



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE TECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E

TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

RUTHCHELLY TAVARES DA SILVA

MODELAGEM DA SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella enterica*

EM FLOCOS DE COCO DESIDRATADOS

CONVENCIONALMENTE E OSMOTICAMENTE

JOÃO PESSOA, 2021

RUTHCHELLY TAVARES DA SILVA

**MODELAGEM DA SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella enterica*
EM FLOCOS DE COCO DESIDRATADOS
CONVENCIONALMENTE E OSMOTICAMENTE**

JOÃO PESSOA, 2021

RUTHCHELLY TAVARES DA SILVA

**MODELAGEM DA SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella enterica*
EM FLOCOS DE COCO DESIDRATADOS
CONVENCIONALMENTE E OSMOTICAMENTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB) em cumprimento dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marciane Magnani

JOÃO PESSOA, 2021

**Catálogo na publicação Seção de
Catálogo e Classificação**

S586m Silva, Ruthchelly Tavares da.

Modelagem da sobrevivência de Salmonella enterica em flocos de coco desidratados convencionalmente e osmoticamente / Ruthchelly Tavares da Silva. - João Pessoa, 2021.

87 f. : il.

Orientação: Marciane Magnani. Dissertação
(Mestrado) - UFPB/CT.

1. Salmonella enterica. 2. Coco desidratado. 3. Alimentos de baixa umidade.
4. Modelagem preditiva. I. Magnani, Marciane. II. Título.

UFPB/BC

CDU 579.842.1/.2(043)

RUTHCHELLY TAVARES DA SILVA

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella enterica* EM
COCO RALADO DESIDRATADO DURANTE O ARMAZENAMENTO**

Dissertação _____ em: ____/____/ 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Marciane Magnani – DEA/CT/UFPB
Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Fabio Anderson Pereira da Silva – DEA/CT/UFPB
Examinador Interno

Prof.^a Dr.^a Verônica Ortiz Alvarenga – ALM/FAFAR/UFGM
Examinadora Externa

*A meu **Deus**, por todas as conquistas e vitórias alcançadas, e por tudo que tem feito na minha vida. Aos **meus pais**, pelo exemplo de vida, pelo carinho e por não medirem esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por sempre estar comigo desde o primeiro momento dessa minha caminhada, ouvindo minhas orações e dando-me força e coragem para alcançar essa vitória tão desejada, sem ele nada disso seria possível. Pois só Ele sabe tudo sobre mim.

Agradeço aos meus pais amados, Nena e Edmilton pelo infinito amor, por serem a minha base forte e por me apoiarem em cada escolha tomada. Obrigada por tudo que fizeram e fazem por mim e por cada investimento ao longo da minha formação. Gratidão por estarem sempre ao meu lado, a cada sorriso que compartilhamos e a cada lágrima que derramei. Devo a vocês o meu caráter, meus valores e minha felicidade. Amo muito vocês.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Marciane Magnani, a qual aprendi a admirar e respeitar. Gratidão por acreditar e confiar na minha capacidade de desenvolver este trabalho. Agradeço pelos infinitos ensinamentos acadêmicos e pessoais, pela excelente orientação, dedicação e disponibilidade. Serei eternamente grata por me acolher, quando pensei que tudo estava perdido, obrigada por cada uma das oportunidades que tive. Agradeço também pelas críticas construtivas e as reflexões que foram fundamentais para o meu crescimento como pesquisadora.

Aos professores Dr.^a Verônica Ortiz Alvarenga e Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva por aceitarem participar da banca examinadora deste trabalho e pelas excelentes contribuições que foram imprescindíveis para a escrita da dissertação e do artigo.

As professoras Dr.^a Rita de Cassia Ramos do Egypto Queiroga (*in memoriam*) e Dr.^a Janeeyre Ferreira Maciel pela disponibilização dos laboratórios e equipamentos necessários para execução de análises da minha pesquisa.

À Universidade Federal da Paraíba, pelo suporte e estrutura.

Ao CNPq pela concessão de bolsa e auxílio financeiro para a realização deste mestrado.

A todos os docentes que compõe o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), pelos ensinamentos passados que contribuíram com a minha formação.

À minha amiga Maria Mayara por não medir esforços para me ajudar sempre que precisei, por estar presente nas etapas dos experimentos laboratoriais me incentivando e torcendo por mim, pelos ensinamentos iniciais passados quando cheguei para também compor a família do Laboratório de Processos Microbianos em Alimentos (LPMA), pelos os conselhos e pela grande amizade que construímos. Muito obrigada pelo carinho, paciência e amizade.

As minhas “Amigaaa” lindas: Bianca Torres, Érica Monção, Mariana Oliveira, Janaina Fernandes e Simone Alves, agradeço a vocês os bons momentos vividos, os cafés e chás

tomados e as confraternizações realizadas. Muito obrigada pela amizade, nunca esquecerei de vocês.

Aos meus colegas da pós graduação: Jayme César, Marcelo Edvan e Matheus Pereira, sinto-me muito feliz por ter conhecido vocês, por fazerem parte de uma turma tão especial, dividimos cada desafio e seremos merecedores de um futuro brilhante.

À pós-doutoranda Dr^a Geany Targino, um exemplo de paciência. Agradeço pelas excelentes contribuições na realização deste trabalho, por todas as sugestões e correções, pelo carinho e amizade.

À técnica Dr^a Whyara Karoline do LPMA. Agradeço pela amizade, paciência, pelos ensinamentos e por alegrar os nossos dias no laboratório.

À todas as pesquisadoras brilhantes que fazem ou fizeram parte do LPMA e que tive oportunidade de trabalhar junto: Viviane Barros, Larissa Ramalho, Isis Meireles, Jade Moraes e Laênia Lopes. Agradeço pelos momentos compartilhados no laboratório e nas confraternizações e por proporcionarem um ambiente tranquilo e agradável de trabalho.

Aos técnicos de laboratório, Gilvandro Ferreira e Genilson Batista, que sempre me ajudaram quando tive dúvida em relação a execução de algum procedimento.

Enfim, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta na realização deste trabalho. Muito obrigada!

“A ciência atua na fronteira entre o conhecimento e a ignorância sem medo de admitir que não sabemos. Não há nenhuma vergonha nisso. A única vergonha é fingir que temos todas as respostas”

Neil deGrasse Tyson

RESUMO

Salmonella enterica é um dos principais agentes etiológicos de doenças diarreicas no mundo. No Brasil, este microrganismo está entre os principais patógenos implicados em surtos de doenças veiculadas por alimentos. O envolvimento de alimentos desidratados nestes surtos tem aumentado, com destaque para coco desidratado. O presente estudo teve como objetivo avaliar o comportamento de *Salmonella enterica* (*S. Enteritidis* PT4, *S. Typhimurium* PT4, *S. Bredeney*, *S. Muenster* e *S. Agona*) em flocos de coco desidratados em processo convencional e de desidratação osmótica durante armazenamento. A sobrevivência das cepas de *S. enterica* foram avaliadas por meio da enumeração de células viáveis nos quatro cenários de armazenamento em temperatura ambiente (25 ± 1 °C) e/ou temperatura refrigerada (7 ± 1 °C) a cada 7 dias durante 120 dias de armazenamento. Danos na integridade de membrana, o potencial de membrana e a atividade metabólica das células de *S. enterica* foram determinados 1 dia após a desidratação e após 120 dias de armazenamento a 7 ou 25 °C por meio de citometria de fluxo. A atividade de água (A_a) dos flocos de coco desidratados convencionalmente variou entre $0,35 \pm 0,03$ e $0,34 \pm 0,02$, enquanto que para os flocos de coco desidratados osmoticamente os valores de A_a foram de $0,31 \pm 0,03$ e $0,29 \pm 0,03$ durante o armazenamento. A desidratação convencional e a desidratação osmótica reduziram menos de 1 log UFC/g de *S. enterica* em flocos de coco. Os modelos log-linear + cauda e log-linear + ombro + cauda mostraram bom ajuste nas curvas de sobrevivência de *S. enterica* em flocos de coco desidratados convencionalmente e osmoticamente durante o armazenamento, respectivamente com $R^2 > 0,9$ na maioria dos cenários. Taxas mais baixas de inativação (k_{max}) de *S. enterica* (k_{max} 0,02 a 0,04/dia) foram observadas em flocos de coco convencionalmente desidratados em comparação com os osmoticamente desidratados (k_{max} 0,16 a 0,20/dia). Mudanças na temperatura de armazenamento não afetaram o comportamento de *S. enterica* em flocos de coco convencionalmente ou osmoticamente desidratados. Subpopulações maiores de células de *S. enterica* com membrana danificada e sem atividade metabólica foram observadas em flocos de coco convencionalmente desidratados no início do armazenamento, porém diminuíram após 120 dias de armazenamento. Em contraste, as subpopulações danificadas de *S. enterica* em flocos de coco osmoticamente desidratados aumentaram ou não mudaram no final do armazenamento. Os resultados mostram o comportamento da *S. enterica* em flocos de coco desidratados ao longo de quatro meses de armazenamento e alertam para a maior sobrevivência do patógeno quando utilizada a desidratação convencional e uma possível ocorrência de reparo celular.

Palavras-chave: *Salmonella*; coco desidratado; alimentos de baixa umidade; modelagem preditiva

ABSTRACT

Salmonella enterica is one of the main etiologic agents of diarrheal diseases worldwide. In Brazil, this pathogen is among the main pathogens involved in foodborne disease outbreaks. The involvement of dehydrated foods in these outbreaks has increased, with emphasis on dehydrated coconut. Therefore, the present study evaluated the behavior of *S. enterica* (*S. Enteritidis* PT4, *S. Typhimurium* PT4, *S. Bredeney*, *S. Muenster* and *S. Agona*) in dehydrated coconut-flakes in a conventional and osmotic-dehydration during storage. The survival of *S. enterica* were evaluated through the enumeration of viable cells in four possible storage scenarios at room temperature (25 ± 1 °C) and/or refrigerated temperature (7 ± 1 °C) every 7 days for 120 storage days. Damage to membrane integrity, the membrane potential and the metabolic activity of *S. enterica* cells were evaluated 1 day after conventional or osmotic dehydration and after 120 days of storage at 7 or 25 °C using flow cytometry. Water activity (a_w) between 0.35 ± 0.03 and 0.34 ± 0.02 were observed for conventionally dehydrated coconut-flakes, while osmotically dehydrated coconut-flakes showed average a_w values in the range of 0.31 ± 0.03 and 0.29 ± 0.03 among the evaluated scenarios during the observation period. Conventional-dehydration and osmotic-dehydration reduced less than 1 log CFU.g⁻¹ of *S. enterica* in coconut-flakes. Log-linear + tail and log-linear + shoulder + tail models showed good fit the survival curves of *S. enterica* in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes over storage, respectively with $R^2 > 0.9$ in most scenarios. Lower *S. enterica* inactivation rates (k_{max} 0.02 to 0.04/days) were observed in coconut-flakes conventionally dehydrated compared to osmotically dehydrated (k_{max} 0.16 to 0.20/days). Changes in storage temperature did not affect the behavior of *S. enterica* in dehydrated coconut-flakes conventionally or osmotically dehydrated coconut-flakes. Larger subpopulations of *S. enterica* cells with damaged membrane and without metabolic activity were observed in conventionally dehydrated coconut-flakes in the beginning of storage, however it decreased after 120 days of storage. In contrast, the damaged *S. enterica* subpopulations in osmotically dehydrated coconut-flakes increased or did not change at the end of storage. Results show the *S. enterica* behavior in dehydrated coconut-flakes over four-month storage and alert for the great survival when conventional dehydration is used, and possible occurrence of cell repair.

Key-words: *Salmonella*; dehydrated-coconut; low-moisture foods; predictive microbiology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Corte longitudinal do coco (<i>Cocos nucifera</i> L.)	25
Figura 2 - Curvas do comportamento de microrganismos normalmente observadas	30
Figura 3 - Cenários do armazenamento de flocos de coco durante 120 dias.....	37

ARTIGO I

Figure 1. Studied scenarios for the storage of dehydrated coconut-flakes. Scenario I: Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; Scenario II: Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); Scenario III: Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days); Scenario IV: Storage at 7 ± 1 °C for 120 days.....79

Figure 2. *S. enterica* survival curves in conventionally dehydrated coconut-flakes during storage at different scenarios. A: Scenario I - Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; B: Scenario II - Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); C: Scenario III - Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days); D: Scenario IV - Storage at 7 ± 1 °C for 120 days.....80

Figure 3. *S. enterica* survival curves during storage of the osmotically dehydrated coconut-flakes. A: Scenario I - Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; B: Scenario II - Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); C: Scenario III - Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days); D: Scenario IV - Storage at 7 ± 1 °C for 120 days.....81

Supplementary Figure 1. Illustrative fluorescence density plots of *S. enterica* in response to staining with BOX and PI after 1 day (A and D) of conventional and osmotic-dehydration of coconut-flakes, respectively; and during storage 120 days at 7 °C (B and E) or 25 °C (C and F) of conventionally (A, B and C) or osmotically (D, E and F) dehydrated coconut-flakes. Vertical axis indicates the fluorescence intensity of the BOX; horizontal axis indicates the fluorescence intensity of the PI. Percentages of the cells are presented in the four edges of each plot.....85

Supplementary Figure 2. Illustrative fluorescence density plots of *S. enterica* in response to staining a CTC after 1 day (A and D) of conventional and osmotic-dehydration of coconut flakes, respectively; and during storage 120 days at 7 °C (B and E) or 25 °C (C and F) to conventionally (A, B and C) or osmotically (D, E and F) dehydrated coconut-flakes. Horizontal axis indicates the fluorescence intensity of CTC-formazan; the vertical axis indicates the side-light scatter intensity. Respiratory active cell subpopulation was gated in the right rectangles; the inactive cell subpopulation was gated in the rectangles. Percentages of cells are presented in the four edges of each plot.....86

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Table 1. Kinetic parameters in survival models (Geeraerd <i>et al.</i> , 2000) of <i>S. enterica</i> over storage time in dehydrated coconut-flakes.....	76
Table 2. Size of subpopulations (%) of <i>S. enterica</i> in response to staining with BOX and PI during store time of dehydrated coconut-flakes.....	77
Table 3. Size of subpopulations (%) of <i>S. enterica</i> in response to staining with CTC during store time of dehydrated coconut-flakes.....	78
Supplementary Table 1. Viable cell counts of <i>S. enterica</i> over 120 days of storage in dehydrated coconut-flakes in each studied scenario.....	82
Supplementary Table 2. Predictive models of <i>S. enterica</i> behavior over storage time in dehydrated coconut-flakes in each studied scenario.....	83

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Modelos matemáticos utilizados para compreensão do comportamento de <i>S. enterica</i> em alimentos de baixa A_a	31
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 <i>Salmonella enterica</i> : CARACTERÍSTICAS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	18
2.2 SOBREVIVÊNCIA DE <i>Salmonella</i> EM ALIMENTOS DE BAIXA UMIDADE.....	21
2.3 COCO (<i>Cocos nucifera</i> L.).....	25
2.4 MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.1 CEPAS TESTE.....	36
3.2 INOCULAÇÃO NA MATRIZ ALIMENTAR.....	36
3.3 DESIDRATAÇÃO DE FLOCOS DE COCO	37
3.4 CENÁRIOS DE ARMAZENAMENTO DOS FLOCOS DE COCO DESIDRATADO...38	
3.5 AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DAS CEPAS TESTE	39
3.6 CITOMETRIA DE FLUXO	39
3.7 MODELAGEM DOS DADOS	40
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	41
REFERÊNCIAS.....	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.1 ARTIGO I:.....	51
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	88

1 INTRODUÇÃO

Salmonella enterica é reconhecida como um dos principais agentes etiológicos de doenças diarreicas no mundo (WHO, 2019). Dados do CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) demonstram que *S. enterica* é responsável pela maioria dos casos de hospitalizações e mortes ocasionadas pelo consumo de alimentos contaminados nos Estados Unidos da América (EUA) anualmente (CDC, 2018a). No Brasil, este patógeno está entre os principais agentes etiológicos implicados nos casos notificados de surtos de doenças veiculadas por alimentos (BRASIL, 2020).

Apesar dos alimentos como ovos, vegetais e carnes serem reconhecidos como os principais veículos de *S. enterica* (NI *et al.*, 2018), tem crescido o número de surtos associados a alimentos de baixa atividade de água (A_a) causados por este patógeno (GAUTAM *et al.*, 2020). Dentre os alimentos de baixa umidade, cereais matinais, sementes, nozes, especiarias, temperos e coco desidratado, têm sido associados a surtos de salmonelose (ANDERSON, 2019).

O coco (*Cocos nucifera* L.) pertence à família Arecaceae e é cultivado especialmente nas regiões tropicais e subtropicais (ZHAO *et al.*, 2015). O cultivo destina-se à produção de coco seco *in natura*, coco em flocos, leite de coco, óleo de coco e água de coco. O Brasil possui a sexta maior área cultivada, tendo destaque o Nordeste do país, onde a área de cultivo de coco compreende cerca de 178,8 mil hectares com produção de 1.156 milhões de frutos e diversas agroindústrias se dedicam ao seu processamento (BRAINER, 2018).

Entre os produtos derivados do coco mais consumidos, destaca-se o coco em forma de flocos, que é mundialmente utilizado em molhos, risotos, saladas e produtos de confeitaria (LIU, 2016). A vida de prateleira dos flocos *in natura* é limitada pela elevada umidade (42,2%) e A_a (0,99) que associada a disponibilidade de nutrientes favorecem o crescimento microbiano (APPAIAH *et al.*, 2014; DINI, 2019). Para reduzir a perecibilidade do coco em flocos e aumentar a disponibilidade do produto, a desidratação é classicamente empregada para atingir uma umidade $\leq 4\%$ (Codex Alimentarius, 2011; NIAKOUSARI *et al.*, 2018). A desidratação de coco em flocos pode ocorrer de forma convencional em estufas com temperaturas que variam entre 50-70 °C (SHETE *et al.*, 2016); ou osmótica, que utiliza etapas prévias de imersão em soluções saturadas de açúcar antes da secagem (KEER, 2019).

Porém, se a matéria-prima estiver contaminada, ou se a contaminação do coco ocorrer durante o transporte ou etapas do processo de produção dos flocos desidratados, o produto final pode veicular patógenos como *S. enterica* (GABRIEL *et al.*, 2017).

A contaminação de produtos de coco desidratado por *Salmonella* é reportada desde a década de 50 (KOVACS, 1959). Contudo, surtos recentes ocorridos em 2018, nos EUA, envolvendo coco ralado contaminado com diferentes sorovares de *S. enterica* chamou atenção para este produto como veículo do patógeno (CDC, 2018c; CDC, 2018d). Em 2020, um *recall* de coco ralado potencialmente contaminado com *Salmonella* foi anunciando no país (FDA, 2020).

Os dados sobre o comportamento de *S. enterica* em coco em flocos de coco desidratado são escassos e predominantemente relacionados à investigação de surtos. Informações relativas ao comportamento e sobrevivência deste patógeno na matriz alimentar em estudo podem ser avaliadas através da utilização da microbiologia preditiva. Os modelos preditivos são ferramentas úteis para descrever ou estimar a resposta microbiana frente aos fatores intrínsecos e extrínsecos e assim quantificar o risco microbiano em condições de armazenamento, por exemplo (PORTELA *et al.*, 2019). Assim, a estimativa do comportamento, através da microbiologia preditiva, de *S. enterica* em flocos de coco desidratado pode auxiliar no estabelecimento de condições que garantam sua inativação e consequentemente na redução de riscos de surtos envolvendo a matriz em estudo.

Considerando estes aspectos, objetivou-se i) Determinar o comportamento de *S. enterica* em flocos de coco desidratado em processo convencional e de desidratação osmótica durante armazenamento; ii) Investigar a sobrevivência de *S. enterica* em flocos de coco desidratados em processo convencional e de desidratação osmótica em diferentes cenários simulando condições de armazenamento em estabelecimentos comerciais e armazenamento doméstico; iii) Estimar o comportamento microbiano utilizando modelos cinéticos primários em flocos de coco desidratados em processo convencional e de desidratação osmótica nas condições avaliadas; iv) Avaliar funções fisiológicas de membrana e metabolismo das células de *S. enterica* em flocos de coco desidratado em processo convencional e de desidratação osmótica ao longo do armazenamento em temperatura ambiente e refrigerada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Salmonella enterica*: CARACTERÍSTICAS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Salmonella spp. é um gênero pertence à família *Enterobacteriaceae*, que compreende bactérias em forma de bacilo, Gram-negativas, não esporuladas e anaeróbicas facultativas. A partir da fermentação de carboidratos (exceto lactose e sacarose), *Salmonella* spp. é uma bactéria oxidase negativa e catalase positiva, capaz de produzir gás na presença de glicose (SILVA *et al.*, 2017). É distribuído em três espécies (*S. enterica*, *S. bongori* e *S. subterrânea*) (MOON, 2018), sendo a primeira subdividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (LÖFSTRÖM *et al.* 2016), com mais de 2600 sorotipos identificados (PULIDO-LANDÍNEZ, 2019)

O esquema de Kauffmann-White, até recentemente, era o padrão para a sorotipagem de *Salmonella* spp., sendo baseado em diferenças encontradas em estruturas antigênicas de lipopolissacarídeos, proteínas flagelares e polissacarídeos capsulares (IBRAHIN; MORIN, 2018). Nos últimos anos, os avanços das metodologias de sequenciamento de DNA, em conjunto com as ferramentas de bioinformática tornaram possível o sequenciamento completo do genoma, assim diversos sorovares têm sido reclassificados (LAMAS *et al.*, 2018).

O sequenciamento completo do genoma permite uma identificação avançada do patógeno, favorece as investigações de rastreamento para identificar e relacionar as cepas de surtos (OAKESON *et al.*, 2017). A tecnologia de sequenciamento de última geração fornece muitas informações sobre espécies, sorovares, virulência, patogenicidade e resistência antimicrobiana em apenas um teste de sequenciamento. O sequenciamento completo do genoma permite a subtipagem molecular de alta resolução sendo utilizado para obter informações de sorotipo rápidas e confiáveis (GYMOESE *et al.*, 2017).

A maioria dos sorovares de *S. enterica* multiplicam-se a uma faixa de temperatura de 5 a 47 °C, com ideal de 35 a 37 °C, sendo sensíveis ao calor sendo inativadas a temperaturas ≥ 70 °C. O pH ótimo para a multiplicação está entre 6,5 e 7,5, no entanto também ocorre na faixa de pH de 4 – 9 (GRAZIANI *et al.*, 2017).

S. enterica causa gastroenterite que pode evoluir para salmonelose sistêmica em humanos e animais (GAWADE; GHOSH, 2018). A bactéria tem distribuição ubíqua no meio ambiente e pode ser ingerida por meio de água ou alimentos contaminados por meio de práticas de higiene incorretas dos manipuladores de alimentos (BRASIL, 2018).

A contaminação de alimentos por *S. enterica* pode ocorrer em qualquer ponto da cadeia de produção de alimentos, desde a matéria-prima até a fabricação dos alimentos e o seu processamento (BIRK *et al.*, 2016; PANZENHAGEN *et al.*, 2018). No processamento, a contaminação com *S. enterica* é considerada um ponto crítico de controle de perigo bacteriológico, pois *S. enterica* possui a capacidade de sobreviver em ambientes de processamento por longos períodos e mesmo sob condições adversas (CHANNIAH *et al.*, 2019).

