

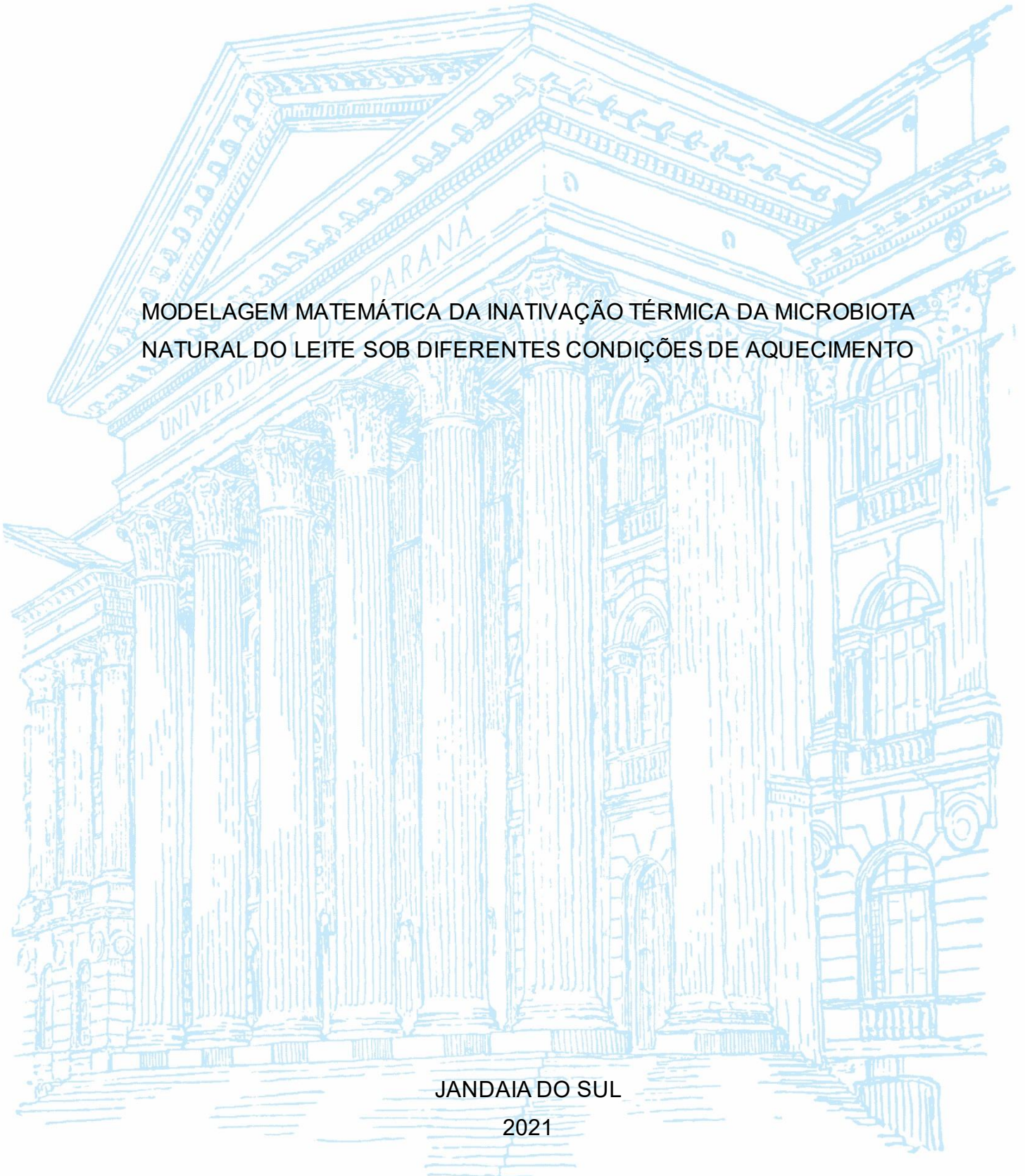
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VANESSA CAROLINA MARTINS PRINA

MODELAGEM MATEMÁTICA DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA MICROBIOTA  
NATURAL DO LEITE SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE AQUECIMENTO

JANDAIA DO SUL

2021



VANESSA CAROLINA MARTINS PRINA

MODELAGEM MATEMÁTICA DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA MICROBIOTA  
NATURAL DO LEITE SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE AQUECIMENTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como requisito parcial à obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia de Alimentos,  
Universidade Federal do Paraná – Campus Jandaia  
do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Angelo Longhi

JANDAIA DO SUL

2021

P954m Prina, Vanessa Carolina Martins  
Modelagem matemática da inativação térmica da microbiota natural do leite sob diferentes condições de aquecimento. / Vanessa Carolina Martins Prina. – Jandaia do Sul, 2021.  
49 f.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Angelo Longhi  
Trabalho de Conclusão do Curso (graduação) – Universidade Federal do Paraná. Campus Jandaia do Sul. Graduação em Engenharia de Alimentos.

1. Microbiologia preditiva. 2. Tratamento térmico. 3. Morte térmica.  
4. Leite cru. I. Longhi, Daniel Angelo. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD: 664



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PARECER Nº 07/2021/UFPR/R/JA  
PROCESSO Nº 23075.038658/2021-59  
INTERESSADO: UFPR/R/JA/CCEAL - COORDENAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS - JANDAIA

**TERMO DE APROVAÇÃO**

VANESSA CAROLINA MARTINS PRINA

MODELAGEM MATEMÁTICA DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA MICROBIOTA NATURAL DO LEITE SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE AQUECIMENTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos no curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, aprovado pela seguinte banca examinadora:

Orientador: PROF. DR. DANIEL ANGELO LONGHI  
Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

PROF<sup>A</sup>. DR<sup>A</sup>. LUANA CAROLINA BOSMULER ZUGE  
Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

PROF. DR. RAIMUNDO ALBERTO TOSTES  
Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Jandaia do Sul, 03 de agosto de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **DANIEL ANGELO LONGHI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 03/08/2021, às 18:47, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **LUANA CAROLINA BOSMULER ZUGE, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 03/08/2021, às 18:47, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **RAIMUNDO ALBERTO TOSTES, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 03/08/2021, às 18:47, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **3695845** e o código CRC **8698D73E**.

Dedico este trabalho de conclusão de curso aos meus pais, Lúcia e Valdomiro, e às minhas avós, Genilda de Fátima e Maria Prina (*in memoriam*), com todo meu amor e eterna gratidão.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser tão bondoso comigo. Por ser meu caminho, minha força e alegria, por me dar ânimo e coragem para encarar as adversidades e medos da vida.

Ao meu pai, por todo amor e exemplo, por não medir esforços para me fazer feliz e por trabalhar incansavelmente para sustentar nosso lar, me dando assim a oportunidade de estudar e concluir esta graduação.

À minha mãe, por me amar mais do que eu imaginava ser possível, por me entender, me abraçar, me acalmar e me livrar dos medos, por enxugar minhas lágrimas não só durante a escrita deste trabalho, mas durante todo o curso.

À minha avó Genilda, por todo amor, dedicação e oração. Por acreditar em mim mais que eu mesma.

Aos meus tios, Silvana e Silvio, e toda minha família que sempre confiaram em mim, me amaram e compreenderam minha ausência.

Ao meu companheiro, Caio, pelo amor, compreensão e suporte nos meus piores dias. Por se doar ao máximo para me ajudar e amenizar meus medos.

Às amigas, ou melhor, às irmãs que a universidade me proporcionou, Ariane, Gabrielly, Laryssa e Nathália, palavras não seriam suficientes para agradecer-las por tudo que vivemos ao longo desses anos, por todo suporte, auxílio e amor.

À Universidade Federal do Paraná – *Campus* Jandaia do Sul e aos seus docentes por me proporcionarem um ensino de ótima qualidade.

Ao meu orientador Daniel Angelo Longhi, por toda paciência, compreensão e dedicação. Obrigada por tornar esse momento, tão amedrontador para mim, em algo mais leve e alcançável. Não poderia ter escolhido orientação melhor.

À Rosângela M. Gazola e a Gabriela Campaner Salmazo, por todo auxílio durante o desenvolvimento deste estudo, sem vocês nada disso seria possível.

Aos Professores Raimundo Tostes e Luana Bosmuler pela atenção e disponibilidade em avaliar o presente trabalho.

Por fim, agradeço a todos os familiares, colegas de estudo e de trabalho que, direta ou indiretamente, me ajudaram, acreditaram em mim e me incentivaram a realizar esse trabalho.

“Portanto, não vás dizer no teu coração: “Foi minha força e o poder das minhas mãos que me proporcionaram estas riquezas”. Lembra-te de Iahweh teu Deus, pois é ele que te concede força.”

(Deuteronômio 8, 17-18)

# MODELAGEM MATEMÁTICA DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA MICROBIOTA NATURAL DO LEITE SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE AQUECIMENTO

Vanessa Carolina Martins Prina, Daniel Angelo Longhi

## RESUMO

O tratamento térmico é uma importante operação para a redução da microbiota natural do leite cru, promovendo a diminuição do risco de veiculação de patógenos. A aplicação de um binômio de tempo-temperatura assertivo pode contribuir para a obtenção de benefícios tecnológicos aos derivados do leite tratado termicamente. O objetivo do presente trabalho foi quantificar e modelar a inativação da microbiota natural do leite sob diferentes regimes de aquecimento. Quatro amostras de leite cru foram submetidas a diferentes regimes de aquecimento com a potência do banho térmico (1100 W) ou potências adicionais (500 W e 1000 W) até atingir 90 °C. Balanços de energia térmica foram realizados para determinar as potências efetivas dissipadas e para estimar os coeficientes de transferência de calor por convecção ( $h$ ) de cada tratamento. A enumeração das bactérias viáveis no leite foi realizada com Ágar Padrão para Contagem (PCA). Um modelo cinético de primeira ordem e dois modelos secundários foram ajustados aos dados experimentais de sobrevivência. Dados da literatura foram utilizados para a validação dos modelos. Os valores dos coeficientes convectivos estimados foram de  $159 \text{ W/m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$  a  $252 \text{ W/m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$ . Os modelos ajustados aos dados resultaram em índices estatísticos satisfatórios e semelhantes entre si. Os modelos foram validados com dados da literatura, com valores dos percentuais de tendência e discrepância dependentes dos perfis de temperatura analisados. Portanto, os modelos sugeridos podem ser úteis na análise de processos de inativação térmica da microbiota natural do leite.

