

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

ÍTALO HENRIQUE RODRIGUES MARQUES FERREIRA

EFEITOS DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA NA
SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella enterica* EM PIMENTÃO
(*Capsicum annuum* L.) MINIMAMENTE PROCESSADO DURANTE O
ARMAZENAMENTO

João Pessoa

2020

ÍTALO HENRIQUE RODRIGUES MARQUES FERREIRA

**EFEITOS DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA NA
SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella enterica* EM PIMENTÃO
(*Capsicum annuum* L.) MINIMAMENTE PROCESSADO DURANTE O
ARMAZENAMENTO**

João Pessoa

2020

ÍTALO HENRIQUE RODRIGUES MARQUES FERREIRA

**EFEITOS DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA NA SOBREVIVÊNCIA DE
Salmonella enterica EM PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.) MINIMAMENTE
PROCESSADO DURANTE O ARMAZENAMENTO**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento a parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição.

Área de concentração: Ciências da Nutrição

Linha de pesquisa: Análise e Controle de Qualidade de Alimentos

ORIENTADOR (A): Profa. Dra. Marciane Magnani

João Pessoa

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F383e Ferreira, Ítalo Henrique Rodrigues Marques.

Efeitos da temperatura e umidade relativa na sobrevivência de *Salmonella enterica* em pimentão (*Capsicum annuum* L.) minimamente processado durante o armazenamento / Ítalo Henrique Rodrigues Marques Ferreira. - João Pessoa, 2020.

88 f. : il.

Orientação: Marciane Magnani Magnani.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/Ciência da Saúde.

1. microbiologia preditiva, salmonelose, vegetais. I. Magnani, Marciane Magnani. II. Título.

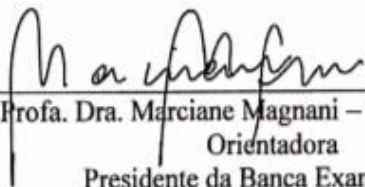
UFPB/BC

ÍTALO HENRIQUE RODRIGUES MARQUES FERREIRA

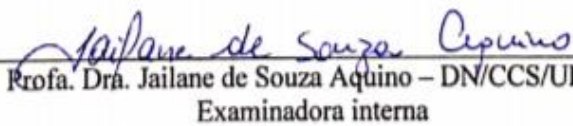
EFEITOS DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA NA
SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella enterica* EM PIMENTÃO (*Capsicum annuum*
L.) MINIMAMENTE PROCESSADO DURANTE O ARMAZENAMENTO

Dissertação defendida em 07/05/2020

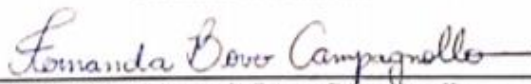
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Marciane Magnani – DEA/CT/UFPB
Orientadora
Presidente da Banca Examinadora



Profa. Dra. Jailane de Souza Aquino – DN/CCS/UFPB
Examinadora interna



Profa. Dra. Fernanda Bovo Campagnollo –
Núcleo Comum da Engenharia/FHO/Uniararas
Examinadora externa

Maria Elieidy Gomes de Oliveira – DNT/CCS/UFPB
Examinadora Interna Suplente

Verônica Ortiz Alvarenga – Departamento de Alimentos/UFGM
Examinadora Externa Suplente

Ao Senhor Jesus Cristo, por ser meu porto seguro em todos os momentos. Aos meus pais Clécio e Eliene, por todo esforço que fizeram para que eu chegasse até aqui.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser meu guia em todas as minhas decisões, por ter me abençoado com tantas conquistas nos últimos anos e por não me desamparar nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais Clécio e Eliene e meus irmãos Erick e João Luis, por serem minha maior motivação e meu lugar de paz. Agradeço aos meus pais por todos os esforços que fizeram para que eu pudesse ter uma educação de qualidade e assim poder realizar todos os nossos sonhos.

À professora Marciane Magnani, pela oportunidade que foi me dada ao me orientar, por todo o conhecimento técnico e também pelos ensinamentos gerais que irei levar para o resto da minha vida.

À Adma Melo, minha tutora e amiga, obrigado por me ensinar fundamentos básicos com tanta paciência e simpatia. Agradeço por todos os conselhos, ensinamentos e empatia que teve comigo.

À Geany Targino, por ter sido fundamental nessa fase final do meu mestrado. Obrigado por todos os momentos de apoio e por toda generosidade.

À minha família do Laboratório de Processos Microbianos em Alimentos: Gabriela Gonçalves, Jéssica Guedes, Flávia Helena, Laênia Lopes, Dani Schabo, Geany Targino, Louise Iara, Elvira Chaves, Winnie Alencar, Viviane Barros, Adma Melo e Sonalle Albuquerque, por todos os momentos compartilhados, sejam eles no laboratório quanto nos momentos de confraternização.

Ao técnico Gilvandro Ferreira, que sempre me ajudou quando tive dúvida em relação a algum procedimento e também por alegrar o nosso ambiente com sua alegria diária.

Ao PPGCN por me proporcionar a realização de mais um sonho.

A todos que contribuíram para que essa pesquisa fosse realizada.

Agradeço!

“A vida é uma grande universidade, mas pouco ensina a quem não sabe ser um aluno”.

Augusto Cury

RESUMO

Salmonella enterica causa um elevado número de infecções humanas anualmente em todo o mundo. Dentre os alimentos envolvidos em surtos destacam-se os vegetais minimamente processados. O pimentão minimamente processado é comercializado mundialmente e seu envolvimento em surtos tem sido recorrente. O presente estudo teve como objetivo avaliar a sobrevivência de *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis em pimentão minimamente processado em função da temperatura e da umidade relativa de armazenamento. Foram avaliadas combinações de umidade relativa (UR) de 15, 50, 100% em temperaturas de 7, 14 e 21 °C para inóculos em concentrações de 4,5 e 2,5 log UFC/g. Após 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 h, as células viáveis de cada sorovar foram enumeradas em amostras de pimentão minimamente processado. *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* demonstraram comportamento semelhante durante o armazenamento nas condições analisadas e foram combinados em um único conjunto (*S. enterica*) de dados para extração dos parâmetros cinéticos a partir dos modelos primários de Baranyi e Roberts para o inóculo 4,5 log UFC/g e linear para 2,5 log UFC/g. Os parâmetros cinéticos extraídos desses modelos foram ajustados em uma equação polinomial para modelos secundários capazes de prever a taxa de crescimento de *S. enterica* em pimentão em função dos parâmetros testados. *S. enterica* apresentou taxa máxima de crescimento (μ_{max}) variando de -0,0047 a 0,0681 1/h. A maior μ_{max} foi observada em 14 e 21 °C na maior UR testada (100%), enquanto o crescimento de *S. enterica* não foi suportado nas temperaturas e UR mais baixas testadas, independentemente do tamanho do inóculo. Na temperatura mais baixa (7 °C) na condição mais alta da UR, o patógeno apresentou uma taxa máxima de crescimento de $0,0123 \pm 0,0016$ 1/h quando testado a 2,5 log UFC/g. Na maioria das condições testadas a 2,5 log UFC/g houve crescimento de *S. enterica*, entretanto, para o inóculo de 4,5 log UFC/g apenas as condições que compreenderam as temperaturas e UR mais elevadas suportaram o crescimento de *S. enterica* ao longo de 144 h de armazenamento. As regressões lineares baseadas nos dados experimentais exibiram R^2 próximo a 0,99 e uma boa previsão do μ_{max} em função da temperatura (T) e da umidade relativa. A interação de T e UR mostrou efeitos ($p < 0,05$) no crescimento de *S. enterica* em pimentões inoculados a 4,5 log UFC/g, enquanto o termo quadrático de UR apresentou efeitos ($p < 0,05$) no crescimento quando *S. enterica* foi inoculada a 2,5 log UFC/g. Os resultados descrevem o comportamento de *S. enterica* em pimentões armazenados em uma gama de condições de temperatura e UR e o impacto do tamanho inicial do inóculo. Os modelos gerados podem ser considerados ferramentas úteis para análise de risco da ocorrência deste patógeno em pimentões minimamente processados.

Palavras-chave: microbiologia preditiva, processamento mínimo, salmonelose, vegetais

ABSTRACT

Salmonella enterica causes a high number of human infections annually worldwide. Among the foods involved in outbreaks, minimally processed vegetables stand out. Minimally processed pepper a world market commodity and its involvement in salmonellosis outbreaks has increased. The present study aimed to evaluate the survival of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis in minimally processed peppers as a function of temperature and relative humidity (RH). Combinations of 7, 14 and 21 °C and 15, 50, 100% RH were evaluated for inoculum at 4.5 log CFU/g and 2.5 log CFU/g. After 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 h, viable *Salmonella* cells of each serovar were enumerated. *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* showed similar behavior in cut-peppers during storage at evaluated conditions and data were combined a single set (*S. enterica*) for extraction of kinetic parameters using the Baranyi and Roberts equation for 4.5 log CFU/g inoculum and linear model for 2.5 log CFU/g inoculum. The kinetic parameters extracted from these models were adjusted in a polynomial equation for secondary models capable of predicting the growth of *S. enterica* in sweet pepper as a function of the tested parameters. *S. enterica* presented a maximum growth rate (μ_{max}) ranging from -0.0047 to 0.0681 1/h. The highest μ_{max} was observed at 14 and 21 °C and at the highest tested RH (100%), while the growth of *S. enterica* was not supported at the lowest temperatures and tested RH, regardless of the size of the inoculum. In the lowest temperature and highest RH tested, the pathogen showed a maximum growth rate of 0.0123 ± 0.0016 1/h when tested at 2.5 log CFU/g. In most of the conditions tested at 2.5 log CFU/g growth was observed however, in the inoculum of 4.5 log CFU/g only the conditions that comprise the highest temperatures and RH tested supported the growth of *S. enterica* over 144 h of storage. Linear regressions based on experimental data showed R^2 close to 0.99 and a good prediction of μ_{max} as a function of temperature (T) and relative humidity. The interaction of T and RH showed effects ($p < 0.05$) on the growth of *S. enterica* in cut-peppers inoculated at 4.5 log CFU/g. The quadratic term of RH showed effects ($p < 0.05$) when *S. enterica* was inoculated at 2.5 log CFU/g. The results describe the behavior of *S. enterica* in cut-peppers in a range of temperature and RH conditions and show the impact of the initial size. The generated models would be useful tools to manage the risk of this pathogen in cut-peppers.

Keywords: predictive microbiology, salmonellosis, minimal processing, vegetables

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

Figura 1 – Classificação do gênero <i>Salmonella</i> spp.....	16
Figura 2 – Classificação de Pimentão em grupo, sub-grupo, classe e sub-classe.....	28

FIGURAS DO ARTIGO

Figure 1. Survival of <i>Salmonella</i> Typhimurium (—) and <i>Salmonella</i> Enteritidis (----) (4.5 log CFU/g) in cut-peppers at different temperature and relative humidity conditions. Asterisks denote storage time intervals with statistical difference.....	70
Figure 2. Survival of <i>Salmonella</i> Typhimurium (—) and <i>Salmonella</i> Enteritidis (----) (2.5 log CFU/g) survival in cut-peppers at different temperature and relative humidity conditions. Asterisks denote storage time intervals with statistical difference.....	71
Figure 3. Predicted and observed values of maximum growth rate ($\mu_{\max}$) of <i>Salmonella enterica</i> inoculated in cut-peppers under distinct temperature and relative humidity conditions when inoculated at (A) 4.5 log CFU/g fitting data to Barany and Roberts model or (B) 2.5 log CFU/g data fitted to Linear model.....	72
Figure 4. Comparison of maximum growth rate ($\mu_{\max}$) for <i>Salmonella enterica</i> survival in cut-peppers under distinct temperature and relative humidity conditions when inoculated at (A) 4.5 log CFU/g fitting data to Barany and Roberts model or (B) 2.5 log CFU/g data fitted to Linear model.....	73
Figure 5. Growth rate model with extrapolation of estimates (temperature and relative humidity) according to the quadratic polynomial model obtained for regression models based on (A) 4.5 log CFU/g fitting data to Barany and Roberts model or (B) 2.5 log CFU/g data fitted to Linear model. Cut-off probability $P=0$	74
Supplementary Figure 1 Viable counts of <i>Salmonella</i> Thypimurium and <i>S. Enteritidis</i> in cut-peppers inoculated with 4.5 log CFU/g during storage at 7, 14 and 21 °C and 15 (●), 50 (▲), and 100 (■) % relative humidity. Plotted line corresponds to the limit of detection (LOD 1.5 log CFU/g). Points set on the plotted line designate >LOD (1.5 log CFU/g).....	75
Supplementary Figure 2. Viable counts of <i>Salmonella</i> Thypimurium and <i>S. Enteritidis</i> in cut-peppers inoculated with 2.5 log CFU/g during storage at 7, 14 and 21 °C and 15 (●), 50 (▲),	

and 100 (■) % relative humidity. Plotted line corresponds to the limit of detection (LOD 1.5 log CFU/g). Points set on the plotted line designate >LOD (1.5 log CFU/g).....76

LISTA DE TABELAS

TABELAS DO ARTIGO

Table 1. Survival kinetic parameters of <i>Salmonella enterica</i> (2.5 and 4.5 log CFU/g) on cut pepper at different temperature and relative humidity conditions.....	67
Table 2. Statistics for the effects of temperature and relative humidity on maximum growth/death rate of <i>Salmonella enterica</i> on cut pepper inoculated at 4.5 log CFU/g obtained by Barany and Roberts model.....	68
Table 3. Statistics for the effects of temperature and relative humidity on maximum growth/death rate of <i>Salmonella enterica</i> on cut pepper inoculated at 2.5 log CFU/g obtained by Linear model.....	69
Supplementary Table 1. Screening of primary models tested to fit experimentally data obtained in cut pepper for <i>Salmonella</i> Typhimurium (4.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).....	77
Supplementary Table 2. Screening of primary models tested to fit experimentally data obtained in cut pepper for <i>Salmonella</i> Thypimurium (2.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).....	78
Supplementary Table 3. Screening of primary models tested to fit experimentally data obtained in cut pepper for <i>Salmonella</i> Enteritidis (4.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).....	78
Supplementary Table 4. Screening of primary models tested to fit experimentally data obtained in cut pepper for <i>Salmonella</i> Enteritidis (2.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).....	80
Supplementary Table 5. Kinetic parameters obtained from primary models based on experimentally data in cut pepper for <i>Salmonella</i> Typhimurium (4.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).....	81
Supplementary Table 6. Kinetic parameters obtained from primary models based on experimentally data in cut pepper for <i>Salmonella</i> Typhimurium (2.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).....	82
Supplementary Table 7. Kinetic parameters obtained from primary models based on experimentally data in cut pepper for <i>Salmonella</i> Enteritidis (4.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).....	83

Supplementary Table 8. Kinetic parameters obtained from primary models based on experimentally data in cut pepper for *Salmonella* Enteritidis (2.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).....84

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 <i>Salmonella enterica</i> : CARACTERÍSTICAS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS ...	16
2.2 EFEITOS DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA (UR) NA SOBREVIVÊNCIA de <i>Salmonella enterica</i>	19
2.3 <i>Salmonella enterica</i> EM VEGETAIS MINIMAMENTE PROCESSADOS.....	22
2.3.1. Pimentão (<i>Capsicum annuum</i> L.)	26
Figura 1 - Classificação de pimentão em grupo, sub-grupo, classe e sub-classe	27
2.4 MODELAGEM MATEMÁTICA DO CRESCIMENTO/INATIVAÇÃO MICROBIANA.....	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1 CEPAS TESTE E PREPARAÇÃO DE INÓCULO	32
3.2 PIMENTÕES MINIMAMENTE PROCESSADOS.....	32
3.3 INOCULAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PIMENTÃO E CONTROLE DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS	33
3.4 ENUMERAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS DE <i>S. Typhimurium</i> E <i>S. Enteritidis</i> durante o armazenamento.....	33
3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	33
3.5.1 Avaliação do crescimento e inativação de <i>S. Typhimurium</i> E <i>S. Enteritidis</i>	33
3.5.2 Potencial de crescimento (δ) e percentual de inativação de <i>S. enterica</i> em pimentão minimamente processado	34
3.5.3 Modelando os dados de crescimento/inativação	34
4 RESULTADOS	36
REFERÊNCIAS	37
APÊNDICES	48
APÊNDICE A: ARTIGO ORIGINAL	49

1 – INTRODUÇÃO

Salmonella enterica é responsável por um elevado número de infecções humanas em todo o mundo a cada ano. Este patógeno é considerado uma das quatro principais causas globais de doenças diarreicas [WORD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2020]. A contaminação dos seres humanos por *S. enterica* ocorre principalmente por alimentos e água. Estima-se que esse patógeno afete dezenas de milhões de pessoas a cada ano e cause mais de 100.000 mortes (HAVELAAR et al., 2015; WHO, 2020).

S. enterica é considerada um dos principais patógenos envolvidos em surtos alimentares em diversos países, sendo o segundo agente etiológico mais comum em surtos alimentares nos Estados Unidos (EUA) e no Brasil, além de representar um terço dos surtos de origem alimentar notificados na União Europeia em 2018. Diversos sorovares de *S. enterica* estão envolvidos em surtos alimentares, especialmente: *S. Enteritidis*, *S. Newport* e *S. Typhimurium* [Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2019; European Food Safety Authority (EFSA), 2019; Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), 2019].

Estudos comprovam que o crescimento e sobrevivência de *S. enterica* nos alimentos podem ser influenciados pela temperatura e umidade de armazenamento (TOKARSKYY; SCHNEIDER, 2019; MATHEY et al., 2018). A sobrevivência de *S. enterica* em produtos frescos é favorecida em condições de alta umidade relativa (UR) (> 80%) (LÓPEZ-GÁLVEZ; GIL; ALLENDE, 2018; WILLIAMSON et al., 2018). Além disso, a sobrevivência e o crescimento bacteriano em frutas frescas podem ocorrer mesmo à temperatura de refrigeração, considerando os nutrientes prontamente disponíveis no suco vazado e na água exsudada de superfícies cortadas (TIAN; BAE; LEE, 2013; GUO et al., 2016). Geralmente, *S. enterica* não se multiplica em alimentos de baixa atividade de água ($a_w < 0,70$) no entanto, consegue sobreviver durante o armazenamento prolongado (SANTILLANA FARAKOS; FRANK; SCHAFFNER, 2013).

Nos últimos anos, houve aumento do consumo de vegetais minimamente processados devido principalmente a conveniência do consumo desses alimentos altamente nutritivos (MA et al., 2017; DE CORATO; CANCELLARA, 2019). *S. enterica* pode ser transferida da superfície dos frutos contaminados (cascas) para as porções comestíveis durante o processamento mínimo. Ainda, a presença de *S. enterica* em frutas e legumes pode resultar de contaminação de superfícies de equipamentos, contaminação cruzada durante o manuseio e durante a lavagem destes alimentos (RAVISHANKAR; ZHU; JARONI et al., 2010; MAFFEI et al., 2016; WANG; RYSER, 2020).

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) é uma fruta consumida em todo o mundo (BABEL-LAHI et al., 2020) e destaca-se como uma das culturas de solanáceas mais populares. Estima-se que a produção mundial de pimentão fresco seja em torno de 34,5 milhões de toneladas (MT) por ano e represente área plantada superior a 480 mil ha (LI et al., 2017). No Brasil, o pimentão é plantado e consumido em todo o território nacional. A área estimada de plantio é 19 mil ha, com produção anual acima de 420 mil toneladas (FAOSTAT, 2017).

O pimentão é comumente consumido cru em saladas, sanduíches e recheios de aperitivos, ou cozido inserido em pratos da culinária mediterrânea (JUÁNIZ et al., 2016). Existem relatos da capacidade de multiplicação e fixação de *S. enterica* em pimentões vermelhos (MARVASI et al., 2015) e fatias de pimentão minimamente processadas (LIAO; COOKE, 2001). Ainda, em estudos realizados em ambiente de cultivo em estufa e em supermercados que comercializam produtos agrícolas foi demonstrada a presença de *S. enterica* em pimentões dos cultivares sino e kapya, respectivamente (AVILA-VEGA et al., 2014; GUNEL et al., 2015).

Os riscos de veiculação de *S. enterica* em pimentões tem recebido especial atenção após a ocorrência de surtos alimentares nos EUA associados a este alimento, infectando centenas de pessoas. Em 2008, um surto causado por pimentões contaminados com *S. enterica* ocorreu em 43 estados nos EUA e resultou em um total de 565 pessoas infectadas, 286 hospitalizações e 2 mortes (CDC, 2008). Outro surto de salmonelose associado a pimentões frescos ocorreu em 2016, em 9 estados dos EUA, onde 32 e 25 pessoas foram infectadas e hospitalizadas, respectivamente (HASSAN, et al., 2017).

Devido ao crescente consumo de alimentos crus e minimamente processados, a exemplo do pimentão, uma elevada taxa da população pode ser exposta a patógenos de origem alimentar como *S. enterica*, caso não sejam aplicadas medidas preventivas adequadas (DE OLIVEIRA ELIAS; NORONHA; TONDO, 2018). A modelagem matemática surge como uma ferramenta de prevenção e pode ser usada para avaliar a mudança na densidade do patógeno, ou seja, sua multiplicação a qualquer tempo e temperaturas aplicados em operações de processamento, armazenamento e distribuição (VELUGOTI et al, 2011).

O efeito isolado ou combinado da temperatura e da umidade relativa e/ou do tempo de armazenamento nos parâmetros cinéticos de sobrevivência e crescimento de *S. enterica* tem sido descrito em frutas frescas (LÓPEZ-GÁLVEZ; GIL; ALLENDE, 2018; TOKARSKYY; SCHNEIDER, 2019; WILLIAMSON et al., 2018), porém nenhum estudo anterior se concentrou nos efeitos da temperatura e da umidade relativa durante a sobrevivência de *S. enterica* em pimentões. Frente aos aspectos supracitados, o presente estudo teve como objetivo avaliar a

sobrevivência de *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis em pimentão minimamente processado em função da temperatura e da umidade relativa de armazenamento.

2 – REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 - *Salmonella enterica*: CARACTERÍSTICAS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Bactérias do gênero *Salmonella* são gram-negativas em forma de bastonetes, anaeróbias facultativas, não formadora de esporos, pertencentes à família das Enterobacteriaceae. Desenvolvem colônias oxidase-negativas, apresentam motilidade, com poucas variantes imóveis (SILVA, 2007; STEVE YAN et al., 2004). O gênero *Salmonella* é classicamente dividido em duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*. A espécie *S. enterica* é dividida em seis subespécies: *S. enterica*, *S. salamae*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. houtenae* e *S. indica*. A subespécie *enterica* da *S. enterica* (convencionalmente designada como *S. enterica*) possui 2610 sorovares (Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2020). Mais de 99% das cepas de *Salmonella* causadoras de infecções humanas pertencem a *S. enterica* subespécie *enterica* (LAMAS et al., 2018). A identificação dos sorovares pode ser realizada por sorologia baseada em polimorfismos antigênicos dos lipopolissacarídeos (LPS) (O) e flagelos (H) (TURKI et al., 2014). Além disso a identificação do sorovar (sorotipo) pode ser realizada por meio de métodos baseados no sequenciamento do genoma inteiro (WGS), que usam diretamente sequências determinantes para a identificação dos sorovares, como o *Salmonella* Serotyping by Whole Genome Sequencing (SeqSero) e *Salmonella* In Silico Typing Resource (SISTR) (YACHISON et al., 2017; IBRAHIM; MORIN, 2018).