A ingestão dos alimentos contaminados por *S. enterica* pode ocasionar a salmonelose, uma das principais doenças transmitidas por alimentos no mundo (TACK *et al.*, 2019). Dependendo do estado imunológico do hospedeiro, do sorovar envolvido, da concentração do inóculo e da virulência da cepa, essa infecção gastrointestinal pode se manifestar de forma branda até septicemia e levar o indivíduo a óbito (VERBRUGGHE *et al.*, 2016).

Gastroenterites causadas por *S. enterica* apresentam alguns sintomas bem característicos, como náuseas, vômito, febre, calafrios, dor de cabeça, dor abdominal, diarreia e desidratação (SALEM *et al.*, 2017). O período de incubação varia com a intensidade da doença, entre 5 e 72 horas (h) e, frequentemente ocorre após 12 h. Após o aparecimento dos primeiros sintomas, inicia-se o processo de recuperação dentro de 1 a 7 dias sendo necessário em muitos casos o tratamento com antibióticos (RAHMAN *et al.*, 2018).

Nos EUA, esse patógeno causa cerca de 1,35 milhões de doenças, 26.500 hospitalizações e 420 mortes anualmente. Dentre os produtos prevalentes associados aos surtos destacam-se os produtos de origem animal, como carne de frango e ovos, porém produtos de origem vegetal como melões, pasta de amendoim, pepinos e legumes também tem sido fortemente associado a ocorrência de surtos em todo o mundo (CDC, 2020).

Segundo dados do *National Outbreak Reporting System* (NORS), uma plataforma lançada pelo CDC, nos EUA entre os anos de 2010 a 2017 foram notificados 1.798 surtos de *Salmonella* spp. que acometeram 37.815 indivíduos, geraram 5.642 hospitalizações e 65 mortes. Deste total de surtos registrados, cerca de 62% foram ocasionados pela ingestão de alimentos contaminados com *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Newport* (CDC, 2018a).

Em 2018, foram reportados ao CDC cerca de 15 surtos de salmonelose nos EUA. Entre os alimentos envolvidos pode-se destacar o cereal de trigo *Honey Smacks* da *Kellogg*, envolvido em um surto que abrangeu 36 estados dos EUA. Este surto teve como agente etiológico *S. Mbandaka* e afetou 135 indivíduos, dentre os quais 34 pessoas foram hospitalizadas (CDC, 2018b).

Em 2019, foram reportados 7 surtos de salmonelose nos EUA, dos quais 57% (n = 4) envolveram alimentos de origem animal, como carne moída, atum cru congelado e produtos de peru. Os outros 43% (n = 3) foram atribuídos a alimentos de origem vegetal, incluindo melão e mamão papaia. Entre os sorovares foram identificados *S. Javiana*, *S. Dublin*, *S. Uganda*, *S. Concord*, *S. Newport*, *S. Carrau* e *S. Schwarzengrund* (CDC, 2019).

O primeiro surto de 2020 notificado nos EUA foi em janeiro, envolvendo *S. Javaiana* em um *mix* de frutas cortadas (melão, abacaxi e uva). O surto abrangeu 11 estados, acometeu 96 pessoas dentre as quais 27 foram hospitalizadas (CDC, 2020).

O *recall* de produtos é uma das medidas adotadas por empresas para evitar possíveis surtos, em março de 2020, a empresa *Ecoideas Innovation Inc.* do Canadá, anunciou o *recall* de misturas de bolos e panquecas devido à possível contaminação por *S. enterica*. Com esses produtos retirados do mercado foi possível evitar relatos de doenças associadas ao seu consumo (FOOD SAFETY NEWS, 2020a).

Na Europa, de acordo com o relatório anual sobre tendências e fontes de zoonoses publicado no final do ano de 2019, pela *European Food Safety Authority* (EFSA) e pelo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC), foram notificados 94.203 casos de salmonelose humana por 28 Estados-Membros da União Europeia (EU) em 2018. Foram confirmados 91.857 casos, sendo as maiores taxas de notificações registradas pela Eslováquia (124,8 por 100.000 habitantes) e a República Checa (102,7 casos por 100.000 habitantes), enquanto as taxas mais baixas foram relatadas por Chipre, Grécia, Itália e Portugal ($\leq 6,0$ casos por 100.000 habitantes) (EFSA, 2019).

Em março de 2019, *S. Poona* foi relacionada como o agente etiológico de um surto que acometeu 32 indivíduos, incluindo bebês e crianças na EU. O alimento envolvido no surto foi uma fórmula infantil a base de proteína de arroz. Os produtos foram distribuídos a atacadistas, varejistas e farmácias francesas que os venderam para vários países da EU. O surto afetou a França (30 casos), Bélgica (1 caso) e Luxemburgo (1 caso) (EFSA, 2019).

Entre os meses de novembro de 2019 e janeiro de 2020, a ingestão de queijo Morbier de leite cru fabricado pela empresa Jean Perrin, na França deixou 13 pessoas doentes, onde nove pessoas necessitaram ser hospitalizadas. De acordo com o Institut Pasteur, o agente etiológico deste surto foi uma cepa *S. Dublin* (FOOD SAFETY NEWS, 2020b).

Na África, *S. enterica* é a causa não-malária mais comum de infecções da corrente sanguínea. Assim, dois terços dos casos, são causados por *Salmonella* não tifoide, gerando casos de infecções alimentares (WHEELER, 2019). Aproximadamente 3,4 milhões de casos são notificados anualmente na África subsaariana, onde *S. Typhimurium* é responsável por dois

terços destes casos, sendo associados ao consumo de carne crua ou mal passada, ovos, produtos frescos e laticínios contaminados (CRUMP *et al.*, 2015; VAN PUYVELDE *et al.*, 2019).

No Brasil, o início da vigilância dos surtos alimentares ocorreu em 1999 e atualmente tais surtos são registrados através do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Segundo o relatório sobre Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) no Brasil, publicado em fevereiro de 2019, a bactéria *Salmonella* spp. ocupa o segundo lugar como agente causador de surtos, respondendo por 11,3% dos casos notificados no país.

Entre 2009 a 2018 foram registrados 6.902 surtos de origem alimentar, totalizando uma exposição de 634.568 mil brasileiros, com 120.584 mil doentes e 99 óbitos. Destes surtos, 329 possuíam como primeiro agente etiológico *Salmonella* spp., *S. Typhimurium*, *S. Newport* ou *S. Enteritidis* (BRASIL, 2018). Acredita-se que o número seja mais elevado tendo em vista que as notificações não fazem parte da cultura dos brasileiros e que o alimento veiculador ou o microrganismo responsável não foi identificado em mais de 60% dos surtos de DTA registrados no país (SILVA, 2019).

Dentre os 2.350 surtos que tiveram o alimento responsável pelo surto identificado, os alimentos mistos, aqueles que possuem em sua composição ingredientes que pertencem a grupos diferentes, estavam em primeiro lugar com cerca de 25,5% (n = 600), seguido de 10,7% (n = 251) atribuídos a múltiplos alimentos, quando dois ou mais alimentos são apontados como responsáveis pelo surto. Em relação ao local de ocorrência dos surtos, as residências representaram 37,2% (n = 2.533), seguida por 16% (n = 1.089) atribuídos a padarias e restaurantes.

Levando em consideração as regiões com maior índice de notificações neste período destacam-se a região Sul e Sudeste com 48,9% e 23,4%, respectivamente, sendo o Nordeste ocupante do terceiro lugar, com 17,9% (BRASIL, 2018). Entretanto, acredita-se que as maiores incidências ocorrem no Nordeste, em decorrência dos casos não diagnosticados e/ou subnotificados (GUILHERME; ESTEVES, 2017).

2.2 SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella* EM ALIMENTOS DE BAIXA UMIDADE

Os novos hábitos alimentares de consumo conduzem novos desafios para a segurança microbiológica dos alimentos. Patógenos clássicos têm demonstrado sobrevivência em matrizes alimentares atípicas, como é o caso dos alimentos de baixa umidade (NASCIMENTO, 2019). A sobrevivência/crescimento de microrganismos patogênicos nestes alimentos é preocupante

para produtores, distribuidores, reguladores e consumidores (TAYLOR; QUINN; KATAOKA, 2019).

Os alimentos com baixa umidade são aqueles que possuem A_a igual ou inferior a 0,85 [Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2018)]. Os alimentos de baixa umidade, foram considerados, durante muito tempo seguros do ponto de vista microbiológico. Porém, nos últimos anos, estes alimentos têm sido relacionados a surtos de origem alimentar (TADAPANENI *et al.*, 2017).

A sobrevivência de patógenos em alimentos de baixa umidade não depende somente da A_a do alimento, mas também de outros fatores, tais como, temperatura de armazenamento e composição da matriz alimentar (FINN *et al.*, 2013). Além disso, a segurança microbiológica dos alimentos secos é dependente da qualidade microbiológica das matérias-primas, porque a contaminação ocorre frequentemente durante a produção primária, persistindo durante o processamento (PITTIA; ANTONELLO, 2016).

Nos últimos anos ocorreram *recalls* e surtos causados por *S. enterica* envolvendo produtos de baixa umidade como: pimenta do reino (KELLER *et al.*, 2013), manteiga de amendoim (LATHROP; TAYLOR; SCHNEPF, 2014), chás (KELLER *et al.*, 2015) e biscoitos (BEUCHAT; MANN, 2015).

Em condições estressantes, incluindo aquelas que são utilizadas no processamento de alimentos, como o uso do calor e até mesmo o meio com baixa A_a , *S. enterica* consegue desenvolver diversos mecanismos de adaptação que influenciam na sua sobrevivência, persistência e patogenicidade (GAYÁN *et al.*, 2016). Entre os mecanismos de sobrevivência desenvolvidos em condições desfavoráveis estão o acúmulo de metabólitos osmoprotetores, mudança dos fatores sigma (σ) e entrada ao estado metabolicamente ativo baixo chamado de viável, mas não cultivável (VNC) (MUTZ *et al.*, 2019).

A presença de osmoprotetores é importante para equilibrar a osmolaridade da composição celular interna com a do ambiente externo, evitando assim a perda de água. Como exemplo, o acúmulo de solutos eletricamente neutros e compatíveis com baixo peso molecular, como prolina, glicina, betaína e ectoína pode facilitar a célula bacteriana a limitar a perda de água (MELLACHERUVU; TALAKAYALA; GARLADINNE, 2019).

Comparadas às células cultiváveis, as células VNC têm maior resistência física, química e antibiótica, devido à sua menor atividade metabólica e à fortalecimento da parede celular (PINTO *et al.*, 2015). Assim conseguem sobreviver por um longo período voltando ao estado cultivável após a remoção do agente estressor (AYRAPETYAN; WILLIAMS; OLIVER, 2015).

As características prevalentes de cepas de *S. enterica* isoladas de alimentos de baixa umidade envolve proteção cruzada, tolerância ao calor entre outros estresses, além de elevado poder infectante (ESBELIN; SANTOS; HÉBRAUD, 2018). Um número de células de *S. enterica* (4 a 6 log) é muitas vezes suficiente para causar infecção em surtos de salmonelose em humanos adultos, mas em indivíduos altamente susceptíveis ou se contida em alimentos como chocolate, manteiga de amendoim e queijo, essa dose pode ser tão baixa quanto 1 a 2 log (COSBY *et al.*, 2015). Além disso, a composição da matriz alimentar pode desenvolver um efeito protetor (STONE *et al.*, 2016) e influenciar na sua sobrevivência durante o sistema digestivo (BIRK *et al.*, 2016).

A proteção cruzada está associada a fatores sigma alternativos como σ^s (*RpoS*) e σ^E (*RpoE*), estes fazem parte das respostas gerais quando o microrganismo é exposto a estresses como a privação de nutrientes, hiperosmolaridade e estresse ácido (MUTZ *et al.*, 2019). Sendo o fator σ^E importante para a tolerância à desidratação em *S. enterica* (FINN *et al.*, 2013).

O efeito do estresse por dessecação a longo prazo na resistência de *S. Typhimurium* (8,0 log UFC/g) foi avaliada durante a estocagem (28 °C/180 dias) e posterior torrefação a seco do amendoim à 120 °C por 10, 20 e 30 minutos (min.). Durante os primeiros 30 dias de armazenamento, ocorreu uma diminuição de 1,3 log UFC/g, ao longo do tempo, as células foram capazes de se adaptar as condições de estresse e se tornaram mais resistentes. A amostra de amendoim armazenada por 30 dias apresentou reduções de 1,8 e 3,2 log UFC/g, enquanto as amostras armazenadas por 180 dias a diminuição foi de 0,7 e 1,3 log UFC/g após 20 e 30 min. a 120 °C, respectivamente. Esses resultados demonstram um aumento da resistência térmica a partir de 30 dias de armazenamento, sugerindo que a exposição a longo prazo pode ativar mecanismos de resistência cruzada (PEREIRA *et al.*, 2020).

Sorovares de *S. enterica* (*S. Miami*, *S. Muenster*, *S. Yoruba*, *S. Javaiana*, *S. Glostrup*) foram inoculados em amendoins (9 log UFC/g), com o objetivo de avaliar seu comportamento durante sua secagem (35 e 40 °C por 18h) e branqueamento (95 e 100 °C durante 15 min. e posterior remoção da pele). Foi observado que o comportamento dos sorovares foi similar em ambas as temperaturas de secagem, não apresentando diferenças estatísticas. Após 18h de secagem ocorreu reduções de 1,9 log UFC/g a 35 °C e 2,0 log UFC/g a 40 °C, a primeira etapa do branqueamento provocou reduções de 0,9 e 1,3 log UFC/g a 95 °C e 100 °C, respectivamente. A remoção da pele do amendoim favoreceu um maior declínio, resultando em reduções finais de 1,5 e 2,1 log UFC/g, apresentando diferenças significativas. Os resultados evidenciam a importância do processo de secagem e branqueamento do amendoim, na inativação térmica da *Salmonella* spp. (PRESTES *et al.*, 2019).

A inativação de células de *S. enterica* (*S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Reading* e *S. Enteritidis*) osmoticamente adaptadas e não adaptadas em recheios de creme (biscoito e pralinê) e brioches recheados armazenados a 15, 20 e 30 °C foi avaliada. Quando os brioches recheados foram armazenados a 20 °C, a população de *S. enterica* diminuiu até o limite de detecção (1 log UFC/g) após 48 dias (não adaptadas) e 61 dias (adaptadas), indicando que as células osmoticamente adaptadas conseguem sobreviver durante 60 dias a temperatura que é comumente utilizada durante sua vida de prateleira. No armazenamento a 30 °C, foram necessárias apenas 2 semanas para atingir o limite de detecção independente da célula e da matriz em estudo. As maiores taxas de sobrevivência foram observadas nos recheios de biscoito e pralinê (t_{4D} : $79,9 \pm 27,1$ dias e $150,3 \pm 19,6$ dias, respectivamente) comparado com os brioches recheados com creme de biscoito e pralinê (t_{4D} : $61,3 \pm 0,9$ dias e $52,5 \pm 4,6$ dias, respectivamente). No geral, a sobrevivência de *S. enterica* é afetada pela matriz alimentar, temperatura de armazenamento e adaptação osmótica (KAPETANAKOU *et al.*, 2019).

A avaliação da sobrevivência de sorovares de *S. enterica* (*S. Anatum*, *S. Enteritidis*, *S. Oranienburg*, *S. Sundsvall* e *S. Tennessee*) inoculadas em nozes secas (noz pecã, avelãs e pinhões) (11 log UFC/g) com A_a final de $0,4 \pm 0,06$ e $0,60 \pm 0,05$ armazenadas a diferentes temperaturas (4, 10 e 25 °C) foi avaliada durante um ano. Os pesquisadores observaram que as populações de *S. enterica* foram relativamente estáveis ao longo do período avaliado quando armazenadas a 4 e 10 °C em ambos os níveis de A_a . Declínios significativos foram observados a 25 °C com A_a 0,4, onde o tempo necessário para a primeira redução foi estimado em 24 semanas para avelãs, 34 semanas para noz pecã e 52 semanas para pinhões. Na mesma temperatura, mas com A_a 0,6, o tempo estimado para a primeira redução foi bem menor, sendo em torno de 9, 10 e 16 semanas, para avelãs, noz pecã e pinhões, respectivamente. Os resultados mostraram que a sobrevivência das cepas sofre influência significativa do tipo de noz, A_a e temperatura de armazenamento (SANTILANA FARAKOS; POUILLOD; KELLER, 2017).

Em investigação do efeito de condições estressantes na sobrevivência de sorovares de *S. enterica* (*S. Typhimurium*, *S. Aberdeen*, *S. Cubana* e *S. Paratyphi*) (6,0-7,0 log UFC/g) inoculada em halva ($A_a = 0,19$) e submetidas ao armazenamento por 12 meses a 10 e 25 °C foi observado que ao longo do tempo de estocagem e como o aumento da temperatura as contagens diminuiriam significativamente. No final dos 12 meses, na temperatura de 10 °C, as populações de *S. enterica* não expostas a estresse, dessecadas ou estressadas pelo calor reduziram 2,7, 2,6 ou 2,8 log UFC/g, respectivamente. Enquanto que a 25 °C, as contagens diminuiriam 5,2, 6,7 ou 6,3 log UFC/g. O comportamento das células submetidas a condições estressantes foi significativamente diferente das células não estressadas apenas nos últimos 3 meses de

armazenamento a 25 °C, quando as populações de células não estressadas foram maiores. O estudo demonstrou capacidade de sobrevivência de *S. enterica* em halva, principalmente quando armazenadas a 10 °C (OSAILI *et al.*, 2017)

A sobrevivência de sorovares de *S. enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Thompson*, *S. Typhimurium*, *S. Hartford* e *S. Tennessee*) (7,0 log UFC/mL) também foi investigada em óleo de amendoim ($A_a = 0,52$), casca de amendoim ($A_a = 0,33$) e sementes de chia ($A_a = 0,58$), armazenados à 20 °C durante 150 dias. Os cinco sorovares sobreviveram por 90 dias (*S. Thompson* e *S. Hartford*) e até 105 dias (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Tennessee*) em óleo de amendoim, as maiores contagens (7,1 log UFC/mL) foram obtidas após 60 dias para os sorovares *S. Enteritidis* e *S. Tennessee*. A *S. Hartford* sobreviveu 150 dias em sementes de chia com as maiores contagens (4,2 log UFC/mL) por 80 dias, os outros sorotipos apresentaram menores contagens ($\sim 3,5$ log UFC/mL). A casca de amendoim apresentou os menores parâmetros de sobrevivência. Os sorotipos *S. Hartford* e *S. Thompson* exibiram uma sobrevivência maior (96 h) em comparação com os do *S. Tennessee*, *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* (ou seja, 10, 4,5 e 4 h, respectivamente). Na casca de amendoim todas as cepas apresentaram reduções quase imediatamente após a inoculação, apresentando diferenças entre as cepas. Os resultados indicam que ingredientes de baixa A_a possuem potencial para permitir a sobrevivência de cepas de *S. enterica* por longos períodos de tempo (FONG; WANG, 2016).

2.3 COCO (*Cocos nucifera* L.)

A espécie *Cocos nucifera* L. é uma das culturas de palma de subsistência e comerciais mais importantes do mundo (ALRIFAI; MARCONE, 2019). O fruto desta espécie é tipicamente composto de três camadas distintas: 1) epicarpo ou exocarpo, a camada mais externa; 2) mesocarpo, a camada do meio conhecida como casca; e 3) o endocarpo, a camada externa dura (Figura 1). A semente é envolvida pelo endocarpo, sendo constituída por uma fina camada marrom, o tegumento que fica entre o endocarpo e o endosperma sólido. Este último é representado pela polpa branca, carnuda e oleosa da semente, principalmente no fruto seco. Internamente, cercada por essa polpa branca, a semente possui uma grande cavidade cheia de água opalescente que é o endosperma líquido (Figura 1) (FERREIRA *et al.*, 2019).

Os cocos destinados para seu consumo *in natura* de água de coco (coco verde) devem ser colhidos, entre o sexto e sétimo mês, neste período possui altos teores de frutose, glicose, sólidos solúveis e volume de água. Com a maturação do fruto esses valores diminuem, a polpa anteriormente gelatinosa e translúcida passa a ser dura, branca e opaca entre o décimo primeiro

e décimo segundo mês, os cocos colhidos nessa fase são definidos como coco maduro ou coco seco (SOARES, 2014).

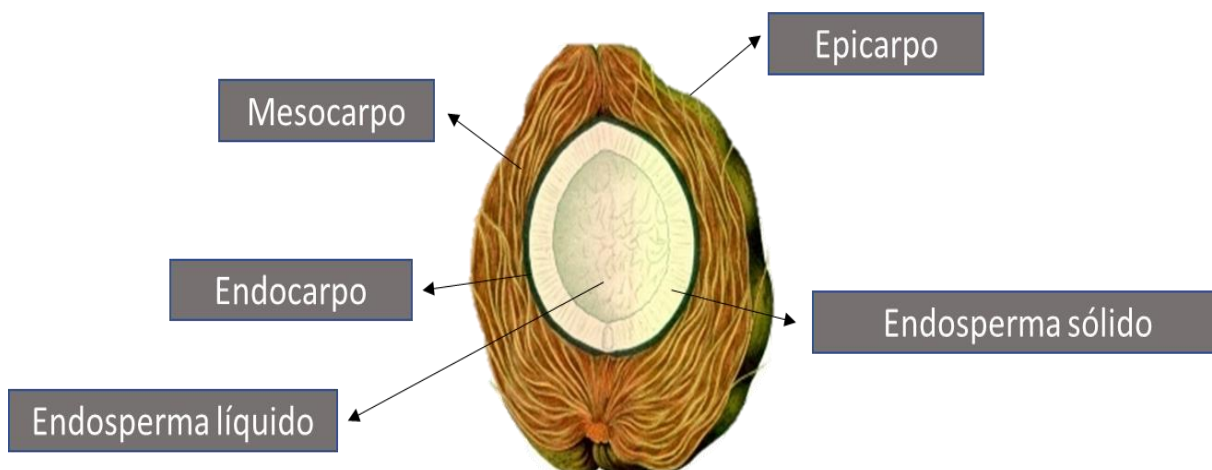


Figura 1 - Corte longitudinal do coco (*Cocos nucifera* L.)

Fonte: Köhler (2014) adaptado pelo autor (2020).

O consumo de coco *in natura* e produtos relacionados é crescente entre países como Filipinas, Indonésia, Brasil e Índia. Algumas razões para o aumento da popularidade desses produtos estão relacionadas aos seus benefícios para a saúde (WALLACE, 2019). Existem evidências de que o consumo de coco pode fortalecer o sistema imunológico no tratamento de doenças, como problemas digestivos, bronquite, infecções na garganta e auxilia no controle do diabetes (AKPRO *et al.*, 2019).

De acordo com FAO, a área de cultivo de coco é reportada em 12,3 milhões de hectares distribuídos em 92 países, produzindo 61,1 milhões de toneladas anuais. O Brasil encontra-se em sexto lugar, com 216 mil hectares de área colhida, produzindo 2,34 milhões de toneladas anuais, estando 80% dessa produção no Nordeste do país (FAO, 2018; SINDCOCO, 2019).