Palavras-chave: Microbiologia preditiva. Tratamento térmico. Morte térmica. Leite cru.

## ABSTRACT

Heat treatment is an important operation to reduce the natural microbiota of raw milk, promoting the reduction of the risk of pathogens transmission. The application of an assertive time-temperature binomial can contribute to obtaining technological benefits to heat-treated milk derivatives. The present work aimed at quantifying and modeling the inactivation of the natural microbiota of milk under different heating regimes. Four raw milk samples were subjected to different heating regimes with the heat bath power (1100 W) or additional powers (500 W and 1000 W) until reaching 90 °C. Thermal energy balances were performed to determine the effective power dissipated and to estimate the convective heat transfer coefficients ( $h$ ) for each treatment. Enumeration of viable bacteria in milk was performed with Standard Agar for Counting (PCA). A first-order kinetic model and two secondary models were fitted to the experimental survival data. Data from the literature were used to validate the models. The values of the estimated convective coefficients ranged from  $159 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$  to  $252 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$ . The models fitted to the data resulted in satisfactory statistical indices that were similar to each other. The models were validated with literature data, with values of the trend and discrepancy percentages dependent on the temperature profiles analyzed. Therefore, the suggested models may be useful in the analysis of thermal inactivation processes of the natural microbiota in milk

Keywords: Predictive microbiology. Heat treatment. Heat death. Raw milk.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – MODELOS MATEMÁTICOS (LINHAS CONTÍNUAS) AJUSTADOS AOS DADOS (SÍMBOLOS PONTILHADOS) DA TEMPERATURA DA ÁGUA (EM AZUL) E DO LEITE (EM VERMELHO) E DADOS DE POTÊNCIA EFETIVA DISSIPADA (EM VERDE) PARA OS REGIMES DE AQUECIMENTO 1, 2, 3 E 4, DE POTÊNCIAS NOMINAIS DE 1100 W, 1600 W, 2100 W, E 1100 W, RESPECTIVAMENTE. ....	29
FIGURA 2 – CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA OBTIDAS PARA O MODELO EMPÍRICO PROPOSTO .....	35
FIGURA 3 – CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA OBTIDAS ATRAVÉS DO MODELO ADAPTADO DE ROSSO ET AL. (1995) .....	37
FIGURA 4 – PREDIÇÕES DO MODELO DE PROPOSTO E COMPARAÇÃO COM OS DADOS EXPERIMENTAIS DE ABDUH (2015).....	40
FIGURA 5 - PREDIÇÕES DO MODELO DE ROSSO ET AL (1995) E COMPARAÇÃO COM OS DADOS EXPERIMENTAIS DE ABDUH (2015).....	41

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PRINCIPAIS BINÔMIOS TEMPO/TEMPERATURA DE TRATAMENTOS TÉRMICOS UTILIZADOS PARA LEITE. ....	13
TABELA 2 – POTÊNCIAS NOMINAIS UTILIZADAS EM CADA REGIME.....	19
TABELA 3 - PONTOS DEFINIDOS PARA COLETAS DE ALÍQUOTAS PARA PLAQUEAMENTO.....	20
TABELA 4 - CONDIÇÕES EMPREGADAS NO TRATAMENTO TÉRMICO DO LEITE .....	23
TABELA 5 - VALORES DE <i>RMSE</i> RESULTANTES DOS AJUSTES DOS MODELOS MATEMÁTICOS AOS DADOS EXPERIMENTAIS DA TEMPERATURA DA ÁGUA DO BANHO TÉRMICO ( <i>RMSE<sub>a</sub></i> ), DO LEITE ( <i>RMSE<sub>l</sub></i> ) E GLOBAL ( <i>RMSE<sub>g</sub></i> ) NOS QUATRO REGIMES DE AQUECIMENTO. ....	30
TABELA 6 - COEFICIENTES DE TRANSFERÊNCIA DE CALOR POR CONVECÇÃO DO AR ( <i>h<sub>ar</sub></i> ) E DA ÁGUA ( <i>h<sub>a</sub></i> ) DETERMINADOS EXPERIMENTALMENTE NOS QUATRO REGIMES DE AQUECIMENTO. ....	30
TABELA 7 - RESULTADOS DE ACIDEZ TITULÁVEL E PH DO LEITE CRU E APÓS O TRATAMENTO TÉRMICO. ....	33
TABELA 8 - PARÂMETROS ESTIMADOS PARA OS AJUSTE DOS MODELOS DE ROSSO ET AL. (1995) E EMPÍRICO PROPOSTO .....	37
TABELA 9 - ÍNDICES ESTATÍSTICOS DOS AJUSTES DOS MODELOS DE ROSSO ET AL. (1995) E EMPÍRICO PROPOSTO .....	38
TABELA 10 - ÍNDICES ESTATÍSTICOS PARA COMPARAÇÃO DOS MODELOS DE ROSSO ET AL. (1995) E EMPÍRICO AJUSTADOS AOS DADOS DE ABDUH; SETIANI (2015).....	41

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>17</b>
<b>3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>18</b>
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>18</b>
4.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA.....	18
4.2 TRATAMENTO TÉRMICO.....	18
4.3 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ.....	19
4.4 DETERMINAÇÃO DO PH.....	20
4.5 CONTAGEM PADRÃO EM PLACAS.....	20
4.6 BALANÇO DE ENERGIA TÉRMICA.....	21
4.6.1 Água do banho térmico.....	22
4.6.2 Leite.....	22
4.7 MODELAGEM MATEMÁTICA.....	23
4.8 AJUSTES DOS MODELOS E CÁLCULO DOS ÍNDICES ESTATÍSTICOS.....	25
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
5.1 MODELAGEM DAS TEMPERATURAS DA ÁGUA DO BANHO E DO LEITE.....	27
5.2 ACIDEZ TITULÁVEL E PH DO LEITE.....	32
5.3 MODELAGEM DO COMPORTAMENTO MICROBIANO DURANTE O TRATAMENTO TÉRMICO.....	34
5.4 VALIDAÇÃO DOS MODELOS.....	39
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O termo leite é designado à secreção mamária das fêmeas de mamíferos, obtida através da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas. O leite obtido dos demais animais devem ser designados conforme sua procedência (BRASIL, 2017). O gado de leite segue ainda como principal animal explorado no setor leiteiro, a qual corresponde a 81,6% da produção global, o restante da parcela se divide entre os leites de búfala (14,5%), de cabra (2,3%), de ovelha (1,3%) e de camelo (0,3%), estes por sua vez mais utilizados para o processamento de derivados lácteos (FAO, 2013; CRUZ, 2016; EMBRAPA, 2018; EMBRAPA, 2019).

Devido a seu elevado valor biológico, o leite é tido como o alimento *in natura* mais completo, fonte de proteínas, gorduras, carboidratos e demais componentes essenciais, sobretudo o cálcio, sendo uma das fontes mais adequadas deste nutriente (TRONCO, 2013). Suas características particulares, atreladas à versatilidade de aplicações tecnológicas, culminam na importância deste alimento na dieta humana, em especial nos primeiros estágios da vida (FAO, 2013; TRONCO, 2013; CRUZ, 2016).

A elevada quantidade e qualidade de nutrientes presentes, além da alta atividade de água e pH próximo ao neutro, fazem do leite cru um excelente meio de cultura para uma grande variedade de gêneros de micro-organismos. Além disso, más condições de higiene, desde a ordenha até o transporte à indústria, além de desrespeito à temperatura e tempo de armazenamento definidos por legislação (4 °C à 7 °C, por 3 horas), propiciam múltiplas fontes de contaminação ao leite, seja por microrganismos deteriorantes como patogênicos (TATINI, 1991).

Em microbiologia de leites o grupo de bactérias de maior relevância é o psicrotrófico, já que são capazes de crescer abaixo de 7 °C, independentemente de sua temperatura ótima de crescimento (25 e 30 °C), o que os constitui como importantes deteriorantes de alimentos refrigerados (TATINI, 1991; SILVA, 2019). Os micro-organismos pertencentes a este grupo podem ser tanto Gram-positivos (*Bacillus*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, etc), como Gram-negativos (*Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, etc), dos quais *Pseudomonas* é o gênero predominante (HANTSIS-ZACHAROV et al., 2007). Os micro-organismos mesófilos (temperatura ótima entre 30 °C e 40 °C) também exigem atenção, visto que

grande parte das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) são causadas por organismos pertencentes a este grupo (MAIESKI, 2011).

Todos esses aspectos fazem do leite uma matéria-prima altamente perecível e o constitui com um potencial veículo de DTA's, como a tuberculose, a brucelose, a difteria e a febre-Q, isto quando consumido sem tratamentos prévios ou ainda sem tratamentos eficazes (TATINI, 1991; TRONCO, 2013; CRUZ, 2016).

