylbenzenesulfonate. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 472, p. 9–20, 2015.

CHANDRAPALA, J., OLIVER, C., KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonics in food processing - food quality assurance and food safety. **Trends in Food Science & Technology**. v.26, n. 2, p. 88–98, 2012.

CHAVES, J. B. P. **Métodos de diferença em avaliação sensorial de alimentos e bebidas**. 3 ed. Viçosa. 91 p. 2005.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA, MUHAMMED KAMRAN KHAN. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonic Sonochemistry**, v.18, n.4, p.813-835, 2011.

CHEN, Z.; ZHU, C. Combined effects of aqueous chlorine dioxide and ultrasonic treatments on postharvest storage quality of plum fruit (*Prunus salicina* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 61, n.2-3, p.117–123, 2011.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras, MG, 2 Ed. Revê ampl. 785 p. 2005.

CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I. B. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, n. 6, p. 915-929, 2002.



CONTI, J. H., MINAMI, K., TAVARES, F. C. A. Produção e qualidade de frutos diferentes cultivares de morangueiro em ensaios consuzidos em Atibiaia e Piracicaba. **Horticultura Brasileira**. v. 20, n.9, p. 2581-2598, 2002.

COSTA, E. A.; FIGUEIREDO, E. A. T.; CHAVES, C. S.; ALMEIDA, P. C.; VASCONCELOS, N. M.; MAGALHÃES, I. M. C.; MORAES, A. F.; PAIXÃO, L. M. N. Avaliação microbiológica de alfaces (*Lacuta sativa* L.) convencionais e orgânicas e a eficiência de dois processos de higienização. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 3, p. 387-392, 2012.

COSTA, V. M. **Perfil de metabólitos excretados por Lactobacillus isolados de processos industriais de produção de etanol, com ênfase nos isômeros óticos D(-) e L(+)** do ácido láctico. Dissertação de Mestrado. ESALQ/USP. 65 p. 2006.

DEMIRDOVEN, A.; BAYSAL, T. The use of ultrasound and combined technologies in food preservation. **Food Reviews International**. v. 25, n. 1, p. 1–11. 2008.

DOWNES, F.P.; ITO, K. Compendium of methods for microbiological examination of foods. 4 ed. Washington: **American Public Health Association - APHA**, 2001.

ELHARIRY, H M. Attachment strength and biofilm forming ability of *Bacillus cereus* on green-leafy vegetables: cabbage and lettuce. **Food Microbiology**, v.28, n. 7, p. 1266–1274, 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). A cultura do morango. **Coleção Plantar**. Embrapa Informação e Tecnologia, Brasília: Distrito Federal. 1993.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema de produção do morango**. Sistema de Produção, 5. Versão eletrônica, 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/index.htm>>. Acesso em: 18 novem. 2015.

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

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3 ed. São Paulo: UFV, 421 p. 2008.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Potential for Infiltration, Survival, and Growth of Human Pathogens within Fruits and Vegetables**, 2014. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/HACCP/ucm082063.htm>. Acesso: 21 nov. 2015.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São. Paulo: Ed. Atheneu, 2008. 182 p.

FRANÇOSO, I. L. T.; COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. Alterações físico-químicas em morangos irradiados e armazenados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 614-619, 2008.

GAMBOA-SANTOS, J.; MONTILLA, A.; SORIA, A. C.; CÁRCEL, J. A.; GARCÍA-PÉREZ, J. V.; VILLAMIEL, M. Impact of power ultrasound on chemical and physicochemical quality indicators of strawberries dried by convection. **Food Chemistry**. v.161, p. 40 – 46, 2014.

GIAMPIERI, F.; TULIPANI, S.; ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; QUILES, J.L; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. **Nutrition**. v. 28, n. 1, p.9-19, 2012.

GIL, M.I.; SELMA, M.V.; LÓPEZ-GALVEZ, F.; ALLENDE, A. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. **International Journal of Food Microbiology**. v. 134, n.1-2, p. 37-45, 2009.