Segundo dados do serviço de estatística de comércio exterior do Ministério da Agricultura (AGROSAT), as exportações totais de coco e derivados foram de 975 mil toneladas, enquanto que as importações chegaram a 15,7 milhões de toneladas mundialmente. A Espanha é o principal país de destino das importações, enquanto que a Indonésia destaca-se como sendo a origem das importações (AGROSAT, 2019).

O Brasil não se encontra entre os maiores mercados mundiais do coco, mas tem participado da exportação (1 mil toneladas) e importação (18,1 mil toneladas) de alguns produtos como cocos frescos ou secos, óleo de coco e coco ralado (BRAINER, 2018). O cultivo de coqueiro em muitos países do mundo, incluindo o Brasil, destina-se à comercialização de

produtos como a copra (polpa seca), óleo, coco verde, água de coco, leite de coco e coco desidratado (RODRIGUEZ; VADAMALAI; RANGLES, 2017).

O coco seco desidratado é definido pelo *Codex Alimentarius* (2011) como um produto preparado a partir do endosperma de coco inteiro e processado por operações adequadas de descasque, quebra, lavagem, trituração, secagem e peneiração. No geral, o coco ralado é classificado conforme o tamanho em extra-fino, o coco dessecado cujo 90% do peso consegue passar facilmente por uma peneira de 0,85 mm e 25% do peso deve passar por uma peneira de 0,50 mm de abertura; fino, onde 80% do peso deverá passar por uma peneira de 1,40 mm e no máximo 20% do peso deverá passar por uma peneira de 0,71 mm da abertura; médio, o coco dessecado, cujo 90% do peso deve passar por uma peneira de 2,80 mm, e no máximo 20% do peso deverá passa por uma peneira de 1,40 mm de abertura e coco dessecado de outro tamanho, abrangendo todas as outras apresentações, incluindo "cortes extravagantes" ou cortes especiais. Entretanto não existem especificações a nível de comércio mundial, ficando a critério de cada exportador ou importador ter seus próprios padrões e exigências (*Codex Alimentarius*, 2011).

O coco seco possui um sabor único, sendo amplamente utilizado em produtos alimentícios, como produtos de panificação e confeitaria. O coco seco fresco possui 42,2% de umidade, 7,5% de proteína e 12,3% de gordura (LIU, 2016), após o processo de desidratação a umidade deve diminuir para valores menores que 4% (XIONG; WU; YE, 2017).

A microflora do interior do coco inteiro, ainda na palmeira é praticamente inexistente, sendo caracterizada por poucos microrganismos viáveis. No entanto, a partir do momento da colheita seguido pelos processos de estocagem, em contato com o solo, descasque do fruto e transporte a contaminação tende a acontecer (FROCHLICH, 2015).

Durante o processamento dos flocos de coco, a polpa é um substrato susceptível a contaminação por microrganismos como *S. enterica* e *Staphylococcus*, devido a contaminação de equipamentos e utensílios utilizados durante as etapas de despulpamento, despelicagem, lavagem e desintegração (KUMAR *et al.*, 2003). Após estas etapas ocorre a desidratação que reduz a quantidade de microrganismos, no entanto as bactérias sobreviventes estão fortemente associadas a polpa úmida, esses microrganismos patogênicos podem se multiplicar causando problemas à saúde pública (MEEMA *et al.*, 2019).

A contaminação de coco ralado desidratado por *S. enterica* tem sido relatada desde 1955, quando foram encontrados resultados positivos para diferentes sorotipos de *S. enterica* importados para a Austrália do Território da Papua e Nova Guiné (WILSON; MACKENZIE, 1955). Em 1960 um surto foi registrado em uma maternidade de Lancashire, envolvendo 9 adultos e 5 crianças, além de 12 portadores sem sintomas, todos estavam infectados com *S.*

paratyphi-B. Os pacientes relataram terem ingerido grandes quantidade de coco seco ou consumido bolo contendo coco desidratado, apresentando também quadros de gastroenterites (SEMPLE, PARRY, GRAHAM, 1961).

A *Hayward, Global Commodities Corporation* em conjunto com a *Food and Drug Administration* (FDA) retirou um lote de coco ralado congelado da marca *Buenas* em outubro de 2019, após testes do Departamento de Saúde da Califórnia evidenciarem uma possível contaminação do produto por *Salmonella*, esse produto era originário das Filipinas e foi distribuído em locais de varejo do norte da Califórnia (FOOD SAFETY NEWS, 2019).

Em 2018, ocorreram 2 novos surtos nos EUA envolvendo coco seco fresco, um deles ocorreu em maio de 2018, envolvendo 9 estados americanos (Califórnia, Colorado, Connecticut, Distrito da Colômbia, Idaho, Missouri, Oregon, Texas e Utah), resultando em 3 hospitalizações e 14 indivíduos infectados com a cepa de *S. Typhimurium*. Evidências epidemiológicas, laboratoriais e de rastreamento mostraram que o coco seco fresco da marca *International Organic Harvest*, o chamado *Organic Go Smiles* foi a provável fonte desse surto (CDC, 2018c).

O segundo surto teve como fonte o coco ralado congelado da marca *Coconut Tree*, distribuído pela *Evershing International Trading Company*, deixando 27 pessoas infectadas em 9 estados americanos, causando 6 internações. Através da utilização de técnicas de eletroforese em gel de campo pulsado e sequenciamento completo do genoma foi possível identificar as cepas *S. I 4*, [5], 12: b: - e *S. Newport* como responsáveis pelo surto (CDC, 2018d). Em abril de 2020, a FDA anunciou um novo *recall* relacionado ao surto do coco ralado congelado da marca *Coconut Tree*, distribuído pela *Evershing International Trading Company*, pois este produto ainda estava disponível para o consumidor no mercado (FOOD SAFETY NEWS, 2020).

O coco seco fresco possui elevada umidade, A_a e disponibilidade de nutrientes como carboidratos e proteínas que favorecem o desenvolvimento de microrganismos limitando a vida de prateleira do produto (DINI, 2019), sendo necessário o emprego de técnicas de conservação para manter a qualidade do produto durante o maior tempo possível assim como garantir que microrganismos patogênicos não estejam presentes (ANTONIO-GUTIÉRREZ *et al.*, 2019). Entre os métodos de conservação utilizados pode-se destacar a desidratação convencional ou osmótica e o congelamento (NIAKOUSARI *et al.*, 2018).

A desidratação pode ser definida como o processo de remoção de água de uma matéria-prima úmida através da aplicação de calor (SABAREZ, 2016). Além disso, a desidratação é um processo amplamente utilizado pela indústria de alimentos que permite a redução do volume

dos alimentos, facilitando assim as operações de armazenamento e transporte, assim como favorece características desejáveis a determinados produtos alimentícios (BERK, 2018).

As condições aplicadas para desidratação dos flocos de coco são à 50-70 °C até um nível de umidade inferior ou igual a 4% (SHETE *et al.*, 2016). Além da desidratação convencional, outro método utilizado na redução do teor de água do alimento é a desidratação osmótica. Nesse processo a água é retirada da matriz alimentar através da imersão em uma solução de sais, como cloreto de sódio e cloreto de cálcio ou açúcares como glicose, sacarose, trealose, manitol em elevada concentração. Consequentemente, a água flui através da membrana sendo transferida do alimento para a solução em virtude da diferença na pressão osmótica (BERK, 2018; KEER, 2019).

No entanto, na desidratação osmótica, os alimentos não atingem uma A_a tão baixa quanto na desidratação convencional, sendo necessária outra tecnologia complementar para a preservação. Assim a desidratação osmótica é utilizada muita das vezes como um pré-tratamento antes da desidratação convencional, para reduzir a severidade e melhorar o processo (BARMAN; BADWAIK, 2017).

Os modelos matemáticos já foram utilizados para descrever a cinética microbiana de *S. Typhimurium*, durante a estocagem da água de coco (BERISTAIN-BAUZA *et al.*, 2018; OCHOA-VELASCO *et al.*, 2018); e avaliar o comportamento e cinética de inativação de cepas de *S. enterica* em óleo de coco virgem (GABRIEL; NEPOMUCENO, 2020). No entanto os dados do comportamento de cepas de *S. enterica* em flocos de coco desidratado são escassos, sendo importante conhecê-los, pois a partir desses dados é possível estimar a sobrevivência desse patógeno ao longo do processo produtivo.

2.4 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

A segurança microbiana dos alimentos se apresenta como um desafio para o setor alimentício, dessa forma se tem investido grandes esforços nas pesquisas na área da microbiologia preditiva assim como na avaliação quantitativa de risco microbiano (KOUTSOUMANIS; LIANOU; GOUGOULI, 2016; MEMBRE; GUILLOU, 2016).

Os microrganismos presentes nos alimentos, em condições adequadas podem crescer em diferentes fases, incluindo as fases lag, log, estacionária e declínio. No entanto em condições desfavoráveis, a população microbiana tende a diminuir progressivamente ao longo do tempo (HUANG, 2017a).

A microbiologia preditiva é uma ferramenta útil para avaliar o declínio ou crescimento microbiano, pois permite por meio de modelos matemáticos, prever o comportamento microbiano nos alimentos, em função dos fatores extrínsecos e intrínsecos do alimento, como temperatura, pH e a_{a} (PÉREZ-RODRÍGUEZ; VALERO, 2013). O conhecimento do comportamento dos patógenos microbianos que podem estar presentes nos alimentos é importante para garantir a segurança microbiológica do alimento. O desenvolvimento de estudos nessa temática possibilita estimar as consequências das operações de manipulação, processamento e armazenamento dos alimentos sobre o crescimento, sobrevivência e inativação de patógenos (USDA, 2016).

Nas últimas décadas as pesquisas no campo da microbiologia preditiva têm se voltado para o desenvolvimento e aprimoramento de uma ampla gama de modelos matemáticos, juntamente com o desenvolvimento de softwares, com inúmeras aplicações para armazenamento, análise, visualização e recuperação de dados, contribuindo para a avaliação e previsão da segurança e qualidade microbiana dos alimentos (AKKERMANS; NIMMEGEERS; VAN IMPE, 2018; KOUTSOUMANIS; LIANOU; GOUGOULI, 2016).

A utilização de modelos matemáticos que descrevem o comportamento cinético microbiano, pode ser valiosa na determinação de até que ponto os processos térmicos existentes podem ser modificados para obter uma melhor qualidade dos alimentos, essas previsões também podem ser importantes para o planejamento de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (GIL *et al.*, 2017).

Os modelos matemáticos tradicionais utilizados na microbiologia preditiva geralmente requerem um processo de três etapas. A primeira etapa identifica o modelo primário mais adequado e estima os parâmetros cinéticos associados (taxa de crescimento e tempo de latência, por exemplo). A segunda etapa consiste em avaliar o efeito de fatores ambientais, como a temperatura, nos parâmetros cinéticos dos modelos primários e escolher um modelo secundário apropriado. Na última etapa, os modelos primários e secundários são combinados para formar o modelo terciário que será utilizado para prever o comportamento microbiano após validação adequada (HUANG, 2017b).

Existem uma grande variedade de modelos propostos que descrevem a inativação de microrganismos. De acordo com a literatura modelos como Weibull, Baranyi e Roberts, log linear, log-linear com cauda e ombro, Geeraerd, entre outros, são bastante utilizados. Os tipos de curva de inativação normalmente observadas estão representadas na Figura 2. A curva log-linear (Figura 2 a) apresenta a modelagem mais simples, seguindo uma cinética de primeira ordem. Existem curvas de inativação que apresentam uma parte linear com a presença de ombro

de ombro (Figura 2 b), cauda (Figura 2 c), ou ombro e cauda (Figura 2 d). As curvas bifásicas (Figura 2 e) expõem um comportamento log-linear de duas subpopulações com diferentes resistências microbianas. E as curvas de sobrevivência (Figura 2 f) exibem o comportamento com concavidade para cima e para baixo (SOUZA; KOUTCHMA, 2020).

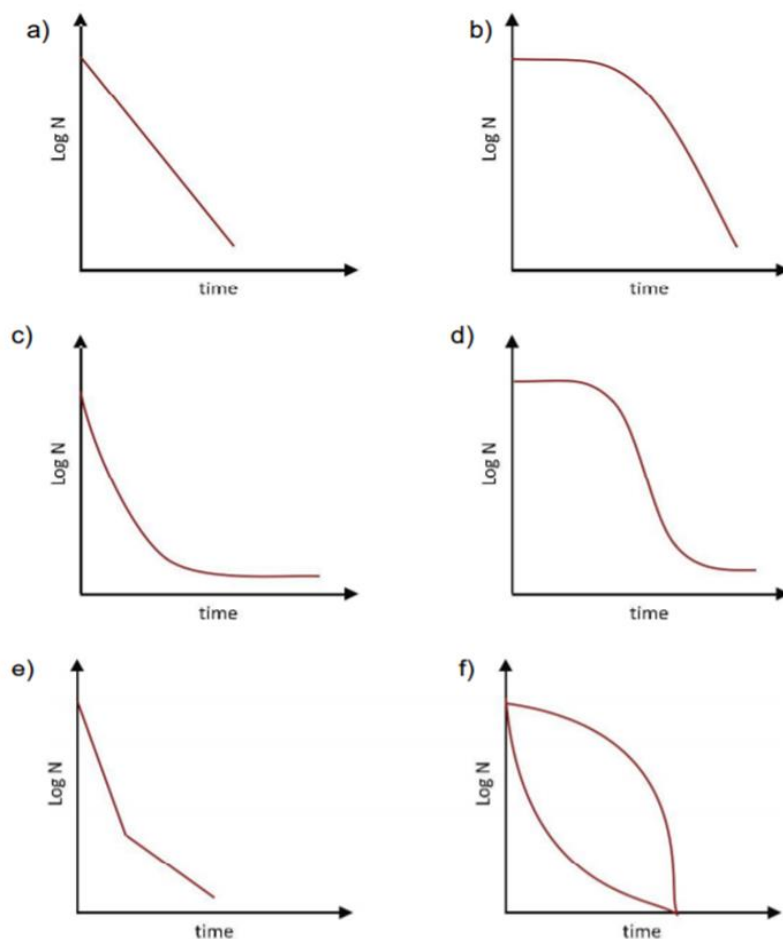


Figura 2 – Curvas do comportamento de microrganismos normalmente observadas

Fonte: Souza e Koutchma, 2020.

Estudos envolvendo o desenvolvimento de modelos matemáticos do crescimento de patógenos e deteriorantes tem sido cada vez mais utilizados pela indústria de alimentos, para o estabelecimento de ações de prevenção a manejo de risco (RODRIGUEZ-MARTINEZ *et al.*, 2020; HUANG, 2017a; FANG *et al.*, 2015). A modelagem matemática da sobrevivência de *S. enterica* em alimentos de baixa umidade tem sido explorada por meio de diferentes modelos como apresentado no Quadro 1.

Quadro 1 – Modelos matemáticos utilizados para compreensão do comportamento de *S. enterica* em alimentos de baixa A_a

Sorovar(s) testado(s)	Matriz alimentar	Modelo(s) aplicado(s)	Principais observações	Referência
<i>S. Enteritidis</i> PT30	Amêndoas	Log-linear e Weibull	O modelo Weibull explicou melhor a morte desse sorovar para torrefação, enquanto para o branqueamento ambos os modelos foram eficazes. Para o branqueamento, os valores de D foram 12,7 s (secagem acelerada) e 10,7 s (convencional). Para a torrefação de óleo, os valores de b foram 4,59 s (secagem acelerada) e 4,18 s (convencional).	Mohammad <i>et al.</i> (2020)
<i>S. Typhimurium</i>	Amendoim	Weibull	O modelo Weibull demonstrou que os dados sofreram influência do tempo de armazenamento. A amostra não armazenada apresentou reduções de 1,8 e 3,2 log UFC/g, enquanto nas amostras armazenadas por 180 d a diminuição na contagem de foi de 0,7 e 1,3 log UFC/g após 20 e 30 min a 120 °C, respectivamente. Para as reduções de 4 e 5 logs eram necessários entre 34,9 e 59,0 min e 40,3 e 68,0 min, respectivamente.	Pereira <i>et al.</i> (2020)
<i>S. Typhi</i> , <i>S. Enteritidis</i> <i>S. Agona</i> , <i>S. Anatum</i> e <i>S. Senftenberg</i>	Fórmulas infantis	Log-linear+Shoulder, Biphasic+Shoulder e Log-linear	No modelo de inativação primária, inicialmente foi observado um perfil bifásico, com comportamento da linear logarítmico, em função da potência aplicada durante o aquecimento doméstico por micro-ondas. A partir da validação do modelo secundário, o erro quadrado médio (RMSE < 0,35) e o R^2 ($R^2 > 0,97$) apresentaram um bom ajuste para o modelo de inativação das cepas em fórmulas infantis por aquecimento por micro-ondas.	Portela <i>et al.</i> (2019)

Quadro 1 – Modelos matemáticos utilizados para compreensão do comportamento de *S. enterica* em alimentos de baixa A_a (continuação)

Sorovar(s) testado(s)	Matriz alimentar	Modelo(s) aplicado(s)	Principais observações	Referência
<i>S. Muenster</i> , <i>S. Yoruba</i> , <i>S. Javaína</i> , <i>S. Miami</i> e <i>S. Glostrup</i>	Amendoim	Weibull	O modelo Weibull ($R^2 > 0,96$), indicou um bom ajuste dos dados. Na secagem, as temperaturas avaliadas não apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$) nos parâmetros Weibull. O valor β foi de 0,65 a 35 °C e 0,72 a 40 °C. No branqueamento, os valores de δ foi influenciado pela temperatura de aquecimento ($p < 0,05$), com valores de 9,8 min (95 °C) e 4,8 min (100 °C). O aquecimento a 95 °C mostrou uma morte praticamente linear das cepas ($\beta = 0,85$), enquanto a 100 °C uma curva côncava para cima ($\beta = 0,63$).	Prestes <i>et al.</i> (2019)
<i>S. Enteritidis</i> PT30	Amêndoas	Log-linear e Weibull	As curvas de inativação mostraram uma tendência razoavelmente linear. A adaptação dos modelos log-linear e Weibull aos dados foi razoável, os valores de D variaram de 15,7 a 18,0 min e o RMSE entre 0,25 a 0,69 log UFC/g. O modelo Weibull apresentou maiores incertezas, como a falta de homogeneidade ou variabilidade sistemática no fator de forma (b).	Garces-Vega; Ryser; Marks (2019)
<i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Agona</i> , <i>S. Reading</i> e <i>S. Enteritidis</i>	Recheios e Brioche recheados	Weibull e Regressão linear	As curvas de inativação foram melhor ajustadas ao modelo Weibull e os valores de δ e β foram usados para calcular o tempo para 4 reduções (t4D). Os valores observados foram t4D: 79,9 $\pm$ 27,1 dias (recheios de creme de biscoito) e 150,3 $\pm$ 19,6 dias (creme praliné). Valores de t4D: 61,3 $\pm$ 0,9 dias foram observados nos brioches recheados com biscoito e 52,5 $\pm$ 4,6 dias para os recheados com praliné) a 20 °C. O modelo secundário mostrou que a sobrevivência das cepas foi afetada pela temperatura e adaptação osmótica (R_{adj}^2 0,83-0,96).	Kapetanakou <i>et al.</i> (2019)

Quadro 1 – Modelos matemáticos utilizados para compreensão do comportamento de *S. enterica* em alimentos de baixa A_a (continuação)

Sorovar(s) testado(s)	Matriz alimentar	Modelo(s) aplicado(s)	Principais observações	Referência
<i>S. Typhimurium</i>	Amendoim cru sem casca, amendoim torrado, amendoim sem casca, paçoca e pé de moça	Weibull	As amostras foram inoculadas em dois níveis de inóculo (3 e 6 log UFC/g). As menores reduções foram observadas no amendoim torrado (1,01 e 2,53 log UFC/g) e na paçoca (0,87 e 3,82 log UFC/g), em baixo e alto nível de inóculo, respectivamente. Ao 180º dia de armazenamento do pé de moça foi observado ausência de <i>S. enterica</i> . O modelo Weibull forneceu um ajuste adequado aos dados (R^2 0,81), com o valor δ variando de 0,06 a 49,75 dias.	Nascimento <i>et al.</i> (2018)
<i>S. Anatum</i> , <i>S. Ohio</i> , <i>S. Infantis</i> , <i>S. Derby</i> , <i>S. Newport</i> , <i>S. Bredeney</i> <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Mbandaka</i> e <i>S. Montevideo</i> .	Alimentos secos para animais	Weibull	A cinética de sobrevivência das cepas de <i>S. enterica</i> seguiu um padrão não linear, com declínio rápido inicial (1,7 log UFC/g/mês), nos 3 primeiros meses e declínio mais lento (0,15 log UFC/g/mês) durante os últimos 16 meses de armazenamento. O modelo Weibull proporcionou um ajuste adequado, tanto na fase inicial de declínio rápido quanto na última fase, declínio lento.	Lambertini <i>et al.</i> (2016)
<i>S. Enteritidis</i> PT30	Farinha de trigo	Log-linear, Weibull, Superfície de resposta de segunda ordem, Bigelow modificado e Efeitos combinados	As análises estatísticas dos modelos primários favoreceram o modelo log-linear. A incorporação dos modelos secundários no modelo primário log-linear resultou em RMSE de 2,1, 0,78 e 0,96 log UFC/g e valores de critério de informação Akaike corrigidos de 460, -145 e -19 para a superfície de resposta, Bigelow modificado e efeitos combinados, respectivamente. O modelo de Bigelow modificado previu a letalidade da cepa significativamente melhor ($P < 0,05$) do que os outros modelos secundários examinados.	Smith <i>et al.</i> (2016)

Quadro 1 – Modelos matemáticos utilizados para compreensão do comportamento de *S. enterica* em alimentos de baixa A_a (continuação)

Sorovar(s) testado(s)	Matriz alimentar	Modelo(s) aplicado(s)	Principais observações	Referência
S. Typhimurium, S. Tennessee, S. Agona e S. Montevideo	Proteína do soro de leite em pó	Weibull	A sobrevivência das cepas testadas não segue a cinética log-linear, mostrando curvas com caudas assintóticas significativas. A cinética de sobrevivência das cepas de <i>S. enterica</i> foram bem descritas pelo modelo de Weibull (R_{adj}^2 0,59 a 0,97 e RMSE 0,27 a 1,07).	Santillana Farakos; Hicks; Frank (2014)
S. Enteritidis PT 30	Farinha de Amêndoas	Cinética de primeira ordem, Weibul modificado e polinomiais secundários	As curvas de inativação era linear, os resultados mostraram que a inativação foi bem ajustada tanto pela distribuição de Weibull (R^2 0,93 a 1,00) quanto pela cinética de primeira ordem (R^2 0,82 a 0,96). O estudo mostrou que pequenos aumentos na A_a reduziram drasticamente o tempo de inativação e a temperatura de tratamento das amêndoas.	Villa-Rojas <i>et al.</i> (2013)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CEPAS TESTE

As cepas incluídas no estudo foram *S. Enteritidis* PT4 (CFSAN077723), *S. Typhimurium* PT4 (CFSAN077701), *S. Bredeney* (CFSAN077740), *S. Muenster* (CFSAN077773). Essas cepas foram isoladas de alimentos envolvidos em surtos. O genoma completo das cepas está disponível em [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/?term=STRAIN CODE](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/?term=STRAIN_CODE) (Projeto FDA PRJNA186035) (MELO *et al.*, 2021). A cepa *S. Agona* (IOC 2305) isolada de farelo de soja também foi utilizada como cepa teste (FURTADO *et al.*, 2020). Os estoques de células foram estocados a -80 °C em Caldo de Triptona de Soja (TSB; Himedia, Índia) contendo glicerol 20 % v/v.