Tanto o leite destinado ao consumo direto quanto o encaminhado para a fabricação de produtos lácteos devem ser de boa qualidade e passar por pré-tratamentos pertinentes, como a filtração, padronização e homogeneização (FAO, 2013; BRASIL, 2017; CRUZ, 2017). A qualidade microbiológica do leite recepcionado é um aspecto fundamental a ser observado pelos laticínios, considerando que quanto menores as cargas microbianas iniciais menores também são as perdas relacionadas a degradação da matéria-prima, além de abrir a possibilidade de redução da intensidade do tratamento térmico utilizado, sujeitando o leite a tratamentos mais brandos.

O tratamento térmico é a etapa final dos tratamentos prévios, usado na eliminação ou redução dos micro-organismos presentes no leite cru, para diminuição do potencial risco de veiculação de DTA's e, claro, aumentar sua vida útil, já que é proibido pela legislação brasileira o uso de conservantes químicos no leite (TRONCO, 2013; BRASIL, 2017). Além disso, a diminuição da microbiota presente é essencial para a fabricação de leites fermentados, como no caso do iogurte, já que diminui os riscos de micro-organismos presentes no meio competirem com as culturas iniciadoras, responsáveis pela fermentação. O uso do tratamento térmico diminui também a susceptibilidade à sinérese dos géis lácteos, o que é muito desejável na produção de iogurte, visto que, é considerada como um defeito e afeta na percepção da aparência do produto pelos consumidores (SAVELLO et al., 1997; DAVANÇO, 2009). Não obstante, o tratamento térmico favorece o início do crescimento da cultura láctica, por redução do conteúdo de oxigênio no leite e desnaturação proteica o que influencia no aumento da viscosidade do iogurte e na obtenção de uma boa textura (VARNAN; SUTHERLAND, 1994; DAVANÇO, 2009; TRONCO, 2013).

Entre os tratamentos térmicos mais empregados nos laticínios, destacam-se a pasteurização, podendo ser classificada como lenta (*low temperature and long time* – LTLT) ou rápida (*high temperature and short time* – HTST), e o tratamento de ultra alta temperatura (UHT) (TRONCO, 2013; CRUZ, 2016; BRASIL, 2017).

Os principais métodos de aquecimento e seus respectivos binômios seguem expressos na TABELA 1.

TABELA 1 - PRINCIPAIS BINÔMIOS TEMPO/TEMPERATURA DE TRATAMENTOS TÉRMICOS UTILIZADOS PARA LEITE.

<b>Método de aquecimento</b>	<b>Temperatura/Tempo</b>
Pasteurização lenta (LTLT)	63-65 °C/30 min.
Pasteurização rápida (HTST)	72-75 °C/15-20 seg.
Ultra Alta Temperatura (UHT)	130-150 °C/2-4 seg.

FONTE: BRASIL (2017).

As temperaturas e tempos de pasteurização, rápida ou lenta, são suficientes para inativar os micro-organismos patogênicos, bem como reduzir o número de leveduras, fungos, bactérias gram-negativas e algumas gram-positivas. De acordo com o artigo n° 255 do RIISPOA, a pasteurização é designada como o tratamento térmico aplicado ao leite com objetivo de evitar perigos à saúde pública decorrentes de micro-organismos patogênicos eventualmente presentes, e que promove mínimas modificações químicas, físicas, sensoriais e nutricionais (BRASIL, 2017).

O entendimento sobre a necessidade de aplicação de processos térmicos ao leite cru é muito antigo, sendo hoje considerado inclusive senso comum. Sabe-se que desde 1824, o médico americano Willian Dewees já recomendara o aquecimento do leite até a ebulição seguido de resfriamento para a segurança na alimentação de crianças (SOUZA, 2007; CASTRO, 2019). Desde então, diversos cientistas propuseram binômios ditos eficazes para a destruição dos patógenos presentes no meio, o estudo do binômio tempo e temperatura adequado é essencial para garantir a eficácia do tratamento e alterar o mínimo possível as características inerentes ao alimento (ENRIGHT et al., 1957; EARLY, 1998; WALSTRA et al., 2006; TRONCO, 2013).

Para o estabelecimento deste tempo e temperatura de aquecimento foram tomados micro-organismos de referência, os quais, após o tratamento não deveriam estar presentes no leite (TRONCO, 2013; CRUZ, 2017). Inicialmente, considerou-se o *Mycobacterium tuberculosis* como o mais resistente entre os patógenos no leite, como isso o binômio era baseado na inativação deste, até que Enright et al. (1957) redefiniu o micro-organismo alvo de pasteurização, ao afirmar que a *Coxiella burnetii* apresentara resistência térmica maior (CASTRO, 2019).

Para a escolha do binômio tempo-temperatura de um tratamento térmico não se considera apenas a letalidade aos micro-organismos presentes, fatores como a perda de nutrientes e a busca pela melhora tecnológica do produto também são fundamentais, principalmente quando o leite é matéria-prima para leites fermentados. Segundo Early (1998), quando o leite é aquecido a 85 °C por 30 minutos há a otimização da coagulação do iogurte, obtenção de uma melhora na textura do produto, e se previne ainda, a sinérese durante a vida útil. Em estudos mais recentes, como o de Walstra et al. (2006), o binômio tempo-temperatura indicado para o tratamento térmico do leite para o preparo de iogurtes deve estar entre 85 e 90 °C durante 5 a 10 minutos, visto que este proporciona considerável melhora nos aspectos sensoriais do produto final.

Os tratamentos térmicos de inativação da microbiota presente no leite que são eficazes, entretanto, não consideram o histórico de temperatura do leite até o atingimento da temperatura do processo (regime de aquecimento). Em tratamentos térmicos lentos (LTLT) pode ocorrer o crescimento de micro-organismos no início do fornecimento de calor, pois estes são submetidos primeiro a temperaturas favoráveis ao desenvolvimento e, só em seguida, com o aumento da temperatura, inativados. O crescimento microbiano pode afetar a qualidade da matéria-prima devido, por exemplo, ao aumento da concentração de ácido láctico dada pela fermentação da lactose e pela excreção de enzimas lipolíticas e/ou proteolíticas normalmente indesejáveis na matéria-prima. Portanto, levar em consideração o histórico de temperatura para quantificar o comportamento dos micro-organismos presentes no meio pode levar a um processo mais eficaz que os binômios utilizados atualmente pelos laticínios, isso em conformidade com a legislação, que permite novas combinações de tempo e temperatura de aquecimento, desde que seja comprovada a equivalência aos processos já estabelecidos (BRASIL, 2017).

Como se sabe, sempre que houver um gradiente de temperaturas em um meio ou entre meios, haverá transferência de calor, um processo no qual o calor flui de uma região com temperatura mais alta para outra, de temperatura mais baixa (KREITH; BOHN, 1997; MORISHITA, 2004). Há ao menos três mecanismos de transferência de calor: a condução, a convecção e a radiação (ÇENGEL, 2013; BERGMAN, 2019). O termo condução refere-se à transferência de calor resultante de um gradiente de temperatura entre meios em contato físico direto. Em contrapartida, dá-se o nome convecção à transferência que ocorre pela ação combinada da condução de calor,

armazenamento de energia e movimento da mistura, ocorre entre uma superfície e um fluido em movimento quando em diferentes temperaturas. O terceiro mecanismo de transferência de calor é chamado de radiação térmica (BERGMAN, 2019).

Estudos que envolvem mecanismos de convecção, como dito por Bergman (2019), se reduzem à busca por procedimentos para a determinação do coeficiente convectivo de transferência de calor ( $h$ ), visto que o conhecimento deste coeficiente é fundamental para o desenvolvimento de projetos e controle de processos térmicos que envolvam a convecção. Através deste parâmetro são definidas variáveis importantes, como o tempo e a temperatura, podendo assim se otimizar qualquer processo (SANTOS et al., 2013). O  $h$  é, na maioria dos casos, obtido experimentalmente a partir do histórico de temperaturas do processo e de balanços de energia térmica pertinentes.

A microbiologia preditiva também se trata de uma ótima ferramenta de otimização de processos, pois é capaz de descrever e prever o comportamento microbiano, sendo uma grande aliada no estudo, simulação e otimização, fornecendo precisão e exatidão na tomada de decisões sobre aspectos relacionados à qualidade do produto (McMEEKIN et al., 1997; MILLER et al., 2004). Além disso, estudos como de Van Impe et al. (1992) e Dalgaard (1995) já apontavam a microbiologia preditiva como recurso importantíssimo na predição da vida útil dos alimentos. Chandler et al. (1985) e Griffiths (1994), inclusive citam o uso de modelos preditivos em laticínios, como ferramenta eficaz tanto para determinação do prazo de validade, quanto como indicador da eficácia do tratamento térmico do leite.

Particularmente em processos alimentícios, a microbiologia preditiva unifica conhecimentos da engenharia, da microbiologia, da ciência de alimentos, da matemática e da estatística para prever o comportamento dos micro-organismos, seja de crescimento, sobrevivência ou inativação, através de modelos matemáticos que descrevem, quantitativamente, os efeitos de fatores intrínsecos (composição, atividade de água ( $a_w$ ), pH, acidez, etc.) e extrínsecos (temperatura, umidade relativa, etc.) sobre o comportamento da microbiota presente no alimento (JAGANNATH et al., 2003; MILLER et al., 2004; DANNENHAUER, 2010).

Os modelos preditivos, segundo Whiting e Buchanan (1993), podem ser classificados em primários, secundários e terciários. Os modelos primários descrevem as respostas microbianas (crescimento ou inativação) em função do tempo para um único conjunto de condições. A quantificação do comportamento dos micro-

organismos em líquidos normalmente é expressa em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) (BUCHANAN, 1993; JAGANNATH et al., 2003).

