



ORIGINAL ARTICLE

Modelagem e simulação do crescimento de *Talaromyces flavus* em abacaxi: uma integração entre modelos cinéticos e de fenômenos de transporte

Modeling and simulation of Talaromyces flavus growth in pineapple: an integration between kinetic and transport phenomena models

Wagner Augusto Müller^{1,2*} , Paulo Ricardo Santos da Silva²

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Porto Alegre/RS - Brasil

²Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), Escola Politécnica - Engenharia de Alimentos, São Leopoldo/RS - Brasil

*Corresponding Author: Wagner Augusto Müller, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Rua Ramiro Barcelos, 2777, Santana, CEP: 90035-007, Porto Alegre/RS - Brasil, e-mail: wagner.a.muller@hotmail.com

Cite as: Müller, W. A., & Silva, P. R. S. (2019). Modeling and simulation of *Talaromyces flavus* growth in pineapple: an integration between kinetic and transport phenomena models. *Brazilian Journal of Food Technology*, 22, e2018292. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.29218>

Resumo

O estudo da dinâmica de crescimento de microrganismos em alimentos é de vital importância para a extensão da vida de prateleira desses produtos. No presente trabalho, um modelo de cinética microbiológica descrevendo o crescimento de *Talaromyces flavus* em abacaxi foi integrado com um modelo térmico. O modelo integrado foi utilizado para simular a shelf life do produto em processos de aquecimento. Os experimentos cinéticos foram realizados em 4 temperaturas distintas (de 20 °C a 35 °C) e índices estatísticos foram empregados para a seleção dos melhores modelos primários e secundários. O modelo térmico baseou-se na solução analítica da equação da difusão de calor para placas planas e cilindros infinitos. Observou-se que o modelo de Gompertz modificado ($BF=1,003$, $AF=1,049$, $RSS=3,687$ e $RMSE=1,286$), juntamente com os modelos de raiz quadrada estendida ($BF=0,999$, $AF=1,012$ e $RSS=0,2684$) e polinomial de ordem 2 ($BF=0,991$, $AF=1,011$, $RSS=0,006$ e $RMSE=0,078$) foram os modelos mais satisfatórios. O modelo cinético foi validado em condições estáticas e dinâmicas de temperatura (em dois cenários distintos) para assegurar que pudesse ser integrado com as equações de transferência de calor. As simulações demonstraram acréscimo de 23,3% na vida de prateleira com o aumento do comprimento do produto (de 2 para 30 cm) e acréscimo de 88,2% com diminuição da temperatura do ar ambiente (de 34 °C para 22 °C). Efeitos menos pronunciados foram obtidos variando o diâmetro do produto e a velocidade do ar ambiente.

Palavras-chave: Micologia preditiva; Modelos primários; Modelos secundários; Transferência de calor; Fruto; Fungo.



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença [Creative Commons Attribution](#), que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o trabalho original seja corretamente citado.

Abstract

The study of the dynamic behavior of microbial growth in foods is extremely important to extend the shelf life of foodstuff. In this work, a kinetic model describing the growth of *Talaromyces flavus* in pineapple was integrated with a thermal model. The integrated model was used in order to simulate the product's shelf life in heating scenarios. Kinetic experiments were performed in 4 distinct temperatures (from 20 °C to 35 °C), and statistical indices were used to select the best primary and secondary models. The thermal model was developed based on the analytical solution of the heat diffusion equation for flat plates and infinite cylinders. It was shown that the modified Gompertz model ($BF=1.003$, $AF=1.049$, $RSS=3.687$ and $RMSE=1.286$), along with the extended square root model ($BF=0.999$, $AF=1.012$ and $RSS=0.2684$) and the second order polynomial model ($BF=0.991$, $AF=1.011$, $RSS=0.006$ and $RMSE=0.078$) were the most satisfactory models. The kinetic model was validated in both static and dynamic temperature conditions (in two distinct scenarios) to assure that it could be integrated with the heat transfer equations. Simulations had shown a 23.3% increase in shelf life increasing the product's length (from 2 to 30 cm) and an 88.2% increase with the diminution of the ambient air temperature (from 34 °C to 22 °C). Less pronounced effects were obtained varying the product's diameter and the velocity of the ambient air.

Keywords: Predictive mycology; Primary models; Secondary models; Heat transfer; Fruit; Fungus.

Nomenclatura

- a_0, a_1 e a_2 Parâmetros do modelo polinomial;
- b Parâmetro do modelo de raiz quadrada estendida;
- B_i Número de Biot;
- c Parâmetro do modelo de raiz quadrada estendida;
- C_0, C_1 e C_2 Parâmetros do modelo de Arrhenius modificado;
- D Diâmetro do produto (m);
- F_o Número de Fourier;
- h Coeficiente de troca de calor convectivo ($W/(m^2.K)$);
- k Condutividade térmica do alimento ($W/(m.K)$);
- L Comprimento do produto (m);
- L_c Comprimento característico (m);
- n Número de amostras;
- Nu Número de Nusselt;
- p Número de parâmetros do modelo;
- \Pr Número de Prandtl;
- q_0 e q_1 Parâmetros do modelo hiperbólico;
- Re Número de Reynolds;
- r Raio da colônia fúngica num dado momento do tempo (t) (mm);
- r_{crit} Raio crítico da colônia para rejeição do produto contaminado (mm);
- r_{MAX} Raio de crescimento máximo teórico (mm);
- r_{obs} Raio observado (mm);
- r_{pred} Raio predito (mm);
- r^* Condição espacial adimensional na coordenada radial;

- t Tempo (s);
 T Temperatura num dado momento do tempo (t) (K);
 T_0 Temperatura inicial do sólido (K);
 T_∞ Temperatura do ar (K);
 T_{\min} Temperatura mínima teórica para crescimento do fungo (K);
 T_{\max} Temperatura máxima teórica para crescimento do fungo (K);
 u Velocidade do ar (m/s);
 x^* Condição espacial adimensional na coordenada do comprimento;
 α Difusividade térmica do produto (m^2/s);
 λ Tempo de duração da fase lag (dias);
 μ_{MAX} Taxa de crescimento radial máxima (mm/dia);
 θ_{CC} Distribuição de temperatura de um cilindro curto;
 θ_{IC} Distribuição de temperatura de um cilindro infinito;
 θ_{PP} Distribuição de temperatura de uma placa plana;
 ρ Massa específica (kg/m^3);
 ν Viscosidade cinemática (m^2/s).

1 Introdução

O controle do crescimento de microrganismos em alimentos é um aspecto de especial relevância para a garantia de qualidade. A contaminação de produtos alimentícios por microrganismos provoca alterações nas características sensoriais e nutricionais adequadas do produto, levando a perdas econômicas significativas anualmente (Juneja et al., 2019).