Cada inóculo foi obtido após o preparo de suspensões em solução salina estéril (NaCl 0,85%, p/p) de culturas cultivadas em TSB a 37 °C por 18 h. As células de *Salmonella* de cada cepa foram colhidas (4500 x g, 15 min, 4 °C), lavadas duas vezes e ressuspensas em solução salina estéril. Soluções padrões de 8 log CFU/mL foram obtidas para cada cepa após o ajuste da concentração celular por meio de medida de densidade óptica em espectrofotômetro a 625 nm (OD 625; 0.03). Em seguida, o coquetel de cinco cepas foi preparado combinando volumes iguais de cada cultura (1:1:1:1:1), para obtenção do inóculo final. O número de células no inóculo foi determinado por plaqueamento em Ágar Triptona de Soja (TSA; Himedia, Índia)

3.2 INOCULAÇÃO NA MATRIZ ALIMENTAR

Cocos secos (maduro) foram selecionados com base na cor, forma, uniformidade de tamanho e ausência de lesões mecânicas, sinais de deterioração ou início de germinação. Os frutos foram adquiridos na Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços Agrícolas (EMPASA, João Pessoa, Brasil). Os frutos inteiros foram autoclavados (121 °C a 1,1 atm. de pressão por 20 min.) e em seguida foram partidos manualmente usando um martelo previamente higienizado em cabine de biossegurança (PA 410, Pachene, Brasil) para a remoção asséptica do endosperma (polpa branca) e remoção da película marrom (tegumento). A polpa foi ralada com auxílio de ralador previamente esterilizado em autoclave para obtenção dos flocos de coco com aproximadamente 4 x 1 mm. Esses procedimentos foram realizados no mesmo dia da desidratação.

A inoculação foi realizada de acordo com os procedimentos descritos por Du *et al.* (2020). O coquetel (10 mL) de *S. enterica* padronizado a 8 log UFC/g foi adicionado a amostras de coco em flocos (100 g) em saco estéril (17,5 x 12,5 cm, Stomacher®, Biomaster) misturada manualmente por 3 minutos e posteriormente homogeneizada a 230 rpm por 5 minutos (SL 299, Solab, Brasil) a temperatura ambiente (25 ± 1 °C). Três amostras de flocos de coco foram selecionadas aleatoriamente, plaqueadas, e enumeradas em TSA para confirmar a uniformidade de distribuição do inóculo (aproximadamente 7 log UFC/g).

3.3 DESIDRATAÇÃO DE FLOCOS DE COCO

Os flocos de coco foram desidratados a partir de dois métodos, o convencional e o osmótico. Para a desidratação convencional, os flocos de coco foram distribuídos uniformemente em uma camada fina sobre folhas de alumínio e seco em estufa com circulação de ar (Tron, Catanduva, São Paulo, Brazil) à temperatura de 55 ± 1 °C por 6 h. A temperatura foi monitorada por meio de um termopar (Fluke, Hydra série II, EUA) (SHETE *et al.*, 2016).

O processo de desidratação osmótica foi desenvolvido conforme proposto por Agarry e Aworanti (2012). Os flocos de coco (30 g) foram imergido em 250 mL de solução osmótica (sacarose a 40 % p/p), aquecido à 50 °C $\pm$ 1 °C durante 3 h em banho maria (HWS 24, Edutec, Brasil). Depois disso, o excesso de solução osmótica foi removido com gaze estéril, as amostras foram distribuídas em uma camada fina sobre folhas de alumínio e submetidas à secagem usando procedimentos anteriormente descritos para a desidratação convencional. Após a desidratação convencional e osmótica, o teor de umidade foi mensurado usando uma estufa a temperatura de 105 ± 1 °C até peso constante (SL-102, Solab, Brazil) (método 941.08) (AOAC, 2016) obtendo valores < 3%.

Flocos de coco convencionalmente e osmoticamente desidratados foram divididos em porções de 5 g e transferidos para embalagens de polipropileno biorientado metalizado (BOPP) e distribuídos aleatoriamente em dessecadores contendo solução saturada de cloreto de magnésio ($A_a = 0,34$; UR 34%) para minimizar a variação de A_a . O período de estocagem compreendeu o tempo médio de vida útil do produto entre 4-6 meses (FISHER; MEDEIROS, 2010).

3.4 CENÁRIOS DE ARMAZENAMENTO DOS FLOCOS DE COCO DESIDRATADO

A temperatura ambiente em supermercados ou ambiente doméstico foi estabelecida em $25 \pm 1^\circ\text{C}$ com base em dados meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). A temperatura de refrigeração considerou $7 \pm 1^\circ\text{C}$ como a média da temperatura atingida em refrigeradores domésticos (INMET, 2020; JAMES *et al.*, 2017). Foram estudados quatro possíveis cenários (Fig. 3) para avaliar o comportamento de *S. enterica* em flocos de coco convencionalmente e osmoticamente desidratados.

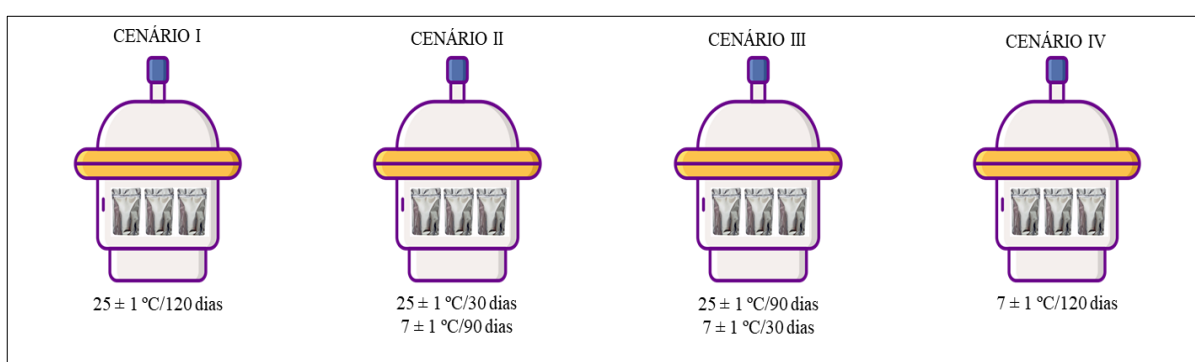


Figura 3 - Cenários do armazenamento de coco em flocos durante 120 dias

Fonte: Freepik adaptado pelo autor (2020).

- Cenário I – Simulou o armazenamento durante toda a vida útil do produto a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, temperatura comumente utilizada nos estabelecimentos comerciais ou em ambientes domésticos.
- Cenário II – Armazenamento do produto em temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) por 30 dias, por exemplo, em estabelecimentos comerciais seguido de refrigeração ($7 \pm 1^\circ\text{C}$) pelos últimos 90 dias de armazenamento em ambiente doméstico. É uma prática comum dos consumidores armazenar flocos de coco em geladeiras depois de abertos em uma visão equivocada de garantia de frescor (McCurdy *et al.*, 2009). A abertura foi simulada em cabine de biossegurança.
- Cenário III – Simulou o armazenamento do produto em refrigeração por 30 dias à temperatura ambiente após este período foi armazenado à temperatura ambiente pelos últimos 90 dias, para avaliar as condições inversas propostas para o cenário II simulando um primeiro período em uma gôndola de supermercado refrigerada, seguida do armazenamento em ambiente doméstico sem refrigeração.

- Cenário IV – Simulou o armazenamento do produto em condições refrigeradas simulando todo o prazo de validade em uma câmara fria em estabelecimentos de varejo e as mesmas condições no manuseio doméstico.

3.5 AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DAS CEPAS TESTE

A enumeração de *S. enterica* em flocos de coco convencionalmente desidratado e osmoticamente desidratado foi realizada imediatamente após a desidratação (dia zero) e a cada 7 dias durante 120 dias de estocagem. As amostras de flocos de coco foram diluídas seriadamente em solução salina estéril. A partir de cada diluição, uma alíquota de 20 µL foi inoculada em TSA, utilizando a técnica de microgota (FERREIRA *et al.*, 2020). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h e as colônias visíveis foram enumeradas. Os resultados foram expressos em log UFC/g. O limite de detecção foi de 1,5 log CFU/g. As análises de A_a foram realizadas no mesmo intervalo de tempo usando um instrumento de determinação de A_a (LabMaster- a_w , Novasina, Lachen, Switzerland) (método 954.68), em temperatura constante de 20 ± 1 °C (AOAC, 2016).

3.6 CITOMETRIA DE FLUXO

A análise de citometria de fluxo foi usada para mensurar a integridade e polarização da membrana e a atividade metabólica das células de *S. enterica* em flocos de coco. As análises foram realizadas um dia após a desidratação convencional ou osmótica e após 120 dias de armazenamento a 25 °C e 7 °C, seguindo procedimentos descritos por Melo *et al.* (2020). Amostra de flocos de coco foram adicionadas a solução salina tamponada com fosfato (PBS; 8,0 g/L NaCl, 0,20 g/L KCl, 1,44 g/L Na₂HPO₄, 0,24 g/L KH₂PO₄, pH 7,4) homogeneizada em vortex por 5 min. Após 3 min de repouso para sedimentação dos flocos de coco, o sobrenadante foi coletado. As células foram colhidas por centrifugação (4500 g, 10 min, 4 °C), lavadas duas vezes, ressuspensas em PBS e marcadas com dupla marcação com iodeto de propídio (PI, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), que penetra apenas nas células com membranas danificadas, para medir a integridade da membrana e ácido bis-1,3-dibutilbarbitúrico (BOX, Invitrogen, Life Technologies, Eugene, OR, EUA) para medir o potencial da membrana. O 5-ciano-2,3-ditolil cloreto de tetrazólio (CTC, Polysciences, Warrington, PA, EUA) foi utilizado

para avaliar a atividade metabólica. As amostras foram mantidas em gelo antes da medição no citômetro de fluxo.

A citometria de fluxo foi realizada em um citômetro de fluxo equipado com um laser de íon argônio que emite a 488 nm (BD Accuri C6, New Jersey, EUA). A fluorescência verde foi coletada no canal FL1 (533 nm $\pm$ 30 nm) e a fluorescência vermelha no canal FL3 ($>$ 670 nm). O sinal de fluorescência (medições da área de pulso) foi coletado pelos filtros passa-banda FL1 (BOX) e FL3 (PI e CTC). Níveis de limite para aquisição de dados foram configurados em dispersão direta (FSC) (10.000) para eliminar ruído ou partículas (restos celulares) muito menor do que células intactas. FSC/dispersão lateral (SSC) parâmetros delimitaram as células bacterianas. Cada aquisição de amostra foi operada em uma configuração de baixa taxa de fluxo e um total de 10.000 eventos foram analisados.

Quatro quadrantes foram definidos no sentido horário: Quadrante 1 BOX⁺PI⁻ (células despolarizada e não permeabilizada), Quadrante 2 BOX⁺PI⁺ (células despolarizada e permeabilizada), Quadrante 3 BOX⁻PI⁺ (células polarizada e permeabilizada), Quadrante 4 BOX⁻PI⁻ (células polarizada e não permeabilizada). Dois quadrantes foram definidos para atividade metabólica CTC⁻ do quadrante esquerdo (células sem atividade metabólica) e CTC⁺ do quadrante direito (células com atividade metabólica). Células fixadas em etanol e células não expostas à secagem foram utilizadas como controle positivo e negativo, respectivamente.

3.7 MODELAGEM DOS DADOS

Após a obtenção do número de células viáveis de *S. enterica* em flocos de coco desidratado, as contagens foram transformadas em log₁₀ e cada repetição foi analisada de forma individual, com objetivo de encontrar o melhor modelo que descrevesse os dados obtidos experimentalmente. As curvas de sobrevivência de *S. enterica* foram ajustadas separadamente usando o Solver, ferramenta de análise de dados do Microsoft Office Excel v1.6 (Microsoft, WA, EUA).

Os dados experimentais obtidos para os flocos de coco desidratados de forma convencional se ajustaram melhor ao modelo Log-linear com cauda (Eq. 1), enquanto que os desidratados osmoticamente foram melhor descritos através do modelo Log-linear com ombro e cauda (Eq. 2).

$$\log_{10}(N) = \log_{10}[(10^{\log_{10}(N_0)} - 10^{\log_{10}(N_{res})}) * e^{-k_{max}*t} + 10^{\log_{10}(N_{res})}] \quad (\text{Eq.1})$$

$$\log_{10}(N) = \log_{10}[(10^{\log_{10}(N_0)} - 10^{\log_{10}(N_{res})}) * e^{-k_{max}*t} * \left(\frac{e^{k_{max}S_l}}{1+(e^{k_{max}S_l}-1) * e^{-k_{max}*t}}\right) + 10^{\log_{10}(N_{res})}] \quad (\text{Eq.2})$$

onde, k_{max} é a taxa de inativação (dias); S_l , a duração do ombro (dias); $\log N_0$, a população inicial (UFC/g) e $\log N_{res}$ corresponde a população residual (UFC/g) determinada após o tratamento.

Para avaliação do modelo foram usados o coeficiente de regressão (R^2) (Eq. 3) e o erro médio quadrático da raiz (RMSE) (Eq. 4).

$$R^2 = 1 - \left(\frac{\sum e_i^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2}\right) \quad (\text{Eq. 3})$$

$$RMSE = \frac{\sum (pred - obs)^2}{n - p} \quad (\text{Eq. 4})$$

onde e_i é o erro dos dados preditivos; y_i são os dados preditivos e $\bar{y}$ é a média dos dados preditivos; $pred$ denotam a população microbiana preditiva; obs corresponde a população microbiana observada; n é o número de pontos de dados e p é o número de parâmetros.

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os ensaios foram realizados em triplicata, em três experimentos independentes (repetições). Os resultados da análise de citometria de fluxo foram expressos com os valores médios dos ensaios e desvio padrão. A análise estatística para a comparação entre as médias e determinação das diferenças significativas ($p \leq 0,05$) foi realizada através da análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey ou pelo teste t-student. As análises estatísticas dos dados de citometria de fluxo foram realizadas utilizando o software Sigma-Stat 3.5 (Jandel Scientific Software, San Jose, Califórnia). Os modelos primários para cada conjunto de dados experimentais foram obtidos usando o Solver do Microsoft Office Excel v1.6 (Microsoft, WA, EUA).

REFERÊNCIAS

AGARRY, S. E. *et al.* Modelling the drying characteristics of osmosised coconut strips at constant air temperature. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 3, 2012.

AGROSAT. Estatísticas de comércio exterior do agronegócio brasileiro. **Exportação e Importação**. Disponível em: <<http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm>>. Acesso em: 28 Mar. 2020.

AKKERMANS, S.; NIMMEGEERS, P.; VAN IMPE, J. F. A tutorial on uncertainty propagation techniques for predictive microbiology models: A critical analysis of state-of-the-art techniques. **International Journal of Food Microbiology**, v. 282, p. 1-8, 2018.

AKPRO, L. A. *et al.* Phytochemical compounds, antioxidant activity and non-enzymatic browning of sugars extracted from the water of immature coconut (*Cocos nucifera* L.). **Scientific African**, p. e00123, 2019.

ALRIFAI, O.; MARCONE, M. F. **Coconut–The tree of life** In MOO-YOUNG, M. (ed). Comprehensive biotechnology, 3 Ed., p. 586-594, 2019.

ANDERSON, N. M. Recent advances in low moisture food pasteurization. **Current Opinion in Food Science**, v. 29, p. 109-115, 2019.

ANTONIO-GUTIÉRREZ, O. T. *et al.* UV-C light for processing beverages: principles, applications, and future trends. In: **Processing and Sustainability of Beverages**. Woodhead Publishing, v. 2 p. 205-234, 2019.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. Washington, 20 ed. 2016, AOAC International.

APPAIAH, P., SUNIL, L., KUMAR, P.K.P., KRISHNA, A.G.G. Composition of coconut testa, coconut kernel and its oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, p. 917–924, 2014.

AYRAPETYAN, M.; WILLIAMS, T. C.; OLIVER, J. D. Bridging the gap between viable but non-culturable and antibiotic persistent bacteria. **Trends in Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 7-13, 2015.

BARMAN, N.; BADWAIK, L. S. Effect of ultrasound and centrifugal force on carambola (*Averrhoa carambola* L.) slices during osmotic dehydration. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 37-44, 2017.

BERISTAÍN-BAUZA, S. *et al.* Inhibition of *Salmonella* Typhimurium growth in coconut (*Cocos nucifera* L.) water by hurdle technology. **Food Control**, v. 92, p. 312-318, 2018.

BERK, Z. Dehydration. **Food Process Engineering and Technology**, p. 513–566, 2018.

BEUCHAT, L. R.; MANN, D. A. Survival of *Salmonella* in cookie and cracker sandwiches containing inoculated, low-water activity fillings. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 10, p. 1828-1834, 2015.

BIRK, T. *et al.* Growth potential of exponential- and stationary-phase *Salmonella* Typhimurium during sausage fermentation. **Meat Science**, v. 121, p. 342–349, 2016.

BRAINER, M. S. C. P. Produção de coco: O Nordeste é destaque nacional. **Caderno Setorial ETENE**, a. 3, n. 61, p. 1-25, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças transmitidas por alimentos**. Brasília, DF, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/d/doencas-transmitidas-por-alimentos>>. Acesso em: 19 mai. 2021.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. National Outbreak Reporting System. **NORS Dashboard**. 2018a. Disponível em: <https://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/>. Acesso em: 09 jan. 2020.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Multistate outbreak of *Salmonella* Mbandaka infections linked to Kellogg's honey smacks cereal (Final Update)**. 2018b. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/mbandaka-06-18/index.html>. Acesso em: 19 out. 2019.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Multistate outbreak of *Salmonella* Typhimurium infections linked to dried coconut (Final update)**. 2018c. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-03-18/index.html>. Acesso em: 20 dez. 2019.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Multistate outbreak of *Salmonella* infections linked to coconut tree brand frozen shredded coconut (Final update)**. 2018d. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/coconut-01-18/index.html>. Acesso em: 20 dez. 2019.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. ***Salmonella***. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>. Acesso em: 9 jan. 2020.

CHANNIAH, L. H. *et al.* Evaluation of thermal inactivation parameters of *Salmonella* in whole wheat multigrain bread. **Food Microbiology**, v. 82, p. 334-341, 2019.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex standard for desiccated coconut (CODEX STAN 177–1991)**. Revision 2011. (2011)

COSBY, D. E. *et al.* *Salmonella* and antimicrobial resistance in broilers: A review. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, p. 408-426, 2015.

CRUMP, J A. *et al.* Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 4, p. 901-937, 2015.

DINI, I. An overview of functional beverages. **Functional and Medicinal beverages**, v. 11, p. 1-40, 2019.

DU, L. *et al.* Inactivation of *Salmonella* spp. in wheat flour by 395 nm pulsed light emitting diode (LED) treatment and the related functional and structural changes of gluten. **Food Research International**, v. 127, p. 108716, 2020.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 17, n.12, p. e05926, 2019.

ESBELIN, J.; SANTOS, T.; HÉBRAUD, M. Desiccation: An environmental and food industry stress that bacteria commonly face. **Food Microbiology**, v. 69, p. 82-88, 2018.

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

FAO/WHO. **Code of hygienic practice for low-moisture foods CAC/RCP 75-2015 amended in 2018**. Codex Alimentarius, p. 1-21, 2018. Disponível em: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXC%2B75-2015%252FCXC_075e.pdf. Acesso em: 19 out. 2019.

FDA. U.S Food and Drug Administration. International Harvest, Inc. **Recalls Organic Go Smile! Raw coconut because of possible health risk**. 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts/international-harvest-inc-recalls-organic-go-smile-raw-coconut-because-possible-health-risk>. Acesso em: 15 abril 2020.

FERREIRA, J. A. *et al.* Characterization of the lipid profile from coconut (*Cocos nucifera* L.) oil of different varieties by electrospray ionization mass spectrometry associated with principal component analysis and independent component analysis. **Food Research International**, v. 123, p. 189-197, 2019.

FERREIRA, I. H. R. M. *et al.* Modeling *Salmonella enterica* fate in fresh-cut pepper (*Capsicum annuum* L.) during storage as a function of temperature and relative humidity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 133, p. 109849, 2020.

FINN, S. *et al.* Mechanisms of survival, responses and sources of *Salmonella* in low-moisture environments. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 331, 2013.

FOOD SAFETY NEWS. **Cake mixes with possible *Salmonella* contamination recalled throughout Canada**. 2020a. Disponível em: <https://www.foodsafetynews.com/2020/03/cake-mixes-with-possible-salmonella-contamination-recalled-throughout-canada/>. Acesso em: 22 mai 2020.

FOOD SAFETY NEWS. **Sweden has *Salmonella* cases connected to French outbreak**. 2020. Disponível em: <https://www.foodsafetynews.com/2020/02/sweden-has-salmonella-cases-connected-to-french-outbreak/>. Acesso em 17 abr. 2020b.

FOOD SAFETY NEWS. **Coconut product from the Philippines recalled for *Salmonella***. 2019. Disponível em: <https://www.foodsafetynews.com/2019/10/coconut-product-from-the-philippines-recalled-for-salmonella/>. Acesso em: 22 maio 2020.

FONG, K. WANG, S. Strain-specific survival of *Salmonella enterica* in peanut oil, peanut shell, and chia seeds. **Journal of Food Protection**, v. 79, p. 361-368, 2016.

FROCHLICH, A. Água de coco: aspectos nutricionais, microbiológicos e de conservação. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.8, n.1, p. 175-181, 2015.

FURTADO, M. M. *et al.* Impact of carrier agents and temperature during storage of dry inocula of *Salmonella enterica*: A contribution to the validation of low water activity foods processing interventions. **LWT – Food Science and Technology**, v. 131, p. 109705, 2020.

GABRIEL, A. A.; TONGCO, A. M. P.; BARNES JR, A. A. Utility of UV-C radiation as anti-*Salmonella* decontamination treatment for desiccated coconut flakes. **Food Control**, v. 71, p. 117-123, 2017.

GABRIEL, A. A., NEPOMUCENO, I. N. Thermal and ultraviolet-c inactivation of *Salmonella enterica* in cold-pressed virgin coconut oil. **LWT – Food Science and Technology**, v.123, p. 109092, 2020.

GARCES-VEGA, F. J., RYSER, E. T., MARKS, B. P. Relationships of water activity and moisture content to the thermal inactivation kinetics of *Salmonella* in low-moisture foods. **Journal Food Protection**, v. 82, p. 963–970, 2019.