Por muito tempo acreditou-se que a inativação térmica dos organismos ocorria somente de forma log-linear, pressuposto conhecido como cinética de primeira ordem, no qual assume-se que toda a população microbiana tem a mesma resposta a um dado tratamento, ou seja, têm sensibilidade idêntica ao tratamento, apresentando uma velocidade de inativação dos micro-organismos proporcional ao tempo de aquecimento do alimento (PELEG; COLE, 1998; RAO et al., 2005; CRUZ, 2017).

Os modelos secundários descrevem a variação dos parâmetros cinéticos em função da variação de um dos fatores de análise (intrínseco ou extrínseco) (WHITING; BUCHANAN, 1993). Embora o principal fator que controle o comportamento microbiano em um tratamento térmico seja a temperatura, esses modelos podem ser expandidos para incluir demais condições, como, por exemplo, o pH e  $a_w$ , já que também influenciam na estabilidade microbiana (VAN IMPE et al., 1992; JAGANNATH et al., 2003; GIMENO; COSANO, 2004). Exemplos destes modelos preditivos são os baseados nas equações de Arrhenius (DAVEY, 1991) e na da Raiz Quadrada (RATKOWSKY et al., 1982), os quais apresentam uma dependência logarítmica e quadrática, respectivamente, entre a velocidade específica do micro-organismos e a temperatura (LABUZA et al., 1982; RATKOWSKY et al., 1982; ZWIETERING et al., 1991; PÉREZ, 2004).

Os modelos terciários, por sua vez, são incorporados a *softwares* e programas com interfaces simples, desenvolvidos com o intuito de fornecer previsões para pessoas não familiarizadas com as técnicas de modelagem (WHITING; BUCHANAN, 1993; JAGANNATH et al., 2003; PÉREZ, 2004; DANNENHAUER, 2010). Estes utilizam combinações de um ou mais modelos primários e secundários para quantificar as respostas dos micro-organismos frente a uma condição ambiental, comparam o efeito de diferentes condições sobre os micro-organismos ou ainda comparam o comportamento de diversos micro-organismos (WHITING; BUCHANAN, 1993; MILLER et al., 2004; PÉREZ, 2004).

Uma etapa crucial do desenvolvimento de novos modelos preditivos é a validação, de forma a comprovar a sua eficácia em prever o comportamento dos micro-organismos. A validação é um processo complexo, que não está totalmente definido na microbiologia preditiva. Como dito por Baranyi et al. (1995), é um grande dilema modelar as respostas do comportamento microbiano em alimentos e gerar

modelos que possam fornecer previsões aplicáveis na prática. Isto ocorre devido a variabilidade e complexidade de estruturas presentes nos alimentos e ao fato das respostas serem variadas e facilmente mutáveis de acordo com as circunstâncias intrínsecas e extrínsecas ao meio (BARANYI et al., 1995). Além disso, cada etapa da construção do modelo introduz erros, o que torna impossível que as previsões do modelo correspondam perfeitamente às observações, o que torna o processo de validação tão complexo (JAGANNATH et al., 2003). Em suma, no processo de validação deve-se comparar o comportamento predito pelo modelo para o micro-organismo em relação ao comportamento do mesmo micro-organismo observado em alimentos (McCLURE et al., 1994; JAGANNATH et al., 2003; PÉREZ, 2004) e utilizar índices estatísticos para mensurar os desvios entre as previsões e as observações experimentais.

Duh et al. (1993) utilizaram medidas estatísticas como a raiz quadrada do erro-quadrático-médio (*RMSE* do inglês *root mean-squared-error*) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para avaliar a confiabilidade de seu modelo. Ross (1996), propôs os fatores de tendência (do inglês *bias factor*, BF) e de exatidão (do inglês *accuracy factor*, AF), medidas de avaliação de desempenho, que fornecem respostas simples e quantitativas em relação a confiabilidade dos modelos. Baranyi et al. (1999), por sua vez, baseado nos fatores *bias* e *accuracy* (ROSS, 1996), propuseram os percentuais de tendência (%*T*) e discrepância (%*D*). O %*T* trata-se de uma estimativa para avaliar a diferença média entre os valores observados e preditos pelo modelo, enquanto o %*D* é uma medida da diferença média absoluta entre os valores preditos e observados (BARANYI et al., 1999; JAGANNATH et al., 2003, PÉREZ, 2004).

O conhecimento dos conceitos de transferência de calor, microbiologia do leite e microbiologia preditiva são essenciais para estudos relacionados à inativação térmica do leite, já que através deles pode-se desenvolver e estudar modelos que descrevam o comportamento dos micro-organismos, e garantir a eficácia e otimização dos processos térmicos aplicados.

## **2 OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral do presente trabalho de conclusão de curso foi quantificar e modelar a aplicação de diferentes regimes de aquecimento na inativação da microbiota natural (quantificada pela contagem bacteriana total – CBT) do leite cru.

### 3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir o objetivo geral foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- Quantificar as temperaturas do leite e do banho térmico nos diferentes regimes de aquecimento para a modelagem da transferência de calor;
- Quantificar o crescimento e a inativação dos micro-organismos (UFC/mL) sujeitos a diferentes condições de aquecimento;
- Estudar o impacto que as condições de aquecimento podem causar no comportamento dos micro-organismos no leite;
- Modelar quantitativamente as temperaturas e a resposta dos micro-organismos em função do tempo nas diferentes condições de aquecimento;
- Obter dados da literatura e validar o modelo preditivo obtido com dados da inativação dos micro-organismos em diferentes condições de aquecimento.

### 4 METODOLOGIA

#### 4.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA

As amostras de leite cru foram obtidas de comerciante local da cidade de Jandaia do Sul - Paraná, e transportadas em recipiente com isolamento térmico ao Laboratório de Microbiologia da UFPR – *Campus* Jandaia do Sul, onde foram submetidas ao tratamento térmico em diferentes condições de aquecimento, e passaram por análises de acidez titulável e pH. As amostras de leite utilizadas para cada um dos quatro regimes de aquecimento foram coletadas em quatro dias diferentes, conforme cronograma de análises.

#### 4.2 TRATAMENTO TÉRMICO

Os tratamentos foram realizados em banho térmico encamisado com circulação de água (Nova Técnica/NT 249, 1100 W) contendo 12 L de água destilada. A amostra de 2 L de leite cru fora submetida ao aquecimento em um béquer de vidro até que atingisse a temperatura de 90 °C, mantida nesta por 5 minutos.

Para obtenção de diferentes condições de aquecimento foram utilizadas resistências térmicas adicionais de 500 W e 1000 W. Foram realizados quatro

tratamentos, cada qual com um regime de aquecimento definido pelas potências nominais empregadas (TABELA 2).

Para todos os regimes de aquecimento o termostato do trocador de calor foi fixado à temperatura 90 °C (*setpoint*), exceto para o regime quatro usado para calibração do modelo matemático proposto, que contou com duas etapas de aquecimento a temperaturas diferentes. Na primeira etapa, na qual o leite permaneceu por uma hora, fixou-se a temperatura de 42 °C, de forma a permitir o crescimento dos micro-organismos que passaram um período submetidos a condições favoráveis ao seu desenvolvimento. Já na segunda etapa, a temperatura fora fixada a 90 °C, o leite permaneceu em tratamento até a temperatura fixada, causando a morte térmica da microbiota natural.

TABELA 2 – POTÊNCIAS NOMINAIS UTILIZADAS EM CADA REGIME

<b>Tratamento</b>	<b>Potência nominal (W)</b>
Regime 1	1100
Regime 2	1600
Regime 3	2100
Regime 4	1100

FONTE: A autora (2021).

Os históricos de temperaturas durante o processo foram registrados com o auxílio de quatro sensores de temperatura do tipo bastão (Pasco Capstone/ PS-2143) posicionados no centro da amostra, na água do banho térmico e nas paredes internas e externas do béquer. As potências efetivas dissipadas ao longo de cada tratamento foram calculadas pela variação da temperatura das amostras de leite e da água banho em função do tempo, conforme descrito no item 4.6.

### 4.3 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ

Para cada experimento foram coletadas duas alíquotas para a determinação de possíveis mudanças na acidez do leite ao longo do tratamento. A primeira alíquota fora coletada do leite cru, antes do aquecimento, e a outra imediatamente após o fim do tratamento térmico.

A análise, pautada em métodos oficiais do MAPA (BRASIL, 2019), consistiu na diluição de 20 mL da amostra em 40 mL de água, na qual posteriormente adicionou-se 2 mL de solução alcoólica de fenoltaleína a 1%. A mistura foi então titulada em

bureta manual com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 N até a percepção de coloração rosa forte, persistente por aproximadamente 30 segundos.

Considerando os possíveis erros de padronização atrelados a uma análise visual, o MAPA (BRASIL, 2019) sugere a preparação de uma coloração de referência para o término da titulação. Para tal adicionou-se 0,3 mL de solução de fucsina a 20 mL de amostra diluída com 40 mL de água.

Os resultados obtidos nas análises de acidez do leite foram expressos em gramas de ácido láctico por 100 mL de amostra, conforme a EQUAÇÃO 1 (BRASIL, 2019), sendo  $V$  o volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação (mL),  $v$  o volume da amostra (mL),  $f$  o fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N, 0,09 o fator de conversão do ácido láctico e  $N$  a normalidade de solução de hidróxido de sódio (0,1 N).

$$\% \text{ ácido láctico } \left( \frac{m}{V} \right) = \frac{0,09 \cdot V \cdot f \cdot N}{v} 100 \quad (1)$$

#### 4.4 DETERMINAÇÃO DO PH

O pH foi aferido diretamente de alíquotas coletadas no início e término de cada tratamento, com o auxílio de um pHmetro de bancada para soluções aquosas (MS Equipamentos/MPA-210). O procedimento seguiu as disposições do manual do equipamento e os resultados foram expressos com duas casas decimais.