Os microrganismos mais estudados na ciência de alimentos são as bactérias e os fungos. O crescimento de fungos é passível de especial atenção em produtos que possuem pH ácido, como no caso de frutas. Além da contaminação de produtos a granel, Rico-Munoz (2017) demonstra a importância do entendimento da dinâmica comportamental de esporos fúngicos em frutas para evitar a contaminação de sucos, uma vez que o controle dessas matérias-primas no processamento constitui etapa crítica do processo.

O crescimento de fungos é ainda mais crítico em frutos minimamente processados (i.e., passam por operações preliminares de descasque, corte e embalamento). Essas operações provocam injúrias aos tecidos dos produtos, resultando em perdas de enzimas intracelulares e nutrientes, tornando o alimento mais suscetível ao crescimento microbiológico. De acordo com Oliveira et al. (2006), um exemplo de fruta muito comercializada em sua forma minimamente processada é o abacaxi (*Ananas comusus* (L.) Merril). O fato de o fruto perecer rapidamente e possuir um perfil de textura bastante vulnerável a amassamentos torna-o especialmente suscetível à proliferação fúngica. Ainda, em um estudo comparando 9 diferentes frutos minimamente processados, Graça et al. (2017) demonstraram que morangos e abacaxis foram aqueles que apresentaram maiores contagens de fungos.

Dentre os possíveis fungos contaminantes de alimentos, espécies com a habilidade de produzir esporos termorresistentes são merecedoras de especial atenção. Esporos fúngicos são capazes de sobreviver aos tratamentos térmicos usualmente aplicados na indústria de alimentos. De acordo com Aneja et al. (2014), os esporos de *Talaromyces flavus* exibem tal característica, pois são capazes de sobreviver a tratamentos térmicos de 100 °C por vários minutos em frutos. Tranquillini et al. (2017) demonstraram a existência de esporos de fungos pertencentes ao gênero *Talaromyces* em produtos após os processos modernos de pasteurização. Ainda, esse fungo é amplamente distribuído no ambiente, especialmente no solo, o que

justifica estudos sobre a contaminação de abacaxi por esse microrganismo. Entretanto, apesar de sua importância, a literatura carece de estudos avaliando a cinética de crescimento do *T. flavus* em frutas.

Como as propriedades dos alimentos variam com o tempo e espaço, somente parâmetros cinéticos não são suficientes para a análise e simulação do crescimento microbiológico de muitas situações reais. A temperatura é o fator que mais varia durante os processos que compõem a cadeia de suprimentos. Dessa forma, alguns autores sugeriram a possibilidade de integrar conhecimentos de transferência de calor com modelos cinéticos microbianos para a investigar os efeitos das flutuações de temperatura na vida de prateleira de alimentos (Lebert & Lebert, 2006). Nesse contexto, o estudo de crescimento de fungos em cenários dinâmicos ainda é pouco explorado na literatura, em comparação com estudos relativos a crescimento bacteriano, conforme mencionado por Silva et al. (2013).

Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram: (i) desenvolver um modelo matemático para prever o crescimento de *Talaromyces flavus* em polpa de abacaxi; (ii) validar o modelo tanto em condições estáticas quanto dinâmicas de temperatura; (iii) integrar o modelo cinético com equações de transferência de calor para prever a vida de prateleira de abacaxi minimamente processado contaminado com esporos de *T. flavus*; (iv) analisar a influência da geometria do produto (comprimento e diâmetro) e das condições de armazenamento (temperatura e velocidade do ar) na vida de prateleira desse produto.

2 Material e métodos

2.1 Aspectos microbiológicos

Cepas de *Talaromyces flavus* (NRRL 2098) foram obtidas da Fundação André Tostes e replicadas em meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA) esterilizado a 121 °C/15 min. O material foi incubado em estufa microbiológica (502/Fanem Orion) a 25 °C por 15 dias, para que ocorresse a esporulação do fungo. Após esse período, a superfície de ágar foi lavada com quatro alíquotas de 1 mL de uma solução de Tween-80 0,1% (v/v). A suspensão de esporos obtida foi utilizada em todos os experimentos de inoculação. Sua contagem foi de, aproximadamente, 2×10^4 esporos/mL.

Paralelamente, abacaxis obtidos de comerciantes locais da cidade de Porto Alegre foram descascados, desintegrados em um liquidificador e misturados com ágar-ágar (1% em proporção m/m), a fim de se obter um meio semissólido. Entende-se que, como a proporção mássica de ágar adicionado foi muito pequena, não ocorreram alterações nas propriedades físico-químicas do produto *in natura* devido a sua adição. Tal consideração é suportada por Huang et al. (2010), que demonstraram que adição de ágar em proporção de até 12,5% não foi suficiente para alterar o tempo necessário para germinação de esporos fúngicos. A polpa suplementada com ágar foi então esterilizada (121 °C/5min), transferida para placas de Petri e estocada a 25 °C até posterior uso. Essa etapa de estocagem foi realizada por, no máximo, dois dias, de forma a garantir que não ocorressem alterações apreciáveis na polpa. As placas de Petri foram ainda revestidas com PVC, a fim de evitar contaminações indesejáveis provenientes do meio externo ou perda de massa por umidade durante o armazenamento a 25 °C.

Para cada temperatura, seis placas de Petri com abacaxi foram inoculadas com 0,1 mL da suspensão de esporos. Aleatoriamente, quatro dessas placas foram utilizadas para propósitos de modelagem e duas foram reservadas para a etapa de validação. O diâmetro da colônia fúngica foi monitorado periodicamente usando um paquímetro. O monitoramento foi suspenso no momento em que a colônia fúngica havia coberto toda a superfície da placa. Quatro temperaturas foram analisadas para levantamento dos parâmetros cinéticos de crescimento (20, 25, 30 e 35 °C). Os experimentos foram realizados nas referidas temperaturas, pois o objetivo da pesquisa foi estudar e simular a comercialização do fruto em feiras e mercados abertos, onde geralmente o armazenamento ocorre em condições de não refrigeração. A temperatura típica de regiões tropicais (onde o fruto é geralmente cultivado) também contribuiu para a seleção das temperaturas.

2.2 Modelagem cinética

A partir dos dados obtidos experimentalmente, o modelo primário que melhor descreve o crescimento radial de *T. flavus* em abacaxi foi selecionado. Os modelos analisados foram o modelo linear (Equação 1), de Gompertz modificado (Equação 2), Baranyi modificado (Equação 3) e logístico (Equação 4), todos apresentados na Tabela 1. A seleção dos modelos foi baseada no fato de serem modelos clássicos de microbiologia preditiva e amplamente utilizados na literatura.

Tabela 1. Modelos primários e secundários utilizados no ajuste dos dados experimentais.