GAUTAM, B. *et al.* Influence of water activity on the heat resistance of *Salmonella enterica* in selected low-moisture foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 334, p. 108813, 2020.

GAWADE, P.; GHOSH, P. Genomics driven approach for identification of novel therapeutic targets in *Salmonella enterica*. **Gene**, v. 668, p. 211-220, 2018.

GAYÁN, E. *et al.* Stress-induced evolution of heat resistance and resuscitation speed in *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43888. **Applied and Environmental Microbiology**, v.82, p. 6656–6663, 2016.

GEERAERD, A. H., HERREMANS, C. H., VAN IMPE, J. F. Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment. **International Journal of Food Microbiology**, v. 59, p. 185–209, 2000.

GIL, M. M. *et al.* Mathematical models for prediction of temperature effects on kinetic parameters of microorganisms' inactivation: tools for model comparison and adequacy in data fitting. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, p.2208-2225, 2017.

GRAZIANI, C. *et al.* **Chapter 5 – *Salmonella***. In DODD, C. E. R.; ALDSWORTH, T. STEIN, R. A.; CLIVER, D. O.; RIEMANN, H. P (ed). Foodborne Diseases, 3. Ed. Academic Press, p. 133-169, 2017.

GYMOESE, P. *et al.* Investigation of outbreaks of *Salmonella* enterica serovar typhimurium and its monophasic variants using whole-genome sequencing, Denmark. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 10, p. 1631-1639, 2017.

HUANG, L. IPMP Global Fit – A one-step direct data analysis tool for predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 262, p. 38-48, 2017a.

HUANG, L. Dynamic kinetic analysis of growth of *Listeria monocytogenes* in a simulated comminuted non-cured cooked pork product. **Food Control**, v. 71, p. 160-167, 2017b.

IBRAHIM, G. M.; MORIN, P. M. *Salmonella* serotyping using whole genome sequencing. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2993, 2018.

KAPETANOKOU, A. E. *et al.* Modelling the effect of osmotic adaptation and temperature on the non-thermal inactivation of *Salmonella* spp. on brioche-type products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 296, p. 48-57, 2019.

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, 2013.

KELLER, S. E. *et al.* Survival of *Salmonella* on chamomile, peppermint, and green tea during storage and subsequent survival or growth following tea brewing. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 4, p. 661-667, 2015.

KERR, W. L. **Chapter 14 – Food drying and evaporation processing operations.** In KUTZ, M. (ed). Handbook of Agricultural and Farm Machinery Engineering, 3 Ed. p. 353-387, 2019.

KOUTSOUMANIS, K. P.; LIANOU, A.; GOUGOULI, M. Latest developments in foodborne pathogens modeling. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 89-98, 2016.

KOVACS, N. Salmonellae in desiccated coconut, egg pulp, fertilizer, meat-meal and mesenteric glands: preliminary report. **Medical Journal of Australia**, v. 46, p. 557-559, 1959.

KUMAR, S. *et al.* Desiccated coconut industry of Sri Lanka: opportunities for energy efficiency and environmental protection. **Energy Conversion and Management**, v. 44, n. 13, p. 2205-2215, 2003.

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

LAMBERTINI, E. *et al.* Modeling the long-term kinetics of *Salmonella* survival on dry pet food. **Food Microbiology**, v. 58, p. 1-6, 2016.

LATHROP, A. A.; TAYLOR, T.; SCHNEPF, J. Survival of *Salmonella* during baking of peanut butter cookies. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 4, p. 635-639, 2014.

LIU, S. Q. **Coconut Handbook.** Tetra Pak South East Asia Pte Ltd. 2016. Disponível em: <http://www.tetrapak.com/about/coconut-handbook>. Acesso em: 10 jan. 2020.

LÖFSTRÖM, C. *et al.* *Salmonella*: Salmonellosis. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 701-705, 2016.

MELLACHERUVU, S.; TALAKAYALA, A.; GARLADINNE, M. Crop improvement of cereals through manipulation of signaling pathways in response to drought stress. In: **Plant Signaling Molecules**. **Woodhead Publishing**, p. 125-139, 2019.

MELO, A. N. F. *et al.* Successive exposure to *Mentha piperita* L. essential oil affects the culturability and induces membrane repair in a persister epidemic *Salmonella* Typhimurium PT4. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, p. 104264, 2020.

MELO, A. N. F. *et al.* Genomic investigation of antimicrobial resistance determinants and virulence factors in *Salmonella enterica* serovars isolated from contaminated food and human stool samples in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 343, p. 109091, 2021.

MEMBRE, J.; GUILLOU, S. Latest developments in foodborne pathogen risk assessment. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 120-126, 2016.

MOHAMMAD, Z. H. *et al.* Effect of post inoculation drying procedures on the reduction of *Salmonella* on almonds by thermal treatments. **Food Research International**, v. 130, p. 108857, 2020.

MOON, Y. Gastrointestinal exposome for food functionality and safety. In: **Diet, Microbiome and Health**. Academic Press, p. 409-437, 2018.

MUTZ, Y. S. *et al.* *Salmonella enterica*: A hidden risk for dry-cured meat consumption?. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–15, 2019.

NASCIMENTO, M. S. Editorial overview: Food microbiology. **Current Opinion in Food Science**, v. 26, p. III-IV, 2019.

NASCIMENTO, M. S. *et al.* Long-term kinetics of *Salmonella* Typhimurim ATCC 14028 survival on peanuts and peanut confectionery products. **Plos One**, v. 13, n. 2, p. e0192457, 2018.

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

NIAKOUSARI, M. *et al.* Effects of innovative processing technologies on microbial targets based on food categories: Comparing traditional and emerging technologies for food preservation. In: **Innovative Technologies for Food Preservation**. Academic Press, p. 133-185, 2018.

OAKESON, K. F. *et al.* Bioinformatic analyses of whole-genome sequence data in a public health laboratory. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, p. 1441–1445, 2017.

- OCHOA-VELASCO, C. E. *et al.* Effect of UV-C light on *Lactobacillus rhamnosus*, *Salmonella Typhimurium*, and *Saccharomyces cerevisiae* kinetics in inoculated coconut water: Survival and residual effect. **Journal of Food Engineering**, v. 223, p. 255-261, 2018.
- OSAILI, T. M. *et al.* Effect of storage temperatures and stresses on the survival of *Salmonella* spp. In halva. **Letters in Applied Microbiology**, v. 65, n. 5, p. 403-409, 2017.
- PANZENHAGEN, P. H. N. *et al.* Comparative genome analysis and characterization of the *Salmonella* Typhimurium strain CCRJ_26 isolated from swine carcasses using whole-genome sequencing approach. **Letters in Applied Microbiology**, v. 66, p. 352-359, 2018.
- PÉREZ-RODRÍGUEZ, F., VALERO, A. **Predictive microbiology in foods**. Springer, New York, NY, 2013. p. 1–10.
- PEREIRA, A. A. M. *et al.* Evaluation of the thermal resistance of *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 after long-term blanched peanut kernel storage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 117, p. 108701, 2020.
- PINTO, D. *et al.* Thirty years of viable but nonculturable state research: unsolved molecular mechanisms. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 61–76, 2015.
- PITTIA, P.; ANTONELLO, P. **Chapter 2 - Safety by control of water activity: Drying, smoking, and salt or sugar addition**. In PRAKASH, V.; MARTÍN-BELLOSO, O.; KEENER, L.; ASTLEY, S.; BRAUN, S.; MCMAHON, H.; LELIEVELD, H. (Ed). *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods*, p. 7-28, 2016.
- PORTELA, J. B. *et al.* Predictive model for inactivation of *Salmonella* in infant formula during microwave heating processing. **Food Control**, v. 104, p. 308-312, 2019.
- PRESTES, F. S. *et al.* Effects of peanut drying and blanching on *Salmonella* spp. **Food Research International**, v. 119, p. 411-416, 2019.
- PULIDO-LANDÍNEZ, M. Food Safety-*Salmonella* update in broilers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 250, p. 168-173, 2019.
- RAHMAN, S. U. *et al.* The growing genetic and functional diversity of extended spectrum beta-lactamases. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.
- RODRIGUEZ, M. J. B.; VADAMALAI, G.; RANGLES, J. W. **Chapter 4 - Economic significance of palm tree viroids**. In HADIDI, A.; FLORES, R.; RANGLES, J. W.; PALUKAITS, P. (Ed). *Viroids and satellites*. Academic Press, p. 39-49, 2017.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ, V. *et al.* Deterministic and probabilistic predictive microbiology-based indicator of the listeriosis and microbial spoilage risk of pasteurized milk stored in residential refrigerators. **LWT – Food Science and Technology**, v. 117, p. 108650, 2020.
- SABAREZ, H. Drying of Food Materials. **Reference Module in Food Science**, p. 1-10, 2016.

SALEM, W. M. *et al.* Alterations in virulence and antibiotic resistant genes of multidrug-resistant *Salmonella* serovars isolated from poultry: the bactericidal efficacy of *Allium sativum*. **Microbial pathogenesis**, v. 108, p. 91-100, 2017.

SANTILLANA FARAKOS, S. M.; POUILLOD, R.; KELLER, S. E. *Salmonella* survival kinetics on pecans, hazelnuts, and pine nuts at various water activities and temperatures. **Journal of Food Protection**, v. 80, p. 879-885, 2017.

SANTILLANA FARAKOS, S. M.; HICKS, J. W.; FRANK, J. F Temperature resistance of *Salmonella* in low-water activity whey protein powder as influenced by salt content. **Journal of Food Microbiology**, v. 77, p. 631-634, 2014

SEMPLE, A. B.; PARRY, W. H.; GRAHAM, A. J. Paratyphoid fever traced to desiccated coconut. **Lancet London**, v. 2, n. 7198, p. 364–365, 1961.

SHETE, Y. V. *et al.* Development of process technology for desiccated coconut powder. **Agricultural Engineering Today**, v. 40, n. 3, p. 11-20, 2016.

SILVA, M. B. R. ***Salmonella* spp. em pontos críticos da cadeia de produção de hortaliças orgânicas no Estado de São Paulo: contribuição para avaliação de risco.** 2019. Dissertação (Mestrado em Bromatologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

SINDCOCO. **Boletim Conjuntural – Importações de coco ralado, de água de coco e de turfa.** Balanço do mês de junho 2019. 2019. Disponível em: <http://www.sindcoco.com.br/>. Acesso em: 15 dez. 2019.

SMITH, D. F *et al.* Modeling the effect of temperature and water activity on the thermal resistance of *Salmonella* Enteritidis PT 30 in wheat flour. **Journal of Protection**, v. 79, p. 2058-2065, 2016.

SOARES, G. L. **Aproveitamento da polpa do coco verde submetida ao congelamento rápido e lento.** 2014. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

SOUZA, V.; KOUTCHMA, T. **Ultraviolet light microbial inactivation in liquid foods.** Innovative Food Processing Technologies, Canada, p. 146-170, 2020.

STONE, W. *et al.* Microbes at surface-air interfaces: the metabolic harnessing of relative humidity, surface hygroscopicity, and oligotrophy for resilience. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1563, 2016.

SYAMALADEVI, R. M. *et al.* Influence of water activity on thermal resistance of microorganisms in low-moisture foods: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 2, p. 353-370, 2016.

TADAPANENI, R. K. *et al.* Design of a novel test cell to study the influence of water activity on the thermal resistance of *Salmonella* in low-moisture foods. **Journal of Food Engineering**, v. 208, p. 48-56, 2017.

TACK, D. M. *et al.* Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food—Foodborne diseases active surveillance network, 10 US sites, 2015–2018. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 68, n. 16, p. 369, 2019.

TAYLOR, B. J.; QUINN, A. R.; KATAOKA, A. Review *Listeria monocytogenes* in low-moisture foods and ingredients. **Food Control**, v. 103, p. 153-160, 2019.

USDA – United States Department of Agriculture. **Overview of predictive microbiology**. Predictive Microbiology Information Portal. 2016. Disponível em: <https://portal.errc.ars.usda.gov/Overview.aspx>. Acesso em: 19 out. 2019.

VAN PUYVELDE, S. *et al.* An African *Salmonella* Typhimurium ST313 sublineage with extensive drug-resistance and signatures of host adaptation. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2019.

VERBRUGGHE, E. *et al.* Host stress drives *Salmonella* recrudescence. **Scientific reports**, v. 6, p. 20849, 2016.

VILLA-ROJAS, R. *et al.* Thermal inactivation of *Salmonella* Enteritidis PT 30 in almond kernels as influenced by water activity. **Journal of Protection**, v. 76, p. 26-32, 2013.

XIONG, J.; WU, H. Y.; YE, J. Variation of structures of ingredients of desiccated coconut during hydrolysis by hydrochloric acid at low temperature. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 593-598, 2017.

WALLACE, T. C. Health effects of coconut oil—A narrative review of current evidence. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 38, n. 2, p. 97-107, 2019.

WILSON, M. M.; MACKENZIE, E. F. Typhoid fever and salmonellosis due to the consumption of infected desiccated coconut. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 18, n. 3, p. 510–521, 1955.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Food safety**. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Acesso em: 09 jan. 2020.

ZHAO, Y. *et al.* Fabrication and characteristics of cellulose nanofibril films from coconut palm petiole prepared by different mechanical processing. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 96-101, 2015.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão produzidos durante o desenvolvimento da dissertação estão expostos em formato de artigo científico em atendimento a Norma Complementar nº 03/2011 do PPGCTA.

4.1 ARTIGO I: *Shaping the behavior of Salmonella enterica* in conventionally and osmotically dehydrated coconut flakes in distinct storage scenarios

(O artigo foi submetido ao periódico Food Microbiology; Fator de Impacto 4,155)

Shaping the behavior of *Salmonella enterica* in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes in distinct storage scenarios

Running title: *Salmonella* inactivation in dehydrated coconut-flakes

Abstract

This study evaluated the behavior of *Salmonella enterica* (*S. Enteritidis* PT4, *S. Typhimurium* PT4, *S. Bredeney*, *S. Muenster* and *S. Agona*) in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes in four distinct scenarios of the storage conditions at room (25 ± 1 °C) and/or refrigerated temperature (7 ± 1 °C) over 120 days. Membrane integrity and metabolic activity was investigated in *S. enterica* cells were also assessed. Log-linear + tail and log-linear + shoulder + tail models showed good fit the survival curves of *S. enterica* in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes over storage, respectively with $R^2 > 0.9$ in most scenarios. Lower *S. enterica* inactivation rates (k_{max} 0.02 to 0.04 days⁻¹) were observed in coconut-flakes conventionally dehydrated compared to osmotically dehydrated (k_{max} 0.16 to 0.20 days⁻¹). Changes in storage temperature did not affect the behavior of *S. enterica* in dehydrated coconut-flakes conventionally or osmotically dehydrated coconut-flakes. Larger subpopulations of *S. enterica* cells with damaged membrane and without metabolic activity were observed in conventionally dehydrated coconut-flakes in the beginning of storage, however it decreased after 120 days of storage. In contrast, the damaged *S. enterica* subpopulations in osmotically dehydrated coconut-flakes increased or did not change at the end of storage. Results show the *S. enterica* behavior in dehydrated coconut-flakes over four-month storage and alert for the great survival and occurrence of cell repair when conventional dehydration is used.

Keywords: salmonellosis, coconut, low-moisture foods, predictive modeling, inactivation

1. Introduction

Salmonella enterica is one of the main etiological agents of foodborne diseases worldwide, causing more than 100.000 deaths per year (CDC, 2020; WHO, 2020). Salmonellosis outbreaks have been related to a range of foods such as chicken meat, eggs and derived products, seafood, fresh-produce more recently, to low-moisture foods (Campioni et al., 2018; Gautam et al., 2020).

Low-moisture foods (LMFs) refer to the foods with water activity (a_w) below 0.85, which was for a long time considered an intrinsic factor capable of hindering the growth of pathogens, including *S. enterica*, therefore of "low risk" concerning food safety (Sánchez-Maldonado et al., 2018). However, reports of LMFs such as bakery products, nut butter, dried pistachios, and infant formula associated with multi-state outbreaks in European and American countries (EFSA, 2020; FDA, 2018) have challenged this statement.

S. enterica does not grow in a_w below 0.94, but it can persist in LMFs for long periods (Nascimento et al., 2018). Serovars, such as *S. Bredeney*, *S. Agona*, *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium*, stand out as prevalent etiological agents in salmonellosis outbreaks linked to LMFs such as peanut butter, cereals and dried coconut, respectively (CDC, 2020). Coconut is mainly produced in Philippines, Indonesia, India and Brazil but consumed worldwide (Wallace, 2019). Consumption of coconut-derived products (e.g. water, oil, coconut chips and flakes) has been associated to health benefits (Oduro-Yeboah et al., 2020) because they have good amounts of vitamins (C and B1 complex) and minerals such as potassium and manganese (Shete et al., 2016). The fresh coconut almond has around 42.2 % moisture, 37% fat, 7.5% protein and 12.3% carbohydrates (Appaiah et al., 2014). In addition, the derived flakes are fiber rich (~ 42%) with better water-holding, water retention and swelling capacities compared to other fruit and cereal dietary fibers (Arumugan et al., 2014).

Coconut flakes stand out among other coconut products because they are largely consumed as fillings ingredients cakes, bread, biscuits, ice creams and desserts, among other foods (Lamdande et al., 2018). Flakes are obtained by scraping the white coconut almond after removal from the endocarp and the thin film (tegument) covering the almond (Ferretino et al., 2015). Since fresh coconut flakes are highly perishable due to high fat, sugar and moisture contents, their dehydration allows the global market with longer shelf life (Lamdande et al., 2018).

The dehydration process classically used for dried coconut-flakes is the conventional hot air drying at 50-70 °C (Shete et al., 2016) to reach a moisture content around 4.0% (Codex Alimentarius, 2011; Siriphanich et al., 2011). Osmotic-dehydration is also widely used to process coconut-flakes for water removal through osmosis using a high sugar concentration solution followed by drying (Prosapio and Norton, 2018). However, drying temperature used in conventional or osmotic-dehydration of coconut-flakes are not enough to ensure safety concerning *S. enterica* contamination (Anderson, 2019).

The coconut-flakes can be contaminated with *S. enterica* during processing if the raw material has low quality or cross-contamination at any stage of the processing (Gabriel and Nepomuceno, 2020). An outbreak caused by frozen shredded coconut contaminated with *S. enterica* (strains 4, [5], 12: b: - and *S. Newport*) gained great attention in 2018 due to infection of people in 9 distinct U.S. states (CDC, 2018). In the same year, another outbreak was notified in U.S. involving dried coconut contaminated with *S. Typhimurium*, infecting 14 people in 8 states (CDC, 2018).

Further, in 2020, news recalls of frozen shredded coconut for possible *Salmonella* contamination were announced in the country (FDA, 2020). However, little is known about the persistence of *S. enterica* in coconut-flakes during long-term storage used by consumers. Information about the behavior of *S. enterica* in dehydrated coconut-flakes under storage

conditions is important to understand kinetic parameters of this pathogen, providing the basement to establish safe parameters and contribute to risk management strategies.

In this study, we assessed the behavior of *Salmonella enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Bredeney*, *S. Muenster*, and *S. Agona*) in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes in four distinct scenarios of the storage conditions at room (25 ± 1 °C) and refrigerated temperature (7 ± 1 °C) over 120 days. Primary mathematical models were applied to predict *S. enterica* fate on dehydrated coconut-flakes under the evaluated conditions. Membrane physiological functions and metabolic activity of *S. enterica* cells were measured in the beginning and end of the storage through flow cytometry.

2. Material and methods

2.1 *Salmonella* strains and inoculum preparation

Five strains were selected for study, namely *S. Enteritidis* PT4 (CFSAN077723), *S. Typhimurium* PT4 (CFSAN077701), *S. Bredeney* (CFSAN077740), *S. Muenster* (CFSAN077773) isolated from food involved in outbreaks (whole-genome available at [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/?term=STRAIN CODE](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/?term=STRAIN+CODE)) (Melo et al., 2021) and *S. Agona* (IOC 2305) isolated from soybean bran (Furtado et al., 2020). Stock cultures were stored at -80 °C in Tryptic Soy Broth (TSB; Himedia, India) containing glycerol 20 % v/v.

Each strain was inoculated separately in TSB and incubated at 37 °C for 18 h. Afterward, the cells were harvest by centrifugation ($4500 \times g$ for 15 min at 4 °C), washed twice and resuspended in saline solution (0.85% NaCl, w/v). Each strain's inoculum was standardized at an optical density at 625 nm of 0.03 that corresponded to $8 \log \text{CFU.mL}^{-1}$. A pooled inocula was prepared at a ratio of 1:1:1:1:1 for each strain and used in experiments.

2.2 Coconut inoculation

Coconut fruits were obtained from the Supplies and Services Company of Paraíba (EMPASA, João Pessoa, Brazil). The fruits were selected based on color, form, uniformity in size and absence of mechanical injuries and visible signs of infection. Fruits were autoclaved at 121 °C 20 min. The process of breaking coconut was carried out with a sanitized hammer inside the safety cabinet aseptically. The white almond (white pulp) was removed and grated to obtain fine flakes of approximately 4 x 1 mm. These procedures were always performed on the same day of the dehydration.

The inoculation in coconut-flakes was performed following procedures described by Du et al. (2020). Briefly, aliquots (10 mL) of pooled *S. enterica* standardized at 8 log CFU.mL⁻¹ were added into coconut-flakes samples (100 g) in stomacher bags (Stomacher®, Biomaster, Brazil) (17.5 × 12.5 cm) manually mixed for 3 min and homogenized by shaking using a vortex for 5 min at 230 rpm (SL 299, Solab, Brazil) at room temperature (25 ± 1 °C). Three coconut-flakes samples were randomly selected, plated, and enumerated on Tryptic Soy Agar (TSA) to confirm the uniformity of inoculum distribution (approximately 7 log CFU.g⁻¹).

2.3 Dehydration treatments

For the conventional-dehydration, inoculated coconut-flakes were uniformly distributed in thin layers and dried at 55 ± 1 °C in an oven (Tron, Catanduva, São Paulo, Brazil) under air circulation for 6 h. The temperature was monitored with a thermocouple data logger (Fluke, model Hydra series II (EUA) (Shete et al., 2016).

For osmotic-dehydration, the inoculated coconut-flakes were immersed in a sucrose solution (40% w/w) and maintained at 50 ± 1 °C for 3 h in a water bath (HWS 24, Edutec, Brazil) (Agarry and Aworanti, 2012). The residual osmotic solution was drained a sterile gauze and the coconut-flakes were dried at 55 °C ± 1 °C for 6 h. The moisture content of dehydrated

coconut-flakes getting was $< 3\%$, determined by drying at 105 ± 1 °C to constant weight (SL-102, Solab, Brazil) (method 941.08) (AOAC, 2016).

After the treatments, the coconut-flakes were divided into portions of 5 and packaged in biaxially oriented polypropylene bags. The bags were randomly distributed in desiccators containing saturated magnesium chloride solution (34% RH, a_w 0.34; Neon, Brazil) to minimize the a_w variation. The desiccators were stored at 25 ± 1 °C and/or 7 ± 1 °C for 120 days in different scenarios. The storage period comprises the mean self-life of ranging from 4-6 months (Fisher and Medeiros, 2010).