#### 4.5 CONTAGEM PADRÃO EM PLACAS

Para cada tratamento foram coletadas alíquotas em intervalos de temperatura pré-determinados de 25 °C a 90 °C (TABELA 3).

TABELA 3 - PONTOS DEFINIDOS PARA COLETAS DE ALÍQUOTAS PARA PLAQUEAMENTO

Ponto	Temperatura (°C)	Ponto	Temperatura (°C)
1	25	7	70
2	35	8	75
3	40	9	80
4	50	10	85
5	55	11	90
6	65	-	-

FONTE: A autora (2021).

O método de referência, conforme recomendações do MAPA (BRASIL, 2003), para enumeração de colônias viáveis é o de contagem padrão em placas, o qual fora utilizado neste estudo a fim de enumerar as bactérias totais presentes no leite cru (CBT). Para tal, uma alíquota de 1 mL da amostra fora pipetada utilizando uma micropipeta automática (1000  $\mu$ L) e adicionada ao tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina peptonada 0,1%. A mistura foi então homogeneizada em vórtex (Fisatom/772) por aproximadamente 60 segundos. A partir da diluição inicial ( $10^{-1}$ ) foram feitas as demais diluições necessárias.

Para a inoculação, fora semeada 1 mL de cada diluição selecionada (TABELA 3) em placas de Petri estéreis e em seguida adicionada cerca de 15 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA) fundido e mantido em banho térmico a 46-48 °C. O inóculo foi homogeneizado e posteriormente deixado para solidificar em superfície plana. Para a incubação, as placas foram levadas a estufa incubadora tipo BOD (CALTECH) e mantidas invertidas a  $\pm 36$  °C por 48 horas. Os micro-organismos que se multiplicaram nestas condições, desenvolveram colônias que foram enumeradas manualmente, sendo o resultado expresso em UFC/mL de leite, levando-se em conta a diluição empregada.

#### 4.6 BALANÇO DE ENERGIA TÉRMICA

Para determinar as potências efetivas dissipadas em cada regime de aquecimento, analisá-las e compará-las com as potências nominais empregadas, bem como para estimar o coeficiente de transferência de calor por convecção ( $h$ ) de cada tratamento térmico, foram realizados balanços de energia térmica utilizando o histórico de temperaturas da água do trocador de calor ( $T_a$ ) e do leite ( $T_l$ ) em função do tempo (EQUAÇÃO 2), em que  $E$  (J) é a energia do sistema no tempo  $t$  (s),  $\dot{E}_e$  (W) e  $\dot{E}_s$  (W) são as taxas de entrada e saída de energia no sistema, respectivamente.

$$\dot{E}_e - \dot{E}_s = \frac{dE}{dt} \quad (2)$$

O balanço de energia térmica foi analisado para a água do banho e para o leite, conforme descrição a seguir.

#### 4.6.1 Água do banho térmico

Partindo do balanço de energia expresso pela EQUAÇÃO 2, foram realizadas as seguintes considerações: (i) a taxa de entrada de energia é dada pela potência  $P$  (W) dissipada pela resistência utilizada no tratamento ( $\dot{E}_e = P$ ); (ii) a taxa de saída de energia ( $\dot{E}_s$ ) é dada pela soma das taxas de energia perdidas por convecção para o ambiente e para o aquecimento do leite com base na lei de Newton do resfriamento (EQUAÇÃO 3), onde  $h_{ar}$  (W/m<sup>2</sup>°C) e  $h_a$  (W/m<sup>2</sup>°C) são os coeficientes convectivos de transferência de calor do ar e da água do banho térmico, respectivamente;  $T_{ar}$  (°C),  $T_a$  (°C) e  $T_l$  (°C) são as temperaturas do ar, da água do banho térmico e do leite, respectivamente;  $A_{a,ar}$  (W/m<sup>2</sup>°C) e  $A_{a,bq}$  (W/m<sup>2</sup>°C) são as áreas de troca térmica da água com o ar e o bécquer que contém o leite, respectivamente; e (iii) a energia da água no banho térmico é dada pelo produto da massa de água ( $m_a$ ), do calor específico da água ( $c_{p,a}$ ) e da temperatura da água ( $E = m_a c_{p,a} T_a$ ). Portanto, substituindo  $E$ ,  $\dot{E}_e$  e  $\dot{E}_s$  na EQUAÇÃO 2, obteve-se a EQUAÇÃO 4.

$$\dot{E}_s = h_{ar} A_{a,ar} (T_a - T_{ar}) + h_a A_{a,bq} (T_a - T_l) \quad (3)$$

$$P - h_{ar} A_{a,ar} (T_a - T_{ar}) - h_a A_{a,bq} (T_a - T_l) = \frac{dm_a c_{p,a} T_a}{dt} \quad (4)$$

Assumindo como constantes a massa de água ( $m_a$ ) e o calor específico da água ( $c_{p,a}$ ), pode-se descrever a variação da temperatura da água em função do tempo pela equação diferencial ordinária de 1ª ordem a seguir (EQUAÇÃO 5).

$$\frac{dT_a}{dt} = \frac{P - h_{ar} A_{a,ar} (T_a - T_{ar}) - h_a A_{a,bq} (T_a - T_l)}{m_a c_{p,a}} \quad (5)$$

#### 4.6.2 Leite

A partir do balanço global de energia dado pela EQUAÇÃO 2, foram realizadas as seguintes considerações: (i) a entrada de energia térmica é dada pela taxa de energia absorvida por convecção da água ( $\dot{E}_e = h_a A_{a,bq} (T_a - T_l)$ ); (ii) a saída de energia térmica é dada pela taxa de energia perdida por convecção para o ambiente

( $\dot{E}_s = h_{ar}A_{l,ar}(T_l - T_{ar})$ ), onde  $A_{l,ar}$  ( $W/m^2°C$ ) é a área de troca térmica do leite com o ar; e (iii) a energia do leite no béquer é dada pelo produto da massa de leite ( $m_l$ ), do calor específico do leite ( $c_{p,l}$ ) e da temperatura do leite ( $E = m_l c_{p,l} T_l$ ), assumindo que a massa de leite e o calor específico do leite são constantes. Assim, se obteve a equação diferencial que descreve a variação da temperatura do leite em função do tempo, expressa pela EQUAÇÃO 6.

$$\frac{dT_l}{dt} = \frac{h_a A_{a,bq} (T_a - T_l) - h_{ar} A_{l,ar} (T_l - T_{ar})}{m_l c_{p,l}} \quad (6)$$

Qualquer estudo da convecção se reduz à busca por procedimentos pelos quais o  $h$  pode ser determinado (BERGMAN, 2019). Através dos dados experimentais pode-se determinar os coeficientes de transferência de calor por convecção da água ( $h_a$ ) e do ar ( $h_{ar}$ ) de cada regime de aquecimento. As condições e propriedades dos fluidos e do béquer ao longo dos tratamentos térmicos seguem expressas na TABELA 4.

TABELA 4 - CONDIÇÕES EMPREGADAS NO TRATAMENTO TÉRMICO DO LEITE

Fluido	Propriedades	
<b>Ar</b>	Temperatura ( $T_{ar}$ )	20 °C
<b>Água</b>	Massa ( $m_a$ )	12 kg
	Área de Transferência de Calor com o ar ( $A_{a,ar}$ )	0,0587 m <sup>2</sup>
	Calor Específico ( $c_{p,a}$ )	4180 J/kg°C
<b>Leite</b>	Massa ( $m_l$ )	2 kg
	Área de Transferência de Calor com o ar ( $A_{l,ar}$ )	0,01327 m <sup>2</sup>
	Calor Específico ( $c_{p,l}$ )	3930 J/kg°C
<b>Béquer</b>	Área de Transferência de Calor ( $A_{a,bq}$ )	0,07481 m <sup>2</sup>

FONTE: A autora (2021).

#### 4.7 MODELAGEM MATEMÁTICA

Na microbiologia preditiva, os modelos primários são utilizados para descrever a concentração microbiana ( $N$ , em UFC/mL) em função do tempo ( $t$ , em minutos). O modelo de cinética de primeira ordem ajustado aos dados deste estudo segue

expresso, na EQUAÇÃO 7, onde  $k$  é a velocidade específica de inativação. Para obtenção de uma curva linearizada é comum a transformação logarítmica da EQUAÇÃO 7, conforme EQUAÇÃO 8.

$$\frac{dN}{dt} = -kN \quad (7)$$

$$\frac{d}{dt} \log N = -k \quad (8)$$

Em condições ambientais constantes, a velocidade específica de crescimento ou inativação também é uma constante (EQUAÇÃO 9). Entretanto, a velocidade específica é função de vários fatores, sendo que a temperatura é um dos fatores que tem maior impacto no crescimento e na inativação microbiana.

$$\log N = \log N_0 - kt \quad (9)$$

Os modelos secundários descrevem a dependência da velocidade específica em função da temperatura. Na literatura, normalmente são apresentados modelos que possuem dependência quadrática entre estas duas grandezas (RATKOWSKY et al., 1982; ZWIETERING et al., 1991; WHITING; BUCHANAN, 1993). Dois modelos quadráticos foram testados neste estudo com o intuito de descrever a influência da temperatura ( $T$ ) na velocidade de inativação ( $k$ ) dos micro-organismos presentes no leite cru.