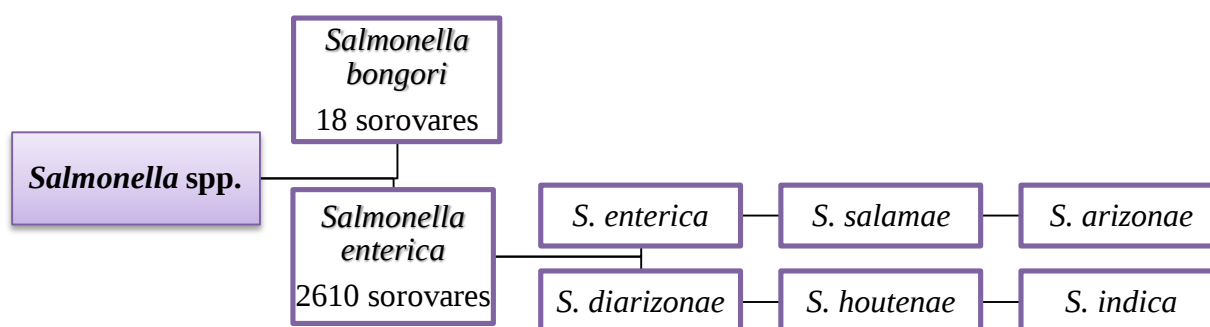


Figura 1 – Classificação do gênero *Salmonella* spp.

Geralmente, os sorovares de *S. enterica* multiplicam-se em temperatura entre 5 e 47 °C, sendo a temperatura ótima de 35 a 37 °C. O pH ótimo para a multiplicação de *S. enterica* é 6,5 a 7,5, porém a mesma também ocorre na faixa de pH de 4 a 9. A inibição completa do crescimento ocorre a temperaturas < 7 °C, pH < 3,8 ou atividade da água < 0,94. (GRAZIANI et al.,

2017). As cepas de *S. enterica* envolvidas na etiologia da salmonelose apresentam uma interação dinâmica do hospedeiro com o ambiente (MELO et al., 2017). Os sinais e sintomas de gastroenterite aguda causada por *S. enterica* podem desenvolver-se de 6h a 6 dias após exposição às bactérias. A infecção causada por *S. enterica* geralmente dura de 5 a 7 dias e a maioria das pessoas se recupera sem tratamento com antibiótico. Dentre os sintomas destaca-se diarreia, febre e cólicas abdominais. Porém, salmoneloses podem se tornar infecções sistêmicas, quando o uso de antibióticos é requerido (CDC, 2019). Crianças, idosos e pacientes imunossuprimidos são mais suscetíveis à infecção do que indivíduos saudáveis (ENG et al., 2015) e a dose infecciosa de *S. enterica* depende do sorovar (BHUNIA, 2008).

O principal habitat de *S. enterica* é o trato intestinal de humanos e animais, porém sua capacidade de adaptação permite sua sobrevivência em uma variedade de ambientes e animais, incluindo hospedeiros mamíferos e não-mamíferos (SÁNCHEZ-VARGAS; ABU-EL-HAJJA; GÓMEZ-DUARTE, 2011). As fezes dos animais podem contaminar a água de irrigação e o solo, ocasionando a transferência de *S. enterica* para os alimentos cultivados no local (LAMAS et al., 2018). Ainda, essa contaminação pode ocorrer em alimentos como leite e ovos por meio exposição direta e em carnes durante as operações de abate (Brasil, Ministério da Saúde, 2011). O ambiente de processamento de alimentos também tem sido descrito como uma fonte de *S. enterica*, pois algumas cepas possuem a capacidade de aderir e formar biofilmes em superfícies (COSSI et al., 2014; FINN et al., 2013; TRIMBLE et al., 2008; GIAOURIS; NESSE, 2015; MORAES et al., 2018).

Apesar das barreiras impostas pela indústria ao crescimento *S. enterica* durante processamento e armazenamento, o patógeno é um dos principais problemas de saúde pública de países desenvolvidos e em desenvolvimento, afetando a saúde de milhares de pessoas, e ainda, são promotores de grandes perdas financeiras em todo o mundo (MAJOWICZ et al., 2010; WHO, 2020). Surtos de salmonelose têm sido associados ao consumo de uma variedade de produtos alimentícios, como carne de frango (YADAV et al., 2016), salmão (SUIJKERBUIJK et al., 2016), carne suína (DE FRUTOS et al., 2018), frutas e verduras (BOLOTOVA; LOU; SAFRO, 2017; MBA-JONAS et al., 2018), shake orgânico (GAMBINO-SHIRLEY et al., 2018), ovos (PIJNACKER et al., 2019), entre outros. Na última década, frutas e legumes frescos tem se destacado como alimentos envolvidos em diversos surtos de *S. enterica* (CDC, 2020). Alguns dos sorovares de *S. enterica* frequentemente envolvidos em surtos com frutas e legumes em todo o mundo incluem *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Newport*, *S. Poona* e *S. Montevideo* (CDC, 2018; HENDRIKSEN et al., 2011).

Na Europa, os Estados-Membros notificaram 5.146 surtos de origem alimentar no ano de 2018 [European Food Safety Authority (EFSA), 2019]. No período, aproximadamente um terço dos surtos de origem alimentar notificados na União Europeia (EU) foram causados por *Salmonella*, afetando 91.857 pessoas. A Eslováquia, a Espanha e a Polónia foram responsáveis por 67% dos 1.581 surtos de *Salmonella* [EFSA; European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2019]. Os cinco principais sorovares relatados em casos humanos de salmonelose em 2018 na União Europeia, em ordem decrescente, foram: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Newport* e *S. Derby*. (EFSA, 2019). Com base nos dados de notificação reportados, *S. enterica* e ovos continua representando a combinação de agente e alimento de maior risco para ocorrência de salmonelose (EFSA, 2019). Em abril de 2015, autoridades finlandesas de saúde pública notificaram os estados-membros da EU sobre um surto causado por *S. Enteritidis* em países participantes de um torneio internacional de hóquei no gelo na cidade de Copa Riga. O alimento envolvido no surto foi um molho e salada à bolonhesa, o qual foi supostamente preparado sem atender as práticas de higiene adequadas durante o processamento e, ou armazenamento (PESOLA et al., 2015). Em junho de 2016, um surto de salmonelose envolvendo 56 indivíduos e um óbito foi notificado na Grécia Central. O sorovar envolvido *S. Enteritidis* presente em uma massa de queijo servido em uma recepção de batismo (MANDILARA et al., 2018).

Entre os anos de 2007 e 2017, nos EUA foram notificados 2.253 surtos de *S. enterica* que no total envolveram 50.325 indivíduos, 7.332 hospitalizações e 87 mortes. O ano de 2017, foi documentado como o ano que teve o menor número de surtos desde 2012, registrando 202 surtos de salmonelose (CDC, 2018). Os estados que abrigaram o maior número de surtos no período acima descrito foram Califórnia e Nova York. No ano de 2017, o mamão papaia (*Carica papaya L.*) destacou-se como o alimento envolvido em quatro surtos multiestados, reportados ao CDC, que contabilizaram 79 hospitalizações e duas mortes de um total de 251 acometidos. Os mamões envolvidos nos surtos foram importados de quatro fazendas mexicanas distintas e estavam contaminados com *S. Urbana*, *S. Thompson*, *S. Kiambu*, *S. Agona*, *S. Gaminara*, *S. Senftenberg*, *S. Newport* e *S. Infantis*, *S. Anatum* (CDC, 2018). Em 2020, o sorovar *S. Javiana* foi diagnosticado como o agente etiológico de um surto que abrangeu 14 estados nos EUA. A contaminação ocorreu em frutas minimamente processadas e o surto acometeu cerca de 165 pessoas, e dentre estas 73 foram hospitalizadas (CDC, 2020).

No Brasil, os surtos de salmonelose são notificados através do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN, 2018). *Salmonella* spp. é descrita como o segundo agente etiológico com maior número de envolvimento em surtos alimentares no período de 2009 a

2018. No relatório sobre os Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil, publicado no início de 2019, foi relatado que a maioria dos surtos alimentares estão concentrados majoritariamente nas regiões sudeste e nordeste do país. Alimentos “mistos” foram descritos como as principais fontes de contaminação (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Em novembro de 2012, ocorreu um surto de salmonelose envolvendo salada de maionese e galinhada em um município na região noroeste do Estado de São Paulo. Um total de 66 indivíduos foram acometidos, entre crianças e adultos. A presença de *S. Alachua* foi confirmada em todas as amostras de fezes analisadas e nos dois tipos de alimentos. Considerando que *Salmonella* Alachua foi identificada com a mesma conexão genética em ambos os alimentos isolados, pode-se sugerir que ocorreu contaminação cruzada entre os dois tipos de alimentos analisados (ALMEIDA et al., 2015). No mesmo ano, ocorreu outro surto envolvendo *S. enterica*, notificado nos municípios de Ribeirão Pires e Mauá no Estado de São Paulo, após o consumo de um bolo de coco na ceia de natal de 2012. Um total de 8 pessoas foram acometidas, envolvendo indivíduos dos dois municípios relatados. A presença de *S. Enteritidis* foi confirmada nas amostras de origem humana e alimentar (NUNES et al., 2017).

Os dados de surtos alimentares notificados pelas autoridades de cada país podem não refletir a real situação epidemiológica, pois uma série de eventos ocorrem entre o momento que uma pessoa está infectada e o tempo que os funcionários de saúde pública precisam para determinar que a pessoa faz parte de um surto. Para *Salmonella*, normalmente demora de duas a quatro semanas do início da doença de um indivíduo para confirmar que ele faz parte de um surto. Somado a isso, muitas pessoas infectadas com *Salmonella* não procuram cuidados médicos, e com isso não são contabilizadas em um surto (CDC, 2018).

2.2 EFEITOS DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA (UR) NA SOBREVIVÊNCIA DE *S. enterica*

Entre os diversos desafios que a indústria encontra para verificar a qualidade dos alimentos frescos está a eficácia limitada dos métodos convencionais de controle de patógenos em alimentos. Além disso, diferente do que ocorre com deteriorantes, patógenos não apresentam mudanças em características visíveis dos alimentos (DEBLAIS et al., 2019). É fundamental a busca pelo conhecimento das condições extrínsecas que os alimentos são expostos na colheita, processamento, armazenamento e distribuição. Entre as principais condições ambientais que atuam diretamente na sobrevivência de patógenos de origem alimentar estão a tem-

peratura e a umidade relativa (UR). Conhecer o efeito destes fatores é fundamental para determinar o risco e, se possível, reduzir ou impedir o crescimento microbiano durante todo esse processo (LIU; HOFSTRA; FRANZ, 2013).

Um dos principais problemas com relação a persistência de *S. enterica* no ambiente é a capacidade de alguns sorovares de sobreviver em condições anteriormente consideradas desfavoráveis para o patógeno. Dentre os fatores que afetam a sobrevivência de *S. enterica*, recentemente a comunidade acadêmica tem direcionado esforços para gerar conhecimentos sobre os efeitos da UR utilizada de ambientes de armazenamento de produtos frescos, porém os dados ainda são escassos (SALAZAR et al., 2019). O abuso de temperatura é outro fator que pode afetar o crescimento e sobrevivência de *S. enterica*, este pode ocorrer em diferentes estágios do processamento, armazenamento e distribuição de alimentos. O abuso crônico de temperatura ocorre quando os alimentos que precisam de controle de tempo/temperatura para segurança (TCS) são acondicionados em temperaturas excedendo o limite para armazenamento seguro (5 °C) (HUANG et al., 2019).

Em estudo realizado com *S. Typhimurium* em alface tipo *baby* foi observado uma redução de 2 unidades de log de *S. enterica* nas mudas que cresceram em umidade baixa (60% UR), enquanto queda de aproximadamente 1 log foi observada naquelas inoculadas e cultivadas em UR elevada (85%). Os resultados foram similares para cultivo em 23 e 18 °C durante 7 dias. Essas informações indicam que elevadas URs podem favorecer a sobrevivência de *S. enterica* nas superfícies de plantas (LÓPEZ-GÁLVEZ; GIL; ALLENDE, 2018). Da mesma forma, foi observado em estudo com cepas de *S. enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Montevideu*, *S. Newport* e *S. Typhimurium*) em transportadores de frutas (pequenos recipientes utilizados para transportar frutas lavadas e enceradas em sistemas de casas de empacotamento de frutas), uma maior sobrevivência desse patógeno em 95% UR em comparação a 65, 75 e 85% UR. Assim como foi verificado que *S. enterica* sobreviveu melhor a 22 °C em comparação a 28, 34 e 40 °C (WILLIAMSON et al., 2018).

Em maçãs cortadas foi observada uma maior redução das populações de *S. Typhimurium* (0,9 log UFC/g) em UR de 68% em comparação as URs elevadas de 100% e 85%, bem como em temperatura de 4 °C em comparação a 15 °C (TIAN; BAE e LEE, 2013). Resultados semelhantes foram relatados por Mathew et al. (2018) em ensaio de sobrevivência de cepas de *S. enterica* (*S. Montevideu*, *S. Poona*, *S. Newport*, *S. Baidon*, *S. Braenderup* e *S. Sainpaul* – isoladas de surtos de tomate) em mangas armazenadas sob elevada UR (85 a 95%) e temperaturas ambiente (29-32 °C, por 48h), de amadurecimento (20-22 °, por 9 dias) e refrigerada (10-

15 °C, por 24-48h). Não foi observado aumento ou diminuição significativa na população do patógeno, porém houve sobrevivência dessa bactéria nas condições testadas.

Em contrapartida, Tokarskyy e Schneider (2019) observaram que um coquetel de cinco cepas de *S. enterica* (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Braenderup*, *S. Newport* e *S. Javiana*) tiveram uma maior sobrevivência em tomates verdes armazenados em UR de ~20 – 30% em comparação ao armazenamento em UR de ~70 – 90% UR a 25 °C. Após 5 dias de armazenamento em baixa UR a 25 °C, a contagem de *S. enterica* permaneceu em 4,75 log₁₀, diferentemente do armazenamento em elevada UR a 25 °C, que acelerou o declínio das populações de *Salmonella* para abaixo no limite de detecção. Segundo os pesquisadores, os resultados podem ser explicados devido ao efeito protetor do soluto (água de peptona tamponada e soro natural de tomate) utilizado no estudo para preparação do inóculo. Evidências do efeito da UR também foram relatadas em estudo realizado em folhas de tomateiros inoculadas com uma suspensão de aproximadamente 1x10⁸ UFC/mL de *S. Typhimurium*. Foi observada maior disseminação sistêmica para outros tecidos de *S. Typhimurium* em cultivo sob baixa UR (<40%) (DEBLAIS et al. 2019).

Da mesma forma, um estudo relatou que a taxa de sobrevivência de *S. enterica* foi maior (mantendo-se em aproximadamente 5,3 log UFC/ovo) em cascas de ovos a UR 43% do que em UR 85%. Com base nos achados, os pesquisadores sugeriram que o armazenamento de ovos à temperatura ambiente e 85% de UR diminuiria o risco de *S. enterica* nas superfícies da casca do ovo em comparação com o armazenamento de ovos a temperaturas frias e baixa UR (PARK et al., 2015). Em estudo realizado com cepas de *S. enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Oranienburg*, *S. Tennessee* e *S. Anatum*) inoculadas em pimenta preta em pó (aproximadamente 5 log UFC/g) foi observado que sob condições de elevada umidade (97% UR) houve um rápido declínio na população de *S. enterica*, principalmente a 35 °C, diminuindo de 3 log para abaixo do limite de detecção (1,69 log UFC/g) após 60 dias. Em condições de baixa umidade relativa (≤40), esse patógeno conseguiu sobreviver por mais de 280 dias em pimenta preta em pó (KELLER et al., 2013).

Em estudo realizado para comparar os efeitos da UR na sobrevivência de patógenos em melão, alface e pimentão. *S. Typhimurium* foi inoculada na superfície das três matrizes alimentares (50 mL de caldo da bactéria) e armazenada em câmaras com elevada UR (~85 a 90% UR) e baixa UR (~45 a 48% UR) durante 2 semanas. Foi observado que *S. enterica* obteve uma taxa de inativação significativamente menor (P=0.007) quando armazenada em elevada umidade (STINE et al., 2005).

No estudo realizado em Pachuca, foram testadas 100 amostras de pimentão jalapeño (100 g de pimentão por amostra) e 100 amostras de pimentão serrano (3 pimentões inteiros por amostra) comprados em supermercados públicos locais. *S. enterica* foi isolada de 12% das amostras de pimentão jalapeño e 10% das amostras de pimentão serrano. No mesmo estudo, foi investigado o comportamento de 6 cepas de *S. enterica* (3 cepas de Typhimurium, *S. Typhi*, *S. Gaminara* e *S. Montevideu*) em pimentões fatiados (jalapeño e serrano). As fatias de pimentão foram inoculadas com aproximadamente 2 log UFC do coquetel de cepas e posteriormente armazenadas a 3 °C ou 25 °C a 90% UR. Foi observado a capacidade de crescimento (de 1,5 log para aproximadamente 5 logs UFC em 24h) em fatias de pimentão a 25°C (CASTRO-ROSAS et al., 2011).

Diante desses dados, é fundamental o controle desses fatores (temperatura e UR) para que se diminua os riscos de sobrevivência/crescimento de *S. enterica* nos alimentos, no entanto, as tecnologias utilizadas para esse controle precisam levar em consideração a manutenção das propriedades organolépticas e nutricionais dos alimentos, que muitas vezes são perdidas durante esses processos (GOLDEN et al., 2019).

2.3 *Salmonella enterica* EM VEGETAIS MINIMAMENTE PROCESSADOS

O processamento mínimo pode ser uma forma de aumentar o consumo de frutas e legumes por parte dos consumidores (RUDRA; GUNDEWADI; SHARMA, 2020). O comércio de vegetais minimamente processados tem aumentando exponencialmente (CHEN et al., 2018; DE CORATO, 2020). Vegetais minimamente processados são designados como aqueles que recebem qualquer tipo de alteração física, mas que oferecem ao consumidor o mesmo valor nutritivo, conveniência e sabor, mantendo ainda o estado fresco original. As etapas do processamento mínimo podem envolver pré-seleção, classificação, lavagem, corte, sanitização, enxágue, centrifugação, embalagem e armazenamento refrigerado (DE CORATO; CANCEL-LARA, 2019)

Os produtos minimamente processados estão disponíveis no mercado norte-americano desde a década de 30, porém nos anos 50, com o surgimento das redes de *fast-food*, essa atividade foi intensificada. No Brasil, o início da prática do processamento mínimo ocorreu no final da década de 70, com a chegada das redes de lanches rápidos aos estados do Rio de Janeiro e São Paulo (ODUMERO, 2002; MORETTI, 2007). As hortaliças e frutas encontradas na forma minimamente processada incluem folhosas (alface, rúcula, agrião, couve, repolho, espinafre), raízes (cenoura, beterraba, batata-doce), tubérculos (batata inglesa), frutos (pepino, pimentão,

tomate), frutas (pêssego, manga, melão, abacaxi, laranja, uva) e inflorescência como brócolis e couve-flor (MORETTI, 2007; GROSS; WANG; SALTVEIT, 2016).

A comercialização de hortaliças minimamente processadas representa praticidade, porém deve garantir a segurança e qualidade aos consumidores (YOUSUF et al., 2020). Entretanto, preservar os atributos após o processamento mínimo é um desafio, pois pode aumentar a perecibilidade desses produtos, provocando além das alterações químicas um maior risco de contaminação microbiológica (SIROLI et al., 2015; PRAKASH et al., 2018). O potencial de contaminação microbiológica dos vegetais é elevado devido à variedade de condições às quais a produção é exposta durante o crescimento, a colheita, o processamento e a distribuição. Está bem estabelecido que os produtos frescos podem conter altos níveis de contaminação após a colheita (COLÁS-MEDÀ et al., 2017). A qualidade microbiológica e segurança de produtos minimamente processados tem sido motivo de preocupação nas últimas décadas, devido à sua maior associação com surtos de doenças transmitidas por alimentos (CDC, 2020).

S. enterica coloniza/persiste na superfície, bem como nos tecidos internos dos vegetais, tanto no estilo de vida epifítico quanto no endofítico, respectivamente (KISLUK; YARON, 2012; ZHENG et al., 2013). Estudos realizados com *S. enterica* reportam que a bactéria pode se internalizar na manga intacta durante os tratamentos de aquecimento e resfriamento pós-colheita (PENTEADO; EBLEN; MILLER, 2004). Ainda, *S. enterica* pode aderir a superfície de frutas como mangas imediatamente após o contato, aumentando significativamente a quantidade de células em curto intervalo de tempo (MATHEW et al., 2018). Em tomates, *S. enterica* consegue se internalizar através do sistema radicular durante o estágio de crescimento (ZHENG et al. 2013).

Adicionalmente, vegetais minimamente processados podem sofrer abuso de temperatura em consequência do atraso na refrigeração após o processamento, ou falha na refrigeração em algum momento anterior ao consumo, bem como serem deixados à temperatura ambiente por um período prolongado, gerando um potencial risco de crescimento de *S. enterica* se esse alimento estiver contaminado (HUANG et al., 2019). Existem relatos de que este patógeno se multiplica em temperaturas de 12 °C e 23 °C, sobrevive a 4 °C por 28 dias e persiste em temperatura de congelamento por 180 dias em manga e mamão minimamente processados (STRAWN; DANYLUK, 2010).

Em estudo realizado na Turquia, que é um dos maiores produtores de frutas e legumes do mundo, foi investigado a presença de *S. enterica* em 503 amostras de produtos frescos, incluindo tomate, salsa, alface, folhas verdes e cinco variedades diferentes de pimentão (verde, kapya, sino, mazamort e Charleston) de 3 distritos principais, em 9 supermercados e 3 bazares

em Ancara, Turquia. Foi utilizado o método de cultura convencional para detecção de *Salmonella*, com confirmação molecular realizada por reação em cadeia polimerase (PCR). *S. Anatum*, *S. Charity*, *S. Enteritidis* e *S. Mikawasima* foram isolados de duas amostras de salsa, uma de pimentão e uma de alface, respectivamente (GUNEL et al., 2015).

A presença de *S. enterica* também foi investigada em 344 amostras de produtos agrícolas, incluindo carne crua, vegetais e laticínios. Esses alimentos foram coletados aleatoriamente em mercados, supermercados, fábricas de leite e um matadouro em Xangai/China. Usando o método do Padrão Nacional Chinês (GB 4789.4-2010) foi observado a presença de 12 sorovares de *S. enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Derby*, *S. Anatum*, *S. Agona*, *S. Thompson*, *S. Indiana*, *S. Braenderup*, *S. Heidelberg*, *S. Infantis*, *S. Litchfield* e *S. Manhattan*) em amostras de carnes suína (42,4%), bovina (31,3%), de frango (41,2%) e de carneiro (16,7%), além de serem detectados também em amostras de alface (4,5%) e pepino (3,8%) (NI et al., 2018).