2.4. Storage scenarios

The room temperature in the supermarket and retails or domestic environments was defined as 25 ± 1 °C based on meteorological data from the National Meteorology Institute of Brazil (INMET). The refrigeration temperature was considered 7 ± 1 °C as the average temperature peak reached in refrigerated displays and domestic refrigerators (INMET, 2020; James et al., 2017).

The behavior of *S. enterica* in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes was assessed in four scenarios as described in Fig. 1. The scenario I simulated the storage during the entire shelf life of the product at 25 ± 1 °C, which is the temperature commonly used in retails or domestic environments. Scenario II simulated the product's storage at room temperature for 30 days, for example, in the retailer store and thus under refrigeration for the last 90 days of storage in the domestic refrigerator. It is common for consumers to store coconut-flakes in refrigerators after opening them in a mistaken view of freshness guarantee (McCurdy et al., 2009). Scenario III simulated the product's storage at refrigerated displays for 30 days and at room temperature after this period to assess the inverse conditions proposed for scenario II simulating refrigeration in the retailer and without refrigeration in the domestic environment.

Finally, scenario IV simulated the whole storage period under refrigerating conditions simulating the entire shelf life in a refrigerated display in the retailer store and refrigerator at the domestic environment.

*2.5 Enumeration of *S. enterica* viable cells during storage and water activity (a_w)*

Enumeration of *S. enterica* for each treatment and scenario was performed immediately after the dehydration and every 7 days for 120 days of storage. Coconut-flakes samples were serially diluted in saline solution, drop plated in TSA (20 μ l/drop) and incubated at 37 °C for 24 h. Results were expressed as log CFU.g⁻¹. The detection limit was 1.5 log CFU.g⁻¹. The analysis of a_w was monitored in the same time intervals using an a_w instrument (Model LabMaster- a_w , Novasina, Lachen, Switzerland) (method 954.68) at 20 $\pm$ 1 °C (AOAC, 2016).

2.6 Flow cytometry analysis

Flow cytometry analysis was used to evaluate membrane integrity and polarization, and metabolic activity of *S. enterica* cells in dehydrated coconut-flakes. The analyzes were performed one day after conventional or osmotic-dehydration and after 120 days at 7 °C and 25 °C following procedures described by Melo et al. (2020) with minor adaptations. Briefly, samples of coconut-flakes were added of phosphate-buffered saline (PBS; 8.0 g.L⁻¹NaCl, 0.20 g.L⁻¹KCl, 1.44 g.L⁻¹Na₂HPO₄, 0.24 g.L⁻¹KH₂PO₄, pH 7.4) and homogenized in vortex for 5 min. After 3 min-resting for sedimentation of coconut flakes, the supernatant was collected. Cells were harvested by (4500 $\times g$ for 10 min at 4 °C), washed twice and resuspended in PBS and double-labeled with propidium iodide (PI, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and bis-1,3-dibutylbarbutyric acid (BOX, Invitrogen, Life Technologies, Eugene, OR, USA) to measure membrane integrity and potential, respectively. Single labeling with 5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride (CTC, Polysciences, Warrington, PA, USA) was used to assess the

metabolic activity. Flow cytometry analysis was performed in a BD Accuri C6 flow cytometer (BD, New Jersey) with sample acquisition at a flow rate setting at 10,000 events acquired. The data were analyzed using BD Accuri C6 Software (BD®, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA). Four quadrants (Q) were defined clockwise starting for membrane integrity of cells as Q1 BOX⁺ and PI⁻; (depolarized and non-permeabilized cells), Q2 BOX⁺ and PI⁺ (depolarized and permeabilized cells), Q3 BOX⁻ and PI⁺ (polarized and permeabilized cells), Q4 BOX⁻ and PI⁻ (polarized and non-permeabilized cells). Two quadrants were defined for cell metabolic activity left quadrant CTC⁻ (cells without metabolic activity) and right quadrant CTC⁺ (cells with metabolic activity). Ethanol-fixed cell and cells not exposed to drying were used as positive and negative control, respectively.

2.7 Modeling the survival of *Salmonella* in coconut-flakes

Each treatment's survival curves were fitted separately, using Solver add-in for Microsoft Office Excel v1.6 (Microsoft, WA, USA). The curves were fitted by log-linear + tail (Eq. 1) and log-linear + tail + shoulder (Eq. 2) (Geeraerd et al., 2000).

$$\log_{10}(N) = \log_{10}[(10^{\log_{10}(N_0)} - 10^{\log_{10}(N_{res})}) * e^{-k_{max}*t} + 10^{\log_{10}(N_{res})}] \quad (\text{Eq.1})$$

$$\log_{10}(N) = \log_{10}[(10^{\log_{10}(N_0)} - 10^{\log_{10}(N_{res})}) * e^{-k_{max}*t} * \left(\frac{e^{k_{max}Sl}}{1 + (e^{k_{max}Sl} - 1) * e^{-k_{max}*t}} \right) + 10^{\log_{10}(N_{res})}] \quad (\text{Eq.2})$$

where, k_{max} is the inactivation rate (days); Sl , the shoulder-length duration; $\log N_0$, the initial population (CFU.g⁻¹) and $\log N_{res}$, residual population (CFU.g⁻¹) determined after treatment.

The regression coefficient (R^2) (Eq. 3) and Root Mean Square Error (RMSE) (Eq. 4). were used to evaluate the model fit. Higher R^2 values and lower RMSE are correlated with better model fit.

$$R^2 = 1 - \left(\frac{\sum e_i^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \right) \quad (\text{Eq.3})$$

where e_i is the error of the predictive data; y_i is the predictive data, and $\bar{y}$ is the average of predictive data

$$\text{RMSE} = \frac{\sum (\text{pred} - \text{obs})^2}{n - p} \quad (\text{Eq. 4})$$

where pred and obs denote the predictive and observed microbial population, n is the number of data point, and p is number of parameters.

2.8 Statistical analysis

Assays were performed in triplicate in three independent experiments. For flow cytometry analysis the data are expressed as average percentage $\pm$ standard deviation of cell subpopulations. The significant differences ($p < 0.05$) were determined using ANOVA followed by the Tukey's test or Student's t-test. Statistical analysis was done using Sigma-Stat 3.5 software (Jandel Scientific Software, San Jose, California).

3. Results and Discussion

3.1 Water activity and viable cells in coconut-flakes during long-term storage

Conventional-dehydration and osmotic-dehydration reduced less than 1 log CFU.g⁻¹ of *S. enterica* in coconut-flakes (Supplementary Table 1). *S. enterica* can have exceptional thermal resistance and survive in LMFs (Malekmohammadi et al., 2020). This increased thermal resistance may involve physiological cellular changes, such as the synthesis of heat shock proteins, mutations in the gene, and changes in the composition of the lipid membrane (Dawoud et al., 2017).

Reductions around $\sim 1 \log \text{CFU.g}^{-1}$ were previously observed in peanuts (a_w 0.43) dehydrated for 8 h at 35 and 40 °C (Prestes et al., 2019). In contrast, reductions of $5.4 \log \text{CFU.g}^{-1}$ of *S. enterica* were reported in blueberries dehydrated in a 75% w/v sucrose solution followed by drying at 35° C for 15 h (Bai et al., 2020). The low *S. enterica* decrease observed in coconut-flakes osmotically dehydrated in our experiment may be related to the lower sucrose concentration used and longer drying time, but primarily to food composition. The main factors beyond kinetics of osmosis in foods include chemical composition, physical structure, porosity, shape/geometry, and size, which directly affect the solute migration (Bai et al., 2020), and the environment offered for *S. enterica* cells.

Conventionally dehydrated coconut-flakes reached a_w values between 0.35 ± 0.03 and 0.34 ± 0.02 , while osmotically dehydrated coconut-flakes achieved a_w values between 0.31 ± 0.03 and 0.29 ± 0.03 . Over the 120 days of storage, no changes ($p \geq 0.05$) were observed in a_w values of conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes in the distinct scenarios assayed (data not shown). The a_w is a parameter that directly influences the survival ability of *S. enterica* in foods. The stress caused by the low a_w leads to the activation of cross-protection mechanisms, favoring the survival of *S. enterica* in LMF for extended periods (Pereira et al., 2020).

3.2 Modeling of *S. enterica* survival in coconut-flakes

Over the storage period, counts of *S. enterica* decreased approximately $0.5 \log \text{CFU.g}^{-1}$ in conventionally dehydrated coconut-flakes. The population remained stable in all evaluated scenarios with values close to $6.0 \log \text{CFU.g}^{-1}$ at the end of the storage (Supplementary Table 1). In contrast, *S. enterica* counts decreased approximately $3.0 \log \text{CFU.g}^{-1}$ in osmotically dehydrated coconut-flakes reaching final populations of 2.8 to $3.06 \log \text{CFU.g}^{-1}$ after 120 days (Supplementary Table 1).

Kinetic parameters of survival models for *S. enterica* in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes during storage are describe in Table 1. The log-linear + tail and log-linear + shoulder + tail models (Geeraerd et al., 2020) showed a good fit to the inactivation data of *S. enterica* in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes over storage, respectively. In most of the cases, R^2 values were higher than 0.9 (Table 1). The lowest RMSE values (0.01) were observed for models in scenarios III and IV of conventionally dehydrated coconut-flakes (Table 1). Overall, a good agreement was observed between the prediction and the observed experimental data of *S. enterica* in dehydrated coconut-flakes (Fig. 1-2).

Survival curves for conventionally dehydrated coconut-flakes are shown in Fig. 2 A-D. In general, counts decreased 0.5 log CFU.g⁻¹ was observed in the first 100 days of storage with k_{max} ranging from 0.01 to 0.04 days⁻¹. Consequently, a high residual population (N_{res} , ~6 log CFU.g⁻¹) was observed at the end of the storage period for the four scenarios evaluated (Table 1). These results are consistent with previous studies that demonstrate the highly adaptive capacity of *S. enterica* to survive on LMFs for long periods (Jin et al., 2018).

The inactivation rate of *S. enterica* in LMFs, can be affected by the a_w , storage temperature, food components, and intrinsic characteristics of the strain. Malekmohammadi et al. (2020) reported higher k_{max} values (around 0.07 day⁻¹) for *S. Enteritidis*, *S. Montevideo*, *S. Tennessee*, and *S. Agona* in flaxseed (a_w 0.48) stored 24 weeks at 22 °C than those observed here in conventionally dehydrated coconut-flakes. Otherwise, *S. enterica* (*S. Typhimurium*, *S. Tennessee*, *S. Agona* e *S. Montevideo*) showed k_{max} 0.001 to 0.005 day⁻¹ in whey protein powder (a_w 0.41 to 0.53) stored at 21 °C for six months with an increase in k_{max} directly related to increasing of a_w (Santillana Farakos et al., 2013). In contrast, in dry pet food, *S. enterica* reduced ~ 3 log CFU.g⁻¹ in the earlier 54 days of storage with a further progressive slowed decrease between 54 and 100 days at room temperature with a k_{max} of 0.15 day⁻¹ (Lambertini et al. 2016).

Survival curves of *S. enterica* in osmotically dehydrated coconut-flakes samples during storage at different scenarios are shown in Fig. 3 A-D. As observed, the *S. enterica* population remains stable for ~50 days. This behavior suggests that osmotic stress before heat treatment may temporarily protect bacterial cells by sugars absorbed in dried coconut-flakes during the earlier period of storage (Rachon et al., 2016). Besides, during osmotic dehydration, sugars may cover the cells limit the migration of moisture from the headspace into the bacterial cells resulting in increased resistance of *S. enterica* cells (Alshammari et al., 2020). However, it did not protect *S. enterica* cells in prolonged exposure to a low a_w environment in coconut-flakes, since between 51st and 100th days, a faster decline of the population was observed. The k_{max} values in osmotically dehydrated coconut-flakes reached up to 0.20 day⁻¹, leading to a reduction of around 3 log CFU.g⁻¹ in the period, regardless of the scenario (Table 1). Curiously, a further stable population was observed in the remained period.

In response to stresses such as exposure to low-moisture environments, the *rpoS* gene regulates the stress response in *S. enterica* by changing the gene expression and consequently activating alternative metabolic pathways to improve survival (Mandal and Kwon, 2017). However, the behavior of *S. enterica* in osmotically dehydrated coconut-flakes seems to be associated with a progressive inactivation of the most susceptible subpopulation after exposure of multiple stresses (osmotic, thermal and low a_w), despite of an initial resistance. Nevertheless, it is also possible that the residual population observed in conventionally dehydrated coconut-flakes comprises new cells replacing those inactivated over time.

Furthermore, the storage temperature did not shape the behavior of *S. enterica* to survive in coconut-flakes with almost no influence in the inactivation parameters, which varied with the dehydration process. These results contrast previous reports that *S. enterica* survive for more extended storage periods in LMFs such as sucrose (Beuchat et al., 2017), tahini (Osaili et al., 2017) and pine nuts (Farakos et al., 2017) under refrigeration (4-10 °C) than at room

temperature (25 °C). These findings are worrisome concerning microbiological safety and show that refrigerate temperature would not provide an additional obstacle to *S. enterica* survival in dehydrated coconut-flakes.

3.3 Flow cytometry analyses

The density plots of dual staining with BOX-PI resulted in four different subpopulations of *S. enterica* in conventionally and osmotic dehydrated coconut flakes (Supplementary Figure 1). At the beginning of storage, larger subpopulations ($p < 0.05$) of depolarized and permeabilized, and depolarized and non-permeabilized *S. enterica* cells were observed in conventionally dehydrated coconut-flakes compared to those osmotically dehydrated (Table 2). However, the size of *S. enterica* damaged subpopulations in conventionally dehydrated coconut-flakes decreased ($p < 0.05$) after 120 days of storage at 25 °C. The subpopulation of *S. enterica* depolarized and permeabilized cells decreased ($p < 0.05$) by approximately 9%, while 15% of *S. enterica* depolarized and non-permeabilized cells became polarized (Table 2), suggesting the activation of repair mechanisms. The subpopulation of polarized and permeabilized cells in conventionally dehydrated coconut-flakes remained stable after 120 days, regardless of the storage temperatures. The lack of changes in this subpopulation also suggests cell protection mechanisms. Once the membrane is permeabilized, it will further permit the permeability of small ions compromising the membrane potential (Souza Pedrosa et al., 2020) increasing one of the subpopulations with depolarized cells. Similar results were found for storage at 7 °C of conventionally dehydrated coconut-flakes.

When subjected to sublethal stresses, bacterial cells can repair themselves and gain resistance to environmental stresses that occur during food processing or storage (Gómez-Baltazar et al., 2019; Yang et al., 2015). These results partially explain the behavior of *S. enterica* as described by the non-linear kinetics parameters with a very low inactivation rate

over storage and a period of a stable population. Overall, the findings indicate that the high residual population of *S. enterica* observed in coconut-flakes conventionally dehydrated comprised the resistant cell population that survived the imposed low a_w and a subpopulation of cells damaged able to repair, which probably replaced in part the inactivated subpopulation. In summary, observations of flow cytometry analysis corroborate for the explanation of the non-reduction of viable cells during storage at temperatures of 7 or 25 °C of conventionally dehydrated coconut-flakes.

In contrast, the size of the *S. enterica* subpopulation (depolarized and permeabilized cells) in osmotically dehydrated coconut-flakes did not change after 120 days of storage at 7 or 25 °C of (Table 2). Exposure of *S. enterica* to osmotic stress leads to shrinkage of the microbial cell causing changes in its structure, function and viability, causing an imbalance of intracellular metabolites and, therefore, affects various physiological processes, such as nutrient absorption, DNA replication and division cellular (Burgess et al. 2016). Interestingly, results of flow cytometry analysis suggest that osmotic-dehydration caused less initial damage to cell membrane *S. enterica* cells compared to conventional-dehydration, supporting the hypothesis of cell protection by sugar, through the formation of a glassy state with sufficient viscosity in and around a cell to interrupt molecular mobility to a minimum (Rachon, 2017), and explaining in part the behavior (shoulder) in the first weeks of storage. However, the subpopulation of *S. enterica* depolarized and non-permeabilized (~18%) in osmotically dehydrated coconut-flakes increased ($p < 0.05$) up to ~55% during storage at 7 °C of osmotically dehydrated coconut-flakes and up to ~47% at 25 °C, with consequent decrease ($p < 0.05$) of the subpopulation of *S. enterica* polarized and non-permeabilized cells (non-damaged cells; Table 2). Depolarization of the membrane may precede membrane permeabilization and, consequently, damage to bacterial cells. Depolarization of the membrane occurs due to the accumulation of molecules within the membrane, thus increasing its permeability to ions and causing dissipation of the

transmembrane ion gradient. Therefore, permeabilization can be triggered as an extension of these events (Melo et al., 2020). In addition, the subpopulation of polarized and permeabilized cells of *S. enterica* in osmotically dehydrated coconut-flakes decreased after storage, possibly because cells became also depolarized. These results suggest that the reductions observed in cultivable population of *S. enterica* during storage at 7 or 25 °C resulted in part of the increase of the subpopulation with membrane integrity loss. It is possible that the low-moisture environment during storage intensified the initial damage resulting in cell inactivation. It is worthy to mention that the increase in the subpopulation with depolarized cells was higher under refrigerated temperature compared to room temperature. However, no differences were noted in enumerated viable cells. Is it possible that part of the population entered the VBNC state.

Fluorescence density plots (Supplementary Figure 2) of *S. enterica* cells stained with CTC showed cell subpopulation with and without metabolic activity in conventionally and osmotically dehydrated coconut-flakes. A larger subpopulation ($p < 0.05$) of *S. enterica* cells without metabolic activity was observed in conventionally dehydrated coconut-flakes compared to osmotic-dehydration (Table 3). No changes were observed in the *S. enterica* subpopulation without metabolic activity after storage at 7 or 25 °C in osmotically dehydrated coconut-flakes, while it reduced in conventionally dehydrated coconut-flakes (Table 3) in accordance with membrane integrity measurements. Overall, it should be noted that regardless of the dehydration method, in desiccated cells, the reduction in metabolic activity occurs because only vital pathways are maintained to sustain the survival in LMFs (Chen and Jiang, 2017).

Conclusions

The log-linear + tail and log-linear + shoulder +tail models showed good fit to the experimental data, and a good agreement was observed between the predicted and observed values. In comparison to scenario I, scenario IV of osmotically dehydrated coconut flakes storage showed a higher k_{max} value (0.20 days^{-1}). In general, higher k_{max} values were observed in osmotically dehydrated coconut flakes compared to conventionally dehydrated coconut flakes, regardless of the storage scenario. The subpopulations of damaged *S. enterica* cells did not change or increase in osmotically dehydrated coconut flakes after 120 days of storage, while they decreased in conventionally dehydrated coconut-flakes. Our findings contrast previous evidences that osmotic stress as a hurdle step can protect desiccated *S. enterica* cells during prolonged storage. In view of the results, it can be suggested that a better option for dehydrated coconut-flakes stored for months concerning possible contamination with *S. enterica* is osmotic dehydration. However, other parameters must also be considered, such as the choice of good quality raw material, adoption of effective measures of hygiene measures by the food industry throughout the processing, minimizing risks of contamination by *S. enterica* in dehydrated coconut-flakes.

Acknowledgements

Authors would like to thank the “*Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico*” (CNPq; Grants #303437/2017-0, #405644/2018-3 and 405644/2018-3) and “*Coordenação de Aconselhamento de Pessoal de Nível Superior*” (CAPES-Brazil; Finace Code 001; UFPB PrInt 88881.311776/2018-01).

References

Agarry, S.E, Aworanti, O.A., 2012. Modelling the drying characteristics of osmosised coconut

- strips at constant air temperature. J. Food Process. Technol. 03.
<https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000151>
- Alshammari, J., Xu, J., Tang, J., Sablani, S., Zhu, M., 2020. Thermal resistance of *Salmonella* in low-moisture high-sugar products. Food Control, 114, 107255.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107255>
- Anderson, N.M., 2019. Recent advances in low moisture food pasteurization. Curr. Opin. Food Sci. 29, 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.11.001>
- Arumugam, M., Raman, M., Johnson, B., Eagappan, K., 2014. Dietary fiber isolate from coconut flakes – A functional food. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. 25, 262–267.
- Association of Official Analytical Chemists International (AOAC), 2016. Official methods of analysis of official methods of analysis of the association of official analytical chemist. 20th ed., Washington, AOAC International.
- Appaiah, P., Sunil, L., Kumar, P.K.P., Krishna, A.G.G., 2014. Composition of coconut testa, coconut kernel and its oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 91, 917–924.
<https://doi.org/10.1007/s11746-014-2447-9>
- Bai, X., Campagnoli, M., Butot, S., Putallaz, T., Michot, L., Zuber, S., 2020. Inactivation by osmotic dehydration and air drying of *Salmonella*, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, hepatitis A virus and selected surrogates on blueberries. Int. J. Food Microbiol. 320, 108522. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108522>
- Beuchat, L., R., Mann, D., A., Kelly, C., A., Ortega, Y., R., 2017. Retention of viability of *Salmonella* in sucrose as affected by type of inoculum, water activity, and storage temperature. J. Food Prot. 80, 1408–1414. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-537>
- Burgess, C.M., Gianotti, A., Gruzdev, N., Holah, J., Knøchel, S., Lehner, A., Margas, E., Esser, S.S., Sela Saldinger, S., Tresse, O., 2016. The response of foodborne pathogens to osmotic and desiccation stresses in the food chain. Int. J. Food Microbiol. 221, 37–53.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.014>

- Campioni, F., Cao, G., Kastanis, G., Janies, D.A., Bergamini, A.M.M., Rodrigues, D.D.P., Stones, R., Brown, E., Allard, M.W., Falcão, J.P., 2018. Changing of the genomic pattern of *Salmonella* Enteritidis strains isolated in Brazil over a 48 year-period revealed by Whole Genome SNP Analyses. *Sci. Rep.* 8, 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28844-6>
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention, 2020. Questions and Answers: Salmonella. <https://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html> (accessed 6 February 2021).
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention, 2018. Reports of *Salmonella* Outbreak Investigations from 2018. <https://www.cdc.gov/salmonella/outbreaks-2018.html> (accessed 4 February 2021).
- Chen, Z., Jiang, X., 2017. Thermal resistance and gene expression of both desiccation-adapted and rehydrated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium cells in aged broiler litter. *Appl. Environ. Microbiol.* 83, e00367-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00367-17>.
- Codex Alimentarius. 2011. Codex standard for desiccated coconut (CODEX STAN 177–1991) Revision 2011. http://www.fao.org/input/download/standards/261/CXS_177e.pdf (accessed 7 February 2021).
- Du, L., Prasad, A.J., Gänzle, M., Roopesh, M.S., 2020. Inactivation of *Salmonella* spp. In wheat flour by 395 nm pulsed light emitting diode (LED) treatment and the related functional and structural changes of gluten. *Food Res. Int.* 127. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108716>
- Dawoud, T.,M., Davis, M.L., Park, S., H., Kim, S.A., Kwon, Y.M., Nathan Jarvis, N., O'Bryan, C.A., Shi, Z., Crandall, P.,G., Ricke, S., C., 2017. The potential link between thermal resistance and virulence in *Salmonella*: A Review. *Front. Vet. Sci.* 14. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00093>
- EFSA, European Food Safety Authority, 2020. Multi-country outbreak of *Salmonella*