Um dos modelos utilizados fora adaptado do modelo sugerido por Rosso et al. (1995), expresso pela EQUAÇÃO 10, onde  $k_{ótimo}$  (1/min) é a velocidade específica ótima de inativação,  $T_{ótimo}$  (°C) é a temperatura onde  $k$  é ótimo, e  $T_{zero}$  (°C) é a temperatura onde  $k$  é zero.

$$k = k_{ótimo} \frac{(T - T_{zero})T^2}{T_{ótimo}(T_{ótimo}(T - T_{ótimo}) - (T_{ótimo} - T_{zero})(T_{ótimo} - 2T))} \quad (10)$$

Foi proposto ainda um modelo secundário empírico, expresso pela EQUAÇÃO 11, em que  $a$  ( $1/^\circ\text{Cmin}$ ) é um parâmetro empírico de concavidade da equação quadrática.

$$k = a(T_{zero} - T)(T - 2T_{ótimo} + T_{zero}) \quad (11)$$

Devido ao caráter dos dados experimentais obtidos em condições não-isotérmicas optou-se pelo uso do modelo dinâmico, que é capaz de prever tanto o crescimento quanto a inativação microbiana sob condições variáveis de temperatura (VAN IMPE et al., 1995; FUJIKAWA et al., 2004). Este modelo é computado pela EQUAÇÃO 8 substituindo  $k$  pela EQUAÇÃO 10 ou pela EQUAÇÃO 11.

#### 4.8 AJUSTES DOS MODELOS E CÁLCULO DOS ÍNDICES ESTATÍSTICOS

Os ajustes dos modelos aos dados experimentais e as análises estatísticas deste estudo foram realizados com o auxílio do Microsoft Office Excel e do Solver. O Solver é um suplemento de análise de dados do Excel usado para a minimização de resíduos a partir de uma fórmula em uma célula ( $RMSE$ , EQUAÇÃO 12), conforme restrições ou limites estabelecidos, sobre os valores de outras células variáveis da planilha (parâmetros do modelo a serem estimados). Os resultados dos ajustes obtidos pelo modelo proposto (EQUAÇÃO 11) e pelo modelo adaptado de Rosso et al. (1995) (EQUAÇÃO 10) foram comparados entre si.

A capacidade dos modelos em representar os dados do comportamento microbiano no leite fora avaliada através de índices estatísticos, como a Raiz do Erro Quadrático Médio ( $RMSE$ ), o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), bem como os percentuais de tendência ( $\%T$ ) e discrepância ( $\%D$ ) (BARANYI et al., 1999), baseados nos fatores *bias* e *accuracy* (ROSS, 1996). O  $RMSE$  também foi utilizado para avaliar a capacidade de representação das EQUAÇÕES 6 e 7 às variações de temperatura ao longo do tempo obtidas experimentalmente.

O  $RMSE$  fora calculado conforme EQUAÇÃO 12, na qual  $pd_i$  e  $ob_i$  são os valores preditos pelo modelo e observados experimentalmente, respectivamente,  $n$  o número de observações e  $k$  o número de parâmetros. Sabe-se que os resultados devem ser positivos e que quanto mais próximo de zero, maior a capacidade do modelo em representar os valores experimentais.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (pd_i - ob_i)^2}{n - k}} \quad (12)$$

O  $R^2$  fora obtido através da EQUAÇÃO 13, em que  $\overline{ob}_i$  é a média da variável de resposta observada. O coeficiente obtido deve ser positivo e quanto mais próximo da unidade for, tanto maior será a validade da regressão (ALEXANDER, 2015).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (ob_i - pd_i)^2}{\sum_{i=1}^n (ob_i - \overline{ob}_i)^2} \quad (13)$$

O percentual de tendência (%T) fora calculado através das EQUAÇÕES 14, 15 e 16. Vale ressaltar que, para a inativação microbiana, a obtenção de um fator menor que 0% expressa uma falha perigosa do modelo (inativação predita é maior que a observada), ao passo que um fator maior que 0% indica que o modelo falha de forma segura (inativação predita menor do que a observada) (ROSS, 1996; BARANYI et al., 1999; LONGHI, 2013; CAMARGO, 2015).

$$B_f = \exp\left(\frac{\sum_{i=1}^n (\ln pd_i - \ln ob_i)}{n}\right) \quad (14)$$

$$\text{sgn}(\ln B_f) = \begin{cases} +1, & \text{se } \ln B_f > 0 \\ 0, & \text{se } \ln B_f = 0 \\ -1, & \text{se } \ln B_f < 0 \end{cases} \quad (15)$$

$$\%T = \text{sgn}(\ln B_f)(\exp|\ln B_f| - 1)100\% \quad (16)$$

O cálculo do percentual de discrepância (%D) é descrito pelas EQUAÇÕES 17 E 18. O percentual de discrepância é sempre maior ou igual a 0%, quanto maior o valor expresso, mais discrepante é a média das estimativas (BARANYI et al., 1999).

$$A_f = \exp\left(\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\ln pd_i - \ln ob_i)^2}{n}}\right) \quad (17)$$

$$\%D_f = (A_f - 1)100\% \quad (18)$$

Para validação dos modelos foram realizadas ainda simulações e comparadas com os dados experimentais do artigo de Abduh; Setiani (2015), obtidos sob condições de processamento em temperaturas variáveis semelhantes ao deste estudo.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 MODELAGEM DAS TEMPERATURAS DA ÁGUA DO BANHO E DO LEITE

A partir dos dados experimentais pode-se determinar o valor da potência efetiva em função da temperatura e do tempo do tratamento térmico ( $P = f(T, t)$ ), as variações das potências ao longo do tempo de cada regime de aquecimento seguem expressas na FIGURA 1. Nota-se que os dados em verde nos gráficos, que representam a potência, decrescem em função do tempo de tratamento, isso ocorre devido a diminuição gradativa da potência dissipada pela resistência do banho térmico, que controla a temperatura impedindo que esta exceda o valor programado (*setpoint*). De modo geral, em todos os regimes as potências dissipadas (em W) no  $t = 0$  de cada experimento (onde as resistências exerciam todo seu potencial) foram próximas aos valores das potências nominais empregadas.

Na curva que descreve o regime 3 (2100 W), é possível observar um abrupto decréscimo na potência entre 25 e 30 minutos, decorrente da retirada da resistência adicional de 1000 W no momento em que a temperatura desejada (90 °C) fora atingida. Ao passo que na curva do regime 4, de calibração, se vê com facilidade o aumento súbito da curva da potência, em decorrência da maior dissipação de energia imediatamente após o início da segunda etapa de aquecimento deste regime, onde a temperatura do banho térmico é, enfim, fixada à 90 °C.

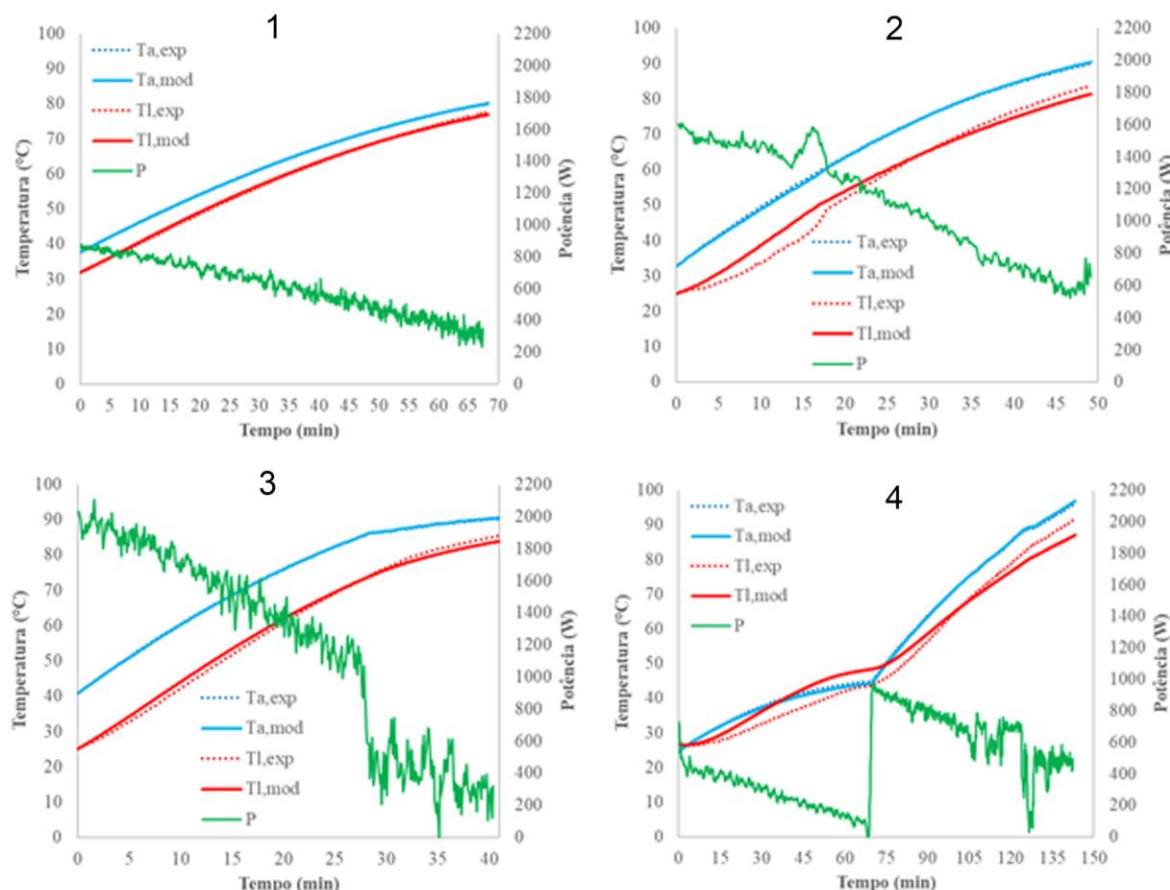
No regime 2, que contara com potência adicional de 500 W, não se fez necessária a retirada da resistência durante o tratamento, como no terceiro regime, visto que só se atingiu a temperatura fixada ao fim do experimento. Como no primeiro

regime, observou-se maior estabilidade no decréscimo da potência, sem mudanças repentinas como nos demais. Apesar disso, no regime 1 se nota que a potência efetiva foi inferior a potência nominal empregada, por consequência, o *setpoint* não foi atingido ao final do experimento.