Em estudo realizado na maioria das capitais provinciais da China foi observado uma alta prevalência de contaminação por *S. enterica* em vegetais crus. Foram analisadas 406 amostras de vegetais crus coletadas nos mercados de varejo de 39 cidades chinesas. Os vegetais coletados foram coentro (n = 90), alface (n = 83) tomate (n = 104) e pepino (n = 129). Todas as quatro variedades de vegetais examinadas estavam contaminadas com *S. enterica*. No geral, 14 (3,4%) amostras foram positivas para *Salmonella*, correspondendo a 7 (7,8%) amostras de coentro, 5 (6%) amostras de alface, 1 (1%) amostra de tomate e 1 (1%) amostra de pepino. Os sorovares identificados incluíram *S. Stanley*, *S. Lagos*, *S. Rissen*, *S. Thompson*, *S. Braenderup*, *S. Bareilly*, *S. Montevideu*, *S. Newport*, *S. Hadar*, *S. Albany*, *S. Enteritidis*, *S. Londres*, *S. Meleagridis* e *S. Aberdeen*. A maioria dos sorovares identificados já foi envolvida em surtos alimentares envolvendo vegetais crus. Conforme os autores, a contaminação por *Salmonella* em vegetais crus é um risco potencial para a saúde dos consumidores (YANG et al., 2020).

A incidência de *Salmonella* nas cascas e polpas de abacate e pinha foi testada em 400 amostras adquiridas de diferentes mercados de varejo na cidade de Campinas/SP, Brasil. A detecção de *S. enterica* foi realizada de acordo com o método ISO 6579 e caracterizados fenotipicamente e genotipicamente através de eletroforese em gel de campo pulsado e PFGE. Apesar de grande amostragem usada nesse estudo, *S. enterica* não foi detectada na casca de nenhuma amostra das 400 frutas. No entanto, *S. Typhimurium* foi detectada em três das 200 amostras de polpa de pinha analisadas, resultando em uma incidência de 1,5% (REZENDE et al., 2016).

A presença de *S. enterica* também foi testada em 512 amostras de vegetais minimamente processados provenientes das cinco maiores redes brasileiras de supermercados da cidade de

São Paulo. As amostras pertenciam às seis marcas mais populares disponíveis no mercado e somente as embalagens dentro do prazo de validade foram coletadas. A prevalência de *S. enterica* foi determinada de acordo com a ISO 6579. De todas as amostras, foi observado a presença de *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* em 4 amostras: alface, alface orgânica, rúcula e vegetais folhosos (escarola e chicória) (SANT'ANA et al., 2011).

A segurança dos produtos minimamente processados também é comprometida pela contaminação cruzada que pode ocorrer durante o preparo, pois *S. enterica* tem a capacidade de persistir em tábuas de corte utilizadas na manipulação doméstica (KUAN et al., 2017). Estudo reporta que pode ocorrer transferência de *S. enterica* através do corte mecânico de vegetais. A transferência de *S. enterica* foi testada cortando mecanicamente um lote de 900 g de tomates Roma inoculados com *S. Typhimurium* ($\pm 5 \log \text{UFC/g}$) e em seguida dez lotes de tomates não inoculados. Todos os tomates não inoculados foram contaminados com *S. Typhimurium* durante o corte em cubos, com populações diminuindo de 3,3 para 1,1 $\log \text{UFC/g}$ durante o processo (WANG; RYSER, 2020).

Em outro estudo foi avaliada a contaminação cruzada e as taxas de transferência de *S. enterica* de frango contaminado (*S. Newport* – 10^6 UFC/g) para alface em vários cenários de manipulação de alimentos. No cenário 1, foram utilizadas tábua e faca esterilizadas para cortar o frango contaminado, e logo após, sem lavar os utensílios, foi cortado a alface. No cenário II, foram realizados os mesmos procedimentos do cenário 1, com a exceção de que, após o corte do frango, mas antes do corte da alface, a tábua e a faca foram lavadas com água quente (46 °C). E no cenário 3, a tábua e a carne foram cuidadosamente lavadas com sabão e água quente após o corte do frango e antes do corte da alface. No cenário 1, antes e depois do corte da alface, a tábua e a faca tinham cada uma cerca de 2 $\log \text{UFC/cm}^2$ de *S. enterica*, respectivamente. A alface cortada tinha cerca de 3 $\log \text{UFC/g}$ de *S. enterica*. No cenário 2, foi observado uma população menor de *S. enterica* (0,5-2,4 $\log \text{UFC/g}$ ou cm^2) transferida. No entanto, no cenário 3, $<1 \log \text{UFC/g}$ ou cm^2 do patógeno foram detectados em alface, tábua ou faca, após lavagem e corte de alface (RAVISHANKAR; ZHU; JARONI, 2010).

Da mesma forma, em estudo sobre a sobrevivência e crescimento de cepas de *S. enterica* (*S. Newport*, *S. Poona* e *S. Typhimurium*) em produtos frescos, foi observado o crescimento deste patógeno em melão e melancia armazenados a 8 °C e 12 °C, atingindo populações de até 5,28 $\log \text{UFC/g}$, por outro lado, não houve crescimento de *S. enterica* em abacaxi cortado nas mesmas condições, sugerindo que as propriedades químicas dessa fruta, como a alta acidez, podem ter desempenhado um papel fundamental na inibição do crescimento desse patógeno (HUANG et al., 2019).

O comportamento de cepas de *S. enterica* (*S. Newport*, *S. Saintpaul* e *S. Enteritidis*) foi estudado em frutas tropicais frescas (pitaia, banana, carambola, manga, abacaxi, goiaba e jambo-rosa) a 28 °C e 4 °C. O coquetel dos sorovares (com aproximadamente 8,0 log UFC/mL) foi inoculado nas frutas minimamente processadas e armazenado nas duas temperaturas. Não foi observado crescimento desse patógeno a 4 °C em nenhuma das frutas testadas, em contrapartida, *S. enterica* cresceu em banana, carambola, pitaia, goiaba e jambo-rosa processados a 28 °C, sendo observado um crescimento de mais de 2 log, 3 log, 4 log e 3 log UFC/g quando essas 5 frutas foram inoculadas com 0,1 log, 1,0 log, 2,0 log e 3,0 log UFC/g de *S. enterica*, respectivamente. Não foi observado crescimento de *S. enterica* em manga e abacaxi (MA; LI; ZHANG, 2016).

A presença de *S. enterica* e outros patógenos foi verificada em 212 amostras tomate, pimentão verde, pepino, melão e espinafre (cerca de 300g de cada) provenientes de mercados agrícolas em West Virginia e Kentucky, EUA. Entre todas as amostras testadas, *S. enterica* foi detectada em 18,5% dos pimentões analisados (LI et al., 2017). Existem outros estudos que relatam a presença de *S. enterica* em pimentões, como o que foi realizado em mercados públicos na cidade de Pachuca, México. Nesse estudo, foi testado a presença *S. enterica* em 100 amostras de pimentão serrano e 100 amostras de pimentão jalapeños. *S. enterica* foi detectada em 10% das amostras de pimentão serrano e em 12% das amostras de pimentão jalapeño (CASTRO-ROSAS et al., 2011). Estudo semelhante foi realizado com tomates bola (n=40), tomate Roma (n=40), pimentões jalapeño (n=40) e pimentões serrano (n=40) adquiridos de supermercados da região metropolitana de Monterrey, México. Foi verificado presença de *S. enterica* em apenas uma amostra de tomate bola (1,25%) e uma de jalapeño (1,25%), confirmada pelo método PCR (CÁRDENAS et al., 2013).

As operações de descascamento e corte promovem um ambiente propício não somente à penetração de microrganismos da superfície para o interior do vegetal, mas principalmente ao seu crescimento e proliferação (SIROLI et al., 2015). Mesmo em baixas concentrações, a presença de patógenos em produtos frescos que serão consumidos crus é motivo de preocupação, devido ao potencial de multiplicação e sobrevivência (CABRERA-DÍAZ et al., 2018).

2.3.1 Pimentão (*Capsicum annuum* L.)

A espécie *Capsicum annuum* L. (pimentão) pertence à família das Solanaceas. Originário do continente americano, o pimentão teve ampla diversificação da espécie no México e nos países vizinhos da América Central (FILGUEIRA, 2000; NICK; BORÉM, 2016). O pimentão

é um fruto com grande importância na nutrição humana e é consumido como vegetal fresco ou utilizada em uma variedade de produtos alimentícios processados (SERRANO et al., 2010).

Pimentões são reconhecidos como importantes fontes de β -caroteno e polifenóis, como *p*-cámarico, ferúlico, *p*-hidroxibenzóico, ácido cafeico, ácido sinápico e quercetina-3-glucósido, que proporcionam melhorias a saúde como a inibição da ação de radicais livres (CHUN et al., 2005; HALLMANN; REMBIALKOWSKA, 2012; KONG et al., 2019; LEKALA et al., 2019). O principal macronutriente presente em pimentões são os carboidratos com 4,9 g em 100 g do alimento. Possui uma fibra dietética total de 2,6 g/100 g e contém vitaminas A, B, C e minerais como Ca, Fe e P (RIBEIRO; CRUZ, 2002T; TACO, 2011). No Brasil, o pimentão se encontra entre as treze hortaliças de maior importância no mercado nacional de hortaliças, por apresentar retorno rápido aos investimentos e iniciação rápida da produção, por isso é bastante explorada por pequenos e médios produtores (CNA, 2017). Dada a importância econômica dessa hortaliça, as empresas de sementes têm diversas cultivares no mercado, com variações de formato, tamanho e cor do fruto (ABCSEM, 2013).

Existem diversos grupos de pimentão no mercado brasileiro, sendo os principais cônico, *boocky*, retangular e quadrado (SEBRAE, 2012). Esses grupos incluem pimentões de cores que variam de creme a quase preto, passando por amarelo, laranja, vermelho e roxo (SCIVITTARO et al., 1999) (Figura 1). O pimentão cônico apresenta frutos de formato cônico para consumo *in natura*, com diferentes pesos e colorações, e é o preferido no mercado brasileiro. É mais apropriado para plantio em campo aberto. O pimentão *boocky* apresenta frutos com tamanhos e cores exóticos para crescentes mercados específicos que demandam produtos diferenciados. O pimentão retangular apresenta frutos de formato retangular, com coloração verde, vermelha e amarela quando maduro e representa um nicho crescente de mercado. É mais apropriado para plantio em cultivo protegido. O pimentão quadrado apresenta frutos de formato quadrado, com coloração verde, vermelha e amarela quando maduro e representa um nicho crescente de mercado (SEBRAE, 2012). Os pimentões verdes e os vermelhos são os mais utilizados em preparações culinárias (SILVA et al., 2013). Em particular, o pimentão verde é amplamente utilizado na indústria de alimentos na sua forma fresca (MORADI et al., 2020).

Classificação de Pimentão

Grupo



Retangular Quadrado Cônico

Não se permite a mistura de grupos de uma mesma embalagem.

Sub-grupo

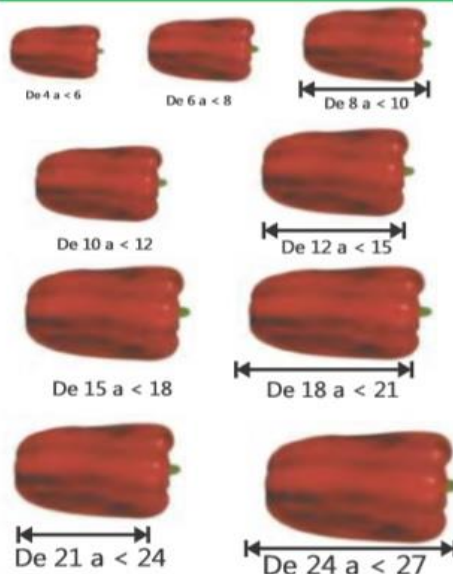


Os frutos do sub-grupo vermelho, amarelo, e laranja deverão apresentar em sua superfície mais de 80% da coloração característica.

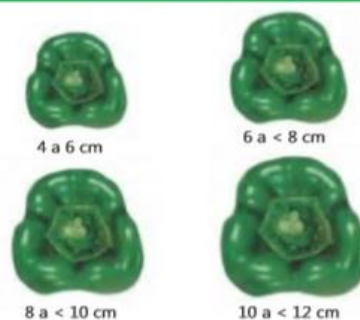


Os frutos do sub-grupo verde, creme e roxo deverão apresentar em sua superfície 100% da coloração característica.

Classe



Subclasse



FONTE: Adaptado de Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), 2015

Figura 2 – Classificação de Pimentão em grupo, sub-grupo, classe e sub-classe.

A vida de prateleira do pimentão inteiro ou minimamente processado é limitada pela deterioração microbiana, perda rápida de água, suscetibilidade à lesão pelo frio e perda de frescor devido as condições de armazenamento (SINGH; GIRI; RAO, 2014; CHEN et al., 2018). Para manter a qualidade dos frutos e impedir que os pimentões se deteriorem após a colheita, o armazenamento em baixa temperatura, como medida de proteção eficaz, é extremamente importante (KONG et al., 2019). Uma boa temperatura de armazenamento para pimentões é de 7–13 °C, pois alguns cultivares são suscetíveis a danos pelo frio quando armazenadas abaixo de 7 °C (GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2004).

A capacidade de crescimento de bactérias em uma matriz alimentar depende das propriedades físico-químicas dos produtos alimentícios (HUANG et al., 2019). Os produtos frescos, como os pimentões, podem permitir que os agentes patogênicos transmitidos pelos alimentos, como a *S. enterica*, persistam por longos períodos em virtude de sua superfície seca, tornando a descontaminação um imperativo (BEUCHAT, 1996). A variedade sazonal tem um forte efeito na suscetibilidade dos pimentões à proliferação pós-colheita de *S. enterica*, com

maior probabilidade de proliferação dessa bactéria quando os frutos são colhidos em estações mais secas e ensolaradas (MARVASI et al., 2015).

2.4 MODELAGEM MATEMÁTICA DO CRESCIMENTO/INATIVAÇÃO MICROBIANA

A crescente conscientização sobre a necessidade de fortalecer a segurança alimentar microbiológica é um dos principais desafios do setor alimentício globalizado (FUNG; WANG; MENON, 2018). A modelagem preditiva microbiana permite acessar de forma quantitativa, os efeitos de fatores intrínsecos e extrínsecos no crescimento ou inativação dos microrganismos nos alimentos. Para tanto, são construídos modelos matemáticos derivados de estudos quantitativos dos microrganismos sob determinadas condições experimentais, gerando curvas de multiplicação/inativação microbiana (PÉREZ-RODRÍGUEZ et al., 2019)

As vantagens dos modelos preditivos na microbiologia de alimentos são inúmeras e incluem: descrever o comportamento de microrganismos em diferentes condições físico-químicas, permitir a previsão das consequências microbiológicas na estocagem de alimentos, avaliar a eficiência da higiene do processamento e distribuição, determinar o efeito de falhas nas condições de armazenamento, prever a segurança microbiológica de um produto, prever a vida de prateleira, auxiliar na análise de perigos e pontos críticos de controle, no desenvolvimento de novos produtos e na análise de risco. Todos esses fatores impactam na redução de desperdício de alimentos e consequentemente colaboram com a economia (BARANYI; ROBERTS, 1994; NEUMEYER; ROSS; MCMEEKIN, 1997; LEE et al., 2014). Estes modelos de previsão microbiana são considerados eficazes na prevenção de intoxicações alimentares e estão sendo desenvolvidos continuamente por vários grupos associados a alimentos, como o Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar (FSIS) e OMS (CHOI et al., 2019).

Os modelos preditivos são classificados em primários, secundários e terciários. Os modelos primários levam em consideração apenas a variação de concentração celular e o tempo. Em contrapartida, os modelos secundários mostram essas mudanças nos parâmetros relacionados a concentração celular em função de diferentes condições, tais como temperatura, umidade relativa, pH, etc. Os dados dos modelos primários e secundários ainda podem ser combinados utilizando softwares para calcular como o microrganismo se comportará, essa última predição é denominada de modelo terciário. (PEREZ-RODRIGUEZ; VALERO, 2013)

Grupos associados entre os modelos preditivos primários já desenvolvidos e descritos inclui-se Função e Função modificada de Gompertz, Modelo Logístico, Modelo Baranyi e Roberts, Modelo Monod, Modelo Monod modificado, valores 11 D de inativação térmica, Modelo

de decréscimo de crescimento de Whiting e Cygnarowicz, Modelo linear de três fases, Modelo de Teleken (McDONALD; SUN, 1999; TELEKEN; ROBAZZA; GOMES, 2011). A seleção de um modelo em microbiologia preditiva de alimentos muitas vezes parece ser subjetiva. Com base em relatos da literatura, os modelos lineares de Gompertz, Baranyi, Richards, logísticos e trifásicos são os mais utilizados (LÓPEZ et al., 2004; HUANG, 2013; COROLLER et al., 2012).

Em relação aos modelos secundários, os principais são: Modelo Belehradek, Modelo Ratkowsky, Modelo Arrhenius, Modelo Modificados de Arrhenius, Modelos probabilísticos, Valores Z, Polinomiais ou resposta, Modelos de superfície, Modelo Williams-Landel Ferry, Modelovlog-logístico, Modelo Weibullde, Modelo de Ding (McDONALD; SUN, 1999; CHENG et al., 2007; DING et al., 2012).

Adicionalmente, existem diversos programas computacionais de modelos terciários, que podem calcular respostas microbianas em diferentes condições, comparar o efeito destas variações ou ainda contrastar o comportamento de vários microrganismos. Estes aplicativos facilitam a modelagem das curvas de crescimento microbiano sob diferentes condições (KRAJEWSKA, 2006; PÉREZ-RODRÍGUEZ; VALERO, 2013).

Recomenda-se o desenvolvimento de modelos preditivos usando matriz alimentar específica e a validação de modelos usando os mesmos produtos alimentícios (TAMPLIN, 2007). Modelos preditivos foram desenvolvidos para *S. enterica* nas mais diversas matrizes alimentares, como por exemplo: em estudo realizado com carne moída crua, onde foram desenvolvidos modelos primários e secundários para descrever o crescimento de *S. enterica* em condições isotérmicas de 10 a 47 °C. Todas as equações desenvolvidas neste estudo sugeriram que a temperatura mínima de crescimento de *S. enterica* em carne bovina está entre 0-1 °C, e a temperatura máxima de crescimento em torno de 47 °C (JUNEJA et al., 2009).

Da mesma forma, foram desenvolvidos modelos preditivos para avaliar o efeito da concentração de ácido acético, tempo e temperatura na redução de *S. Hadar* na pele de aves em processo de pulverização de laboratório. No tratamento de pulverização simples houve maiores reduções de *S. enterica* (mais de 1,2 log UFC/g) em concentrações de ácido acético a 1% ou mais e temperaturas superiores a 45 °C. No entanto, no tratamento de pulverização sequencial dupla foi observado um maior declínio (2,0 log UFC/g) quando foram utilizadas concentrações de ácido acético a 2,4% ou mais e temperaturas superiores a 53 °C (JIMÉNEZ et al., 2007).

Foram testados cinco sorovares de *S. enterica* (*S. Blockley*, *S. Enteritidis* PT4, *S. Enteritidis* PT 13, *S. Heidelberg* e *S. Typhimurium*) em um estudo realizado com ovos mexidos.

Foram desenvolvidos modelos preditivos primários e secundários para avaliar o comportamento de *S. enterica* em condições isotérmicas de 10 a 47 °C. Foi observado nesse estudo que *S. enterica* pode crescer em ovos mexidos em temperatura mínima de 5 °C e máxima de 47 °C (LI et al., 2017). Em outro estudo, foram desenvolvidos modelos preditivos primários e secundários descrevendo a cinética de crescimento de *S. enterica* (*S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*) em ostras cruas sob temperaturas de 4 a 43 °C. Foi verificado o crescimento de *S. enterica* em todas as temperaturas, exceto a 4 °C, onde houve redução desse patógeno (FANG et al., 2015).

O uso de modelos preditivos para avaliação da multiplicação/inativação de microrganismos tem sido difundido na indústria de alimentos. A aplicação destas ferramentas para prever o comportamento de patógenos em frutas, legumes e verduras minimamente processadas tem permitido sugerir que frutas podem ser potenciais veiculadoras de *S. enterica* (MA; LI; ZHANG, 2016), assim como as verduras (SANT'ANA; FRANCO; SCHAFFNER, 2012), contribuindo para a tomada de decisões mais assertivas no controle deste patógeno.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CEPAS TESTE E PREPARAÇÃO DE INÓCULO

S. Typhimurium e *S. Enteritidis* incluídos neste estudo foram isolados de alimentos envolvidos em surtos de salmonelose que ocorreram no sul do Brasil. O genoma completo das cepas está disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/?term=CFSAN077701> para *S. Enteritidis* e <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/?term=CFSAN077723> para *S. Typhimurium* (projeto FDA PRJNA186035). *S. Enteritidis* é resistente ao ácido nalidíxico (30 µg/mL) e suscetível à tetraciclina (30 µg/mL), enquanto *S. Typhimurium* é resistente à tetraciclina (30 µg/mL) e suscetível ao ácido nalidíxico (30 µg / mL). As culturas estoque foram mantidas em tubos criogênicos a -80 °C em Caldo de Soja Triptico (TSB; Himedia, Índia) contendo glicerol (20 mL/100 mL) e a suscetibilidade ou resistência aos antibióticos foi sempre verificada.

As suspensões de células de cada cepa foram preparadas em solução salina estéril (NaCl a 0,85%, p/v) de culturas cultivadas em TSB a 37 °C por 18 h. As células foram colhidas por centrifugação (4500 g, 15 min, 4 °C), lavadas duas vezes em solução salina estéril (NaCl, 0,85%) e ressuspensas no mesmo diluente. Suspensões padrão de células para 4,5 ou 2,5 ($\pm$ 0,2) log UFC/mL foram obtidas para ambas as cepas na densidade óptica a 625 nm (DO_{625}). O inóculo misto das duas cepas foi preparado na proporção de 1:1. Utilizou-se ágar triptona de soja (TSA; Himedia, Índia) com 30 µg/mL de ácido nalidíxico para contagem de *S. Enteritidis* e TSA com 30 µg/mL de tetraciclina para contagem de *S. Typhimurium*, uma vez que esses microrganismos só são capazes de crescer em cada respectivo meio (Melo et al., 2017).

3.2 PIMENTÕES MINIMAMENTE PROCESSADOS

Pimentões verde cônicos (*Capsicum annuum* L.) foram adquiridos entre maio de outubro de 2018 a janeiro de 2020 na fase de maturação comercial ($\geq 4,3X$ ° Brix) da Empresa de Suprimentos e Serviços da Paraíba (EMPASA, João Pessoa, Brasil) e selecionado com base na uniformidade de tamanho e aparência, e ausência de lesões mecânicas e infecções visíveis. Antes do processamento, a superfície dos pimentões foi desinfetada por imersão em solução de hipoclorito de sódio (150 ppm, pH 7,2 ajustado com NaOH 1mM/L) por 10 min, lavada com água destilada estéril e seca por 30 min em gabinete de biossegurança (25 ± 2 °C). Depois, os pimentões foram cortados assepticamente em pedaços de aproximadamente 2,5 g. O processamento sempre foi realizado no mesmo dia do início dos experimentos.