GOGATE, P. R.; KABADI, A.M. A review of application of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. **Biochemical Engineering Journal**. V. 44, n. 1, p.60 - 72, 2009.

GOMEZ-LOPEZ, V.M.; ORSOLANI, L.; MARTÍNEZ-YÉPEZ, A.; TAPIA, M. S. Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice. **LWT - Food Science and Technology**, v.43, n. 5, p 808–813. 2010.

GORMAN, S., JONES, D.; LOFTUS, A. The synergistic effect of direct and indirect ultrasonic energy and chlorhexidine gluconate on spores of *Bacillus subtilis*. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 65, n. 1 – 2, p.127–132, 1990.

GRAÇA, A.; ABADIAS, M.; SALAZAR, M.; NUNES, C. The use of electrolyzed water as a disinfectant for minimally processed apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 61, n.2–3, p.172–177, 2011.

GUERRERO, S.; LÓPEZ-MALO,A.; ALZAMORA, S.M. Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae*: influence of temperature, pH and amplitude. **Innovative Food Science an Emmerging Technologies**. v.2, n.1, p.31-39, 2001.

HA, J., KIM, H.; HA, S. Effect of combined radiation and NaOCl/ultrasonication on reduction of *Bacillus cereus* spores in rice. **Radiation Physics and Chemistry**. v.81, n. 8, p. 1177–1180, 2012.

HEATON, J. C.; JONES, K. Microbial contamination of fruit and vegetables and the behaviour of enteropathogens in the phyllosphere: a review. **Journal of Applied Microbiology**. v.104, n. 3, p. 613–626, 2008.

HOU, Z., FINK, R. C., RADTKE, C., SADOWSKY, M. J. DIEZ-GONZALEZ, F. Incidence of naturally internalized bacteria in lettuce leaves. **International Journal of Food Microbiology**. v. 162, n. 3, p. 260–265, 2013.

HUANG, Y.; CHEN, H. Effect of organic acids, hydrogen peroxide and mild heat on inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 on baby spinach. **Food Control**, v.22, n.8, p.1178-1183, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4ª ed. Brasília, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Coordenadoria dos Serviços Técnicos especializados – Secretaria do Estado de Saúde, 1985.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL (INCAPER). Morango capixaba: garantia de qualidade. Informativo especial do instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural. **Incaper em Revista**, ano 1, n. 1, 2010.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

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

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.

LAMMINEN, M.O., WALKER, H.W.; WEAVERS, L.K. Mechanisms and factors influencing the ultrasonic cleaning of particle-fouled ceramic membranes. **Journal of Membrane Science**. v. 237, n. 1- 2, p. 213–223, 2004.

LEGAY, M.; GONDREXON, N.; LE PERSON, S.; BOLDO, P.; BONTEMPS, A. Enhancement of heat transfer by ultrasound: review and recent advances. **International Journal of Chemical Engineering**. v. 2011, p. 1–17. 2011.

LIAO, C. H.; SAPERS, G. H. Attachment and growth of *Salmonella* Chester in apple fruits and in vivo response of attached bacteria to sanitizer treatments. **Journal of Food Protection**, v.63, n. 7, p. 876–883, 2000.

LIMA FILHO, T., DELLA LUCIA, S. M., LIMA, R. M., SCOLFORO, C. Z., CARNEIRO,

J. C. S, PINHEIRO, C. J. G., PASSAMAI JR, J. L. Irradiation of strawberries: Influence of information regarding preservation technology on consumer sensory acceptance. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v. 26, p 242–247, 2014.

LUDOVICO P.; SOUSA M.J.; SILVA M.T.; LEO C.; CORTE-REAL M. *Saccharomyces cerevisiae* commits to a programmed cell death process in response to acetic acid. **Microbiology**. v.147, n. 9, p. 2409–2415, 2001.

MANICA, I.; KIST, H.; MICHELETTO, E.L.; KRAUSE, C.A. Competição entre quatro cultivares e duas seleções de goiabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.8, p.1305-1313, 1998.