Nome do modelo	Modelo	Número da Equação	Referência
Modelos primários			
Linear	$r = \mu_{MAX}(t - \lambda)$	(1)	Silva et al. (2013)
Gompertz modificado	$r = r_{MAX} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{e \cdot \mu_{MAX}}{r_{MAX}} \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$	(2)	Silva et al. (2013)
Baranyi simplificado	$r = \mu_{MAX} \cdot Y$	(3)	Silva et al. (2013)
Logístico	$r = \frac{r_{MAX}}{1 + \exp \left[\left(\frac{4\mu_{MAX}}{r_{MAX}} \right) (\lambda - t) + 2 \right]}$	(4)	Silva et al. (2013)
Modelos secundários			
Raiz quadrada estendida	$\sqrt{z} = b \cdot (T - T_{min}) \cdot (1 - \exp(c(T - T_{max})))$	(5)	Silva et al. (2013)
Arrhenius modificado	$\ln z = C_0 + \frac{C_1}{T} + \frac{C_2}{T^2}$	(6)	Silva et al. (2013)
Polinomial	$z = a_0 + a_1 T + a_2 T^2$	(7)	Silva et al. (2013)
Hiperbólico	$\ln \lambda = \frac{q_0}{T - q_1}$	(8)	Silva et al. (2013)

Nos modelos acima $Y = t + \frac{1}{\mu_{MAX}} \ln [\exp(-\mu_{MAX}t) + \exp(-\mu_{MAX}\lambda) - \exp(-\mu_{MAX} - \mu_{MAX}\lambda)]$, $z = \mu_{MAX}$ ou $z = \lambda$.

Um teste de ANOVA foi conduzido no software Microsoft Excel 2013 para verificar se os parâmetros do modelo primário (μ_{MAX}, λ e r_{MAX}) eram dependentes da temperatura (p -valor < 0,05). Para descrição de eventual dependência, foram testados uma série de modelos secundários (raiz quadrada estendida (Equação 5), Arrhenius modificado (Equação 6), polinomial (Equação 7) e hiperbólico (Equação 8)), também descritos na Tabela 1. Adicionalmente para o tempo de duração da fase lag, analisou-se o modelo hiperbólico, usualmente aplicado somente para esse parâmetro (Silva et al., 2013). Em caso de independência com a temperatura, utilizou-se o valor médio dos experimentos.

Os modelos foram ajustados aos dados experimentais usando a função interna lsqnonlin do software Matlab 2015b, da Mathworks. Para comparar a performance dos modelos, os índices estatísticos *Bias factor* (Equação 9), *Accuracy Factor* (Equação 10), *Residual Sum of Squares* (Equação 11) e *Root Mean Square Error* (Equação 12) foram utilizados.

$$BF = 10^{\frac{\sum_{i=1}^n \log(r_{pred}) - \log(r_{obs})}{n}} \quad (9)$$

$$AF = 10^{\frac{\sum_{i=1}^n |\log(r_{pred}) - \log(r_{obs})|}{n}} \quad (10)$$

$$RSS = \sum_{i=1}^n (r_{obs} - r_{pred})^2 \quad (11)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (r_{pred} - r_{obs})^2}{n - p}} \quad (12)$$

O BF é um indicador do desvio entre os valores preditos e os valores experimentais, e quanto mais próximo de 1, melhor o modelo. Os fatores AF e RSS medem a discrepância entre os valores preditos e observados, e quanto menores os seus valores, mais exatos são os modelos. O fator RMSE aplica uma penalidade para modelos com mais parâmetros, e quanto menor seu valor, melhor é o modelo. Os índices estatísticos foram calculados utilizando o software Matlab 2015b, da Mathworks.

O modelo cinético desenvolvido foi validado com dados experimentais independentes, tanto em condições isotérmicas (20, 25, 30 e 35 °C) quanto em condições não isotérmicas. O procedimento de validação não isotérmica ocorreu em dois cenários: cenário A, em que o crescimento do microrganismo foi avaliado durante uma transição de cenário de alta para baixa temperatura (35 °C/6 dias para 20 °C/8 dias); cenário B, em que o crescimento do microrganismo foi avaliado durante uma transição de baixa para alta temperatura (20 °C/8 dias para 30 °C/6 dias). A seleção dos cenários não isotérmicos teve como objetivo avaliar se o modelo era efetivo em predizer o crescimento do fungo tanto em condições de aquecimento quanto de resfriamento do meio. Para o procedimento de validação isotérmica, 8 sets de dados de crescimento foram utilizados, 2 para cada temperatura analisada. Para a validação não isotérmica, 3 sets foram utilizados no cenário A e 4 sets no cenário B. Os índices BF e AF foram calculados para checar a capacidade do modelo de predizer o crescimento microbiológico na etapa de validação.

2.3 Modelagem térmica

Esta seção elucidará o modelo matemático utilizado para a modelagem térmica do abacaxi. Neste trabalho, o formato físico do produto foi modelado matematicamente desde o formato de placas (condição em que o abacaxi é comercializado em fatias) até o formato de um cilindro curto (condição em que é comercializado sem cortes). Para obtenção do perfil de temperaturas do produto, a solução exata para placas planas e para cilindros curtos foi adotada neste estudo. A referência utilizada nessa seção foi o trabalho de Incropera & De Witt (2014).

2.3.1 Transferência de calor em coordenadas retangulares

Como fatias de abacaxi possuem comprimento baixo, se comparado com seu raio, pode-se considerar que a troca de calor ocorre unidimensionalmente na direção axial. Desconsiderando geração de calor no produto e considerando as propriedades termofísicas constantes, a equação diferencial que dita o perfil de temperaturas é a Equação 13.

$$\alpha \left(\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} \right) = \frac{\partial T}{\partial t} \quad (13)$$

A condição inicial e as condições de contorno aplicadas nesse caso foram:

- Temperatura inicial uniforme: em $t=0$, $T=T_0$;
- Isolamento na superfície inferior da fatia: em $x=0$, $\frac{\partial T}{\partial x}=0$;
- Transferência de calor por convecção na superfície superior: em $x=L$, $h(T-T_\infty)=-k\frac{\partial T}{\partial x}$.

A solução exata para a Equação 13, dadas as condições mencionadas, é dada pela Equação 14.

$$\theta_{PP} = \frac{T_0 - T_\infty}{T - T_\infty} = \sum_{n=1}^{\infty} C_n \exp(-\zeta_n^2 Fo) \cos(\zeta_n x^*) \quad (14)$$

onde C_n e ζ_n são constantes dependentes do número de Biot (Equação 15). O número de Fourier é dado pela Equação 16. O comprimento característico para coordenadas retangulares é igual ao comprimento do produto.

$$Bi = \frac{hL_c}{k} \quad (15)$$

$$Fo = \frac{\alpha t}{L_c^2} \quad (16)$$

Para calcular o número de Biot, é necessário determinar o coeficiente de troca de calor convectivo. Dessa forma, a seguinte correlação empírica estabelecida na literatura foi utilizada (Equação 17).