3.3 INOCULAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PIMENTÃO E CONTROLE DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS

Alíquotas de 20 µL de *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* em inóculo misto (contagens finais de aproximadamente 4,5 ou 2,5 log UFC/g) foram inoculadas em pimentões cortados e as amostras foram mantidas por 30 min na cabine de segurança para garantir a fixação do inóculo nas amostras (LUO; OH, 2016). Em seguida, as amostras foram distribuídas aleatoriamente em dessecadores contendo soluções saturadas de cloreto de lítio, carbonato de potássio e sulfato de potássio (Sigma Aldrich, St Louis, EUA) para o alcance de atmosfera controlada em 15, 50 e 100% de umidade relativa (UR), respectivamente. Os dessecadores foram armazenados a 7, 14 ou 21 °C (TIAN et al., 2013).

3.4 ENUMERAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS DE *S. Typhimurium* E *S. Enteritidis* DURANTE O ARMAZENAMENTO

A contagem das células viáveis de cada cepa nas combinações de temperatura e UR foi realizada nos tempos 0 (após o tempo de secagem do inóculo), 12, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 h de armazenamento. Os pedaços de pimentão foram submetidos a seriada (10^{-1} - 10^{-5}) em solução salina estéril (NaCl 0,85 g /100 mL), e alíquotas de 20 µL de cada diluição foram dispensadas no TSA com 30 µg/mL de ácido nalidíxico ou com 30 µg/mL de tetraciclina, utilizando a técnica de inoculação por micro-gotas (HERIGSTAD et al., 2001), seguida de incubação de 24 horas a 37 °C. Os resultados foram expressos em log UFC/g com limite de detecção de 1,5 log UFC/g.

3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

3.5.1 Avaliação do crescimento e inativação de *S. Typhimurium* E *S. Enteritidis*

Um total de 288 resultados foram obtidos a partir dos experimentos (3 temperaturas × 3 UR × 8 intervalos de tempo de armazenamento × 2 tamanhos de inóculo), sendo 144 correspondentes a cada cepa. Todos os experimentos foram realizados em duplicata em duas réplicas genuínas. As diferenças significativas nas contagens para cada cepa ao longo do tempo foram determinadas usando Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey considerando $p < 0,05$. As diferenças entre as cepas foram verificadas usando o teste t de Student. A análise estatística e a apresentação gráfica foram realizadas no software Sigma-Stat 3.5 (Jandel Scientific Software, San Jose, Califórnia). Uma variedade de modelos primários foi avaliada para

cada conjunto de dados para encontrar o modelo que melhor se ajustasse aos dados experimentais usando o DMFit do Excel® 2010 (Microsoft, Redmond/WA) (Tabelas Suplementares 1 a 8).

3.5.2 Potencial de crescimento (δ) e percentual de inativação de *S. enterica* em pimentão minimamente processado

Os dados de *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* foram combinados em um único conjunto (*S. enterica*), considerando o comportamento similar das cepas em experimentos com combinações distintas de temperatura e UR. O potencial de crescimento (δ) de *S. enterica* em cada combinação de temperatura e UR foi determinado por meio do cálculo da diferença entre as contagens (em log UFC/g) no final do tempo de armazenamento (144h) e no início do experimento (tempo zero). As condições foram consideradas como suficientes para suportar o crescimento de *S. enterica* quando δ foi superior a 0,5 log UFC/g. Quando os valores de δ foram negativos, considerou-se que inativação (CAMPAGNOLLO et al., 2018).

3.5.3 Modelagem dos dados de crescimento/inativação

A modelagem primária dos dados transformados em log de crescimento/morte para *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* foi usada em um conjunto combinado de dados experimentais (*S. enterica*), compreendendo um total de 72 dados para cada inóculo testado. Os dados combinados foram analisados usando Baranyi e Roberts (1994) (4,5 log UFC/g inóculo) ou modelo linear (2,5 log UFC/g inóculo) usando o DMFit do Excel® 2010 (Microsoft, Redmond/WA) considerando que estes modelos permitiram o melhor ajuste para cada conjunto de dados. Os dados obtidos nos modelos primários de Baranyi e Roberts ou Linear foram ajustados em uma equação polinomial quadrática:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_1^2 + a_4X_2^2 + a_5X_1X_2 \quad (\text{Eq. 1})$$

onde Y é um dos parâmetros cinéticos de sobrevivência, X1 é temperatura, X2 é UR e “a” representa qualquer número de 0 a 10 dos coeficientes correspondentes. Um valor de p <0,05 foi considerado significativo. A qualidade do ajuste do modelo desenvolvido foi avaliada graficamente e considerando o R2 ajustado. Os parâmetros, seus termos quadráticos (T², UR²) ou sua interação (T*UR) foram mantidos no modelo quando este permaneceu estatisticamente significativo.

Considerando os termos significativos, uma equação quadrática para cada modelo secundário polinomial foi ajustada aos dados como segue [$y_{4,5 \log} = b_0 + b_1 \times (T \times UR)$ ou $y_{2,5 \log} = b_0 + b_1 \times (UR \times UR)$] para estimar a taxa de crescimento/morte de *S. enterica* em pimentão em função da interação entre temperatura e UR a 0,5 de probabilidade.

4. RESULTADOS

Segundo normas estabelecidas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição em nível de Mestrado, a seção de “Resultados e Discussão” da Dissertação deve ser apresentado em forma de artigo, do qual deve ser elaborado e submetido para publicação em revistas indexadas em Qualis (conceito mínimo B2 na área de Ciência da Nutrição da CAPES). Sendo assim, o formato de apresentação do artigo segue as normas de instruções aos autores da revista ao qual foi submetido.

O artigo intitula-se “**Modeling *Salmonella enterica* fate in fresh cut-pepper (*Capsicum annuum* L.) during storage as a function of temperature and relative humidity**” e está em apêndice.

O artigo teve como objetivo avaliar o comportamento de *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* em pimentão minimamente processado em função da temperatura e umidade relativa de armazenamento, assim como, observar o impacto do tamanho do inóculo na sobrevivência desse patógeno. *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* se comportaram de maneira semelhante nos pimentões minimamente processados durante o armazenamento na maioria das combinações de temperatura e umidade relativa testadas. *S. enterica* apresentou maior velocidade de crescimento e maior potencial de crescimento em temperaturas e UR mais altas. O efeito do tamanho do inóculo no comportamento de *S. enterica* foi mais evidente nos valores mais baixos de temperatura ou umidade relativa. Diversas condições testadas permitiram o crescimento do patógeno quando inoculado a 2,5 log UFC/g, porém não quando o inóculo ensaiado foi 4,5 log UFC/g,. Dentro da faixa de condições analisadas, a interação de T e UR mostrou efeitos significativos no crescimento de *S. enterica* em pimentões inoculados a 4,5 log UFC/g, por outro lado, a UR mostrou efeitos significativos no crescimento de *S. enterica* em pimentões inoculados a 2,5 log UFC/g. Os resultados evidenciam o impacto do inóculo inicial de *S. enterica* no comportamento do patógeno em pimentões minimamente processados. Foram desenvolvidos modelos preditivos deste comportamento com base nos efeitos dos parâmetros estudados experimentalmente. .

REFERÊNCIAS

- ABCSEM. 2013. **Levantamento de dados socioeconômicos do agronegócio de hortaliças 2013 ano base 2012**. Disponível em: <<http://www.abcsem.com.br/dados-do-setor.pdf>>. Acesso em: 16 set. 2018.
- ALMEIDA, I. A. Z. C. DE et al. *Salmonella* Alachua: causative agent of a foodborne disease outbreak. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 233–238, maio 2015.
- AVILA-VEGA, D. E. et al. Microbiological profile and incidence of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* on hydroponic bell peppers and greenhouse cultivation environment. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 11, p. 1904–1910, nov. 2014.
- BABELLAHI, F. et al. Early detection of chilling injury in green bell peppers by hyperspectral imaging and chemometrics. **Postharvest Biology and Technology**, v. 162, p. 111100, abr. 2020.
- BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, n. 3–4, p. 277–294, nov. 1994.
- BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. Mathematics of predictive food microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 26, n. 2, p. 199–218, jul. 1995.
- BEUCHAT, L. R. Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce. **Journal of Food Protection**, v. 59, n. 2, p. 204–216, fev. 1996.
- BHUNIA, A. K. Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis. United States of America: **Springer Science + Business Media**, LLC, 2008.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastacimento. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella***. Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. Brasília, DF, 2011.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Programa de Saúde Animal: *Salmonelas***, 2020. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/salmonelas>>. Acesso em: 17 mar. 2020.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos**, 2019. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta----o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>>. Acesso em: 28 fev. 2020.

BOLOTOVA, Y. V.; LOU, J.; SAFRO, I. Detecting and monitoring foodborne illness outbreaks: Twitter communications and the 2015 U.S. *Salmonella* outbreak linked to imported cucumbers. **arXiv:1708.07534 [physics, stat]**, 24 ago. 2017.

CABRERA-DÍAZ, E. et al. Simultaneous and individual quantitative estimation of *Salmonella*, *Shigella* and *Listeria monocytogenes* on inoculated Roma tomatoes (*Lycopersicon esculentum* var. *Pyriforme*) and Serrano peppers (*Capsicum annuum*) using an MPN technique. **Food Microbiology**, v. 73, p. 282–287, ago. 2018.

CAMPAGNOLLO, F. B. et al. Selection of indigenous lactic acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, v. 73, p. 288–297, ago. 2018.

CÁRDENAS, C. et al. Evaluation of Microbial Contamination of Tomatoes and Peppers at Retail Markets in Monterrey, Mexico. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 8, p. 1475–1479, ago. 2013.

CASTRO-ROSAS, J. et al. Frequency and Behavior of *Salmonella* and *Escherichia coli* on Whole and Sliced Jalapeño and Serrano Peppers. **Journal of Food Protection**, v. 74, n. 6, p. 874–881, jun. 2011.

CDC - Centers for disease control and prevention. **Dried coconut identified in outbreak; CDC says don't eat it**. 2019. Disponível em: <<http://www.foodsafetynews.com/2018/03/dried-coconut-identified-in-outbreak-cdc-says-dont-eat-it/>>. Acesso em: 28 fev. 2020.

CDC - Centers for disease control and prevention. **Estimates of foodborne illness in the United States**. 2018. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/Salmonella/outbreaks.html>>. Acesso em: 28 fev. 2020.

CDC - Centers for disease control and prevention. **Informações para profissionais de saúde**. 2018. | *Salmonella* | CDC. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/Salmonella/general/technical.html>>. Acesso em: 28 fev. 2020.

CDC - Centers for disease control and prevention. Outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul infections associated with multiple raw produce items - United States. 2008. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 57, n. 34, p. 929–934, 28 ago. 2008.

CDC - Centers for disease control and prevention. **Outbreaks Involving *Salmonella* | CDC**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/Salmonella/outbreaks.html>>. Acesso em: 6 abr. 2020.

CDC - Centers for disease control and prevention. **Panel of the National Outbreak Reporting System (NORS)**. 2018. Disponível em: <<https://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/>>. Acesso em: 28 fev. 2020.

CDC - Centers for disease control and prevention. **Questions and Answers: *Salmonella***. 2019. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/Salmonella/general/index.html>>. Acesso em: 17 mar. 2020.

CHENG, H.M. Use of linear, Weibull, and log-logistic functions to model pressure inactivation of seven foodborne pathogens in Milk. **Food Microbiology** [online], v. 24, p. 197-204, 2007.

CHEN, H.-Z. et al. Evaluation of the freshness of fresh-cut green bell pepper (*Capsicum annuum* var. *grossum*) using electronic nose. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87, p. 77–84, jan. 2018.

CHUN, O. K. et al. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 10, p. 1715–1724, 15 ago. 2005.

CNA. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Mapeamento e qualificação da cadeia produtiva das hortaliças no Brasil. Brasília: CNA, 2017.

COLÁS-MEDÀ, P. et al. The impact of a cold chain break on the survival of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on minimally processed ‘Conference’ pears during their shelf life: Effect of a cold chain break on pathogens in pears. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 9, p. 3077–3080, jul. 2017.

COROLLER, L. et al. Modelling of growth, growth/no-growth interface and nonthermal inactivation areas of *Listeria* in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 152, n. 3, p. 139–152, jan. 2012.

COSSI, M.V.C. et al. Low occurrence of *Salmonella* in the beef processing chain from Minas Gerais state, Brazil: from bovine hides to end cuts. **Food Control**, v. 40, p. 320–323, 2014.

CHQ – Centro de Qualidade de Horticultura – CEAGESP. Classificação do pimentão. São Paulo: CEAGESP, 2015. (Folder). Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2015/07/pimentao.pdf>>. Acesso em: 25 ago. 2019.

CHOI, W.-S. et al. Predictive model of *Staphylococcus aureus* growth on egg products. **Food Science and Biotechnology**, v. 28, n. 3, p. 913–922, jun. 2019.

DEBLAIS, L. et al. Specific Environmental Temperature and Relative Humidity Conditions and Grafting Affect the Persistence and Dissemination of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serotype Typhimurium in Tomato Plant Tissues. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 11, p. e00403-19, /aem/85/11/AEM.00403-19.atom, 29 mar. 2019.

DE CORATO, U. Improving the shelf-life and quality of fresh and minimally-processed fruits and vegetables for a modern food industry: A comprehensive critical review from the traditional technologies into the most promising advancements. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 6, p. 940–975, 25 mar. 2020.

DE CORATO, U.; CANCELLARA, F. A. Measures, technologies, and incentives for cleaning the minimally processed fruits and vegetables supply chain in the Italian food industry. **Journal of Cleaner Production**, v. 237, p. 117735, nov. 2019.

DE FRUTOS, M. et al. [Monophasic *Salmonella* Typhimurium outbreak due to the consumption of roast pork meat]. **Revista Espanola De Quimioterapia: Publicacion Oficial De La Sociedad Espanola De Quimioterapia**, v. 31, n. 2, p. 156–159, abr. 2018.

DE OLIVEIRA ELIAS, S.; NORONHA, T. B.; TONDO, E. C. Assessment of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 growth on lettuce exposed to isothermal and non-isothermal conditions. **Food Microbiology**, v. 72, p. 206–213, jun. 2018.

DING, T. et al. Development of Predictive Models for the Growth of *Escherichia coli* O157:H7 on Cabbage in Korea. **Journal of Food Science** [online], v. 77, n. 5, 2012. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2012.02660.x/pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

ENG, S.-K. et al. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 3, p. 284–293, 3 jul. 2015.

EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2019. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. **EFSA Journal** 2019;17(12):5926, 276 pp.

FANG, T. et al. Mathematical modeling of growth of *Salmonella* spp. and spoilage microorganisms in raw oysters. **Food Control**, v. 53, p. 140–146, jul. 2015.

FAOSTAT. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. **FAOSTAT Statistics Database**. 2017. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 16 set. 2018.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**. Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 403p. 2000.

FINN, S. et al. ProP Is Required for the Survival of Desiccated *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Cells on a Stainless Steel Surface. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 14, p. 4376–4384, 15 jul. 2013.

FUNG, F.; WANG, H.-S.; MENON, S. Food safety in the 21st century. **Biomedical Journal**, v. 41, n. 2, p. 88–95, abr. 2018.

GAMBINO-SHIRLEY, K. J. et al. Multistate Outbreak of *Salmonella* Virchow Infections Linked to a Powdered Meal Replacement Product—United States, 2015–2016. **Clinical Infectious Diseases**, v. 67, n. 6, p. 890–896, 31 ago. 2018.

GIAOURIS, E.; NESSE, L. Attachment of *Salmonella* spp. to food contact and product surfaces and biofilm formation on them as stress adaptation and survival strategies. [s.l.: s.n.], mar. 2015.

GOLDEN, C. E. et al. Slow-release chlorine dioxide gas treatment as a means to reduce *Salmonella* contamination on spices. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 52, p. 256–261, mar. 2019.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. et al. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on overall quality of fresh-cut bell peppers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 8, p. 817–826, dez. 2004.

GRAZIANI, C. et al. *Salmonella*. In: **Foodborne Diseases**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 133–169.

GROSS, K. C; WANG, C. Y; SALTVEIT, M. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. **United States Department of Agriculture (USDA) – Agricultural Research Service – Agriculture Handbook**, v. 66, 2016.

GUNEL, E. et al. *Salmonella* surveillance on fresh produce in retail in Turkey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 199, p. 72–77, abr. 2015.

GUO, Y. et al. *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis on fresh-cut cucumber slices after reduction treatments. **Food Control**, v. 70, p. 20–25, dez. 2016.

HALLMANN, E.; REMBIAŁKOWSKA, E. Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing systems. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 12, p. 2409–2415, set. 2012.

HERIGSTAD, B.; HAMILTON, M.; HEERSINK, J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, v. 44, n. 2, p. 121–129, 1 mar. 2001.

HASSAN, R. et al. Multistate Outbreak of *Salmonella* Anatum Infections Linked to Imported Hot Peppers — United States, May–July 2016. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 66, 2017.

HAVELAAR, A. H. et al. World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. **PLOS Medicine**, v. 12, n. 12, p. e1001923, 3 dez. 2015.

HENDRIKSEN, R. S. et al. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 8, n. 8, p. 887–900, ago. 2011.

HUANG, L. Optimization of a new mathematical model for bacterial growth. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 283–288, jul. 2013.

HUANG, J. et al. Growth and survival of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce and their juice extracts: Impacts and interactions of food matrices and temperature abuse conditions. **Food Control**, v. 100, p. 300–304, jun. 2019.

IBRAHIM, G. M.; MORIN, P. M. *Salmonella* Serotyping Using Whole Genome Sequencing. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2993, 13 dez. 2018.

JIMÉNEZ, S. M. et al. Predictive models for reduction of *Salmonella* Hadar on chicken skin during single and double sequential spraying treatments with acetic acid. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 3, p. 528–535, set. 2007.

JOSHI, B. et al. A process to decontaminate sliced fresh cucumber (*Cucumis sativus*) using electron beam irradiation. **LWT**, v. 91, p. 95–101, maio 2018.

JUÁNIZ, I. et al. Catabolism of raw and cooked green pepper (*Capsicum annuum*) (poly) phenolic compounds after simulated gastrointestinal digestion and faecal fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 27, p. 201–213, dez. 2016.

JUNEJA, V. K. et al. Mathematical modeling of growth of *Salmonella* in raw ground beef under isothermal conditions from 10 to 45 °C. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, n. 2–3, p. 106–111, maio 2009.

KELLER, S. E. et al. Growth and survival of *Salmonella* in ground black pepper (*Piper nigrum*). **Food Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 182–188, maio 2013.

KISLUK, G.; YARON, S. Presence and Persistence of *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium in the Phyllosphere and Rhizosphere of Spray-Irrigated Parsley. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 11, p. 4030–4036, 1 jun. 2012.

KONG, X. et al. Transcriptome analysis of harvested bell peppers (*Capsicum annuum* L.) in response to cold stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 139, p. 314–324, jun. 2019.

KUAN, C. H. et al. Simulation of decontamination and transmission of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Enteritidis*, and *Listeria monocytogenes* during handling of raw vegetables in domestic kitchens. **Food Control**, v. 80, p. 395–400, out. 2017.

LAMAS, A. et al. A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. **Microbiological Research**, v. 206, p. 60–73, jan. 2018.

LEE, Y. J. et al. Predictive model for the growth kinetics of *Listeria monocytogenes* in raw pork meat as a function of temperature. **Food Control**, v. 44, p. 16–21, out. 2014.

LEKALA, C. S. et al. Cultivar-specific responses in red sweet peppers grown under shade nets and controlled-temperature plastic tunnel environment on antioxidant constituents at harvest. **Food Chemistry**, v. 275, p. 85–94, mar. 2019.

LI, K. et al. Microbiological quality and safety of fresh produce in West Virginia and Kentucky farmers' markets and validation of a post-harvest washing practice with antimicrobials to inactivate *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 79, p. 101–108, set. 2017.

LI, L. et al. Dynamic predictive model for growth of *Salmonella* spp. in scrambled egg mix. **Food Microbiology**, v. 64, p. 39–46, jun. 2017.

LI, R. et al. Enhancing iodine content and fruit quality of pepper (*Capsicum annuum* L.) through biofortification. **Scientia Horticulturae**, v. 214, p. 165–173, 5 jan. 2017.

LIAO, C. H.; COOKE, P. H. Response to trisodium phosphate treatment of *Salmonella* Chester attached to fresh-cut green pepper slices. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 25–32, jan. 2001.

LIU, C.; HOFSTRA, N.; FRANZ, E. Impacts of climate change on the microbial safety of pre-harvest leafy green vegetables as indicated by *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* spp. **International Journal of Food Microbiology**, v. 163, n. 2–3, p. 119–128, maio 2013.

LÓPEZ-GÁLVEZ, F.; GIL, M. I.; ALLENDE, A. Impact of relative humidity, inoculum carrier and size, and native microbiota on *Salmonella* ser. Typhimurium survival in baby lettuce. **Food Microbiology**, v. 70, p. 155–161, abr. 2018.

LÓPEZ, S. et al. Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth. **International Journal of Food Microbiology**, v. 96, n. 3, p. 289–300, nov. 2004.

LUO, K.; OH, D. H. Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh-cut bell pepper treated with slightly acidic electrolyzed water combined with ultrasound and mild heat. **Food Microbiology**, v. 53, p. 165–171, fev. 2016.

MA, C.; LI, J.; ZHANG, Q. Behavior of *Salmonella* spp. on fresh-cut tropical fruits. **Food Microbiology**, v. 54, p. 133–141, abr. 2016.

MA, L. et al. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, v. 64, p. 23–38, jun. 2017.

MAFFEI, D. F. et al. Assessing the effect of sodium dichloroisocyanurate concentration on transfer of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in wash water for production of minimally processed iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Letters in Applied Microbiology**, v. 62, n. 6, p. 444–451, jun. 2016.

MAJOWICZ, S. E. et al. The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 6, p. 882–889, 15 mar. 2010.

MANDILARA, G. et al. A severe gastroenteritis outbreak of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis PT8, with PFGE profile XbaI.0024 and MLVA profile 2-9-7-3-2 following a christening reception, Greece, 2016. **Epidemiology and Infection**, v. 146, n. 01, p. 28–36, jan. 2018.

MARVASI, M. et al. Effect of the irrigation regime on the susceptibility of pepper and tomato to post-harvest proliferation of *Salmonella enterica*. **Food Microbiology**, v. 46, p. 139–144, abr. 2015.

MATHEW, E. N. et al. Attachment of *Salmonella enterica* on Mangoes and Survival Under Conditions Simulating Commercial Mango Packing House and Importer Facility. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1519, 10 jul. 2018.