MAPA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de morango (*Fragaria L.*)**, 2011. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/MORANGO\\_FORMULARIO\\_REVISAO\\_29AGO2011P.doc](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/MORANGO_FORMULARIO_REVISAO_29AGO2011P.doc). Acesso em: 10 set. 2015.

MOLLAPOUR M.; PIPER P. W. Hog1 mitogen-activated protein kinase phosphorylation targets the yeast Fps1 aquaglyceroporin for endocytosis, thereby rendering cells resistant to acetic acid. **Molecular and cellular biology**. v.27, n. 18, p. 6446–6456, 2007.

MORETTI, C. V. **Encontro Nacional sobre processamento mínimo de frutas e frutas e hortaliças**, Lavras, 2008.

MORRIS, C.E.; MONIER, J.M. The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. **Annual Review of Phytopathology**. 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, n. 2, p. 666–677, 2012.

NASCIMENTO, M. S; SILVA, N. Tratamentos químicos na sanitização de morango (*Fragaria vesca L.*). **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 13, n. 1, p. 11-17, 2010.

NASCIMENTO, T.B. do; RAMOS, J.D.; MENEZES, J.B. Características físico-químicas do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa Degener*) produzido em diferentes épocas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.20, n.1, p.33-38, 1998.

NITSCH, J. P. Growth and morphogenesis of the strawberry as related to auxin. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 37, n. 3, p. 211 – 215, 1950.

NUNES, M. C. N.; BRECHT, J. K.; MORAIS, A. M. M. B.; SARGENT, S. A. Controlling temperature and water loss to maintain ascorbic acid levels in strawberries during postharvest handling. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 6, p. 1033-1036, 1998.

OLAIMAT, A. N., HOLLEY, R. A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. **Food Microbiology**. v.32, n. 1, p. 1–19, 2012.

OULAHAL, N., MARTIAL-GROS, A., BONNEAU, M.; BLUM, L. Removal of meat biofilms from surfaces by ultrasounds combined with enzymes and/or a chelating agent. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v.8, n. 2, p. 192–196, 2007.

OULAHAL-LAGSIR, N., MARTIAL-GROS, A., BONNEAU, M.; BLUM, L.J. “*Escherichia coli*-milk” biofilm removal from stainless steel surfaces: synergism between ultrasonic waves and enzymes. **Biofueling**, v. 19, n. 3, p. 159–168, 2003

PANEL ON ADDITIVES AND PRODUCTS OR SUBSTANCES USED IN ANIMAL FEEDS. FeedScientific 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**. v.10, p. 15, 2012.

PATIST, A.; BATES, D. Ultrasonic innovations in the food industry: from the laboratory to commercial production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v.9, n. 2, p. 147–154, 2008.

RAHMAN, S.M.E.; JIN, Y-G.; OH, D-H. Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety, shelf life and sensory quality of shredded carrots. **Food Microbiology**, v.28, n.3, p. 484-491, 2011.

RAIDEN, R.M. **Efficacy of detergent rinse agents to remove *Salmonella* and *Shigella* spp. from the surface of fresh produce**. 2002. 80p. (Master of Science in Food Science and Technology). Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.

RAMOS, E. M; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da qualidade da carne**. Viçosa: UFV, 2007. 599p.

RASO, J., PALOP, A., PAGAN, R.; CONDON, S. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment. **Journal of Applied Microbiology** v.85, n. 5, p. 849–854, 1998.

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.

REIS, R. C.; MINIM, V. P. R. Testes de aceitação. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, p. 66-82, 2010.

RICHARDS, G. M.; BEUCHAT, L.R. Infection of cantaloupe rind with *Cladosporium cladosporioides* and *Penicillium expansum* and associated migration of *Salmonella* Poona into edible tissues. **International Journal of Food Microbiology**. v. 103, n. 1, p. 1-10, 2005.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v.82, n. 4, p.632–639, 2003.