$$Nu = \frac{hL_c}{k} = C \cdot Re^n \cdot Pr^m \quad (17)$$

onde C , n e m são constantes cujo valor depende do regime de escoamento do fluido. Para regime laminar ($Re < 5 \times 10^5$), $C=0,664$, $n=1/2$ e $m=1/3$. Para regime turbulento ($Re > 5 \times 10^5$), $C=0,037$, $n=4/5$ e $m=1/3$. O número de Reynolds é dado pela Equação 18.

$$Re = \frac{L_c \cdot u}{v} \quad (18)$$

2.3.2 Transferência de calor em coordenadas cilíndricas

Para um cilindro infinito, considerando troca de calor somente na direção radial, ausência de geração de calor, propriedades termofísicas constantes e aplicando condições inicial e de contorno análogas àquelas utilizadas na seção 2.3.1, obtém-se a expressão ditada pela Equação 19.

$$\theta_{IC} = \frac{T_0 - T_\infty}{T - T_\infty} = \sum_{n=1}^{\infty} C_n \exp(-\zeta_n^2 Fo) J_0(\zeta_n r^*) \quad (19)$$

A equação empírica para determinar o coeficiente de troca de calor convectivo sobre um cilindro foi a correlação de Churchill-Bernstein, dada pela Equação 20. O comprimento característico para coordenadas cilíndricas é igual ao diâmetro do produto.

$$Nu = 0,3 + \frac{0,62 \cdot Re^{1/2} \cdot Pr^{1/3}}{[1 + (0,4 / Pr)^{2/3}]^{1/4}} \left[1 + \left(\frac{Re}{282.000} \right)^{5/8} \right]^{4/5} \quad (20)$$

2.3.3 Transferência de calor bidimensional

Quando as trocas de calor são significativas tanto na direção radial quanto axial, tem-se troca de calor bidimensional no produto (caso do abacaxi comercializado sem ser fatiado). Para esse caso, a distribuição de temperatura é dada pela Equação 21.

$$\theta_{CC} = \frac{T_0 - T_\infty}{T - T_\infty} = \theta_{PP} \cdot \theta_{CI} \quad (21)$$

2.4 Integração de modelos e simulações

A partir da validação não isotérmica, pode-se integrar o modelo cinético com o modelo térmico. As simulações consideraram o produto como sofrendo aquecimento do ar externo e estando dentro de uma embalagem plástica. Dessa forma, o efeito do ar secando a superfície do produto e causando consequente redução na temperatura (resfriamento evaporativo) foi negligenciado. A integração dos modelos ocorreu da seguinte forma: o perfil de temperatura obtido pela modelagem de transferência de calor foi utilizado para calcular o tempo de duração da fase lag e a taxa de crescimento em função do tempo de aquecimento, usando a relação estabelecida pelo modelo secundário. Essas informações foram inseridas no modelo primário,

escrito em sua forma diferencial, para predizer o crescimento do raio da colônia em função do tempo e da temperatura. A forma diferencial do modelo primário foi solucionada utilizando o método de Runge-Kutta de quarta ordem. Quando o raio da colônia atingia o valor crítico de 1,5 mm, o tempo era salvo e assumido como sendo o tempo de shelf life do produto, uma vez que colônias fúngicas desse tamanho são visíveis ao olho nu, levando o consumidor a rejeitar o produto (Gibson et al., 1994). O modelo integrado foi implementado no Matlab.

Dois sets de simulações foram rodados. No primeiro, foi analisada a vida de prateleira do abacaxi em função das condições de armazenamento (temperatura e velocidade do ar). No segundo, foi analisada a vida de prateleira do abacaxi em função de sua geometria (diâmetro e comprimento do produto). O valor dos parâmetros utilizados nas simulações é demonstrado na Tabela 2. Para obtenção das propriedades termofísicas do ar, a temperatura de 27 °C foi utilizada como referência, que corresponde aproximadamente à temperatura média dos cenários analisados.

Tabela 2. Parâmetros do modelo e propriedades termofísicas do ar e do abacaxi utilizados nas simulações.

Parâmetro	Valor	Fonte
α_{ar}	$22,5 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ ^{a b}	Incropera & De Witt (2014)
v_{ar}	$15,89 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ ^{a b}	Incropera & De Witt (2014)
k_{ar}	$26,3 \times 10^{-3} \text{ m}^2/\text{s}$ ^{a b}	Incropera & De Witt (2014)
p_r	0,707 ^{a b}	Incropera & De Witt (2014)
u	0,2-10 m/s ^a 5 m/s ^b	Suposição do modelo
T_∞	22-34 °C ^a 28 °C ^b	Suposição do modelo
D	0,12 m ^a 0,06-0,14 m ^b	Suposição do modelo
L	0,02 m ^a 0,02-0,3 m ^b	Suposição do modelo
$k_{abacaxi}$	0,738 W/m °C ^{a b}	Silva (1997)
$\alpha_{abacaxi}$	$1,84 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$ ^{a b}	Silva (1997)
T_0	20 °C ^{a b}	Suposição do modelo
r_{crit}	0,0015 m ^{a b}	Gibson et al. (1994)

^aValores utilizados no primeiro set de simulações. ^bValores utilizados no segundo set de simulações.

3 Resultados e discussão

3.1 Seleção do modelo preditivo primário

A Figura 1 demonstra a curva de crescimento do *Talaromyces flavus* em polpa de abacaxi em cada uma das temperaturas analisadas em comparação com um set de dados experimentais. Os parâmetros de crescimento dos modelos primários descritos na seção de Materiais e Métodos são demonstrados na Tabela 3.