MBA-JONAS, A. et al. A Multistate Outbreak of Human *Salmonella* Agona Infections Associated With Consumption of Fresh, Whole Papayas Imported From Mexico—United States, 2011. **Clinical Infectious Diseases**, v. 66, n. 11, p. 1756–1761, 17 maio 2018.

MCDONALD, K., SUN, D.W. Predictive food microbiology for the meat industry: A review. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 52, p. 1-27, 1999. Disponível em: <http://smas.chemeng.ntua.gr/miram/files/publ_239_10_2_2005.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2018.

MELO, A. N. F. DE et al. Changes in thermo-tolerance and survival under simulated gastrointestinal conditions of *Salmonella* Enteritidis PT4 and *Salmonella* Typhimurium PT4 in chicken breast meat after exposure to sequential stresses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 251, p. 15–23, jun. 2017.

MORADI, M. et al. Drying of green bell pepper slices using an IR-assisted Spouted Bed Dryer: An assessment of drying kinetics and energy consumption. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 60, p. 102280, mar. 2020.

MORAES, J. O. et al. Predicting adhesion and biofilm formation boundaries on stainless steel surfaces by five *Salmonella enterica* strains belonging to different serovars as a function of pH, temperature and NaCl concentration. **International Journal of Food Microbiology**, v. 281, p. 90–100, set. 2018.

MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília-DF: Ed. EMBRAPA, 2007. 527p.

NEUMEYER, K.; ROSS, T.; MCMEEKIN, T. Development of a predictive model to describe the effects of temperature and water activity on the growth of spoilage pseudomonads. **International Journal of Food Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 45–54, ago. 1997.

NI, P. et al. Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars isolated from farm products in Shanghai. **Food Control**, v. 85, p. 269–275, mar. 2018.

NICK, C.; BOREM, A. Pimentão do plantio à colheita. 1. ed. Viçosa: Editora **UFV**, 2016. 204 p.

NUNES, S. M. et al. Surto de doença transmitida por alimentos nos municípios de Mauá e Ribeirão Pires-SP. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 264/265, 2017.

PARK, S. et al. Fate of mesophilic aerobic bacteria and *Salmonella enterica* on the surface of eggs as affected by chicken feces, storage temperature, and relative humidity. **Food Microbiology**, v. 48, p. 200–205, jun. 2015.

PENTEADO, A. L.; EBLEN, B. S.; MILLER, A. J. Evidence of *Salmonella* Internalization into Fresh Mangos during Simulated Postharvest Insect Disinfestation Procedures. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 1, p. 181–184, jan. 2004.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F. et al. Special issue on 10th international conference of predictive modelling in foods: Towards a new paradigm in predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 291, p. 65–66, fev. 2019.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; VALERO, A. **Predictive microbiology in foods**. New York: Springer, 2013.

PESOLA, A. K. et al. Multinational outbreak of *Salmonella* Enteritidis infection during an international youth ice hockey competition in Riga, Latvia, preliminary report, March and April 2015. **Euro Surveillance: Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin**, v. 20, n. 20, 21 maio 2015.

PIJNACKER, R. et al. An international outbreak of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis linked to eggs from Poland: a microbiological and epidemiological study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 19, n. 7, p. 778–786, jul. 2019.

PRAKASH, A. et al. Essential oil based nanoemulsions to improve the microbial quality of minimally processed fruits and vegetables: A review. **Food Research International**, v. 111, p. 509–523, set. 2018.

RAVISHANKAR, S.; ZHU, L.; JARONI, D. Assessing the cross contamination and transfer rates of *Salmonella enterica* from chicken to lettuce under different food-handling scenarios. **Food Microbiology**, v. 27, n. 6, p. 791–794, set. 2010.

REZENDE, A. C. B. et al. Incidence and growth of *Salmonella enterica* on the peel and pulp of avocado (*Persea americana*) and custard apple (*Annona squamosa*). **International Journal of Food Microbiology**, v. 235, p. 10–16, out. 2016.

RIBEIRO, C. S. da C.; CRUZ, D. M. R. Tendência de mercado: comércio de pimentão em expansão. **Cultivar**, Pelotas, v. 3, n. 14, p.16-19, 2002.

RUDRA, S. G.; GUNDEWADI, G.; SHARMA, R. R. Natural additives with antimicrobial and flavoring potential for fresh-cut produce. In: **Fresh-Cut Fruits and Vegetables**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 165–182.

SALAZAR, J. K. et al. Survival kinetics of *Listeria monocytogenes* on chickpeas, sesame seeds, pine nuts, and black pepper as affected by relative humidity storage conditions. **PLOS ONE**, v. 14, n. 12, p. e0226362, 11 dez. 2019.

SÁNCHEZ-VARGAS, F. M.; ABU-EL-HAIJA, M. A.; GÓMEZ-DUARTE, O. G. *Salmonella* infections: An update on epidemiology, management, and prevention. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 9, n. 6, p. 263-277, 2011.

SANT'ANA, A. S. et al. Prevalence and counts of *Salmonella* spp. in minimally processed vegetables in São Paulo, Brazil. **Food Microbiology**, v. 28, n. 6, p. 1235–1237, set. 2011.

SANT'ANA, A. S.; FRANCO, B. D. G. M.; SCHAFFNER, D. W. Modeling the growth rate and lag time of different strains of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat lettuce. **Food Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 267–273, maio 2012.

SANTILLANA FARAKOS, S. M.; FRANK, J. F.; SCHAFFNER, D. W. Modeling the influence of temperature, water activity and water mobility on the persistence of *Salmonella* in low-moisture foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, n. 2, p. 280–293, set. 2013.

SCIVITTARO, W. B. et al. Caracterização de híbridos de pimentão em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 147–150, jul. 1999.

SEBRAE–SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. 20 **Cartilha Pimentão**. 2012. Disponível em: <<http://uc.sebrae.com.br/publicacao-institucional/cartilha-pimentao-passo-passo>>. Acesso em: 26 set. 2018.

SERRANO, M. et al. Antioxidant and nutritive constituents during sweet pepper development and ripening are enhanced by nitrophenolate treatments. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 497–503, fev. 2010.

SHARMA, M. et al. Survival of *Salmonella* Newport on Whole and Fresh-Cut Cucumbers Treated with Lytic Bacteriophages. **Journal of Food Protection**, v. 80, n. 4, p. 668–673, abr. 2017.

SILVA, L. R. et al. Chemical assessment and antioxidant capacity of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, p. 240–248, mar. 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. *Salmonella*. In: Manual de métodos de 26 análise microbiológica de alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. Cap. 19, p. 253-285.

SINGH, R.; GIRI, S. K.; RAO, K. V. R. Respiration rate model for mature green capsicum (*Capsicum annuum* L.) under closed aerobic atmospheric conditions. **Croatian Journal of Food Science and Technology**, v.6, n. 2, p. 110-115, dez. 2014.

SIROLI, L. et al. Innovative strategies based on the use of bio-control agents to improve the safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 302–310, dez. 2015.

STEVE YAN, S. et al. An overview of *Salmonella* typing. Clinical and Applied **Immunology Reviews**, v. 4, n. 3, p. 189–204, fev. 2004.

STINE, S. W. et al. Effect of relative humidity on preharvest survival of bacterial and viral pathogens on the surface of cantaloupe, lettuce, and bell peppers. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 7, p. 1352–1358, jul. 2005.

STRAWN, L. K.; DANYLUK, M. D. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on fresh and frozen cut mangoes and papayas. **International Journal of Food Microbiology**, v. 138, n. 1–2, p. 78–84, mar. 2010.

SUIJKERBUIJK, A. W. M. et al. The economic burden of a *Salmonella* Thompson outbreak caused by smoked salmon in the Netherlands, 2012–2013. **The European Journal of Public Health**, p. ckw205, 11 nov. 2016.

TACO. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP/NEPA, 2011. 161 p. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela>>. Acesso em: 16 set. 2018.

TAMPLIN, M.L. Predictive microbiology research capability. **Australian Journal of Dairy Technology**, v.62, p.76-77. 2007.

TELEKEN, J.T.; ROBAZZA, W.S.; GOMES, G.A. Mathematical modeling of microbial growth in Milk. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** [online], v. 31, n. 4, p. 891-896, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v31n4/10.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

TRIMBLE, L. M. et al. Prevalence and concentration of *Salmonella* and *Campylobacter* in the processing environment of small-scale pastured broiler farms. **Poultry Science**, v. 92, n.1, p. 3060–3066, 2008.

TIAN, J.-Q.; BAE, Y.-M.; LEE, S.-Y. Survival of foodborne pathogens at different relative humidities and temperatures and the effect of sanitizers on apples with different surface conditions. **Food Microbiology**, v. 35, n. 1, p. 21–26, ago. 2013.

TOKARSKYY, O.; SCHNEIDER, K. Influence of temperature, humidity, and diluent type on survival of *Salmonella* spp. on the surface of raw tomatoes. **Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences**, v. 13, n. 1, p. 325–330, 28 maio 2019.

TURKI, Y. et al. Comparison of five molecular subtyping methods for differentiation of *Salmonella* Kentucky isolates in Tunisia. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 1, p. 87–98, jan. 2014.

VELUGOTI, P. R. et al. Dynamic model for predicting growth of *Salmonella* spp. in ground sterile pork. **Food Microbiology**, v. 28, n. 4, p. 796–803, jun. 2011.

WANG, H.; RYSER, E. T. Quantitative transfer and sanitizer inactivation of *Salmonella* during simulated commercial dicing and conveying of tomatoes. **Food Control**, v. 107, p. 106762, jan. 2020.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. ***Salmonella* (non-typhoidal)**. 2020.

Disponível em: <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella-(non-typhoidal))>. Acesso em: 10 mar. 2020.

WILLIAMSON, K. et al. Microbial evaluation of automated sorting systems in stone fruit packinghouses during peach packing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 285, p. 98–102, nov. 2018.

YADAV, A.S. et al. Study on heat stress response in *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis and its impact on their attachment to dressed broiler skin surface. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 11, n.1, p. 114–121, 2016.

YANG, X. et al. Prevalence and characterization of *Salmonella* isolated from raw vegetables in China. **Food Control**, v. 109, p. 106915, mar. 2020.

YOUSUF, B. et al. Fresh-cut fruits and vegetables: Quality issues and safety concerns. In: **Fresh-Cut Fruits and Vegetables**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 1–15.

ZHENG, J. et al. Colonization and Internalization of *Salmonella enterica* in Tomato Plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 8, p. 2494–2502, 15 abr. 2013.

APÊNDICES

APÊNDICE A: ARTIGO ORIGINAL

Modeling *Salmonella enterica* fate in fresh cut-pepper (*Capsicum annuum* L.) during storage as a function of temperature and relative humidity

Artigo submetido a revista *LWT Food Science and Technology*

Modeling *Salmonella enterica* fate in fresh cut-pepper (*Capsicum annuum* L.) during storage as a function of temperature and relative humidity

Running title: *Salmonella enterica* Predictive modeling in cut-peppers

Abstract

This study assessed the fate of *Salmonella enterica* (*S. Enteritidis* and *S. Typhimurium*) inoculated in cut-peppers at two initial levels (4.5 or 2.5 log CFU/g) during eight storage time intervals (0-144 h) and combinations of temperature (7, 14 and 21 °C) and relative humidity (RH; 15, 50, and 100%). *S. enterica* showed maximum growth rate (μ_{max}) ranging from -0.0047 to 0.0681 1/h. The highest μ_{max} was achieved at 14 and 21 °C and 100% RH, while *S. enterica* growth was not supported at the lowest temperature and RH tested, regardless the inoculum size. At 7 °C and 100% RH, *S. enterica* displayed μ_{max} of 0.0123 ± 0.0016 1/h when tested at 2.5 log CFU/g, but only survived in cut-peppers when inoculated at 4.5 log CFU/g. Similar results were observed for a range of temperature and RH combinations. Regressions based on the experimental data displayed R^2 close to 0.99 and a good prediction of the μ_{max} as a function of temperature and RH and their interaction. Results showed the influence of temperature and RH and the impact of the inoculum size on *S. enterica* behavior during storage in cut-peppers. The generated models are useful tools to manage the risk of this pathogen in cut-peppers.

Keywords: microbial modeling, *Salmonella* spp., minimally processed vegetable, storage conditions.

1. Introduction

Salmonella enterica is responsible for many foodborne outbreaks worldwide. It is estimated this pathogen affects millions of people causing more than 100,000 deaths annually with

the highest hospitalization rates related to foodborne bacterial illnesses (CDC, 2020; WHO, 2020).

In parallel with the changes in population life style, there is a growing tendency to buy fresh and convenient foods such as fresh-cut produce, also known as minimally processed produce (Chen et al., 2018; De Corato, 2020). Fresh cut-produce corresponds to fruits and vegetables subjected to washing, trimming, peeling, cutting or shredding, sanitizing and packing and generally stored under refrigeration/cold (De Corato & Cancellara, 2019). Over the last decade, reports of fresh-cut produce linked to *S. enterica* infections have markedly grown. The Non-typhoidal *Salmonella* serovars such as *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* stand out as prevalent etiological agents in salmonellosis outbreaks associated to fresh produce (ECDC, 2020, CDC, 2020).

Pepper (*Capsicum annuum* L.) is a fruit appreciated and consumed worldwide because of great nutritional value and health-promoting components (Kong et al., 2019). Pepper fruit is recognized as source of vitamin C (*e. g.* ascorbic acid), β -carotene and other carotenoid pigments (such as lycopene and zeaxanthin), as well as polyphenols, fiber, vitamins (*e.g.* A and B) and minerals (Hallmann & Rembalkowska, 2012). Fresh-cut-peppers are largely consumed in salads, sandwich fillings, finger foods, appetizers and included in a variety of gourmet creations (Juániz et al., 2016).

The consumption of pepper has been associated with salmonellosis outbreaks worldwide and particularly in the United States (U.S.) (CDC, 2020; Hassan et al., 2017). In 2008, an outbreak caused by fresh peppers contaminated with *S. enterica* occurred in 43 states in the U.S. and resulted in 565 infected people, 286 hospitalizations and 2 deaths (CDC, 2018). Another salmonellosis outbreak linked to fresh peppers occurred in 2016, covering 9 U.S. states, where 32 and 25 people were infected and hospitalized, respectively (Hassan, et al., 2017).

S. enterica survival in fresh produce is favored in high relative humidity (RH) (>80%) conditions (López-gálvez, Gil, & Allende, 2018; Williamson et al., 2018). Moreover, bacterial survival and growth in fresh-cut fruits can occur even at refrigerate temperature, considering the readily available nutrients in leaked juice and water exuded from cut surfaces (Tian, Bae, & Lee, 2013; Guo, Li, Han, & Cai, 2016). Overall, *S. enterica* has the ability to adapt and survive or growth in adverse conditions of storage including temperature and RH (Kang, Kim, Jeong, Park, & Seo, 2018). A previous study reported great survival of *S. enterica* in green tomatoes stored in RH of ~20-30% during storage at 25 °C (Tokarskyy & Schneider, 2019). Similarly, *S. enterica* showed ability to survive in eggshells stored at 43% RH (Park et al., 2015).

Single or combined effect of temperature and RH and/or storage time on *S. enterica* growth and survival kinetic parameters has been described on fresh-cut fruits (López-Gálvez, Gil, & Allende, 2018; Tokarskyy & Schneider 2019; Williamson et al., 2018), but no prior studies has focused on temperature and RH effects on this microorganism in cut-peppers. Considering these aspects, the present study was performed to assess the kinetic parameters of *S. enterica* (*S. Enteritidis* and *S. Typhimurium*) at two inoculum levels under distinct combinations of temperature and RH during storage. To predict *S. enterica* fate on cut pepers as a function of the tested parameters, primary mathematical models were applied and secondary models were developed.

2. Materials and methods

2.1 Test strains and inoculum preparation

S. Typhimurium and *S. Enteritidis* included in this study were isolated from foods involved in salmonellosis outbreaks occurring in south of Brazil. Whole genome of the strains is available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/?term=CFSAN077701> for *S. Enteritidis* and <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/?term=CFSAN077723> for *S. Typhimurium*

(PRJNA186035 FDA genome track Project). *S. Enteritidis* is resistant to nalidixic acid (30 µg/mL) and susceptible to tetracycline (30 µg/mL), while *S. Typhimurium* is resistant to tetracycline (30 µg/mL) and susceptible to nalidixic acid (30 µg/mL). Stock cultures were maintained at -80 °C in Tryptic Soy Broth (TSB; Himedia, India) containing glycerol (20 mL/100mL) and susceptibility or resistance to these antibiotics was always checked.

Cells suspensions of each strain were prepared in sterile saline solution (0.85% NaCl, w/v) from cultures grown in TSB at 37 °C for 18 h. Cells were harvested through centrifugation (4500 g, 15 min, 4 °C), washed twice in sterile saline solution (NaCl, 0.85%) and re-suspended in the same diluent. Standard cell suspensions of 4.5 or 2.5 (± 0.2) log CFU/mL were obtained for both strains at optical density at 625 nm (OD 625). A pool containing both strains were prepared at a ratio of 1:1 for each bacterial concentration to obtain the inoculum used in experiments. Tryptic soy agar (TSA; Himedia, India) with 30 µg/mL nalidixic acid was used to count *S. Enteritidis* and TSA with 30 µg/mL tetracycline was used to count *S. Typhimurium*, since these microorganisms were only able to grow in each respective medium (Melo et al., 2017).

2.2. Fresh cut-peppers

Conical green peppers (*Capsicum annuum* L.) were acquired at the stage of commercial maturation ($\geq 4.3X$ °Brix) from Supplies and Services Company of Paraíba (EMPASA, João Pessoa, Brazil), and selected based on uniformity in size and appearance, and absence of mechanical injuries and visible infections. Before processing, peppers surface was disinfected through immersion in a sodium hypochlorite solution (150 ppm, pH 7.2 adjusted using 1 mM/L NaOH) for 10 min, washed with sterile distilled water and dried for 30 min in a biosafety cabinet (25 ± 2 °C). Afterwards, peppers were aseptically sliced in pieces of approximately 2.5 g. Processing was always performed in the same day of the beginning of the experiments.

2.3 Inoculation of pepper samples and control of environmental conditions

Aliquots of 20 μL of *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* as a pool (final counts of approximately 4.5 or 2.5 log CFU/g) were spot-inoculated onto cut-peppers and maintained in the biosafety cabinet for 30 min to ensure attachment of the mixed inoculum in the samples (Luo & Oh, 2016). Then, samples were randomly distributed in desiccators containing saturated solutions of lithium chloride, potassium carbonate and potassium sulfate (Sigma Aldrich, St Louis, USA) to equilibrate the atmosphere to approximately 15, 50, and 100% RH, respectively. The desiccators were stored at 7, 14, or 21 °C and enumerated at different storage time interval (Tian et al., 2013).

2.4 Enumeration of S. Typhimurium and S. Enteritidis viable counts during storage

Enumeration of each strain for all temperature and RH combinations were performed at times 0 (after inoculum drying time), 12, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 h of storage. Pepper pieces were serially diluted (10^{-1} - 10^{-5}) in sterile saline solution (NaCl 0.85 g/100 mL), and 20 μL -aliquots of each dilution were dispensed onto TSA with 30 $\mu\text{g/mL}$ nalidixic acid or with 30 $\mu\text{g/mL}$ tetracycline, using the micro-drop inoculation technique (Herigstad et al., 2001), followed by 24 h incubation at 37 °C. Results were expressed as log CFU/g with detection limit of 1.5 log CFU/g.

2.5 Statistical analyses

2.5.1 Evaluation of growth and inactivation of S. Typhimurium and S. Enteritidis

A total of 288 results were recorded from the experiments (3 temperature $\times$ 3 RH $\times$ 8 storage time intervals $\times$ 2 inoculum size), being 144 for each strain. All these experiments were performed in duplicate in two genuine replicates. The significant differences in counts for each strain over time were determined using ANOVA followed by Tukey test considering $p < 0.05$. Differences between strains were checked using Student *t*-test. Statistical analysis and graphical

presentation were done using Sigma-Stat 3.5 software (Jandel Scientific Software, San Jose, California). A range of primary models was assessed for each strain data set to find the model that better fit the experimentally generated data using DMFit add-in of Excel® 2010 (Microsoft, Redmond/WA) (Supplementary Tables 1 to 8).

2.5.2 Growth potential (δ) and inactivation percentage of *S. enterica* in cut-peppers

Data of *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* were combined in one set (*S. enterica*) considering the similar behavior of the strains in experiments at distinct combinations of temperature and RH. Growth potential (δ) of *S. enterica* in each combination of temperature and RH was determined by calculating the difference between counts (in log CFU/g) at the end of storage time (144 h) and the beginning of the experiment (time zero). Conditions were considered to support *S. enterica* growth when δ was higher than 0.5 log CFU/g. When δ values were negative, it was considered that microorganism was inactivated. (Campagnollo et al., 2018)

2.5.3 Modeling the growth/inactivation data

Primary modeling of growth/death log-transformed data for *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* were used in a combined set of experimental data (*S. enterica*) comprising a total of 72 entries for each inoculum size tested. Combined data were analyzed using Baranyi and Roberts (1994) (4.5 log CFU/g inoculum) or linear model (2.5 log CFU/g inoculum) using DMFit add-in of Excel® 2010 (Microsoft, Redmond/WA) considering the better fit of these models to each data sets, respectively. Data obtained from the primary Baranyi and Roberts or Linear models were fitted into a quadratic polynomial equation:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_1^2 + a_4X_2^2 + a_5X_1X_2 \quad (\text{Eq. 1})$$

where Y is any of the survival kinetic parameters, X_1 is temperature, X_2 is RH, and a represents any number from 0 to 10 of the corresponding coefficients. A p-value < 0.05 was considered significant. The goodness of fit of the developed model was evaluated graphically and considering the adjusted R^2 . Parameters, their quadratic terms (T^2 , RH^2) or their interaction ($T \cdot RH$) were retained in the model when it remained statistically significant.

Considering the significant terms, a quadratic equation for each polynomial secondary model was fitted to the data as follow [$y_{4.5 \log} = b_0 + b_1 \times (T \cdot RH)$ or $y_{2.5 \log} = b_0 + b_1 \times (RH \cdot RH)$] to estimate the growth/death rate of *S. enterica* in cut-peppers as a function of the interaction between temperature and RH at 0.5 probability.

3. Results and discussion

3.1 Survival of *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* in cut-peppers

Changes in cell counts of *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* inoculated at 4.5 log CFU/g in cut-pepper under distinct temperature and RH conditions varied along the storage time intervals (Supplementary Fig. 1). No viable cells counts (<LOD: 1.5 log CFU/g) of *S. Typhimurium* were observed after 96 h of storage at 7 °C and 15% or 50% RH in cut-pepper inoculated with 4.5 log CFU/g. *S. Enteritidis* showed similar results after longer time (120-144 h of storage). Counts of *S. Typhimurium* were <LOD in cut-pepper stored at 14 °C at 15% RH after 144 h, while counts of *S. Enteritidis* were approximately 3.7 log CFU/g. For both, *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium*, counts remained close to ~4.5 CFU/g at 21 °C at 50% RH and reached approximately 5.70 log CFU/g during storage at 14 and 21 °C and 100% RH.