RIZZATTI, I. M.; ZANETTE, D. T. Determinação potenciométrica da concentração micelar crítica de surfactantes: uma nova aplicação metodológica no ensino de Química. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p.518-521, 2009.

ROCHA, T. M.; GONÇALVES, E. C. B. A; FARIA, M. V. C. Lavagem e sanitização em maçã (*Malus domestica* borkh.) Cultivar royal gala: avaliação na redução de pesticidas organofosforados. **Alimentos e Nutrição**. v.21, n. 4, p. 659 – 665, 2010.

ROLLIN, F., KENNEDY, J., WILLS, J. Consumers and new technologies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 2 -3, p 99-111, 2011.

RUÍZ-CRUZ, S.; FÉLIX, E. A.; CINCO, M. D. ; OSUNA, M. A. I.; AGUILAR, G. A. G. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. **Food Control**, v. 18, n. 11, p.1383-1390, 2007.

SAGONG, H.; CHEON, H.; KIM, S.; LEE, S.; PARK, K.; CHUNG, M.; CHOI, Y.; KANG, D. Combined effects of ultrasound and surfactants to reduce *Bacillus cereus* spores on lettuce and carrots. **International Journal of Food Microbiology**, v.160, n.3, p. 367–372, 2013.

SAGONG, H.; LEE, S.; CHANG, P.; HEU, S.; RYU, S.; CHOI, Y.; KANG, D. 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, n. 1, p.287-292, 2011.

SALLEH-MACK, S. Z., ROBERTS, J. S. The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 3, p 323-329, 2007.

SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A.; OUWEHAND, A. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. ed. 3. New York: Marcel Dekker, 2004. 633p.

SANGO, D. M.; ABELA, D.; MCELHATTON, A.; VALDRAMIDIS, V.P. Assisted ultrasound applications for the production of safe foods. **Journal of Applied Microbiology**. v.116, n. 5, p. 1067-1083, 2014.

SÃO JOSÉ, J. F. B. **Caracterização físico-química e microbiológica de tomate cereja (*Lycopersicum esculentum* var. *cerasiforme*) minimamente processado submetido a diferentes tratamentos de sanitização**. 141f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

SÃO JOSÉ, J. F. B., MEDEIROS, H. S., BERNARDES, P. C., ANDRADE, N. J. 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. 9–13,2014a.

SÃO JOSÉ, J. F. B., MEDEIROS, H. S., BERNARDES, P. C., ANDRADE, N. J. Ultrasound and organic acids in removal of *Salmonella enterica* Enteritidis and *Escherichia coli* from pears surfaces. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. v. 33, n. 1, p. 118 – 128, 2015.

SÃO JOSÉ, J. K. B; VANETTI, M. C. D. Application of ultrasound and chemical sanitizers to watercress, parsley and strawberry: Microbiological and physicochemical quality. **LWT - Food Science and Technology**. v. 63, n. 2, p 946-952, 2015.

SÃO JOSÉ, J.F.B, ANDRADE, N. J., 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. 35, p 36-50. 2014b.

SÃO JOSÉ, J.F.B., 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, n.1-2, p.95-99, 2012.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R. M.; ANGULO, F. J.; TAUXE, R. V.; WIDDOWSON, M. A. ; ROY, S.L.; ; JONES, J. L. ; GRIFFIN, P. M. Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. **Emerging Infectious Diseases**. v.17, n. 1, p. 7–15, 2011.

SCALZO J.; POLITI A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v.21, n. 2, p. 207–13, 2005.

SECRETARIA DE AGRICULTUA, ABASTECIMENTO, AQUICULTURA E PESCA (SEAG). **Governo debate produção de morango durante seminário em Domingos Martins.** 2011. Disponível em: <[http://www.idaf.es.gov.br/WebForms/wfNoticia.aspx?cd\\_Noticia=282](http://www.idaf.es.gov.br/WebForms/wfNoticia.aspx?cd_Noticia=282)>. Acesso em: 18 nov. 2015.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** 4 ed. São Paulo: Varela, 2010.