- Typhimurium and *S. Anatum* infections linked to Brazil nuts. EFSA Supporting Publications 17, 1944E. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2020.EN-1944>
- FDA, U.S. Food and Drug Administration, 2018. FDA Investigated Recalled Duncan Hines Cake Mixes Potentially Linked to *Salmonella* Agbeni Illnesses. <https://www.fda.gov/food/outbreaks-foodborne-illness/fda-investigated-recalled-duncan-hines-cake-mixes-potentially-linked-salmonella-agbeni-illnesses> (accessed 12 February 2021).
- FDA, U.S. Food and Drug Administration, 2020. Recalls, Market Withdrawals, & Safety Alerts. <https://www.fda.gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts> (accessed 12 February 2021).
- Ferretino, G., Komes, D., Spilimbergo, S., 2015. High-power ultrasound assisted high-pressure carbon dioxide pasteurization of fresh-cut coconut: a microbial and physicochemical study. Food Bioproc. Tech. 8, 2368–2382. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1582-0>
- Fisher, L., Medeiros, L., 2010. Pantry Food Storage. Family and Consumer Sciences Fact Sheet HYG-5401-94-R10. Ohio State Univ. Ext. <https://ohioline.osu.edu/factsheet/HYG-5401> (accessed 15 February 2021).
- Furtado, M.M., Silva, B.S., Faviero C., Alvarenga, V.O., Sant’Ana A.S., 2020. Impact of carrier agents and temperature during storage of dry inocula of *Salmonella enterica*: A contribution to the validation of low water activity foods processing interventions. Lwt 131, 109705. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109705>
- Gabriel, A.A., Nepomuceno, I.N., 2020. Thermal and ultraviolet-c inactivation of *Salmonella enterica* in cold-pressed virgin coconut oil. Lwt 123, 109092. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109092>
- Gautam, B., Govindan, B.N., Gänzle, M., Roopesh, M.S., 2020. Influence of water activity on the heat resistance of *Salmonella enterica* in selected low-moisture foods. Int. J. Food

- Microbiol. 334. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108813>
- Geeraerd, A.H., Herremans, C.H., Van Impe, J.F., 2000. Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment. *Int. J. Food Microbiol.* 59, 185–209. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00362-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00362-7)
- Gómez-Baltazara, A., Vázquez-Garcidueñas, Ma.S., Larsen, J., Kuk-Soberanis, M.E., Vázquez-Marrufoa, G., 2019. Comparative stress response to food preservation conditions of ST19 and ST213 genotypes of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Food Microbiol.* 82, 303–315. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.03.010>
- INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. 2020. <https://portal.inmet.gov.br/> (accessed 2 February 2021).
- James, C., Onarinde, B.A., James, S.J., 2017. The use and performance of household refrigerators: A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 16, 160–179. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12242>
- Jin, Y., Pickens, S.R., Hildebrandt, I.M., Burbick, S.J., Grasso-Kelley, E.M., Keller, S.E., Anderson, N.M., 2018. Thermal inactivation of *Salmonella* Agona in low–water activity foods: Predictive models for the combined effect of temperature, water activity, and food component. *J. Food Prot.* 81, 1411–1417. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-041>
- Lambertini, E., Mishra, A., Guo, M., Cao, H., Buchanan, R.L., Pradhan, A.K., 2016. Modeling the long-term kinetics of *Salmonella* survival on dry pet food. *Food Microbiol.* 58, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.02.003>
- Lamdande, A. G., Prakash, M., KSMS, R., 2018. Storage study and quality evaluation of fresh coconut grating. *J. Food Process. Preserv.* 42, e13350. <http://doi.org/10.1111/jfpp.13350>
- Mandal, R.K., Kwon, Y.M., 2017. Global screening of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium genes for desiccation survival. *Front. Microbiol.* 8, 1723. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01723>

- Malekmohammadi, S., Shah, M.K., Townsend Ramsett, M.K., Bergholz, T.M., 2020. Survival and thermal resistance among four *Salmonella* serovars inoculated onto flaxseeds. *Food Microbiol.* 91, 103516. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103516>
- McCurdy, S., Peutz, J., Wittman, G., 2009. Storing Food for Safety and Quality. *Coop. Ext. Serv. Food Preserv.* <https://catalog.extension.oregonstate.edu/sites/catalog/files/project/pdf/pnw612.pdf> (accessed 15 February 2021).
- Melo, A.N.F., Souza Pedrosa, G.T., Almeida, E.T.C., Cao, G., Macarisin, D., Schaffner, D.W., Souza, E.L., Magnani, M., 2020. Successive exposure to *Mentha piperita* L. essential oil affects the culturability and induces membrane repair in a persister epidemic *Salmonella* Typhimurium PT4. *Microb. Pathog.* 149. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104264>
- Melo, A.N.F., Monte, D.F.M., Souza Pedrosa, G.T., Balkey, M., Jin, Q., Brown, E., Allard, M., Oliveira, T.C.R.M., Cao, G., Magnani, M., Macarisin, D., 2021. Genomic investigation of antimicrobial resistance determinants and virulence factors in *Salmonella enterica* serovars isolated from contaminated food and human stool samples in Brazil. *Int. J. Food Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109091>
- Nascimento, M.S., Carminati, J.A., Morishita, K.N., Amorim Neto, D.P., Pinheiro, H.P., Maia, R.P., 2018. Long-term kinetics of *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 survival on peanuts and peanut confectionery products. *PLoS One* 13, 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192457>
- Oduro-Yeboah, C., Ackah, N.B., Akonor, P.T., Amponsah, S.K., Mboom, F.P., 2020. Food safety knowledge and practices among fresh coconut vendors. *Sci. African* 8, e00392. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00392>
- Osaili, T., M., Al-Nabulsi, A., A., Nazzal, D., S., Shaker, R., R., 2017. Effect of storage temperatures and stresses on the survival of *Salmonella* spp. in halva. *Lett. Appl.*

- Microbiol. 65, 403-409. <https://doi.org/10.1111/lam.12791>
- Pereira, A.A.M., Prestes, F.S., Silva, A.C.M., Nascimento, M.S., 2020. Evaluation of the thermal resistance of *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 after long-term blanched peanut kernel storage. Lwt, 117, 108701. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108701>
- Prestes, F.S., Pereira, A.A.M., Silva, A.C.M., Pena, P.O., Nascimento, M.S., 2019. Effects of peanut drying and blanching on *Salmonella* spp. Food Res. Int. 119, 411–416. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.017>
- Prosapio, V., Norton, I., 2018. Simultaneous application of ultrasounds and firming agents to improve the quality properties of osmotic + freeze-dried foods. Lwt 96, 402–410. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.068>
- Rachon, G., Peñaloza, W., Gibbs, P.A., 2016. Inactivation of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Enterococcus faecium* NRRL B-2354 in a selection of low moisture foods. Int. J. Food Microbiol. 231, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.022>
- Sánchez-Maldonado, A.F., Lee, A., Farber, J.M., 2018. Methods for the control of foodborne pathogens in Low-moisture foods. Annu. Rev. Food Sci. Technol. 9, 177-208. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012304>
- Santillana Farakos, S.M., Frank, J.F., Schaffner, D.W., 2013. Modeling the influence of temperature, water activity and water mobility on the persistence of *Salmonella* in low-moisture foods. Int. J. Food Microbiol. 166, 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.007>
- Shete, Y. V, Todkar, P. V, Deshmukh, D.E., Zirwal, P.J., Jagdale, A.B., 2016. Development of process technology for desiccated coconut powder. Agric. Eng. Today 40, 11–20.
- Siriphanich, J., Saradhulhat, P., Romphophak, T., Krisanapook, K., Pathaveerat, S., Tongchitpakdee, S., 2011. Coconut (*Cocos nucifera* L.), postharvest biology and

- technology of tropical and subtropical fruits: Cocona to mango. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857092885.8>
- Souza Pedrosa, G.T., de Souza, E.L., de Melo, A.N.F., da Cruz Almeida, E.T., de Sousa Guedes, J.P., de Carvalho, R.J., Pagán, R., Magnani, M., 2020. Physiological alterations involved in inactivation of autochthonous spoilage bacteria in orange juice caused by Citrus essential oils and mild heat. *Int. J. Food Microbiol.* 334, 108837. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108837>
- Wallace, T.C., 2019. Health Effects of Coconut Oil—A narrative review of current evidence. *J. Am. Coll. Nutr.* 38, 97–107. <https://doi.org/10.1080/07315724.2018.1497562>
- WHO, World Health Organization, 2020. *Salmonella* (non-typhoidal) [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)) (accessed 4 February 2021).
- Yang, H.,Y., Kim, S.,K., Choi, S.,Y., You, D.,H., Lee, S.,C., Bang, W.,S., Yuk, H.,G., 2015. Effect of acid, desiccation and heat stresses on the viability of *Cronobacter sakazakii* during rehydration of powdered infant formula and in simulated gastric fluid. *Food Control* 50, 336 – 341. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.012>
- Zhu, M., Song, X., Tsai, H., Shen, X., Taylor, M., Tang, J., 2021. Desiccation and thermal resistance of *Salmonella* and *Enterococcus faecium* NRRL B-2354 in almond meal as impacted by water activity and storage temperature. *Food Control* 126, 108037. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108037>

Figure captions

Figure 1. Studied scenarios for the storage of dehydrated coconut-flakes. Scenario I: Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; Scenario II: Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); Scenario III: Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days); Scenario IV: Storage at 7 ± 1 °C for 120 days.

Figure 2. *S. enterica* survival curves in conventionally dehydrated coconut-flakes during storage at different scenarios. A: Scenario I - Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; B: Scenario II - Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); C: Scenario III - Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days); D: Scenario IV - Storage at 7 ± 1 °C for 120 days.

Figure 3. *S. enterica* survival curves during storage of the osmotically dehydrated coconut-flakes. A: Scenario I - Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; B: Scenario II - Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); C: Scenario III - Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days); D: Scenario IV - Storage at 7 ± 1 °C for 120 days.

Supplementary Figure 1. Illustrative fluorescence density plots of *S. enterica* in response to staining with BOX and PI after 1 day (A and D) of conventional and osmotic-dehydration of coconut-flakes, respectively; and during storage 120 days at 7 °C (B and E) or 25 °C (C and F) of conventionally (A, B and C) or osmotically (D, E and F) dehydrated coconut-flakes. Vertical axis indicates the fluorescence intensity of the BOX; horizontal axis indicates the fluorescence intensity of the PI. Percentages of the cells are presented in the four edges of each plot.

Supplementary Figure 2. Illustrative fluorescence density plots of *S. enterica* in response to staining a CTC after 1 day (A and D) of conventional and osmotic-dehydration of coconut flakes, respectively; and during storage 120 days at 7 °C (B and E) or 25 °C (C and F) to conventionally (A, B and C) or osmotically (D, E and F) dehydrated coconut-flakes. Horizontal axis indicates the fluorescence intensity of CTC-formazan; the vertical axis indicates the side-light scatter intensity. Respiratory active cell subpopulation was gated in the right rectangles; the inactive cell subpopulation was gated in the rectangles. Percentages of cells are presented in the four edges of each plot.

Table 1. Kinetic parameters in survival models (Geeraerd et al., 2000) of *S. enterica* over storage time in dehydrated coconut-flakes.

Dehydration	Model	Scenarios	N_0	Log-decimal reduction (log.g)	k_{max} (day ⁻¹)	N_{res} (log CFU/g)	S_l (days)	R^2	RMSE
Conventional	Log-linear with tail	I	6.51 ± 0.01	0.44 ± 0.03	0.02 ± 0.00	5.93 ± 0.08	-	0.83	0.07
		II	6.46 ± 0.04	0.42 ± 0.02	0.01 ± 0.00	5.79 ± 0.07	-	0.77	0.07
		III	6.54 ± 0.02	0.48 ± 0.08	0.03 ± 0.01	6.00 ± 0.01	-	0.99	0.01
		IV	6.54 ± 0.03	0.46 ± 0.04	0.04 ± 0.01	6.07 ± 0.01	-	0.99	0.01
Osmotic	Log-linear with shoulder and tail	I	6.07 ± 0.03	3.24 ± 0.37	0.16 ± 0.01	2.84 ± 0.05	46.64 ± 2.24	0.99	0.15
		II	5.93 ± 0.01	3.11 ± 0.23	0.16 ± 0.02	2.62 ± 0.18	49.69 ± 1.97	0.99	0.15
		III	5.94 ± 0.04	3.01 ± 0.06	0.17 ± 0.02	2.65 ± 0.21	52.40 ± 1.55	0.99	0.15
		IV	5.96 ± 0.12	3.01 ± 0.06	0.20 ± 0.02	2.86 ± 0.07	52.03 ± 0.63	0.97	0.15

k_{max} : inactivation rate; N_{res} : residual population; R^2 : regression coefficient; RMSE: root mean square error; S_l : shoulder. I: Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; II: Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); III: Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days); IV: Storage at 7 ± 1 °C for 120 days.

Table 2. Size of subpopulations (%) of *S. enterica* in response to staining with BOX and PI during store time of dehydrated coconut-flakes.

Storage temperature/time	Treatments (Dehydration)	Size of subpopulations (%)			
		Depolarized non- permeabilized cells (BOX ⁺ PI ⁻)	Depolarized and permeabilized cells (BOX ⁺ PI ⁺)	Polarized and permeabilized cells (BOX ⁻ PI ⁺)	Polarized non- permeabilized cells (BOX ⁻ PI ⁻)
1 days	Conventional	32.1 ± 0.05 ^{cA}	18.3 ± 0.08 ^{aA}	4.9 ± 0.15 ^{aA}	44.8 ± 0.05 ^{cB}
	Osmotic	18.5 ± 0.11 ^{dB}	10.0 ± 0.40 ^{bB}	4.3 ± 0.04 ^{bB}	67.3 ± 0.12 ^{bA}
7 °C / 120 days	Conventional	17.1 ± 0.05 ^{eB}	8.9 ± 0.03 ^{dB}	5.4 ± 0.35 ^{aA}	68.5 ± 0.06 ^{aA}
	Osmotic	54.7 ± 0.04 ^{aA}	10.4 ± 0.08 ^{bA}	2.0 ± 0.15 ^{cB}	32.9 ± 0.06 ^{eB}
25 °C/ 120 days	Conventional	16.9 ± 0.15 ^{eB}	8.9 ± 0.03 ^{dB}	5.4 ± 0.35 ^{aA}	68.4 ± 0.06 ^{aA}
	Osmotic	46.6 ± 0.08 ^{bA}	9.7 ± 0.06 ^{cA}	2.2 ± 0.05 ^{cB}	41.5 ± 0.11 ^{dB}

^{a-b}Superscript lowercase letters in the same column denotes statistical different ($p < 0.05$) among same treatments and different storage temperature;

^{A-B}Superscript capital letters in the same column denotes statistical different ($p < 0.05$) between the treatments for the same temperature.

Table 3. Size of subpopulations (%) of *S. enterica* in response to staining with CTC during store time of dehydrated coconut-flakes.

Storage temperature/time	Treatments (Dehydration)	Size of subpopulations (%)	
		Cell without metabolic activity (CTC ⁻)	Cell with metabolic activity (CTC ⁺)
1 days	Conventional	90.9 ± 0.03 ^{aA}	3.5 ± 0.11 ^{dB}
	Osmotic	82.2 ± 0.07 ^{dB}	4.3 ± 0.03 ^{cA}
7°C / 120 days	Conventional	87.1 ± 0.01 ^{bA}	3.4 ± 0.06 ^{dB}
	Osmotic	81.3 ± 0.83 ^{dB}	5.1 ± 0.05 ^{aA}
25°C/ 120 days	Conventional	84.6 ± 0.05 ^{cA}	5.1 ± 0.06 ^{bA}
	Osmotic	81.3 ± 0.90 ^{dB}	5.3 ± 0.15 ^{aA}

^{a-b}Superscript lowercase letters in the same column denotes statistical different ($p < 0.05$) among same treatments and different storage temperature;

^{A-B}Superscript capital letters in the same column denotes statistical different ($p < 0.05$) between the treatments for the same temperature.

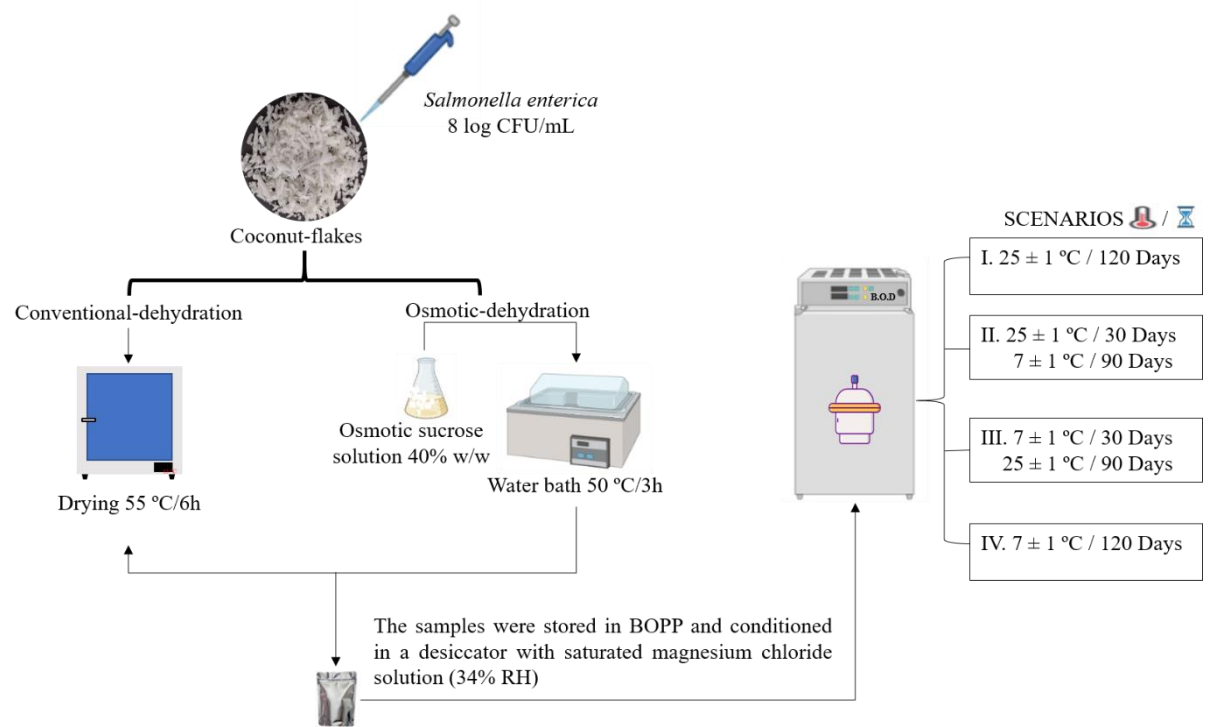


Fig. 1

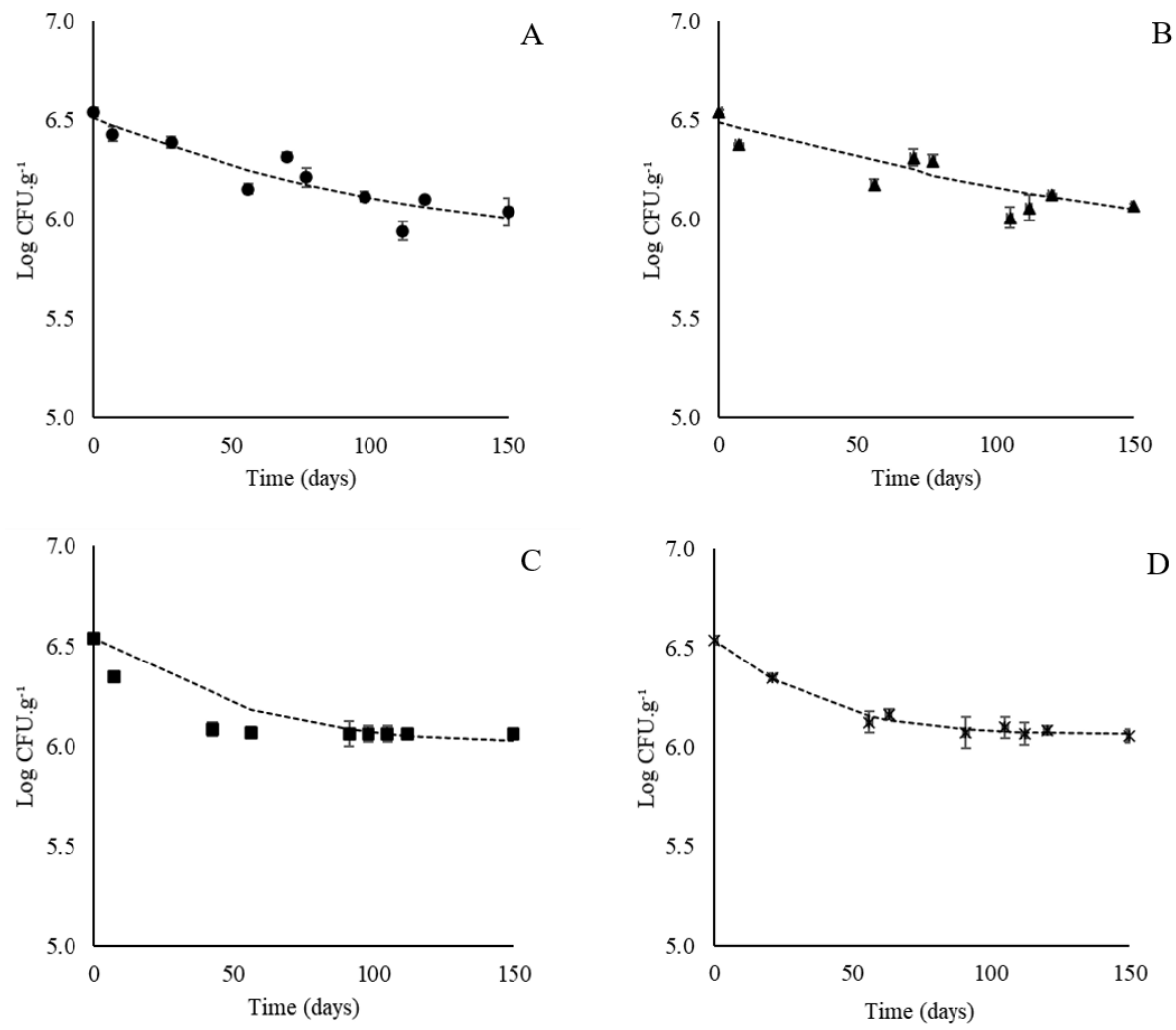


Fig. 2

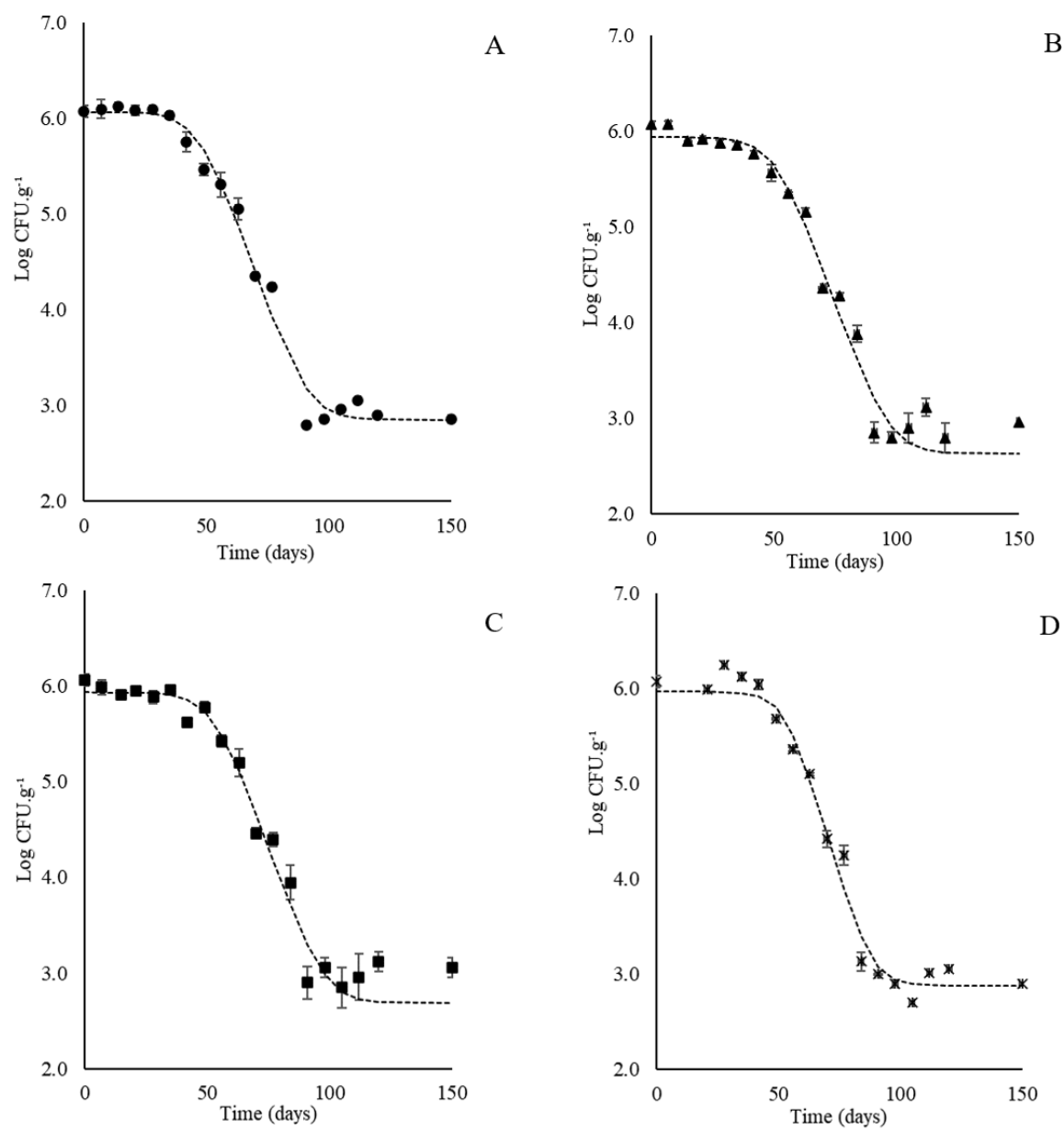


Fig. 3

Supplementary Table 1. Viable cell counts of *S. enterica* over 120 days of storage in dehydrated coconut-flakes in each studied scenario.