When changes of *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* counts inoculated at 2.5 log CFU/g were analyzed (Supplementary Fig. 2), cut-pepper stored at 7 °C and 15% RH presented counts of *S. Typhimurium* <LOD after 96 h, while counts of *S. Enteritidis* were <LOD just after 120 h. No viable cells of *S. Typhimurium* were recovered at 7 °C and 50% RH after 144 h, while

counts of *S. Enteritidis* were ~2.5 log CFU/g. Counts of both strains remained constant during storage at 14 °C at 15 and 50% RH. Counts of both strains were around 3 log CFU/g in cut-pepper stored at 21 °C at 15% RH. Both strains reached approximately 5 log CFU/g in cut-pepper stored at 14 and 21 °C at 100% RH.

Overall, growth was observed at higher temperatures and RH conditions tested, while at 7 °C, serovars were able to grow or survive at 100% RH, regardless the inoculum size. In their study, Shi, Namvar, Kostrzynska, Hora, & Warriner (2007) also recorded higher growth of *S. enterica* (*S. Javiana*, *S. Newport*, *S. Enteritidis* and *S. Hadar*) in tomatoes stored at 15 °C and 95% RH, than in the same temperature and 75% RH. Despite the importance in considering the RH in the survival of *S. enterica*, various studies only analyzed the influence of temperature. In ready-to-eat vegetables (green salad, broccoli and cauliflower) *S. enterica* (*S. Typhimurium*, *S. Typhi*, *S. enterica*, *S. Infantis* and *S. Concord*) was able to grow during 6 days at 15 °C, but not at 7 °C (Sant'Ana, Barbosa, Destro, Landgraf, & Franco, 2012). In fresh-cut melon and watermelon, no differences were observed in growth of *S. enterica* (*S. Newport*, *S. Poona* and *S. Typhimurium*) at 8 and 12 °C during 7 days of storage, while at 4 °C only survival was recorded (Huang, Luo, Zhou, Zheng, & Nou, 2019).

S. Typhimurium and *S. Enteritidis* displayed overall higher ability to survive or growth in cut-pepper inoculated with 2.5 than 4.5 log CFU/g. López-Gálvez, Gil & Allende (2018) did not observed differences related to the inoculum size (4 and 7 log CFU/g) on survival of *S. Typhimurium* in romaine lettuce under distinct RH conditions (60 and 85% RH). However, researchers tested a higher inoculum size and distinct RH conditions.

In order to identify differences in the behavior of *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* under the same storage conditions over time, the average counts of each strain were plotted in distinct combination of temperature and RH tested. As observed in the graphs (Fig. 1), experi-

ments performed in cut-pepper with 4.5 log CFU/g inoculum of *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis*, strains behaved different during storage at lowest and highest temperature tested (7 °C and 21 °C, respectively) at 100% RH, as well as at 7 °C at 50% RH. Similarly, *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* at 2.5 log CFU/g inoculum showed distinct behavior during storage at 14 °C and 15% RH and 21 °C at 15% and 50% RH (Fig. 1 and 2). Generally, when differences were recorded, *S. Enteritidis* showed higher counts than *S. Typhimurium*. Distinct behavior of *S. enterica* serovars (*S. Javiana*, *S. Newport*, *S. Montevideo*, *S. Hadar*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Dublin*, *S. Senftenberg* and *S. Infantis*) under the same temperature and RH conditions was also observed in ripe and unripe tomatoes (Shi et al., 2007). Researchers have postulated that the ability of tissue fixation levels vary among the *S. enterica* serovars and influences the behavior on fresh produce during storage (Iturriaga, Escartin, Beuchat, & Martínez-Peniche, 2003; Shi et al., 2007).

Even though some differences were recorded in the present study, only in one set of experiments (Fig. 2) differences were observed in all time intervals evaluated (12 to 144 h). Considering these findings, data of both serovars were combined in one set for modeling analysis.

3.2 Modeling the growth/death of *S. enterica* in cut-peppers

Barany and Roberts model was chosen to fit the combined data set of *S. enterica* generated in experiments with 4.5 log CFU/g inoculum (R^2 varied from 0.977 to 0.989), while data obtained in experiments with 2.5 log CFU/g were analyzed using linear models (R^2 varied from 0.613 to 0.985). Results showed that *S. enterica* grown faster on cut-peppers at 14 °C and 21 °C and at the highest RH tested, regardless of inoculum concentration (Table 1; Fig. 3A-B). In experiments using 4.5 log CFU/g *S. enterica* inoculum, only in these conditions the maximum growth rate was positive (Fig. 3A-B). For 2.5 log CFU/g *S. enterica*, almost all RH tested in

combinations with 14 °C and 21 °C, favored the growth in cut-peppers with maximum rate varying from 0.0199 ± 0.0009 to 0.0011 ± 0.0016 1/h (Table 1; Fig. 3A-B).

Kim et al. (2018) observed that *S. enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Typhimurium*, *S. Bareilly* and *S. Richmond*) grown faster in liquid eggs stored at temperature > 10 °C up to 40 °C (Kim et al., 2018). The growth rate of *S. enterica* (*S. Senftenberg*, *S. Typhimurium*, *S. Thompson*, *S. Copenhagen* and *S. Heidelberg*) in ground meat increased with temperature increase, being minimum at 9.9 °C (Huang, 2020). However, none of these studies considered the RH effects. Our results show that even at temperatures that may favor *S. enterica* growth, in low RH growth would not occur.

Generally, at 7 °C, regardless the RH, *S. enterica* did not grow, however at 100% RH, the pathogen displayed a maximum growth rate of 0.0123 ± 0.0016 1/h when tested at 2.5 log CFU/g (Table 1), showing the influence of the inoculum size. Considering the growth potential at 4.5 log CFU/g inoculum, only conditions comprising 14 and 21 °C and the highest RH supported the growth of *S. enterica* in cut-pepper (Table 1). In contrast to the conditions that *S. enterica* inoculated at 4.5 log CFU/g decreased up to ~2 log CFU/g in cut-pepper, the pathogen showed growth potential of 0.71 ± 0.32 log CFU/g when inoculated at 2.5 log CFU/g (21 °C and 15% RH; Table 1).

Salmonella growth can occur at non-favorable conditions if other extrinsic parameters such as RH are in the optimum level. A previous study reported that *S. Typhimurium* ($\sim 10^8$ log CFU/g) populations on sliced-apples were not significantly different during storage at 68, 85 and 100% RH at 15 °C. Otherwise, at lower temperature (4 °C), the reduction in counts of *S. Typhimurium* increased with RH decrease (Tian, Bae, & Lee, 2013). Curiously, in chicken eggshells, the populations of *S. enterica* decreased faster at 85% RH than 43% RH during storage at 25 °C for 21 days (Park et al., 2015). It is important to note that i) food matrix can influence on the behavior of this pathogen, reinforcing the importance of developing specific studies for

fresh produce, and ii) the combination of temperature and RH is crucial to create environmental conditions that guarantee the safety of fresh-cut produce.

Based on the maximum growth rate obtained from Barany and Roberts for inoculum 4.5 log CFU/g and linear model for inoculum 2.5 log CFU/g, full second-order linear regressions including linear terms (T and RH), quadratic terms (T^2 , RH^2) and interactions terms (T*RH) were performed. Both models displayed R^2 close to 0.99, indicating the good fit of the regression models generated (Table 2 and 3) and a good prediction of the maximum growth rate as a function of the parameters tested (Fig. 4A-B). The interaction of T and RH showed significant effects on growth rate of *S. enterica* inoculated in cut-peppers at 4.5 log CFU/g, while T or RH isolated (as single or quadratic terms) did not, however RH was close to being significant ($p = 0.057$) (Table 2).

In contrast, only the RH quadratic term showed significant effects on growth rate of *S. enterica* on cut-peppers inoculated at 2.5 log CFU/g (Table 3). These results are particularly interesting because show that the same factor can affect or not depending on inoculum size and alert for the need studies focusing on behavior of *S. enterica* serovars on fresh produce using distinct inoculum.

In a next step, the regression eliminated the non-significant ($p > 0.05$) terms from the full second-order model, thus, the final model describing the maximum growth rate (μ_{max}) consisted as follow:

$$\mu_{max \text{ 4.5 log CFU/g}} = -0.043182 + 0.000049 \text{ T} \cdot \text{RH} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\mu_{max \text{ 2.5 log CFU/g}} = -0.002429 + 0.000002 \text{ RH} \cdot \text{RH} \quad (\text{Eq. 3})$$

Considering the quadratic equation for each polynomial secondary model, the growth rate of *S. enterica* in cut-peppers was estimated at 0.5 probability with extrapolation of T*RH or RH*RH

estimates (Fig 5A-B). Therefore, within the range of conditions analyzed, it can be predicted that the maximum growth rate will increase with temperature and RH increase when *S. enterica* is at a level of 4.5 log CFU/g. Otherwise, if *S. enterica* will be in cut-peppers at a level of 2.5 log CFU/g, only RH increase will increase the growth rate (Fig. 5A-B). Moreover, considering that in foods, generally *S. enterica* will not be present at concentrations higher than 3 log CFU/g (Guo et al., 2016), these results alert for the importance of assessing effects of RH on survival of this pathogen in fresh cut produce.

Conclusions

S. Typhimurium and *S. Enteritidis* behaved similarly in cut-peppers stored under distinct conditions of temperature and RH. *S. enterica* showed higher maximum growth rate in cut-peppers at 14 and 21 °C and 100% RH, than at lower temperature or RH, regardless the initial inoculum. At the lowest temperature (7 °C) and 15 or 50% RH, *S. enterica* did not grow, however RH increase allowed the growth of *S. enterica* in cut-peppers. The effect of inoculum size in *S. enterica* behavior was more evident at lower temperature or RH values. Conditions that supported pathogen growth at low inoculum level (2.5 log CFU/g) caused decrease when the higher inoculum level was used. The developed models can be considered useful tools in predicting *S. enterica* behavior on cut-pepper under various storage temperatures and describe the significant effects of the interaction of temperature and RH, or RH depending on the pathogen initial inoculum levels.

Acknowledgements

The authors would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development for financial support (CNPq-Brazil Grant Number #303437/2017-0 and #405644/2018-3).

References

- Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23(3–4), 277–294.
[https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Campagnollo, F. B., Margalho, L. P., Kamimura, B. A., Feliciano, M. D., Freire, L., Lopes, L. S., Alvarenga, V. O., Cadavez, V. A. P., Gonzales-Barron, U., Schaffner, D. W., & Sant’Ana, A. S. (2018). Selection of indigenous lactic acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. *Food Microbiology*, 73, 288–297.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.006>
- CDC - Centers for disease control and prevention. Questions and Answers: *Salmonella*. (2020).
<https://www.cdc.gov/Salmonella/general/index.html/> Accessed. 24 February 2019.
- CDC - Centers for disease control estimates of foodborne illness in the United States. (2018).
<https://www.cdc.gov/Salmonella/outbreaks-2018.html/> Accessed 24 February 2019.
- Chen, H. Z., Zhang, M., Bhandari, B., & Guo, Z. (2018). Evaluation of the freshness of fresh-cut green bell pepper (*Capsicum annuum* var. *grossum*) using electronic nose. *LWT – Food Science and Technology*, 87, 77–84.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.052>
- De Corato, U. (2020). Improving the shelf-life and quality of fresh and minimally-processed fruits and vegetables for a modern food industry. A comprehensive critical review from the traditional Technologies into the most promising advancements. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(6), 940–975.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1553025>

- De Corato, U., Cancellara, F. A. (2019). Measures, technologies, and incentives for cleaning the minimally processed fruits and vegetables supply chain in the Italian food industry. *Journal of Cleaner Production*, 237, 117735.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117735>
- EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Center for Disease Prevention and Control). (2009). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 2019, 17(12), 5926.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926>
- Guo, Y., Li, M., Han, H. & Cai, J. (2016). *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis on fresh-cut cucumber slices after reduction treatments. *Food Control*, 70, 20-25.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.05.030>
- Hassan, R., Rounds, J., Sorenson A., Leos, G., Concepción-Acevedo, J., Griswold, T., Tesfai, A., Blessington, T., Hard, C., & Basler, C. (2017). Multistate Outbreak of *Salmonella* Anatum Infections Linked to Imported Hot Peppers — United States, May–July 2016. *MMWR - Morbidity and Mortality Weekly Report*, 66, 663-667.
<https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6625a2>
- Hallmann, E. & Rembiałkowska, E. (2012). Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(12), 2409–2415.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.5624>
- Herigstad, B., Hamilton, M., & Heersink, J. (2001). How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 44 (2), 121-129.
[https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(00\)00241-4](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(00)00241-4)
- Huang, J., Luo, Y., Zhou, B., Zheng, J., & Nou, X. (2019). Growth and survival of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce and their juice extracts: Impacts and interactions of food matrices and temperature abuse conditions. *Food Control*, 100, 300–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.035>

- Huang, L. (2020). Dynamic analysis of growth of *Salmonella* spp. in raw ground beef – Estimation of kinetic parameters, sensitivity analysis, and Markov Chain Monte Carlo simulation. *Food Control*, 108, 106845. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106845>
- Iturriaga, M. H., Escartín, E. F., Beuchat, L. R., & Martínez-Peniche, R. (2003). Effect of Inoculum Size, Relative Humidity, Storage Temperature, and Ripening Stage on the Attachment of *Salmonella* Montevideo to Tomatoes and Tomatillos. *Journal of Food Protection*, 66(10), 1756–1761. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.10.1756>
- Juániz, I., Ludwig, I. A., Bresciani, L., Dall'Asta, M., Mena, P., Del Rio, D. Cid, C., & e Peña, M. (2016). Catabolism of raw and cooked green pepper (*Capsicum annuum*) (poly) phenolic compounds after simulated gastrointestinal digestion and fecal fermentation. *Journal of Functional Foods*, 27, 201–213. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.006>
- Kang, I. B., Kim, D. H. Jeong, D., Park, J. H. & Seo, K. H. (2018). Heat resistance of *Salmonella* Enteritidis under prolonged exposure to acid-salt combined stress and subsequent refrigeration. *International Journal of Food Microbiology*. 285(1), 165-172. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.011>
- Kim, Y.-J., Moon, H.-J., Lee, S.-K., Song, B.-R., Lim, J.-S., Heo, E.-J., Park, H.-J., Wee, S.-H., & Moon, J.-S. (2018). Development and Validation of Predictive Model for *Salmonella* Growth in Unpasteurized Liquid Eggs. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(3), 442–450. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.38.3.442>
- Kong, X. Zhou, Q. X., Luo, F. Wei, B., Wang, Y., Sun, H., Zhao, Y. & Ji, S. (2019). Transcriptome analysis of harvested bell peppers (*Capsicum annuum* L.) in response to cold stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 314–324. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.033>
- López-Gálvez, F., Gil, M. I. & Allende, A. (2018). Impact of relative humidity, inoculum carrier and size, and native microbiota on *Salmonella* ser Typhimurium survival in baby lettuce. *Food Microbiology*, 70, 155-161.

- <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.014>
- Luo, K., & Oh, D.-H. (2016). Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh-cut bell pepper treated with slightly acidic electrolyzed water combined with ultrasound and mild heat. *Food Microbiology*, 53, 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.09.014>
- Melo, A. N. F. de, Souza, G. T. de, Schaffner, D., Oliveira, T. C. M. de, Maciel, J. F., Souza, E. L. de, & Magnani, M. (2017). Changes in thermo-tolerance and survival under simulated gastrointestinal conditions of *Salmonella* Enteritidis PT4 and *Salmonella* Typhimurium PT4 in chicken breast meat after exposure to sequential stresses. *International Journal of Food Microbiology*, 251, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.022>
- Park, S., Choi, S., Kim, H., Kim, Y., Kim, B. S., Beuchat, L. R., Ryu, J. H. (2015). Fate of mesophilic aerobic bacteria and *Salmonella enterica* on the surface of eggs as affected by chicken feces, storage temperature, and relative humidity. *Food Microbiology*, 48, 200–205. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.003>
- Sant’Ana, A. S., Barbosa, M. S., Destro, M. T., Landgraf, M., & Franco, B. D. G. M. (2012). Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, 157(1), 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.011>
- Shi, X., Namvar, A., Kostrzynska, M., Hora, R., & Warriner, K. (2007). Persistence and Growth of Different *Salmonella* Serovars on Pre- and Postharvest Tomatoes. *Journal of Food Protection*, 70(12), 2725–2731. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.12.2725>
- Tian, J. Q., Bae, Y. M. & Lee, S. Y. (2013). Survival of foodborne pathogens at different relative humidities and temperatures and the effect of sanitizers on apples with different surface conditions. *Food Microbiology*, 35, 21–26.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.02.004>

Tokarsky, O. & Schneider, K. (2019). Influence of temperature, humidity, and diluent type on survival of *Salmonella* spp. on the surface of raw tomatoes. *Portravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13(1), 325-330.

<https://doi.org/10.5219/1121>

WHO - World Health Organization. Salmonellosis worldwide. (2020).
<https://www.who.int/topics/Salmonella/es/#/> Accessed 16 March 2020.

Williamson, K., Pao, S., Dormedy, E., Phillips, T., Nikolich, G., & Li, L. (2018). Microbial evaluation of automated sorting systems in stone fruit packinghouses during peach packing. *International Journal of Food Microbiology*, 285, 98–102.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.024>

Figure captions

Figure 1. Survival of *Salmonella* Typhimurium (—) and *Salmonella* Enteritidis (----) (4.5 log CFU/g) in cut-peppers at different temperature and relative humidity conditions. Asterisks denote storage time intervals with statistical difference.

Figure 2. Survival of *Salmonella* Typhimurium (—) and *Salmonella* Enteritidis (----) (2.5 log CFU/g) survival in cut-peppers at different temperature and relative humidity conditions. Asterisks denote storage time intervals with statistical difference.

Figure 3. Predicted and observed values of maximum growth rate ($\mu_{\max}$) of *Salmonella enterica* inoculated in cut-peppers under distinct temperature and relative humidity conditions when inoculated at (A) 4.5 log CFU/g fitting data to Barany and Roberts model or (B) 2.5 log CFU/g data fitted to Linear model.

Figure 4. Comparison of maximum growth rate ($\mu_{\max}$) for *Salmonella enterica* survival in cut-peppers under distinct temperature and relative humidity conditions when inoculated at (A) 4.5 log CFU/g fitting data to Barany and Roberts model or (B) 2.5 log CFU/g data fitted to Linear model.

Figure 5. Growth rate model with extrapolation of estimates (temperature and relative humidity) according to the quadratic polynomial model obtained for regression models based on (A) 4.5 log CFU/g fitting data to Barany and Roberts model or (B) 2.5 log CFU/g data fitted to Linear model. Cut-off probability $P=0.5$.

Supplementary Figure 1. Viable counts of *Salmonella* Typhimurium and *S. Enteritidis* in cut-peppers inoculated with 4.5 log CFU/g during storage at 7, 14 and 21 °C and 15 (●), 50 (▲), and 100 (■) % relative humidity. Plotted line corresponds to the limit of detection (LOD 1.5 log CFU/g). Points set on the plotted line designate >LOD (1.5 log CFU/g).

Supplementary Figure 2. Viable counts of *Salmonella* Typhimurium and *S. Enteritidis* in cut-peppers inoculated with 2.5 log CFU/g during storage at 7, 14 and 21 °C and 15 (●), 50 (▲), and 100 (■) % relative humidity. Plotted line corresponds to the limit of detection (LOD 1.5 log CFU/g). Points set on the plotted line designate >LOD (1.5 log CFU/g).

Table 1. Survival kinetic parameters of *Salmonella enterica* (2.5 and 4.5 log CFU/g) on cut-pepper at different temperature and relative humidity conditions.

Model	Temp	RH*	R ²	SE of Fit**	Initial value (log CFU/g)	Maximum Rate (1/h)	Growth po- tential (δ) [#]	Inactivation ^{##} (log CFU/g)
Barany Roberts 4.5 log CFU/g	21	100	0.953	0.092	4.592 ± 0.092	0.0681 ± 0.0112	1.19±0.42 ^a	-
	21	50	0.989	0.049	5.423 ± 0.374	-0.0047 ± 0.0068	0.36±0.54 ^b	-
	21	15	0.884	0.305	4.968 ± 0.182	-0.0240 ± 0.0056	-	2.11±0.89 ^b
	14	100	0.957	0.134	4.240 ± 0.105	0.0251 ± 0.0040	1.36±0.65 ^a	-
	14	50	0.621	0.359	4.561 ± 0.201	-0.0164 ± 0.0080	-	1.23±0.58 ^{cb}
	14	15	0.762	0.465	5.011 ± 0.224	-0.0372 ± 0.0143	-	1.96±0.95 ^b
	7	100	0.926	0.050	4.441 ± 0.022	-0.0110 ± 0.0025	-	0.51±0.18 ^d
	7	50	0.977	0.169	4.308 ± 0.123	-0.0254 ± 0.0024	-	4.16±1.51 ^a
	7	15	0.957	0.263	4.601 ± 0.239	-0.0246 ± 0.0029	-	4.53±1.61 ^a
Linear 2.5 log CFU/g	21	100	0.974	0.168	2.717 ± 0.098	0.0196 ± 0.0012	2.99±1.04 ^a	-
	21	50	0.921	0.118	2.717 ± 0.069	0.0078 ± 0.0008	1.26±0.42 ^b	-
	21	15	0.605	0.204	2.795 ± 0.119	0.0050 ± 0.0015	0.71±0.32 ^c	-
	14	100	0.985	0.127	2.513 ± 0.074	0.0199 ± 0.0009	2.73±1.05 ^a	-
	14	50	0.678	0.219	2.701 ± 0.128	0.0011 ± 0.0016	0.11±0.21 ^d	-
	14	15	0.734	0.188	2.730 ± 0.110	-0.0015 ± 0.0014	-	0.20±0.19 ^b
	7	100	0.888	0.227	2.573 ± 0.133	0.0123 ± 0.0016	1.57±0.68 ^b	-
	7	50	0.613	0.176	2.608 ± 0.103	-0.0031 ± 0.0013	-	0.56±0.23 ^b
	7	15	0.710	0.269	2.771 ± 0.157	-0.0083 ± 0.0019	-	2.58±0.92 ^a

* RH: relative humidity; **SE of fit, standard error of fit in Barany and Roberts or linear analysis for each combination of temperature and RH; [#] difference between counts at the end and the beginning of storage time evaluated in each combination of temperature and RH (Log CFU/g); ^{##}population inactivated in relation to the inoculated population.

^{a-d}Different superscript letters in the column of the same set of data show significant difference $p < 0.05$

Table 2. Statistics for the effects of temperature and relative humidity on maximum growth/death rate of *Salmonella enterica* on cut-pepper inoculated at 4.5 log CFU/g obtained by Barany and Roberts model.

	Full model		Reduced model	
R^2	0.988440		0.940497	
R^2_{adjusted}	0.969173		0.93199	
F value	51.303881		110.640683	
No. of variables	9		9	
Variable ^a	Coefficients	P value	Coefficients	P value
Intercept	0.007966	0.677428	-0.043182	0.000031
T	-0.004676	0.147726	-	-
RH	-0.000935	0.057260	-	-
(T)(RH)	0.000067	0.006052	0.000049	0.000015
(T) ²	0.000120	0.243102	-	-
(RH) ²	5.686947	0.093264	-	-

^a T, temperature (°C); RH, relative humidity (%).