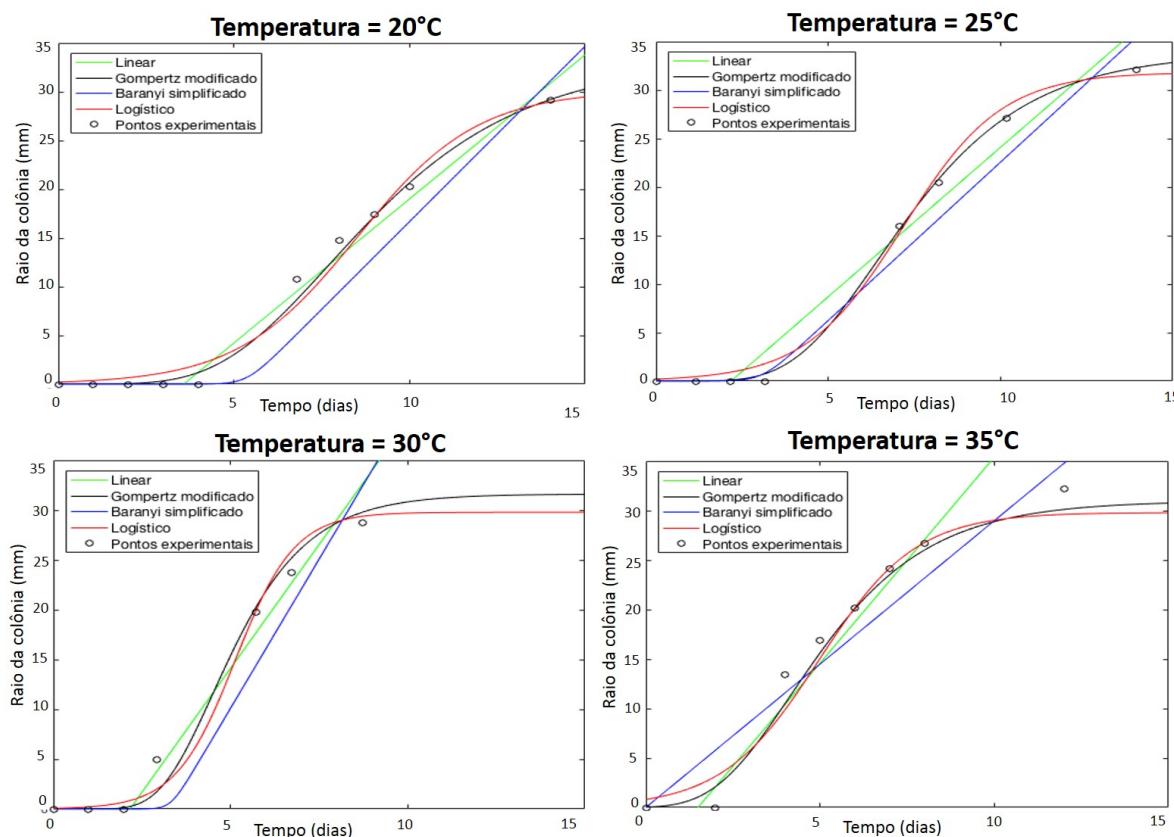


Figura 1. Curvas de crescimento para *T. flavus* obtidas experimentalmente e preditas pelos modelos.

Tabela 3. Valor médio e desvio-padrão da taxa de crescimento radial máxima (μ_{MAX}), tempo de duração da fase lag (λ) e raio máximo da colônia (r_{MAX}) preditos pelos modelos, em cada temperatura considerada no estudo.

T (°C)	μ_{MAX} (mm/dia)	Linear		Gompertz modificado	
		λ (dias)	μ_{MAX} (mm/dia)	λ (dias)	r_{MAX} (mm)
20	$2,958 \pm 0,111$	$3,572 \pm 0,130$	$3,954 \pm 0,221$	$4,609 \pm 0,140$	$33,285 \pm 0,898$
25	$3,080 \pm 0,157$	$2,175 \pm 0,192$	$5,082 \pm 0,230$	$3,983 \pm 0,122$	$33,845 \pm 2,286$
30	$4,974 \pm 0,023$	$2,163 \pm 0,295$	$7,794 \pm 0,597$	$3,018 \pm 0,439$	$31,610 \pm 1,988$
35	$4,162 \pm 0,138$	$1,495 \pm 0,044$	$5,196 \pm 0,219$	$1,975 \pm 0,026$	$30,975 \pm 0,922$
T (°C)	μ_{MAX} (mm/dia)	Baranyi simplificado		Logístico	
		λ (dias)	μ_{MAX} (mm/dia)	λ (dias)	r_{MAX} (mm)
20	$3,600 \pm 0,071$	$5,365 \pm 0,258$	$4,386 \pm 0,223$	$5,072 \pm 0,130$	$30,137 \pm 0,994$
25	$3,264 \pm 0,313$	$3,084 \pm 0,293$	$5,580 \pm 0,219$	$4,325 \pm 0,318$	$31,827 \pm 1,780$
30	$5,988 \pm 0,115$	$3,312 \pm 0,145$	$8,868 \pm 0,727$	$3,451 \pm 0,390$	$29,782 \pm 1,736$
35	$2,898 \pm 0,102$	$-0,859^* \pm 0,102$	$5,358 \pm 0,171$	$2,189 \pm 0,061$	$29,802 \pm 0,671$

*Duração da fase lag negligenciável. Nesse caso, considerar-se-á o valor como sendo 0.

Comparando os dados obtidos em diferentes temperaturas, uma tendência de diminuição no tempo de fase lag com o aumento da temperatura é observada em todos os modelos testados. De acordo com os modelos, quando a temperatura é aumentada de 20 para 30 °C, o tempo de duração da fase lag diminui entre 1,5 e 2 dias. Trata-se de um resultado expressivo, uma vez que o shelf life do abacaxi é de aproximadamente 8 dias sob refrigeração, sugerindo que em temperaturas como a do presente estudo o tempo de shelf life tende a ser consideravelmente menor (Nur Ilida et al., 2011).

Para a taxa de crescimento radial máxima, observa-se um aumento do parâmetro até aproximadamente 30 °C, com subsequente declínio. A temperatura ótima de crescimento de *T. flavus* ainda não havia sido reportada na literatura, sendo uma das contribuições do presente trabalho. De forma geral, microrganismos termófilos tendem a possuir temperaturas ótimas de crescimento similares a encontrada para o fungo analisado (Silva et al., 2013, 2017; Kosegarten et al., 2017).

A Tabela 4 demonstra que os melhores valores para os índices estatísticos analisados foram encontrados para o modelo de Gompertz modificado. Entretanto, os modelos logístico e linear também descreveram de forma satisfatória o crescimento do fungo. A porcentagem de dados experimentais mais bem ajustados para os índices BF, AF, RSS e RMSE foram, respectivamente, 62,5%, 93,7%, 87,5% e 68,8%. Dessa forma, o modelo de Gompertz modificado foi selecionado como o modelo preditivo primário com melhor performance para descrever o crescimento da colônia fúngica em abacaxi. Esse resultado encontra-se em acordo com a literatura, uma vez que o modelo foi utilizado em vários trabalhos de modelagem de crescimento fúngico recentemente, e.g. Wang et al. (2018) e Kosegarten et al. (2017).

Tabela 4. Resultados dos índices estatísticos para seleção do melhor modelo preditivo primário, expressos por média +/- desvio-padrão.

	Linear	Gompertz modificado	Baranyi simplificado	Logístico
BF	1,057 ± 0,402	1,003 ± 0,040	0,755 ± 0,038	1,021 ± 0,063
RSS	15,23 ± 6,333	3,687 ± 0,981	52,33 ± 15,06	8,002 ± 2,015
AF	1,137 ± 0,060	1,049 ± 0,021	1,463 ± 0,171	1,167 ± 0,041
RMSE	2,377 ± 0,575	1,286 ± 0,425	4,794 ± 0,675	2,102 ± 0,418

3.2 Seleção do modelo preditivo secundário

Um teste de ANOVA demonstrou que os parâmetros μ_{MAX} ($p = 5.78 \times 10^{-4}$) e λ ($p = 3.24 \times 10^{-4}$) eram dependentes da temperatura. Por outro lado, o parâmetro r_{MAX} ($p = 0.186$) não demonstra tal dependência. Nesse caso, o valor médio das observações foi utilizado para propósitos de simulação ($r_{MAX} = 32.4$ mm). Os parâmetros ajustados e os índices estatísticos de todos os modelos testados para a máxima taxa de crescimento e para o tempo de duração da fase lag são demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados dos parâmetros e índices de performance para os modelos secundários descrevendo o efeito da temperatura na máxima taxa de crescimento radial (μ_{MAX}) e tempo de duração da fase lag (λ).