Time (Days)	Treatment (dehydration)							
	Conventional				Osmotic			
	Scenarios							
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
	Viable cell counts (log CFU/g)							
0	6.54 ± 0.02	6.54 ± 0.02	6.54 ± 0.02	6.54 ± 0.02	6.07 ± 0.06	6.07 ± 0.06	6.07 ± 0.06	6.07 ± 0.06
7	6.43 ± 0.03	6.38 ± 0.01	6.34 ± 0.02	6.15 ± 0.04	6.10 ± 0.10	6.08 ± 0.05	5.99 ± 0.08	5.29 ± 0.10
14	6.00 ± 0.06	6.13 ± 0.06	6.06 ± 0.04	6.09 ± 0.03	6.12 ± 0.02	5.89 ± 0.01	5.92 ± 0.01	5.40 ± 0.04
21	6.16 ± 0.03	6.10 ± 0.04	6.09 ± 0.06	6.35 ± 0.01	6.08 ± 0.05	5.91 ± 0.03	5.95 ± 0.03	5.99 ± 0.04
28	6.39 ± 0.03	6.05 ± 0.05	6.07 ± 0.02	6.12 ± 0.04	6.09 ± 0.02	5.87 ± 0.04	5.89 ± 0.06	6.25 ± 0.05
35	5.93 ± 0.10	6.14 ± 0.04	6.04 ± 0.03	6.06 ± 0.06	6.03 ± 0.03	5.85 ± 0.04	5.97 ± 0.04	6.13 ± 0.01
42	5.67 ± 0.13	5.75 ± 0.10	6.09 ± 0.04	5.90 ± 0.02	5.75 ± 0.10	5.76 ± 0.03	5.62 ± 0.05	6.04 ± 0.02
49	5.61 ± 0.11	5.74 ± 0.05	5.81 ± 0.07	5.98 ± 0.03	5.52 ± 0.08	5.46 ± 0.06	5.78 ± 0.06	5.68 ± 0.02
56	6.15 ± 0.03	6.18 ± 0.03	6.00 ± 0.05	6.13 ± 0.05	5.31 ± 0.13	5.35 ± 0.02	5.43 ± 0.06	5.36 ± 0.08
63	5.97 ± 0.02	6.05 ± 0.04	6.11 ± 0.06	6.17 ± 0.02	5.05 ± 0.11	5.15 ± 0.13	5.20 ± 0.14	5.10 ± 0.10
70	6.32 ± 0.02	6.31 ± 0.04	6.42 ± 0.03	6.40 ± 0.05	4.35 ± 0.12	4.36 ± 0.03	4.46 ± 0.06	4.42 ± 0.09
77	6.21 ± 0.05	6.29 ± 0.03	5.94 ± 0.05	6.32 ± 0.03	4.24 ± 0.12	4.28 ± 0.09	4.39 ± 0.07	4.25 ± 0.01
84	5.94 ± 0.06	5.86 ± 0.06	5.81 ± 0.03	6.03 ± 0.02	3.84 ± 0.32	3.88 ± 0.09	3.95 ± 0.18	3.13 ± 0.51
91	5.67 ± 0.11	5.93 ± 0.06	6.10 ± 0.06	6.07 ± 0.08	2.80 ± 0.17	2.85 ± 0.21	2.90 ± 0.17	3.00 ± 0.00
98	6.11 ± 0.03	5.95 ± 0.09	6.09 ± 0.04	6.20 ± 0.01	2.86 ± 0.28	2.80 ± 0.17	3.06 ± 0.10	2.90 ± 0.17
105	5.85 ± 0.07	6.01 ± 0.06	6.04 ± 0.05	6.10 ± 0.05	2.96 ± 0.24	2.90 ± 0.17	2.85 ± 0.21	2.70 ± 0.00
112	5.94 ± 0.05	6.06 ± 0.07	6.03 ± 0.02	6.07 ± 0.06	3.06 ± 0.10	3.12 ± 0.10	2.96 ± 0.24	3.02 ± 0.28
120	6.10 ± 0.02	6.12 ± 0.01	6.06 ± 0.06	6.08 ± 0.02	2.90 ± 0.17	2.80 ± 0.17	3.12 ± 0.10	3.06 ± 0.10

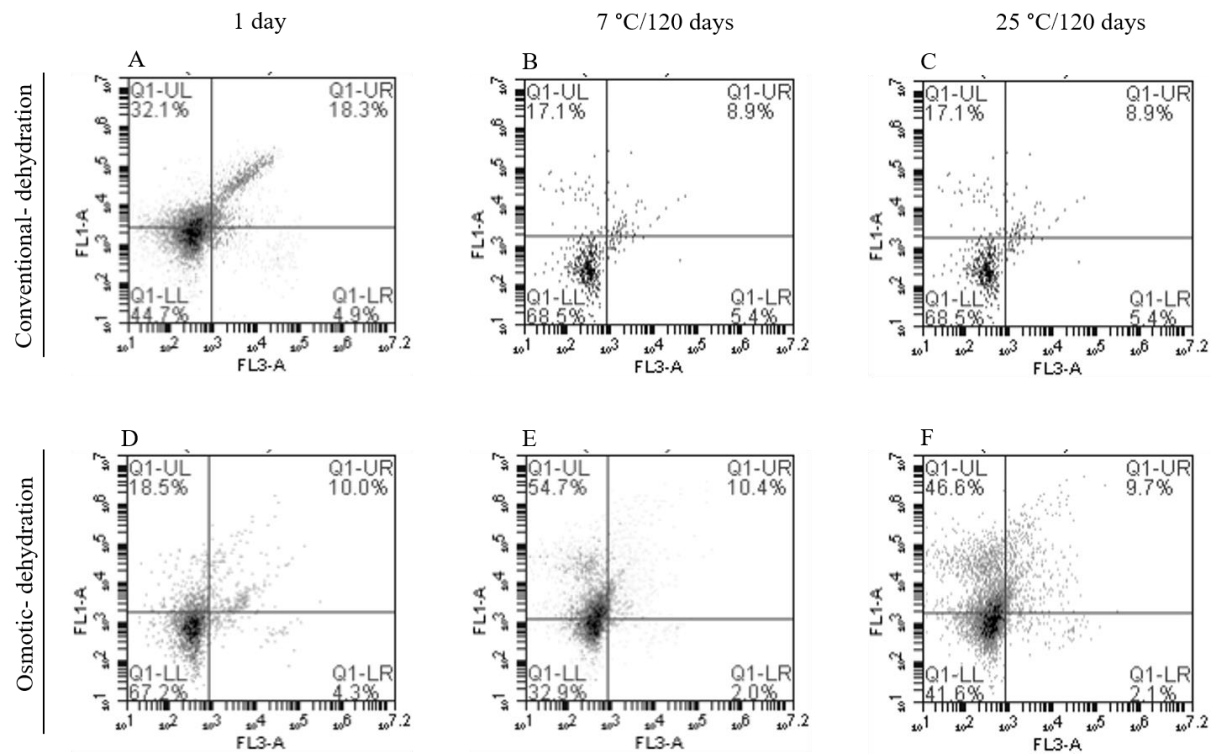
I: Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; II: Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); III: Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days); IV: Storage at 7 ± 1 °C for 120 days.

Supplementary Table 2. Predictive models of *S. enterica* behavior over storage time in dehydrated coconut-flakes in each studied scenario.

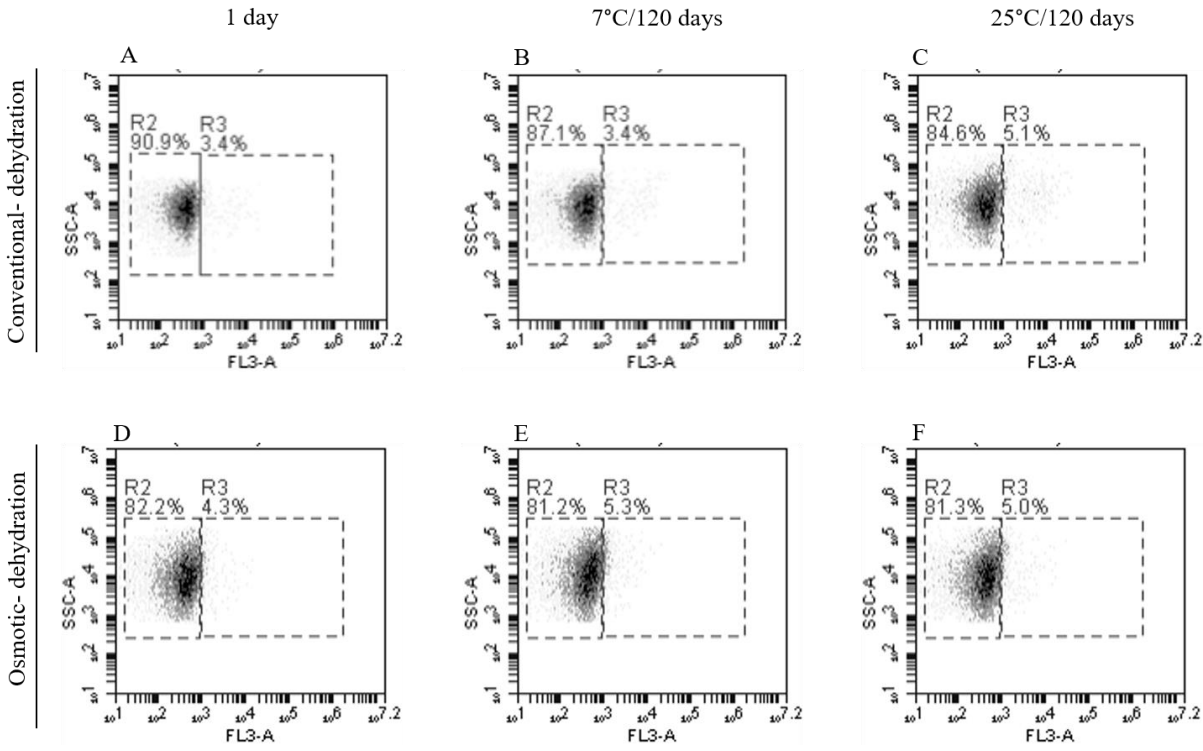
Dehydration	Model	Predicted model
Conventional	Log-linear with tail	$\text{Log10(N)} = \text{log10}((10^{\text{log10(N0)}} - 10^{\text{log10(Nres)}}) * e^{(-k_{\text{max}t})} + 10^{\text{log10(Nres)}})$ $\text{Log10(CDI}^{\text{A}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.51)}} - 10^{\text{log10(6.00)}}) * e^{(-0.02t)} + 10^{\text{log10(6.00)}})$ $\text{Log10(CDI}^{\text{B}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.52)}} - 10^{\text{log10(5.95)}}) * e^{(-0.02t)} + 10^{\text{log10(5.95)}})$ $\text{Log10(CDI}^{\text{C}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.51)}} - 10^{\text{log10(6.00)}}) * e^{(-0.02t)} + 10^{\text{log10(6.00)}})$ $\text{Log10(CDII}^{\text{A}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.49)}} - 10^{\text{log10(5.86)}}) * e^{(-0.01t)} + 10^{\text{log10(5.86)}})$ $\text{Log10(CDII}^{\text{B}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.41)}} - 10^{\text{log10(5.74)}}) * e^{(-0.01t)} + 10^{\text{log10(5.74)}})$ $\text{Log10(CDII}^{\text{C}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.48)}} - 10^{\text{log10(6.03)}}) * e^{(-0.02t)} + 10^{\text{log10(6.03)}})$ $\text{Log10(CDIII}^{\text{A}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.56)}} - 10^{\text{log10(6.01)}}) * e^{(-0.03t)} + 10^{\text{log10(6.01)}})$ $\text{Log10(CDIII}^{\text{B}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.51)}} - 10^{\text{log10(5.99)}}) * e^{(-0.02t)} + 10^{\text{log10(5.99)}})$ $\text{Log10(CDIII}^{\text{C}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.54)}} - 10^{\text{log10(6.00)}}) * e^{(-0.03t)} + 10^{\text{log10(6.00)}})$ $\text{Log10(CDIV}^{\text{A}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.56)}} - 10^{\text{log10(6.07)}}) * e^{(-0.04t)} + 10^{\text{log10(6.07)}})$ $\text{Log10(CDIV}^{\text{B}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.51)}} - 10^{\text{log10(6.08)}}) * e^{(-0.03t)} + 10^{\text{log10(6.08)}})$ $\text{Log10(CDIV}^{\text{C}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.55)}} - 10^{\text{log10(6.05)}}) * e^{(-0.04t)} + 10^{\text{log10(6.05)}})$
Osmotic	Log-linear with tail and shoulder	$\text{Log10(N)} = \text{log10}((10^{\text{log10(N0)}} - 10^{\text{log10(Nres)}}) * e^{(-k_{\text{max}t})} * ((e^{(k_{\text{max}Sl})}) / (1 + (e^{(k_{\text{max}Sl})} - 1) * e^{(-k_{\text{max}t})}))) + 10^{\text{log10(Nres)}})$ $\text{Log10(ODI}^{\text{A}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.04)}} - 10^{\text{log10(2.86)}}) * e^{(-0.18t)} * ((e^{(0.18*48.48)}) / (1 + (e^{(0.18*48.48)} - 1) * e^{(-0.18t)}))) + 10^{\text{log10(2.86)}})$ $\text{Log10(ODI}^{\text{B}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.07)}} - 10^{\text{log10(2.89)}}) * e^{(-0.16t)} * ((e^{(0.16*47.30)}) / (1 + (e^{(0.16*47.30)} - 1) * e^{(-0.16t)}))) + 10^{\text{log10(2.89)}})$ $\text{Log10(ODI}^{\text{C}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(6.09)}} - 10^{\text{log10(2.79)}}) * e^{(-0.15t)} * ((e^{(0.15*44.15)}) / (1 + (e^{(0.15*44.15)} - 1) * e^{(-0.15t)}))) + 10^{\text{log10(2.79)}})$ $\text{Log10(ODII}^{\text{A}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(5.95)}} - 10^{\text{log10(2.79)}}) * e^{(-0.15t)} * ((e^{(0.15*48.04)}) / (1 + (e^{(0.15*48.04)} - 1) * e^{(-0.15t)}))) + 10^{\text{log10(2.79)}})$ $\text{Log10(ODII}^{\text{B}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(5.94)}} - 10^{\text{log10(2.43)}}) * e^{(-0.17t)} * ((e^{(0.17*51.87)}) / (1 + (e^{(0.17*51.87)} - 1) * e^{(-0.17t)}))) + 10^{\text{log10(2.43)}})$ $\text{Log10(ODII}^{\text{C}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(5.93)}} - 10^{\text{log10(2.64)}}) * e^{(-0.15t)} * ((e^{(0.15*49.15)}) / (1 + (e^{(0.15*49.15)} - 1) * e^{(-0.15t)}))) + 10^{\text{log10(2.64)}})$ $\text{Log10(ODIII}^{\text{A}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(5.94)}} - 10^{\text{log10(2.41)}}) * e^{(-0.16t)} * ((e^{(0.16*52.24)}) / (1 + (e^{(0.16*52.24)} - 1) * e^{(-0.16t)}))) + 10^{\text{log10(2.41)}})$ $\text{Log10(ODIII}^{\text{B}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(5.97)}} - 10^{\text{log10(2.75)}}) * e^{(-0.16t)} * ((e^{(0.16*50.94)}) / (1 + (e^{(0.16*50.94)} - 1) * e^{(-0.16t)}))) + 10^{\text{log10(2.75)}})$ $\text{Log10(ODIII}^{\text{C}}) = \text{log10}((10^{\text{log10(5.89)}} - 10^{\text{log10(2.80)}}) * e^{(-0.18t)} * ((e^{(0.18*54.03)}) / (1 + (e^{(0.18*54.03)} - 1) * e^{(-0.18t)}))) + 10^{\text{log10(2.80)}})$

$$\begin{aligned}\text{Log10(ODIV}^A) &= \log_{10}((10^{\log_{10}(6.06)} - 10^{\log_{10}(2.91)}) * e^{(-0.22t)} * ((e^{(0.22*52.20)} - 1) / (1 + (e^{(0.22*52.20)} - 1) * e^{(-0.22t)})) + 10^{\log_{10}(2.91)}) \\ \text{Log10(ODIV}^B) &= \log_{10}((10^{\log_{10}(6.10)} - 10^{\log_{10}(2.90)}) * e^{(-0.20t)} * ((e^{(0.20*51.33)} - 1) / (1 + (e^{(0.20*51.33)} - 1) * e^{(-0.20t)})) + 10^{\log_{10}(2.90)}) \\ \text{Log10(ODIV}^C) &= \log_{10}((10^{\log_{10}(5.87)} - 10^{\log_{10}(2.78)}) * e^{(-0.17t)} * ((e^{(0.17*52.55)} - 1) / (1 + (e^{(0.17*52.55)} - 1) * e^{(-0.17t)})) + 10^{\log_{10}(2.78)})\end{aligned}$$

CD conventional dehydration; OD osmotic dehydration coconut-flakes. I-IV represents the storage scenarios, where I: Storage at 25 ± 1 °C for 120 days; II: Storage at 25 ± 1 °C (30 days) and 7 ± 1 °C (60 days); III: Storage at 7 ± 1 °C (30 days) and 25 ± 1 °C (60 days) and IV: Storage at 7 ± 1 °C for 120 days. ^{A-C} Superscript capital letters in the same treatment denotes repetitions of independent experiments.



Supplementary Figure 1



Supplementary Figure 2

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O comportamento de *S. enterica* em flocos de coco desidratados convencionalmente e osmoticamente ao longo de 120 dias de armazenamento foi descrito pelos modelos log-linear + cauda e log-linear + ombro + cauda, respectivamente. Os modelos mostraram bom ajuste aos dados experimentais, e uma boa concordância foi observada entre os valores previstos e observados. Evidenciando que os modelos utilizados podem ser considerados ferramentas úteis na previsão do comportamento de *S. enterica* em flocos de coco sob diferentes condições de desidratação e temperaturas de armazenamento. Em comparação ao cenário I o cenário IV do armazenamento de flocos de coco desidratados osmoticamente apresentou um maior valor de k_{max} (0,20 dias⁻¹). No geral, foram observados maiores valores de k_{max} em flocos de coco desidratados osmoticamente em comparação com flocos de coco desidratados convencionalmente, independentemente do cenário de armazenamento (7 ou/e 25 °C). As subpopulações de células danificadas de *S. enterica* não se alteraram ou aumentaram em flocos de coco desidratados osmoticamente após 120 dias de armazenamento, enquanto diminuíram em flocos de coco desidratados convencionalmente, sugerindo ativação de mecanismos de reparo. Nossos achados contrastam com as evidências anteriores de que o estresse osmótico age como uma etapa de barreira e pode proteger as células desidratadas de *S. enterica* durante o armazenamento prolongado. Tendo em vista os resultados obtidos, pode-se sugerir que a melhor opção para flocos de coco desidratados armazenados por meses em relação à possível contaminação com *S. enterica* e a desidratação osmótica. No entanto, outros parâmetros também devem ser considerados, como a escolha da matéria prima de boa qualidade, adoção de medidas efetiva de medidas de higiene pela indústria alimentícia ao longo do processamento, minimizando riscos de contaminação por *S. enterica* na matriz alimentícia.

Em pesquisas futuras, os modelos utilizados poderão ser expandidos através de modelos secundários para avaliarem os efeitos de outros componentes da matriz alimentar que afetam a sobrevivência de *S. enterica* em flocos de coco desidratados. A partir dos resultados obtidos nesse estudo, pesquisas podem ser realizadas usando diferentes níveis de inóculo inicial, utilizar outras técnicas de inoculação, assim como avaliar o efeito de outras técnicas de conservação utilizadas em flocos de coco na cinética de sobrevivência de *S. enterica* ou outros patógenos alimentares.