Table 3. Statistics for the effects of temperature and relative humidity on maximum growth/death rate of *Salmonella enterica* on cut-pepper inoculated at 2.5 log CFU/g obtained by Linear model.

	Full model		Reduced model	
R^2	0.987769		0.763184	
R^2_{adjusted}	0.967385		0.729353	
F value	48.457434		22.558820	
No. of variables	9		9	
Variable ^a	Coefficients	P value	Coefficients	P value
Intercept	-0.018752	0.040255	-0.002429	0.355007
T	0.001564	0.128379	-	-
RH	0.000013	0.904477	-	-
(T)(RH)	-0.000005	0.191030	-	-
(T) ²	-0.000019	0.511328	-	-
(RH) ²	0.000002	0.044356	0.000002	0.002084

^a T, temperature (°C); RH, relative humidity (%).

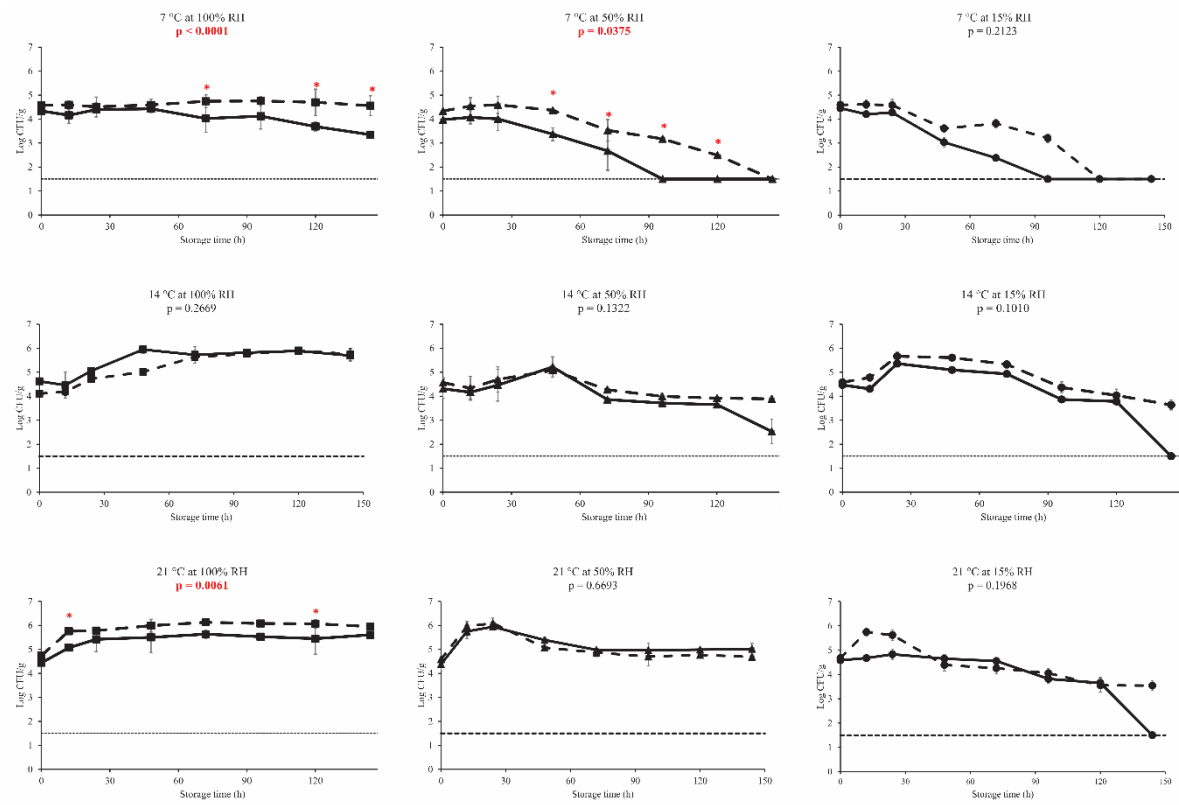


Fig 1.

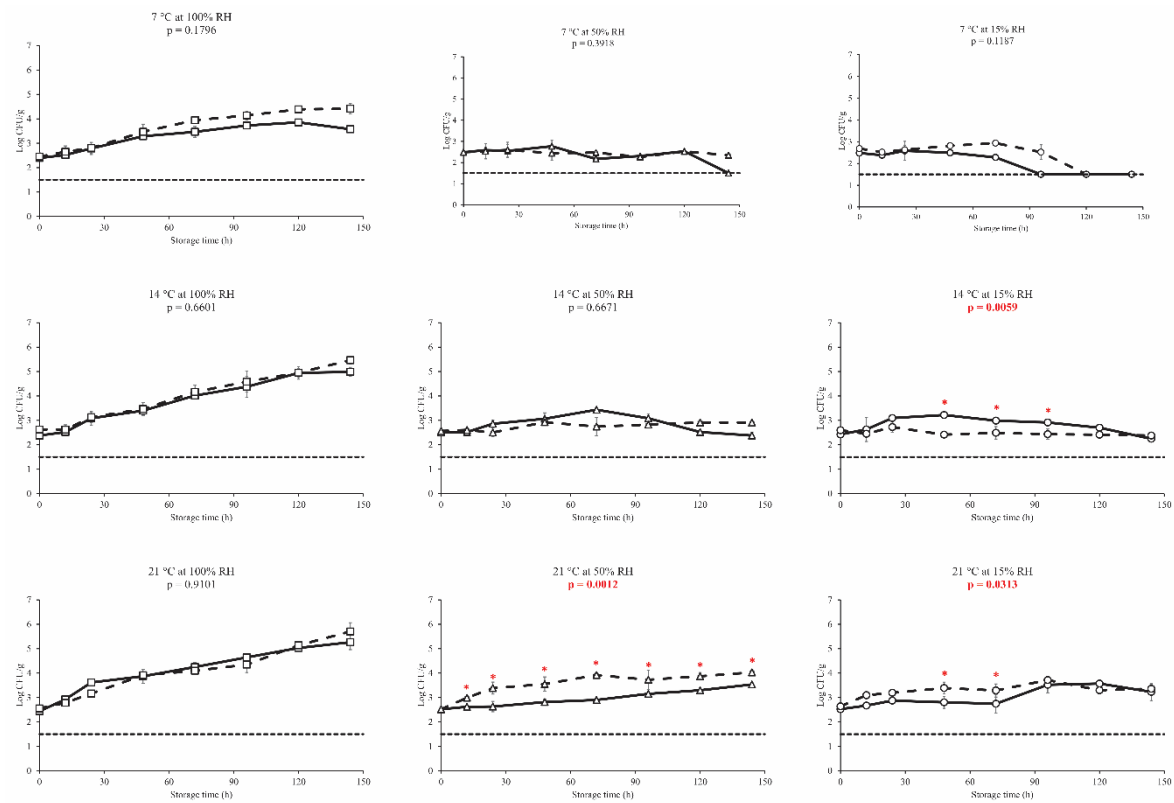


Fig 2.

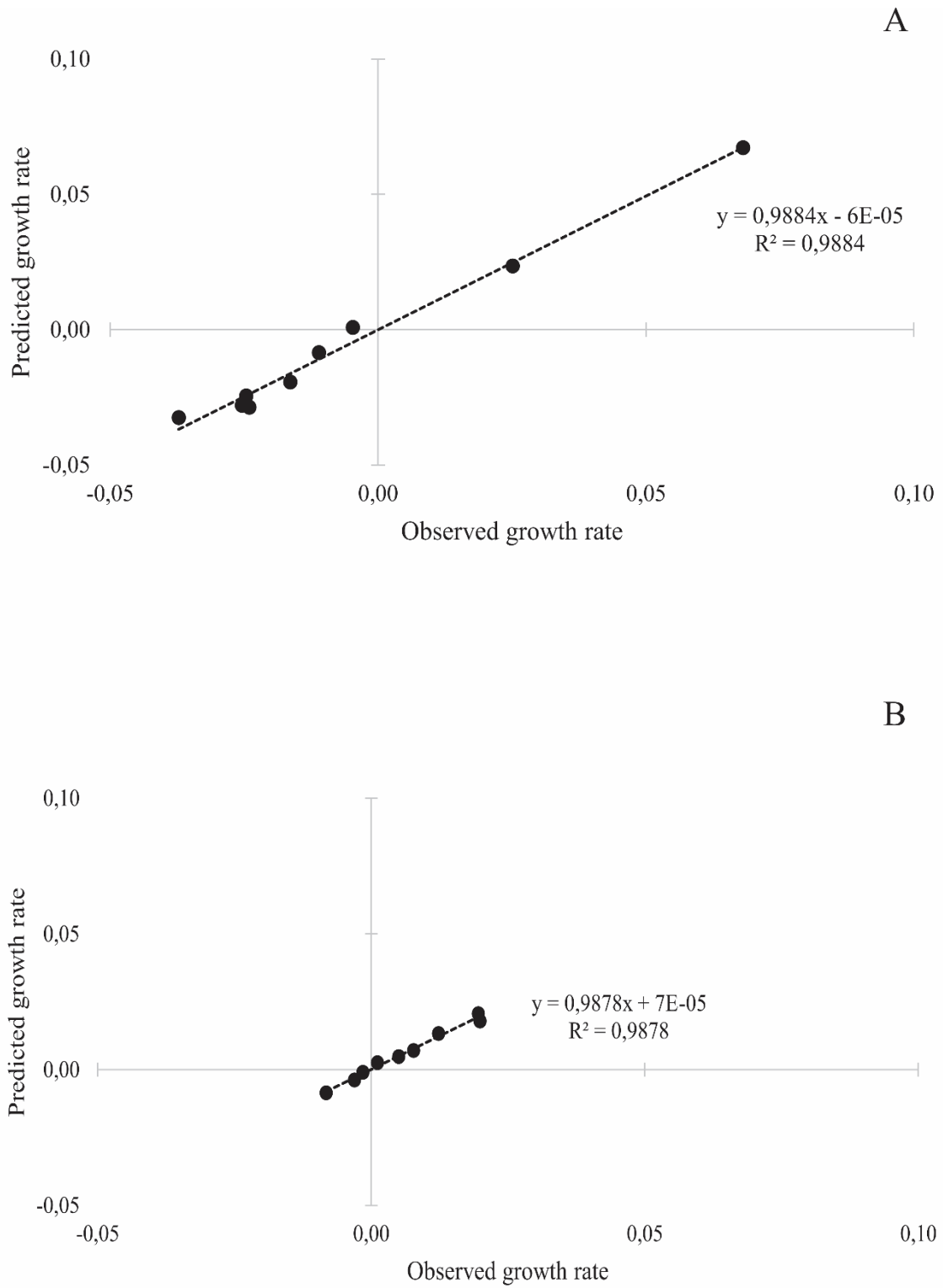


Fig. 3 A and Fig. 3 B

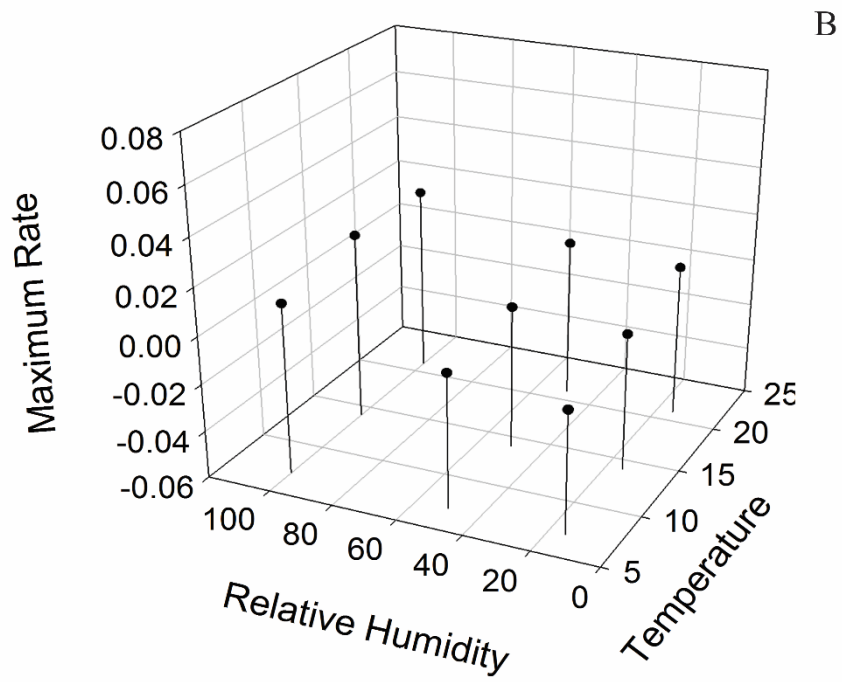
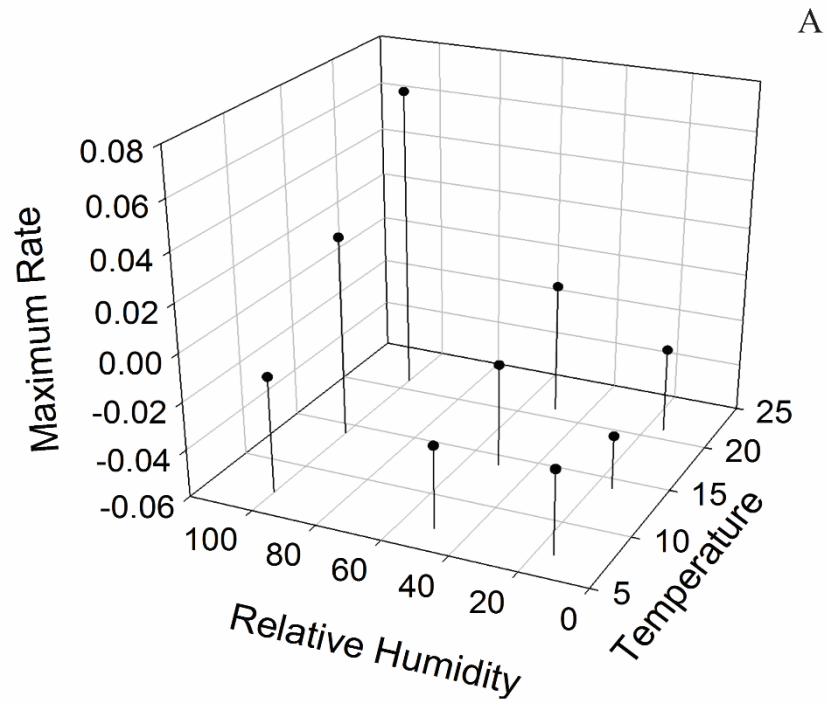


Fig. 4 A and Fig. 4 B

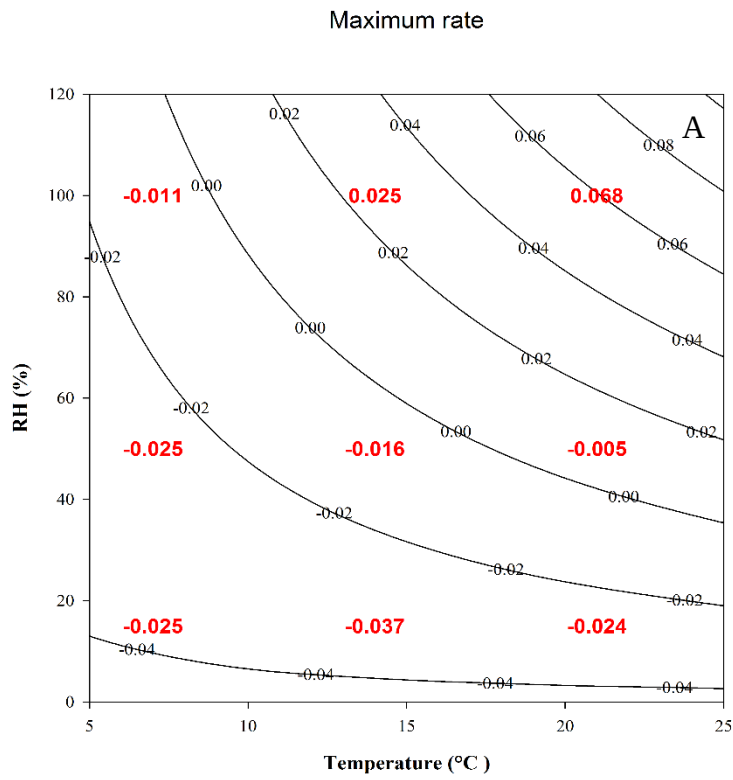


Fig. 5 A

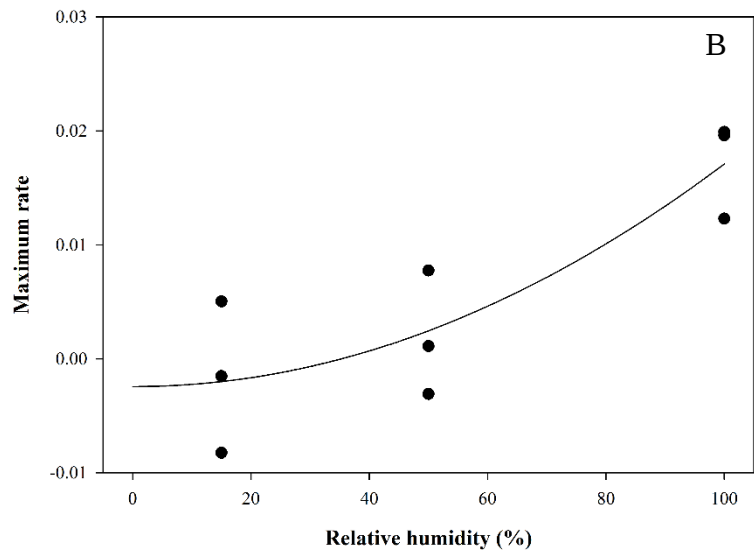
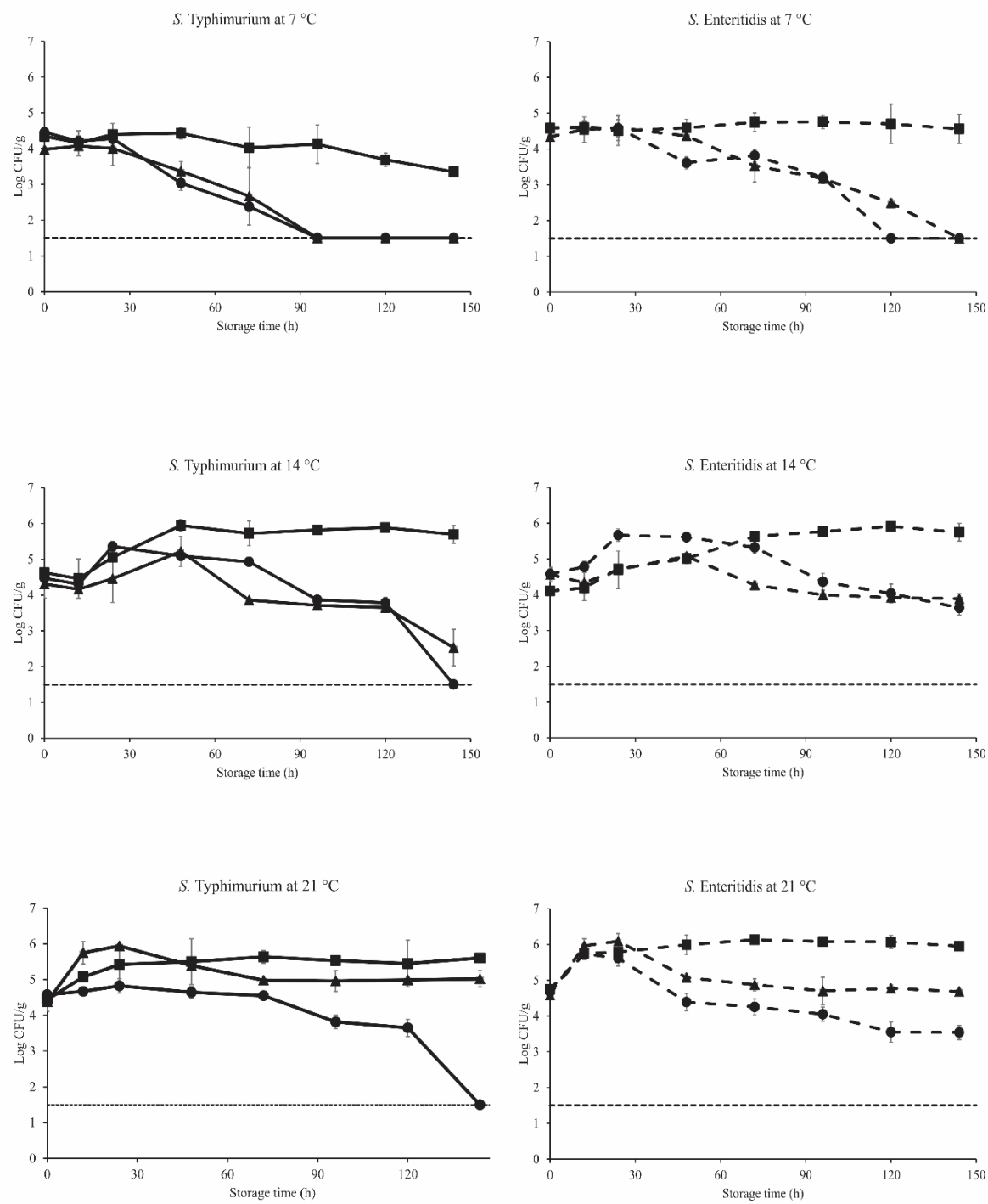
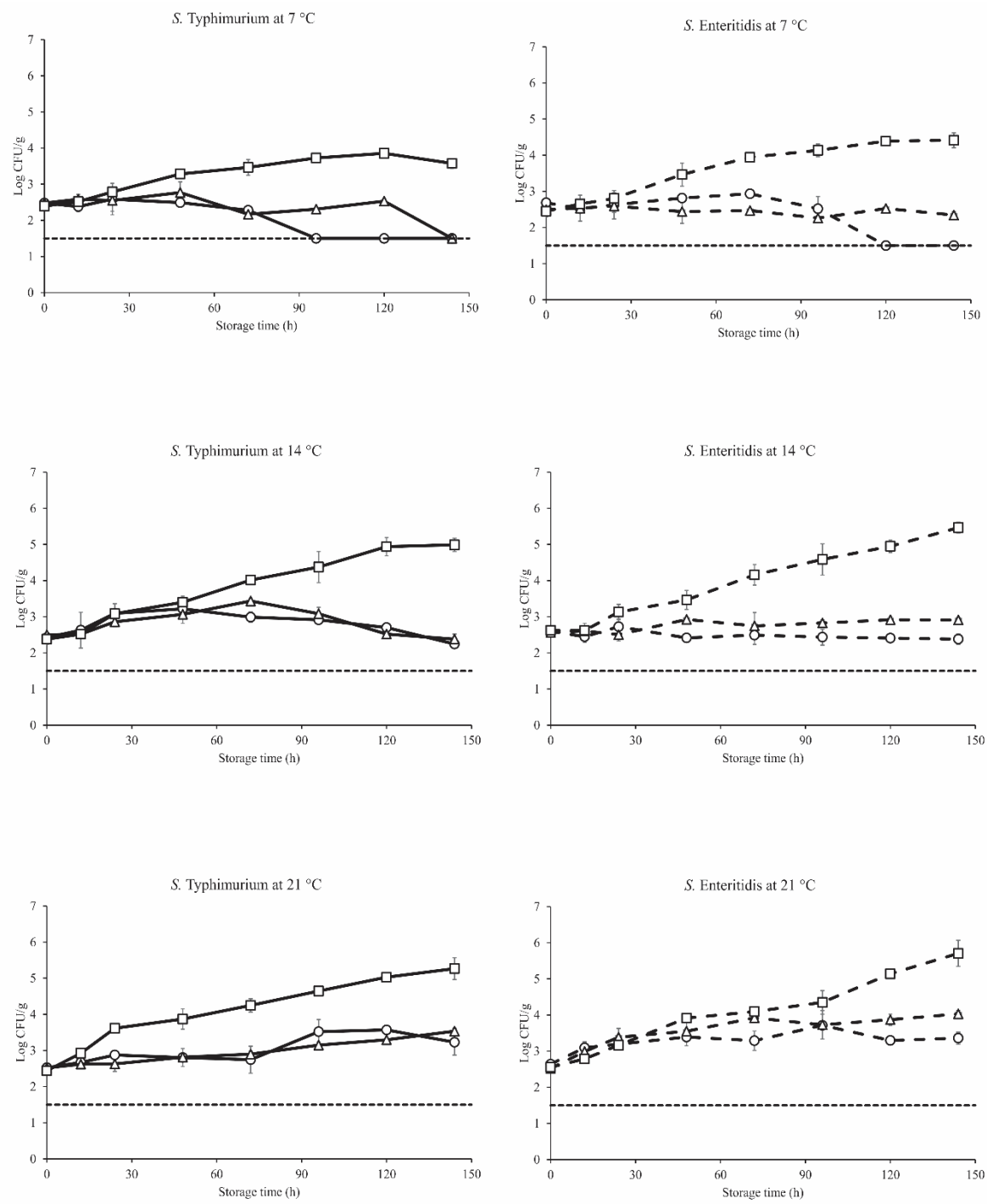


Fig. 5 B



Supplementary Figure 1



Supplementary Figure 2

Supplementary Table 1. Screening of primary models tested to fit experimentally data obtained in cut pepper for *Salmonella* Typhimurium (4.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).