Parâmetro Primário	Modelo	Parâmetros	Valores ajustados	BF	AF	RSS	RMSE
μ_{MAX}	Raiz quadrada estendida	b	0,0803				
		T_{min}	268,81 K				
		c	2,1135	0,999	1,012	0,2684	*
		T_{max}	308,609 K				
	Arrhenius modificado	C_0	-0,8142				
		C_1	151,82	1	1,136	3,458	1,86
		C_2	-2,17E+03				
	Polinomial de segunda ordem	a_0	-25,048				
		a_1	2,1781	0,976	1,127	2,381	1,543
		a_2	-0,0373				
λ	Raiz quadrada estendida	b	1,1274				
		T_{min}	268,42 K				
		c	0,0032	0,992	1,052	0,104	*
		T_{max}	317,63 K				
	Arrhenius modificado	C_0	-3,7786				
		C_1	224,15	1	1,021	0,024	0,154
		C_2	-2,36				
	Polinomial de segunda ordem	a_0	5,2499				
		a_1	0,052	0,991	1,011	0,006	0,078
		a_2	-0,0042				
	Hiperbólico	q_0	27,936				
		q_1	275,5	1,004	1,126	0,594	0,545

*Não avaliado devido a restrições matemáticas.

Todos modelos descreveram de forma satisfatória a máxima taxa de crescimento de *T. flavus*, uma vez que demonstraram valores de BF e AF próximos a 1 e baixos valores de RSS e RMSE. O modelo de Arrhenius modificado demonstrou o melhor valor de BF, seguido pelo modelo de raiz quadrada estendida. Para os índices AF e RSS, o modelo de raiz quadrada estendida demonstrou os melhores resultados. O valor do índice RMSE não pode ser determinado para o modelo de raiz quadrada estendida, uma vez que o número de parâmetros do modelo é igual ao número de amostras. O modelo polinomial demonstrou os melhores valores de RMSE. Dentre os modelos, o modelo de raiz quadrada estendida foi escolhido para modelar o efeito da temperatura sobre a máxima taxa de crescimento do fungo, uma vez que o modelo demonstrou os melhores valores de AF e RSS, e valor de BF muito próximo ao ideal. Possivelmente, esse é o modelo secundário mais clássico para a descrição da máxima taxa de crescimento (Juneja et al., 2019).

Para o tempo de duração da fase lag, observa-se que o modelo de Arrhenius modificado apresentou o melhor valor de BF. Entretanto, o modelo polinomial de segunda ordem demonstrou melhores valores para todos os índices restantes (AF mais próximo a 1, menores valores de RSS e RMSE), sendo selecionado como o modelo que melhor descreve a influência da temperatura no tempo de duração da fase lag.

3.3 Validação do modelo cinético

Os índices estatísticos dos processos de validação são demonstrados na Tabela 6. Para a validação em condições não isotérmicas, o modelo de Gompertz modificado teve de ser reescrito em sua forma diferencial. De acordo com Van Impe et al. (1995), a forma diferencial do modelo é dada pela Equação 22, e sua condição inicial é dada pela Equação 23. A forma diferencial do modelo primário é necessária, uma vez que os parâmetros (μ_{MAX} e λ) variam com o tempo de acordo com a condição dinâmica estabelecida pela temperatura.

$$\frac{\partial r}{\partial t} = \frac{\mu_{\text{MAX}} \cdot \exp(1)}{r_{\text{máx}}} \cdot r \cdot \ln\left(\frac{r_{\text{máx}}}{r}\right) \quad (22)$$

$$r(0) = r_0 + r_{\text{máx}} \exp\left[-\exp\left(\frac{\mu_{\text{MAX}} \cdot \exp(1)}{r_{\text{máx}}} \cdot \lambda + 1\right)\right] \quad (23)$$

Tabela 6. Resultados dos índices estatísticos para o procedimento de validação do modelo preditivo desenvolvido, expressos por média +/- desvio-padrão.

Cenário	Temperatura	Nº de placas	BIAS	AF
Isotérmico	20 °C	2	0,945 ± 0,016	1,077 ± 0,002
Isotérmico	25 °C	2	1,034 ± 0,036	1,057 ± 0,003
Isotérmico	30 °C	2	1,056 ± 0,143	1,102 ± 0,077
Isotérmico	35 °C	2	0,972 ± 0,008	1,065 ± 0,004
Não isotérmico A	35 °C/6 dias + 20 °C/8 dias	3	1,081 ± 0,065	1,086 ± 0,058
Não isotérmico B	20 °C/8 dias + 30 °C/6 dias	4	1,030 ± 0,0340	1,074 ± 0,026

Observam-se valores de BF e AF próximos a 1 nos procedimentos de validação isotérmica. Comparando os índices obtidos neste trabalho com a literatura, é possível observar que o modelo descreveu satisfatoriamente o crescimento fúngico em polpa de abacaxi, demonstrando alta concordância com os dados experimentais e estando em concordância com a faixa aceitável encontrada por outros autores na literatura em estudos isotérmicos (Teleken et al., 2018; Silva et al., 2013, 2017).

Para a validação não isotérmica, observam-se valores de BF maiores que 1 em ambos cenários. Tal comportamento indica que o modelo superestimou a taxa de crescimento da colônia, tendência que pode ser visualizada na Figura 2. De acordo com Silva et al. (2017), essa característica é desejável, uma vez que é

preferível a rejeição de um produto não contaminado (erro do tipo 1) à aceitação de um produto contaminado (erro do tipo 2). Erros do tipo 2 são típicos de modelos que subestimam a taxa de crescimento do fungo, consistindo em uma condição perigosa ao consumidor.