A temperatura inicial da água do banho térmico nos regimes 1 e 2 estava próxima aos 35 °C, no regime 3 a temperatura foi pouco superior a esta, em torno de 40° C, enquanto no regime de calibração (regime 4), a temperatura da água do banho térmico no tempo zero foi de cerca de 25 °C. A temperatura do leite cru anterior ao início dos tratamentos variou entre 21 °C e 25 °C, apenas no primeiro regime a temperatura inicial da amostra de leite foi de 30 °C.

Em relação aos perfis de temperatura, como esperado, ao longo no tempo de processo a temperatura da água do banho térmico foi superior a temperatura do leite em todos dos regimes de aquecimento, visto que a energia térmica é recebida pela água do banho, que então transfere calor ao leite, para aquecê-lo.

FIGURA 1 – MODELOS MATEMÁTICOS (LINHAS CONTÍNUAS) AJUSTADOS AOS DADOS (SÍMBOLOS PONTILHADOS) DA TEMPERATURA DA ÁGUA (EM AZUL) E DO LEITE (EM VERMELHO) E DADOS DE POTÊNCIA EFETIVA DISSIPADA (EM VERDE) PARA OS REGIMES DE AQUECIMENTO 1, 2, 3 E 4, DE POTÊNCIAS NOMINAIS DE 1100 W, 1600 W, 2100 W, E 1100 W, RESPECTIVAMENTE.



FONTE: A autora (2021).

Analisando o eixo das abcissas dos gráficos, que representam o tempo em minutos percorrido até a conclusão de cada experimento, pode-se observar que os regimes 2 e 3 apresentaram os menores tempos de tratamento, cerca de 50 minutos e 40 minutos, na mesma ordem, o que era esperado, visto que quanto mais alta a potência fornecida ao fluido, mais rapidamente este alcançará temperaturas de inativação. O primeiro regime foi concluído em cerca de 70 minutos. Apesar de contar com potência igual ao primeiro regime, o quarto tratamento levou o dobro do tempo para conclusão, isso por se tratar de uma calibração do modelo preditivo, contado com duas etapas de tratamento com tempos e *setpoint* distintos, como já citado anteriormente.

A qualidade dos ajustes dos modelos fora avaliada através do cálculo da raiz do erro quadrático médio (*RMSE*). Os valores de *RMSE* resultantes dos ajustes dos modelos matemáticos aos dados experimentais da temperatura da água do banho

térmico (EQUAÇÃO 5) e do leite (EQUAÇÃO 6) são apresentados na TABELA 5. Além do  $RMSE$  calculado a todos os dados experimentais ( $RMSE_g$ ), foi calculado ainda os  $RMSE$  dos conjuntos em separado, para os dados da água do banho térmico ( $RMSE_a$ ) e do leite ( $RMSE_l$ ).

TABELA 5 - VALORES DE  $RMSE$  RESULTANTES DOS AJUSTES DOS MODELOS MATEMÁTICOS AOS DADOS EXPERIMENTAIS DA TEMPERATURA DA ÁGUA DO BANHO TÉRMICO ( $RMSE_a$ ), DO LEITE ( $RMSE_l$ ) E GLOBAL ( $RMSE_g$ ) NOS QUATRO REGIMES DE AQUECIMENTO.

Regime	$RMSE_a$ (°C)	$RMSE_l$ (°C)	$RMSE_g$ (°C)
1	0,066	0,420	0,301
2	0,439	2,801	2,005
3	0,201	1,281	0,917
4	0,536	3,421	2,448

FONTE: A autora (2021).

Quanto a análise dos valores de  $RMSE$ , entende-se que quanto mais próximos de zero, maior a capacidade de representação do modelo. O modelo demonstrou melhor ajuste aos dados do regime de aquecimento 1, obtendo  $RMSE_g$  de 0,301, valor duas vezes inferior ao do regime 3, que apresentou o segundo melhor ajuste. O quarto regime obteve o menor valor de  $RMSE_g$ , a deficiência na capacidade de representação do modelo aos dados se dá devido as etapas de aquecimento a diferentes *setpoints* de temperatura. Quanto ao regime 3, é possível observar que o erro quadrático para os dados da amostra de leite ( $RMSE_l$ ) é que tiveram maior impacto no valor de  $RMSE_g$ , enquanto se obteve bom ajuste aos dados da água do banho térmico.

Os coeficientes de transferência de calor por convecção do ar e da água determinados experimentalmente seguem expressos na TABELA 6.

TABELA 6 - COEFICIENTES DE TRANSFERÊNCIA DE CALOR POR CONVECÇÃO DO AR ( $h_{ar}$ ) E DA ÁGUA ( $h_a$ ) DETERMINADOS EXPERIMENTALMENTE NOS QUATRO REGIMES DE AQUECIMENTO.

Regime	$h_{ar}$ (W/m <sup>2</sup> °C)	$h_a$ (W/m <sup>2</sup> °C)
1	0,00	252,00
2	0,00	184,07
3	0,00	185,25
4	0,00	159,05

FONTE: A autora (2021).

Sabe-se que quanto maior o valor de  $h$  mais alta é a taxa de transferência de calor (SINGH et al, 2009). Tendo em vista que os coeficientes de convecção do ar calculados para todos os tratamentos tenderam a zero, foram considerados desprezíveis.

O banho térmico operando com as características do regime 1 (potência nominal de 1100 W) apresentou o melhor coeficiente convectivo ( $252 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$ ), valor com diferença de cerca de  $70 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$  para os demais tratamentos. Apesar do regime 1 contar com a menor entre as potências utilizadas, ao contrário dos outros regimes nos quais houve apenas a agitação da água realizada pela bomba do banho, neste foi utilizado ainda um agitador mecânico no leite ao longo de todo o aquecimento, o que explica a obtenção de um coeficiente de convecção maior, visto que o movimento do fluido é uma das variáveis que interferem diretamente no valor de  $h$ . A convecção envolve efeitos combinados de condução e advecção (movimento global) do fluido, logo quanto mais intensa a agitação, maior a transferência de calor por convecção (ÇENGEL, 2013; BERGMAN, 2019). Apesar de que o coeficiente analisado seja da água e não diretamente do leite, a movimentação da amostra influenciou de maneira significativa nos valores do coeficiente de transferência de calor.

De acordo com ÇENGEL (2013), entre as variáveis que interferem no coeficiente de convecção estão propriedades do fluido (viscosidade, densidade, calor específico, condutividade térmica etc.), do corpo em estudo (geometria, material, dimensão), a natureza do movimento do fluido e a velocidade de escoamento.

Bergman (2019), apresenta valores típicos de coeficiente convectivo para líquidos em geral, que pode variar de 50 a  $20.000 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$ . No entanto, por não se tratar de uma propriedade do fluido não se tem uma tabela com valores exatos para comparação (ÇENGEL, 2013). Na literatura, é possível encontrar diversas possibilidades para o cálculo do valor de  $h$ , apesar de poder ser calculado analiticamente em casos simples, na maioria das aplicações da engenharia é determinado experimentalmente (AMENDOLA, 2009; OLIVEIRA JÚNIOR, 2013; PARISOTTO, 2016). Este coeficiente existe na interface entre o meio de aquecimento e a amostra em estudo, é um parâmetro bastante específico para cada sistema de aquecimento já que dependente de todas as variáveis que influenciam a convecção, o que leva a complexidade na sua determinação (GEANKOPLIS, 1993; PARK et al., 2002).

Assim sendo, uma comparação entre os valores de  $h$  apresentados neste estudo com valores encontrados na literatura, mesmo que obtidos para o mesmo fluido seria equivocada (PARK et al., 2002). A comparação entre os próprios regimes de aquecimento estudados nos faz chegar a esta conclusão, visto que mesmo sob condições experimentais semelhantes, obtiveram-se valores distintos, comprovando o impacto das variáveis na transferência de calor, principalmente em relação a velocidade do fluido.

Teoricamente, esperava-se que os regimes alcançassem valores similares para  $h$  mesmo com diferenças nas potências utilizadas, considerando que o fator de maior interferência no coeficiente convectivo é a velocidade da água, e essa em todos os casos, exceto no regime 1, foi a mesma, sendo realizada, como citado anteriormente, pela bomba do banho que funciona de forma constante e fora configurada da mesma forma em todos os tratamentos. Esta tendência foi observada entre o segundo e terceiro regime que apresentaram valores para  $h_a$  com diferença de pouco mais de  $1 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$  entre si, apesar do terceiro regime contar com  $500 \text{ W}$  a mais de potência. Já nas condições de aquecimento do regime 4 obteve-se um valor um pouco menor que os regimes 2 e 3, uma justificativa para este valor seria as duas etapas de aquecimento do mesmo, sendo que a amostra foi submetida a menores temperaturas inicialmente e só após a temperaturas de inativação.

A discrepância observada entre o regime 1 e os demais regimes nos leva a concluir que a movimentação e velocidade do fluido durante o tratamento térmico, para o caso deste estudo, tiveram um impacto maior sobre o coeficiente de transferência de calor por convecção que a diferença de potências utilizadas. Sendo assim, para se chegar em um tratamento térmico mais eficiente, entende-se que seria viável adquirir agitadores mecânicos para aumentar o coeficiente de transferência de calor por convecção.