SOLOMON, E. B; SHARMA, M. Microbial attachment and limitations of decontamination methodologies. in Sapers, G. M; SOLOMON, E. B; MATTHEWS, K. R., **The Produce Contamination Problem - Causes and Solutions**, Elsevier, USA, pp. 21–45, 2009.

SREY S.; JAHID I. K.; HA S. D. Biofilm formation in food industries: a food safety concern. **Food Control.** v.31, n. 2, p. 572–585, 2013.

STEFF, J. F. **Rheological methods in food process engineering.** 2 ed. East Lansing: Freeman Press, 1996.

TACO - **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.** 4. ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP-NEPA, 2011. 161 p.

TOLEDO, M. I. B.; UTRILLA, J. R.; MÉNDEZ-DÍAZ, J. D.; SÁNCHEZ-POLO, M.; CARRASCO-MARÍN, F. Removal of the surfactant sodium dodecylbenzenesulfonate from water by processes based on adsorption/bioadsorption and biodegradation. **Journal of Colloid and Interface Science.** v. 418, p. 113–119, 2014.

UKUKU, D. O.; FETT, W. F. Effect of cell surface charge and hydrophobicity on attachment of 16 *Salmonella* serovars to cantaloupe rind and decontamination with sanitizers. **Journal of Food Protection,** v.69, n. 8, p. 1835–1843, 2006.

UYTTENDAELE, M.; NEYTS, K.; VANDERSWALMEN, H.; NOTEBAERT, E.; DEBEVERE, J. Control of *Aeromonas* on minimally processed vegetables by decontamination with lactic acid, chlorinated water, or thyme essential oil solution. **International Journal of Food Microbiology,** v.90, n. 3, p. 263–271, 2004.

VILLAMIEL, M.; JONG, P. Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in Trypticase® Soy Broth and total bacteria in milk by continuous-flow ultrasonic treatment and conventional heating. **Journal of Food Engineering.** v.45, n. 3, p.171–179, 2000.

WANG, Z.; HUANG, J.; CHEN, J., LI, F. Effectiveness of dishwashing liquids in removing chlorothalonil and chlorpyrifos residues from cherry tomatoes. **Chemosphere.** v.9, n. 8, p. 1022 – 1028, 2013.



WILLAMIL J.; CREUS E.; PÉREZ, J.F.; MATEU E.; MARTIN-ORÚE; S. M. Effect of a microencapsulated feed additive of lactic and formic acid on the prevalence of *Salmonella* in pigs arriving at the abattoir. **Archives of animal nutrition**. v.65, n. 6, p.431–444, 2011.

WOODS, C.W. **Examination of the effects of biosurfactant concentration on natural gas hydrate formation in seafloor porous media**. Thesis, Mississippi State University, Dave C. Swalm School of Chemical Engineering, 110p. 2004.

WSZELAKI, A. L.; MITCHAM, E. J. Effect of combinations of hot water dips, biological control and controlled atmospheres for control of gray mold on harvested strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, n. 3, p. 255–264, 2003.

YANG, Z., CAO, S., CAI, Y., ZHENG, Y. Combination of salicylic acid and ultrasound to control postharvest blue mold caused by *Penicillium expansum* in peach fruit. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v. 12, n. 3, p. 310–314, 2011.

YUSAF, T., AL-JUBOORI, R. A. Alternative methods of microorganism disruption for agricultural applications. **Applied Energy**, v. 114, p 909–923, 2014.

ZHENG, J.; ALLARD, S.; REYNOLDS, S.; MILLNER, P.; ARCE, G.; BLODGETT, R. J.; BROWNA, E. W. Colonization and Internalization of *Salmonella enterica* in Tomato Plants. **Applied and Environmental Microbiology**. v.79, n. 8, p. 2494 – 2502, 2013.

ZOTTOLA, E. A., SASAHARA, K C. Microbial biofilms in the food processing industry - Should they be a concern?. **International Journal of Food Microbiology**. v.23, p. 125-148, 1994.