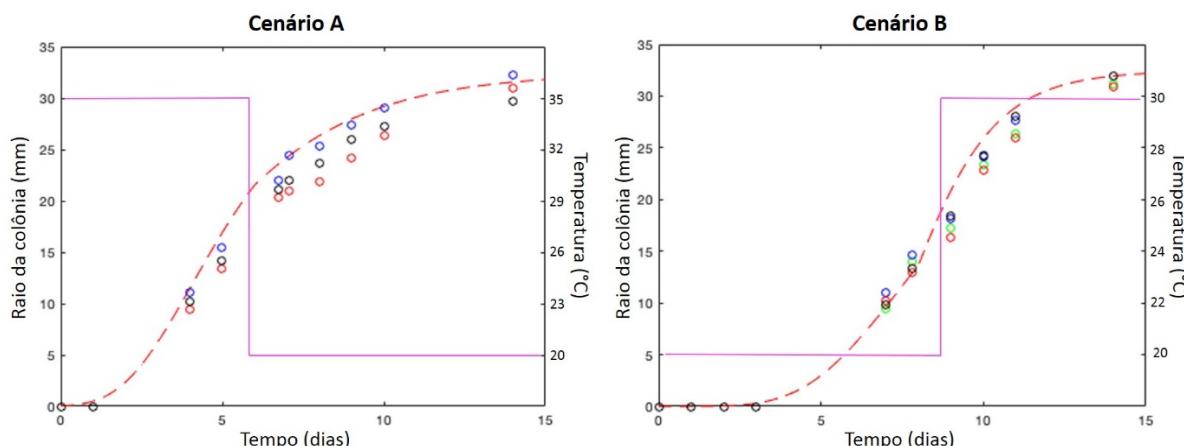


Figura 2. Resultados do procedimento de validação durante a transição de uma condição de maior para menor temperatura (cenário A) e vice-versa (cenário B). A linha roxa corresponde a temperatura ambiente, a linha vermelha tracejada indica a curva previda pelo modelo matemático elaborado e os pontos são os dados experimentais.

As previsões do modelo para o cenário B foram melhores que aquelas para o cenário A. Teleken et al. (2018) encontraram valores de BF entre 1,0372 e 1,1065, e valores de AF entre 1,0541 e 1,1065 em cenários não isotérmicos de temperatura variando entre 0 e 15 °C. Silva et al. (2017) obtiveram valores de BF entre 0,95 e 1,03 e valores de AF entre 1,04 e 1,07 para cenários de temperaturas alternando entre 4 e 25 °C. Conclui-se portanto que o modelo desenvolvido e validado neste trabalho descreve de forma satisfatória o crescimento fúngico em condições dinâmicas de temperatura, pois apresenta valores de BF e AF muito próximos a 1, além de se encontrar dentro da faixa obtida por outros autores. Assim, a integração entre o modelo cinético microbiano com equações de transferência de calor é possível para estudar os efeitos das condições de processamento na vida de prateleira do abacaxi.

3.4 Simulação da vida de prateleira do abacaxi em condições de aquecimento

3.4.1 Vida de prateleira em função das condições de armazenamento

Os efeitos da condição de armazenamento na vida de prateleira do abacaxi contaminado com *T. flavus* foram estudados variando a velocidade e temperatura do ar. A Figura 3 demonstra os resultados obtidos nas simulações.

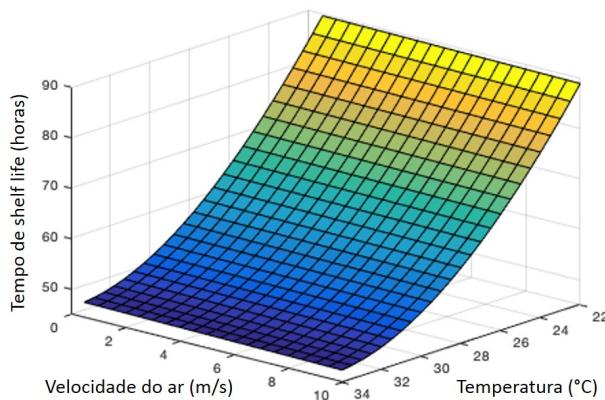


Figura 3. Resultados das simulações das condições de armazenamento na vida de prateleira de abacaxi contaminado por *T. flavus* em sua superfície superior.

Nas condições simuladas, a vida de prateleira variou de 47,55 horas (aproximadamente 2 dias) até 89,47 horas (aproximadamente 4 dias), ao variar-se somente a temperatura do ar. A Figura 3 demonstra também que a temperatura exerce maior influência na vida de prateleira em comparação com a velocidade do ar. Aumentando a temperatura ambiente, o tempo necessário até o aparecimento dos primeiros sinais de contaminação no abacaxi diminui. De acordo com Silva et al. (2017), o aumento da temperatura favorece a cinética microbiana de termófilos, resultando no surgimento da colônia fúngica mais rapidamente.

Por outro lado, mantendo a temperatura do ar constante, uma pequena redução na vida de prateleira do produto foi observada com o aumento da velocidade do ar. A explicação para tal comportamento se encontra no fato de que altas velocidades de ar provocam uma troca térmica mais efetiva. Assim, o produto entra em equilíbrio térmico com a temperatura ambiente em menos tempo. Consequentemente, as fatias de abacaxi se encontram em altas temperaturas por maior período de tempo, o que favorece a cinética microbiana. Graficamente, esse comportamento é de difícil visualização, pois a influência do fator no tempo de shelf life é muito baixa se comparada com o efeito da temperatura. Em sistemas de refrigeração, o efeito da velocidade do ar é consideravelmente mais pronunciado e relevante, conforme visualizado nas simulações realizadas por Silva et al. (2013).

3.4.2 Vida de prateleira em função da geometria do produto

A Figura 4 demonstra os resultados obtidos nas simulações. Os resultados demonstram que a vida de prateleira variou de 60,27 horas (aproximadamente 2,5 dias) até 74,62 horas (aproximadamente 3,1 dias).

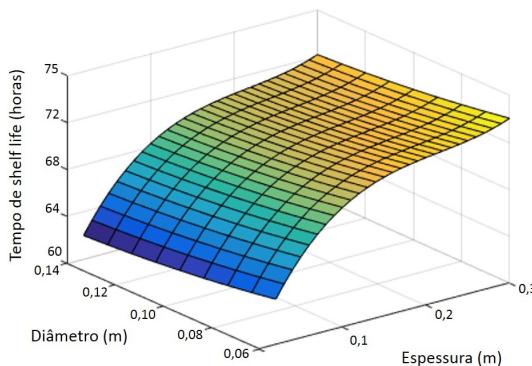


Figura 4. Resultados das simulações da geometria do produto na vida de prateleira de abacaxi contaminado por *T. flavus* em sua superfície superior.

Observa-se que o efeito do comprimento do produto é mais pronunciado que o efeito de seu diâmetro. O aumento no comprimento está relacionado com o aumento da massa do produto. Dessa forma, uma maior inércia térmica é observada durante o processo de aquecimento, uma vez que é necessária maior quantidade de calor para aquecer o produto nessas condições (Incopera & De Witt, 2014). Conclui-se que o aumento do comprimento do produto diminui a cinética de crescimento. O efeito da variação desse parâmetro de seu valor mínimo (2 cm) para seu valor máximo (30 cm) fez a vida de prateleira do produto variar de 60 para 74 horas (para diâmetro de 14 cm). Esse resultado indica um aumento de 14 horas na vida de prateleira do produto, o que é um ganho notável tratando-se de frutas minimamente processadas.