Temperature	RH	Number of models	Model list
21	100	3	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
21	50	4	- Barany and Roberts (no lag) - Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
21	15	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
14	100	4	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear - Trilinear
14	50	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
14	15	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
7	100	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
7	50	6	- Barany and Roberts (complete) - Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no lag) - Biphasic (no asymptote) - Linear - Trilinear
7	15	5	- Barany and Roberts (complete) - Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear - Trilinear

Supplementary Table 2. Screening of primary models tested to fit experimentally data obtained in cut pepper for *Salmonella* Thypimurium (2.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).

Temperature	RH	Number of models	Model list
21	100	3	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
21	50	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
21	15	2	- Biphasic (no lag) - Linear
14	100	3	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
14	50	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
14	15	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
7	100	3	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
7	50	1	- Linear
7	15	4	- Barany and Roberts (no lag) - Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear

Supplementary Table 3. Screening of primary models tested to fit experimentally data obtained in cut pepper for *Salmonella* Enteritidis (4.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).

Temperature	RH	Number of models	Model list
21	100	3	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
21	50	4	- Barany and Roberts (no lag) - Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
21	15	6	- Barany and Roberts (complete) - Barany and Roberts (no lag) - Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no lag) - Biphasic (no asymptote) - Linear
14	100	5	- Barany and Roberts (complete) - Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear - Trilinear
14	50	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
14	15	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
7	100	4	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear - Trilinear
7	50	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
7	15	4	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear - Trilinear

Supplementary Table 4. Screening of primary models tested to fit experimentally data obtained in cut pepper for *Salmonella* **Enteritidis** (2.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).

Temperature	RH	Number of models	Model list
21	100	1	- Linear
21	50	3	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
21	15	3	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
14	100	6	- Barany and Roberts (complete) - Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Biphasic (no asymptote) - Linear - Trilinear
14	50	3	- Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
14	15	5	- Barany and Roberts (complete) - Barany and Roberts (no lag) - Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
7	100	4	- Barany and Roberts (complete) - Barany and Roberts (no lag) - Biphasic (no lag) - Linear
7	50	5	- Barany and Roberts (complete) - Barany and Roberts (no lag) - Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear
7	15	3	- Barany and Roberts (no asymptote) - Biphasic (no asymptote) - Linear

Supplementary Table 5. Kinetic parameters obtained from primary models based on experimentally data in cut pepper for *Salmonella*

Typhimurium (4.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).

Temp	RH	Model	R ²	SE of Fit	Initial Value	Maximum Rate	Final Value	Tmax	Lag/Shoulder
21	100	Baranyi (no lag)	0.962	0.0775	4.461 ± 0.0751	0.0467 ± 0.00739	5.537 ± 0.0341	20.635 ± 3.0749	
21	100	Biphasic (no lag)	0.955	0.0846	4.44 ± 0.0846	0.0525 ± 0.00997			
21	100	Linear	0.392	0.312	4.991 ± 0.182	0.00528 ± 0.00225			
21	50	Baranyi (no lag)	-0.318	0.572	5.326 ± 0.362	-0.00236 ± 0.00608	4.956 ± 2.994		70.985 ± 231.212
21	50	Baranyi (no asymptote)	-0.284	0.564	5.314 ± 0.367	-0.00547 ± 0.0173			
21	50	Biphasic (no asymptote)	-0.234	0.553	5.34 ± 0.319	-0.00365 ± 0.00729			
21	50	Linear	-0.0984	0.522	5.324 ± 0.305	-0.0023 ± 0.00376			
21	15	Baranyi (no asymptote)	0.898	0.354	4.632 ± 0.161	-0.0542 ± 0.013			91.467 ± 10.213
21	15	Biphasic (no asymptote)	0.885	0.375	4.654 ± 0.168	-0.0482 ± 0.011			
21	15	Linear	0.632	0.672	5.155 ± 0.392	-0.0175 ± 0.00484			
14	100	Baranyi (no lag)	0.878	0.209	4.393 ± 0.178	0.03 ± 0.00947	5.808 ± 0.103	47.994 ± 7.573	
14	100	Biphasic (no lag)	0.898	0.191	4.398 ± 0.149	0.0292 ± 0.00582			
14	100	Linear	0.535	0.408	4.831 ± 0.238	0.00884 ± 0.00294			
14	100	Trilinear	0.956	0.126	4.573 ± 0.126	0.0352 ± 0.158		47.262 ± 104.765	11.999 ± 56.237
14	50	Baranyi (no asymptote)	0.641	0.464	4.479 ± 0.248	-0.0239 ± 0.0115			69.833 ± 30.658
14	50	Biphasic (no asymptote)	0.677	0.441	4.517 ± 0.22	-0.0175 ± 0.00821			
14	50	Linear	0.491	0.553	4.704 ± 0.323	-0.0111 ± 0.00399			
14	15	Baranyi (no asymptote)	0.797	0.548	4.802 ± 0.25	-0.0575 ± 0.0205			91.747 ± 15.234
14	15	Biphasic (no asymptote)	0.786	0.562	4.832 ± 0.251	-0.0493 ± 0.0165			
14	15	Linear	0.462	0.891	5.259 ± 0.52	-0.017 ± 0.00642			

7	100	Baranyi (no asymptote)	0.852	0.144	4.314 ± 0.0744	-0.0125 ± 0.00351			69.936 ± 17.171
7	100	Biphasic (no asymptote)	0.846	0.147	4.332 ± 0.0737	-0.0103 ± 0.00275			56.0162 ± 17.182
7	100	Linear	0.695	0.207	4.461 ± 0.121	-0.00615 ± 0.00149			
7	50	Baranyi (complete)	0.988	0.132	4.0318 ± 0.0829	-0.0422 ± 0.00597	1.466 ± 0.0942		35.74 ± 5.614
7	50	Baranyi (no asymptote)	0.894	0.387	4.12 ± 0.342	-0.0231 ± 0.00441			10.892 ± 25.844
7	50	Biphasic (no lag)	0.936	0.301	4.376 ± 0.196	-0.0264 ± 0.00363		109.0402 ± 13.11	
7	50	Biphasic (no asymptote)	0.901	0.374	4.03 ± 0.264	-0.023 ± 0.00372			14.253 ± 17.422
7	50	Linear	0.907	0.362	4.229 ± 0.212	-0.0217 ± 0.00261			
7	50	Trilinear	0.993	0.103	4.0233 ± 0.0592	-0.039 ± 0.00302	98.0107 ± 3.138		33.241 ± 3.696
7	15	Baranyi (complete)	0.984	0.165	4.424 ± 0.138	-0.0417 ± 0.0061	1.475 ± 0.111		19.378 ± 7.83
7	15	Baranyi (no lag)	0.97	0.227	4.673 ± 0.157	-0.033 ± 0.00365	1.444 ± 0.172		
7	15	Biphasic (no lag)	0.976	0.205	4.663 ± 0.134	-0.0322 ± 0.00248		98.321 ± 6.773	
7	15	Linear	0.903	0.411	4.413 ± 0.24	-0.0241 ± 0.00296			
7	15	Trilinear	0.987	0.148	4.335 ± 0.104	-0.0396 ± 0.00435		91.789 ± 5.699	20.168 ± 4.58

Supplementary Table 6. Kinetic parameters obtained from primary models based on experimentally data in cut pepper for *Salmonella*

Typhimurium (2.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).

Temp	RH	Model	R ²	SE of Fit	Initial Value	Maximum Rate	Final Value	Tmax	Lag/Shoulder
21	100	Baranyi (no lag)	0.948	0.226	2.718 ± 0.15	0.0217 ± 0.00295	5.232 ± 0.232	125.4 ± 15.215	
21	100	Biphasic (no lag)	0.941	0.242	2.766 ± 0.148	0.0199 ± 0.0022			
21	100	Linear	0.938	0.247	2.818 ± 0.144	0.0184 ± 0.00178			
21	50	Baranyi (no asymptote)	0.987	0.0407	2.55 ± 0.0327	0.00768 ± 0.000535			19.58 ± 8.477
21	50	Biphasic (no asymptote)	0.981	0.0499	2.57 ± 0.0353	0.0074 ± 0.000497			18.562 ± 7.0511
21	50	Linear	0.982	0.049	2.492 ± 0.0286	0.00684 ± 0.000353			
21	15	Biphasic (no lag)	0.654	0.233	2.541 ± 0.152	0.00751 ± 0.00282		114.36 ± 37.206	
21	15	Linear	0.633	0.24	2.589 ± 0.14	0.00626 ± 0.00173			
14	100	Baranyi (no lag)	0.987	0.115	2.382 ± 0.0756	0.0221 ± 0.00143	5.0581 ± 0.135	121.877 ± 6.455	
14	100	Biphasic (no lag)	0.988	0.111	2.402 ± 0.0679	0.0212 ± 0.00101			
14	100	Linear	0.971	0.174	2.469 ± 0.102	0.0193 ± 0.00125			
14	50	Baranyi (no asymptote)	0.0127	0.372	2.904 ± 0.162	-0.0151 ± 0.0211			105.0411 ± 46.38
14	50	Biphasic (no asymptote)	0.0507	0.365	2.899 ± 0.149	-0.0116 ± 0.0215			95.999 ± 71.738
14	50	Linear	-0.163	0.404	2.822 ± 0.236	-0.0004 ± 0.00291			
14	15	Baranyi (no asymptote)	0.217	0.298	2.88 ± 0.123	-0.0202 ± 0.0199			112.537 ± 26.17
14	15	Biphasic (no asymptote)	0.218	0.298	2.879 ± 0.122	-0.019 ± 0.0176			110.549 ± 23.67
14	15	Linear	-0.0965	0.353	2.879 ± 0.206	-0.00158 ± 0.00254			
7	100	Baranyi (no lag)	0.961	0.11	2.375 ± 0.0804	0.017 ± 0.00234	3.716 ± 0.0673	83.022 ± 8.268	
7	100	Biphasic (no lag)	0.959	0.114	2.391 ± 0.0801	0.016 ± 0.00198			
7	100	Linear	0.8	0.251	2.573 ± 0.146	0.00974 ± 0.00181			

7	50	Linear	0.351	0.316	2.683 ± 0.184	-0.00498 ± 0.00228		
7	15	Baranyi (no lag)	0.736	0.255	2.654 ± 0.162	-0.00901 ± 0.00279	1.387 ± 0.597	
7	15	Baranyi (no asymptote)	0.808	0.217	2.501 ± 0.136	-0.0117 ± 0.0034		40.884 ± 25.963
7	15	Biphasic (no asymptote)	0.82	0.21	2.482 ± 0.121	-0.0115 ± 0.00277		41.42 ± 18.745
7	15	Linear	0.777	0.234	2.638 ± 0.137	-0.0085 ± 0.00169		

Supplementary Table 7. Kinetic parameters obtained from primary models based on experimentally data in cut pepper for *Salmonella*

Enteritidis (4.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).

Temp	RH	Model	R ²	SE of Fit	Initial Value	Maximum Rate	Final Value	Tmax	Lag/Shoulder
21	100	Baranyi (no lag)	0.925	0.124	4.745 ± 0.124	0.0857 ± 0.0162	6.00099 ± 0.0507		
21	100	Biphasic (no lag)	0.823	0.19	4.908 ± 0.174	0.0433 ± 0.0112		26.208 ± 4.88	
21	100	Linear	0.309	0.376	5.458 ± 0.22	0.0055 ± 0.00271			
21	50	Baranyi (no lag)	0.0134	0.59	5.518 ± 0.391	-0.00714 ± 0.00765	4.681 ± 0.623		
21	50	Baranyi (no asymptote)	0.0452	0.581	5.444 ± 0.424	-0.00831 ± 0.00957			32.382 ± 122.773
21	50	Biphasic (no asymptote)	0.116	0.559	5.409 ± 0.355	-0.00702 ± 0.00717			23.993 ± 100.677
21	50	Linear	0.171	0.541	5.486 ± 0.316	-0.0061 ± 0.0039			
21	15	Baranyi (complete)	0.626	0.512	5.297 ± 0.392	-0.0215 ± 0.0163	3.543 ± 0.429		26.631 ± 46.822
21	15	Baranyi (no lag)	0.645	0.499	5.402 ± 0.322	-0.015 ± 0.00575	3.442 ± 0.772		
21	15	Baranyi (no asymptote)	0.66	0.488	5.268 ± 0.393	-0.0158 ± 0.00648			19.213 ± 50.308
21	15	Biphasic (no lag)	0.648	0.496	5.401 ± 0.305	-0.0149 ± 0.00452		125.0419 ± 41.82	
21	15	Biphasic (no asymptote)	0.704	0.455	5.205 ± 0.322	-0.0156 ± 0.00453			21.695 ± 29.936
21	15	Linear	0.696	0.461	5.361 ± 0.269	-0.0137 ± 0.00332			
14	100	Baranyi (complete)	0.971	0.125	4.081 ± 0.122	0.0227 ± 0.00401	5.817 ± 0.0768		2.771 ± 10.255
14	100	Baranyi (no lag)	0.976	0.113	4.0591 ± 0.0821	0.0219 ± 0.00234	5.82 ± 0.0699		
14	100	Biphasic (no lag)	0.977	0.111	4.0638 ± 0.078	0.0214 ± 0.00193		81.26 ± 5.881	
14	100	Linear	0.839	0.294	4.299 ± 0.172	0.013 ± 0.00212			
14	100	Trilinear	0.973	0.121	4.105 ± 0.121	0.0222 ± 0.00263		80.285 ± 6.42	3.645 ± 7.395
14	50	Baranyi (no asymptote)	0.486	0.3	4.63 ± 0.178	-0.00992 ± 0.00577			53.307 ± 46.0517
14	50	Biphasic (no asymptote)	0.569	0.274	4.605 ± 0.147	-0.0086 ± 0.0049			47.987 ± 42.849
14	50	Linear	0.448	0.311	4.717 ± 0.181	-0.00578 ± 0.00224			

14	15	Baranyi (no asymptote)	0.591	0.473	5.187 ± 0.24	-0.0236 ± 0.0123			73.118 ± 30.329
14	15	Biphasic (no asymptote)	0.62	0.456	5.159 ± 0.228	-0.0225 ± 0.0085			71.611 ± 19.87
14	15	Linear	0.333	0.605	5.345 ± 0.353	-0.00923 ± 0.00436			
7	100	Baranyi (no lag)	0.128	0.0853	4.545 ± 0.0636	0.00181 ± 0.00201	4.679 ± 0.0501		
7	100	Biphasic (no lag)	0.161	0.0837	4.542 ± 0.0586	0.00188 ± 0.00145		72.00000 ± 45.26	
7	100	Linear	0.028	0.09	4.584 ± 0.0526	0.000711 ± 0.000648			
7	100	Trilinear	0.0203	0.0904	4.558 ± 0.0639	0.00209 ± 0.00291		71.988 ± 53.715	14.678 ± 58.901
7	50	Baranyi (no asymptote)	0.976	0.173	4.509 ± 0.104	-0.0303 ± 0.00305			48.394 ± 8.286
7	50	Biphasic (no asymptote)	0.978	0.165	4.492 ± 0.0955	-0.0282 ± 0.00218			43.545 ± 5.897
7	50	Linear	0.89	0.373	4.88 ± 0.218	-0.0204 ± 0.00269			
7	15	Baranyi (no asymptote)	0.893	0.424	4.604 ± 0.29	-0.0292 ± 0.00619			33.241 ± 21.255
7	15	Biphasic (no asymptote)	0.889	0.432	4.595 ± 0.249	-0.0272 ± 0.00569			27.36 ± 18.439
7	15	Linear	0.882	0.444	4.937 ± 0.259	-0.0234 ± 0.0032			
7	15	Trilinear	0.864	0.479	4.595 ± 0.276	-0.0289 ± 0.00892		136.997 ± 24.692	29.965 ± 20.919

Supplementary Table 8. Kinetic parameters obtained from primary models based on experimentally data in cut pepper for *Salmonella*

Enteritidis (2.5 log CFU/g inoculum) under distinct conditions of temperature and relative humidity (RH).

Temp	RH	Model	R ²	SE of Fit	Initial Value	Maximum Rate	Final Value	Tmax	Lag/Shoulder
21	100	Linear	0.975	0.174	2.616 ± 0.102	0.0209 ± 0.00125			
21	50	Baranyi (no lag)	0.904	0.161	2.657 ± 0.129	0.0223 ± 0.00542	3.882 ± 0.0817		
21	50	Biphasic (no lag)	0.9	0.164	2.675 ± 0.127	0.0208 ± 0.00462		58.367 ± 10.0098	
21	50	Linear	0.728	0.27	2.941 ± 0.158	0.00866 ± 0.00195			
21	15	Baranyi (no lag)	0.691	0.169	2.694 ± 0.157	0.024 ± 0.0109	3.409 ± 0.0758		
21	15	Biphasic (no lag)	0.689	0.17	2.699 ± 0.155	0.0231 ± 0.01		30.739 ± 9.734	
21	15	Linear	0.337	0.248	3.00128 ± 0.145	0.00382 ± 0.00179			
14	100	Baranyi (complete)	0.985	0.132	2.563 ± 0.123	0.0215 ± 0.00231	5.754 ± 0.594		3.0655 ± 11.173
14	100	Baranyi (no lag)	0.988	0.119	2.539 ± 0.0755	0.021 ± 0.00126	5.848 ± 0.666		
14	100	Biphasic (no lag)	0.987	0.122	2.548 ± 0.0748	0.0207 ± 0.00111		140.92 ± 7.853	
14	100	Biphasic (no asymptote)	0.988	0.118	2.625 ± 0.118	0.0208 ± 0.000977			4.985 ± 6.863
14	100	Linear	0.989	0.113	2.557 ± 0.0659	0.0204 ± 0.000813			
14	100	Trilinear	0.986	0.127	2.625 ± 0.127	0.0212 ± 0.00136		139.494 ± 8.138	5.84 ± 7.388
14	50	Baranyi (no lag)	0.578	0.111	2.506 ± 0.0899	0.00664 ± 0.00397	2.856 ± 0.056		
14	50	Biphasic (no lag)	0.548	0.115	2.563 ± 0.0748	0.00314 ± 0.00139		111.26 ± 42.777	
14	50	Linear	0.597	0.108	2.579 ± 0.0633	0.00263 ± 0.000781			
14	15	Baranyi (complete)	-0.002	0.117	2.579 ± 0.0996	-0.00184 ± 0.00329	2.384 ± 0.137		15.435 ± 149.276
14	15	Baranyi (no lag)	0.196	0.104	2.584 ± 0.0669	-0.00155 ± 0.00117	2.373 ± 0.201		
14	15	Baranyi (no asymptote)	0.194	0.105	2.58 ± 0.0914	-0.00146 ± 0.00146			1.0842 ± 143.367
14	15	Biphasic (no asymptote)	0.231	0.102	2.562 ± 0.059	-0.00166 ± 0.00135			24 ± 73.735
14	15	Linear	0.328	0.0954	2.581 ± 0.0557	-0.00145 ± 0.000687			

7	100	Baranyi (complete)	0.987	0.0917	2.437 ± 0.0885	0.0216 ± 0.00244	4.375 ± 0.0658		3.8 ± 7.813
7	100	Baranyi (no lag)	0.989	0.0838	2.411 ± 0.0582	0.0206 ± 0.00138	4.388 ± 0.0617		
7	100	Biphasic (no lag)	0.982	0.107	2.446 ± 0.0696	0.0189 ± 0.00129		103.295 ± 6.222	
7	100	Linear	0.93	0.213	2.573 ± 0.124	0.0149 ± 0.00153			
7	50	Baranyi (complete)	-0.0235	0.11	2.532 ± 0.0762	-0.00328 ± 0.00871	2.383 ± 0.0674		41.124 ± 84.314
7	50	Baranyi (no lag)	0.105	0.103	2.55 ± 0.0729	-0.00176 ± 0.00187	2.392 ± 0.07		
7	50	Baranyi (no asymptote)	0.0557	0.106	2.533 ± 0.0897	-0.00121 ± 0.00165			3.417 ± 190.796
7	50	Biphasic (no asymptote)	0.0853	0.104	2.519 ± 0.073	0.00136 ± 0.00112			23.98 ± 85.386
7	50	Linear	0.213	0.0964	2.534 ± 0.0563	-0.00118 ± 0.000694			
7	15	Baranyi (no asymptote)	0.811	0.246	2.718 ± 0.115	-0.0232 ± 0.00759			82.833 ± 15.859
7	15	Biphasic (no asymptote)	0.826	0.236	2.717 ± 0.105	-0.0212 ± 0.00695			78.729 ± 15.737
7	15	Linear	0.479	0.408	2.905 ± 0.238	-0.00802 ± 0.00294			