Mantendo o comprimento do produto inalterado e aumentando o diâmetro do abacaxi, uma pequena redução na vida de prateleira é observada. De acordo com Incopera & De Witt (2014), um maior diâmetro é associado com uma maior superfície de troca térmica. Isso provoca maior troca de calor entre o ambiente e o produto, fazendo a temperatura do alimento aumentar mais rapidamente. Dessa forma, o tempo necessário para o aparecimento dos primeiros sinais de contaminação no produto é diminuído.

4 Conclusão

O presente estudo analisou o crescimento do fungo *Talaromyces flavus* em polpa de abacaxi a partir de uma integração entre modelos cinéticos e de transferência de calor. O modelo de Gompertz modificado combinado com os modelos de raiz quadrada estendida e polinomial de segunda-ordem demonstraram a melhor performance de acordo com os índices estatísticos analisados. O modelo foi validado satisfatoriamente tanto em condições estáticas quanto dinâmicas de temperatura (em cenários de aquecimento e resfriamento).

O modelo cinético proposto foi integrado com um modelo de transferência de calor para simular os efeitos da geometria do produto e das condições ambientais no tempo de shelf life. As simulações indicaram que o comprimento do produto e a temperatura do ar são os principais fatores responsáveis pela redução da vida de prateleira do produto. Uma redução de dois dias no tempo necessário para o aparecimento dos primeiros sinais de contaminação na superfície do abacaxi ocorre quando a temperatura do ar é aumentada de 22 para 34 °C. Isso indica que a comercialização deve ocorrer na menor temperatura possível, desfavorecendo assim consideravelmente a cinética do microrganismo. Um aumento de 15 horas na vida de prateleira do produto foi observado com o abacaxi sendo comercializado sem cortes, indicando que a comercialização do produto deva ser realizada sem que o produto seja fatiado. Observou-se baixo efeito do diâmetro do produto e da velocidade do ar no tempo de shelf life, indicando que tais variáveis não são tão relevantes para o controle microbiológico nos cenários analisados.

Os autores sugerem como possibilidade para pesquisas futuras o estudo do crescimento do fungo em outros frutos (e.g. morango), ou a investigação do efeito da variação da umidade relativa do ar e mecanismos de transferência de massa no shelf life do produto. Uma vez que os parâmetros de crescimento obtidos no presente estudo foram estudados em polpa desintegrada, pesquisas futuras poderiam também atentar para a validação desses parâmetros no fruto *in natura*.

Referências

- Aneja, K. R., Dhiman, R., Aggarwal, N. K., & Aneja, A. (2014). Emerging preservation techniques for controlling spoilage and pathogenic microrganisms in fruit juices. *International Journal of Microbiology*, 2014, 1-14.
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/758942>
- Gibson, A. M., Baranyi, J., Pitt, J. I., Eyles, M. J., & Roberts, T. A. (1994). Predicting fungal growth: The effect of water activity on *Aspergillus flavus* and related species. *International Journal of Food Microbiology*, 23(3-4), 419-431.
[http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90167-8](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605(94)90167-8)
- Graça, A., Esteves, E., Nunes, C., Abadias, M., & Quintas, C. (2017). Microbiological quality and safety of minimally processed fruits in the marketplace of Southern Portugal. *Food Control*, 73, 775-783. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.046>
- Huang, Y., Begum, M., Chapman, B., & Hocking, A. (2010). Effect of reduced water activity and reduced matrix potential on the germination of xerophilic and non-xerophilic fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 140(1), 1-5. PMid:20231042.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.026>
- Incopera, F. P., & De Witt, D. P. (2014). *Fundamentos de transferência de calor e de massa* (7. ed.). Rio de Janeiro: LTC.

- Juneja, V. K., Golden, C. E., Mishra, A., Harrison, M. A., Mohr, T., & Silverman, M. (2019). Predictive model for growth of *Bacillus cereus* during cooling of cooked rice. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 49-58. PMid:30296636. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.023>
- Kosegarten, C. E., Ramírez-Corona, N., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2017). Description of *Aspergillus flavus* growth under the influence of different factors by kinetic, probability of growth, and time-to-detection models. *International Journal of Food Microbiology*, 240, 115-123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.024>
- Lebert, I., & Lebert, A. (2006). Quantitative prediction of microbial behavior during food processing using an integrated modelling approach: A review. *International Journal of Refrigeration*, 29(6), 968-984. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2006.04.008>
- Nur Ilida, M., Asiah, A. S., Nur Aida, M. P., & Hairiayah, M. (2011). Microbiological quality of fresh-cut pineapple with an in-package oxygen absorbent. In *Proceedings of the VII International Pineapple Symposium*. Malaysia: International Society for Horticultural Science.
- Oliveira, A. M. C., Costa, J. M. C., & Maia, G. A. (2006). Qualidade higiênico-sanitária de abacaxi "Pérola" minimamente processado. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*, 19(1), 19-24. <http://dx.doi.org/10.5020/18061230.2006.p19>
- Rico-Munoz, E. (2017). Heat resistant molds in foods and beverages: Recent advances on assessment and prevention. *Current Opinion in Food Science*, 17, 75-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2017.10.011>
- Silva, N. B., Longhi, D. A., Martins, W. F., Laurindo, J. B., Aragão, G. M. F., & Carciofi, B. A. (2017). Modelling the growth of *Lactobacillus viridescens* under non-isothermal conditions in vacuum-packed sliced ham. *International Journal of Food Microbiology*, 240, 97-101. PMid:27207810. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.014>
- Silva, P. R. S., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. (2013). Integrating a kinetic microbial model with a heat transfer model to predict *Byssochlamys fulva* growth in refrigerated papaya pulp. *Journal of Food Engineering*, 118(3), 279-288. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.014>
- Silva, S. B. (1997). *Propriedades termofísicas de polpa de abacaxi* (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Teleken, J. T., Galvão, A. C., & Robazza, W. S. (2018). Use of modified Richards model to predict isothermal and non-isothermal microbial growth. *Brazilian Journal of Food Microbiology*, 49(3), 614-620. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2018.01.005>
- Tranquillini, R., Scaramuzza, N., & Berni, E. (2017). Occurrence and ecological distribution of Heat Resistant Moulds Spores (HRMS) in raw materials used by food industry and thermal characterization of two *Talaromyces* isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 242, 116-123. PMid:27988465. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.023>
- Van Impe, J. F., Nicolai, B. M., Schellekens, M., Martens, T., & De Baerdemaeker, J. (1995). Predictive microbiology in a dynamic environment: A system theory approach. *International Journal of Food Microbiology*, 25(3), 227-249. [http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00140-2](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605(94)00140-2)
- Wang, Y., Feng, K., Liu, B., Zhang, Z., Wei, J., Yuan, Y., & Yue, T. (2018). Mycoflora assessment, growth and toxigenic features of patuli-producers in kiwifruit in China. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(7), 2573-2581. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.8747>

Financiamento: Nenhum.

Received: Aug. 14, 2018; Accepted: Mar. 08, 2019