## 5.2 ACIDEZ TITULÁVEL E PH DO LEITE

Os resultados de acidez titulável e das aferições de pH obtidos através da análise de alíquotas do leite cru e do leite tratado termicamente em cada regime de aquecimento são apresentados na TABELA 7.

TABELA 7 - RESULTADOS DE ACIDEZ TITULÁVEL E PH DO LEITE CRU E APÓS O TRATAMENTO TÉRMICO.

Regime	Acidez*		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	0,184	0,222	7,13	6,67
2	0,192	0,193	6,98	6,78
3	0,201	0,205	6,60	6,06
4	0,145	0,214	7,06	6,83

\* g ácido láctico/100 mL

FONTE: A autora (2021).

De acordo com a Instrução Normativa nº 76, sancionada em 2018, que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado e o leite pasteurizado, a acidez titulável do leite deve estar entre 0,140 e 0,180 g de ácido láctico/100 mL de leite (BRASIL, 2018). Dessa forma, a partir da observação das acidez iniciais, entende-se que apenas a amostra de leite utilizada para o tratamento sob as características do regime 4 estava em conformidade com a legislação vigente no país antes de ser submetido à pasteurização, no entanto, após tratamento a conformidade não se manteve. A amostra do regime 1 apresentou valor de acidez inicial pouco maior do que o permitido, em contrapartida aos demais regimes, que apresentaram grande discrepância à legislação. As acidez finais não atenderam aos padrões físicos e químicos expressos na Instrução Normativa após tratamento térmico.

A acidez é um dos mais importantes indicadores da qualidade do leite, já que é capaz de detectar aumentos na concentração de ácido láctico resultantes da ação de micro-organismos deterioradores e/ou patogênicos, estes resultados indicam a possibilidade de condições inadequadas de higiene no manuseio e produção, mal estado de conservação e/ou possíveis quebras na cadeia de frio (FONSECA, 2001; DELGADO DA SILVA et al., 2008).

Quanto às variações entre as acidez iniciais e finais, observa-se um notório aumento da acidez do leite após ser submetido aos tratamentos térmicos 1 e 4, ao contrário dos outros regimes nos quais a diferença entre as acidez são mínimas. Sabe-se que o tratamento térmico pode ser responsável por várias alterações na qualidade físico-química e sensorial do leite, uma justificativa para este aumento está no maior tempo de exposição das amostras a temperaturas favoráveis ao desenvolvimento de micro-organismos (20 °C a 40 °C) devido ao uso de uma potência

inferior as utilizadas nos demais tratamento. O aumento na carga microbiana influencia diretamente em uma maior formação de ácido láctico, em decorrência da degradação de lactose por bactérias, logo um aumento na acidez do meio é perceptível.

A tendência para o aumento da acidez final do leite após ser submetido ao aquecimento não foram verificadas em outros estudos referentes a tratamentos térmicos do leite, já que a maioria deles utiliza o método HTST, e nestes a taxa de aquecimento é altíssima, não implicando em elevação da acidez do meio (ARAÚJO et. al, 1989), ao contrário das taxas obtidas através da utilização da pasteurização lenta (LTLT), como neste estudo, que serão citadas posteriormente.

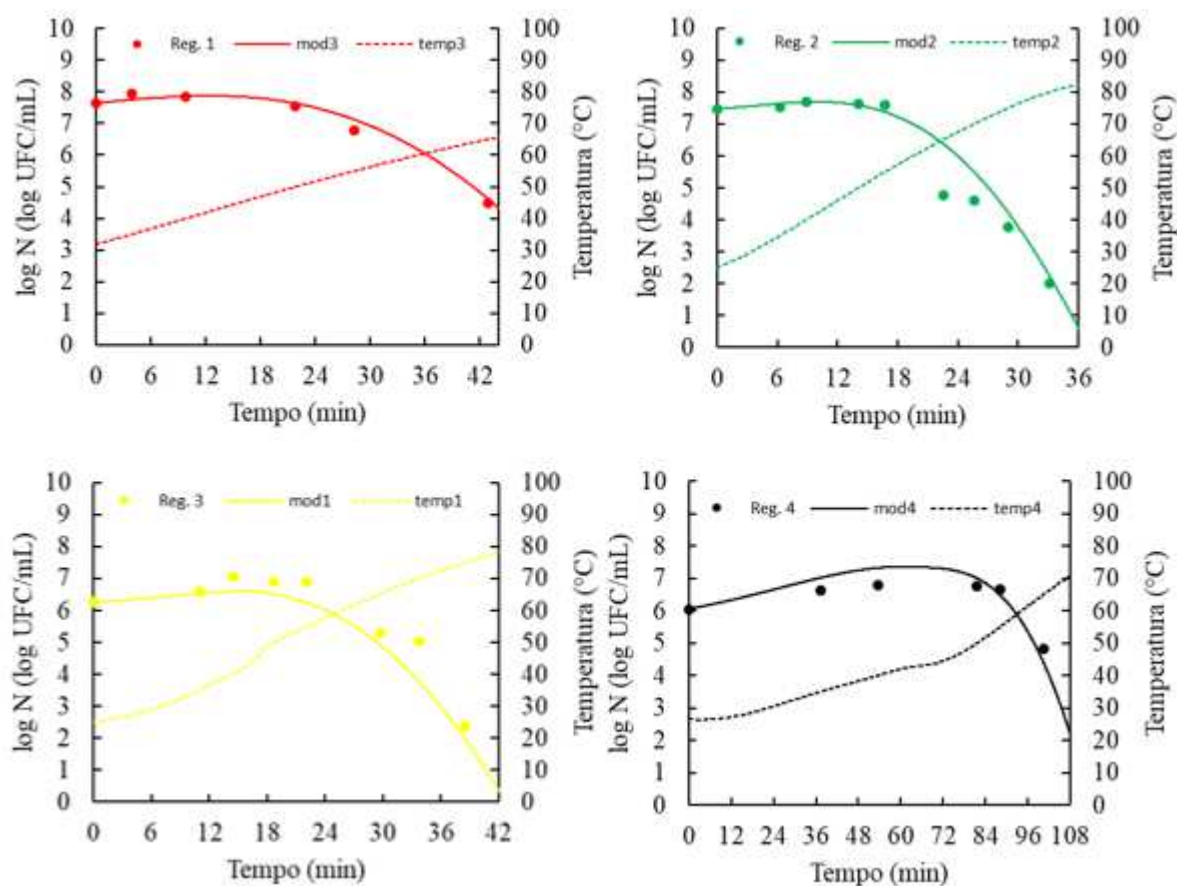
No que diz respeito ao pH, o estudo de TAMINE e DEETH (1980) afirma que o tratamento térmico do leite é responsável por um abaixamento dos valores de pH. Para todos os regimes estudados, como apresentado na TABELA 6, observou-se tal decréscimo dos valores finais de pH em relação aos inicialmente encontrados, consequência do aumento da acidez do meio, conforme descrito anteriormente.

### 5.3 MODELAGEM DO COMPORTAMENTO MICROBIANO DURANTE O TRATAMENTO TÉRMICO

Foi possível ajustar os modelos aos dados obtidos experimentalmente. A curva ajustada com base no modelo preditivo proposto pela EQUAÇÃO 11 (FIGURA 2), descreve a resposta dos micro-organismos em função do tempo nas diferentes condições de aquecimento.

A população inicial de bactérias totais presentes no leite cru nos quatro regimes de aquecimento variou entre 6 e 7,5 log UFC/mL.

FIGURA 2 – CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA OBTIDAS PARA O MODELO EMPÍRICO PROPOSTO



FONTE: A autora (2021).

Em geral, as curvas apresentaram aumentos na concentração de micro-organismos, em escala logarítmica, anteriores à inativação desejada. Devido às duas etapas, para fim de calibração dos modelos preditivos, o regime 4 apresentou aumento de mais de um ciclo logarítmico, o maior quando comparado com os outros tratamentos, 1,26 log UFC/mL entre as temperaturas de 26,77  $^{\circ}\text{C}$  e 41,7  $^{\circ}\text{C}$  por 59 minutos. O regime 1 apresentou um aumento de cerca de 0,19 log UFC/mL entre as temperaturas de 31,85  $^{\circ}\text{C}$  a 41,7  $^{\circ}\text{C}$  por 12 minutos, seguido do regime 2, com aumento de 0,21 log UFC/mL (de 25  $^{\circ}\text{C}$  a 41,7  $^{\circ}\text{C}$  por 9,75 minutos). O terceiro regime, apresentou aumento de 0,35 log UFC/mL entre 25  $^{\circ}\text{C}$  a 41,7  $^{\circ}\text{C}$  por 15,50 minutos.

É válido citar que optar pelo uso de modelos preditivos dinâmicos (modelos que predizem simultaneamente o crescimento e a inativação) partiu do conhecimento desse comportamento dos micro-organismos, esperado devido ao tratamento térmico lento empregado, onde as amostras de leite foram expostas durante certo tempo à temperaturas subletais aos micro-organismos, mais que isso, à temperaturas

favoráveis ou ótimas para a proliferação de bactérias, sobretudo mesófilas, que se multiplicam rapidamente na faixa de 30 °C à 40 °C (MAIESKI, 2011), causando assim o aumento logarítmico na concentração anterior ao início da inativação. Aumento este, que influencia diretamente nos valores de acidez do leite, como citado no item 4.2, já que estes fermentam a lactose produzindo ácido láctico e outros ácidos orgânicos, aumentando assim a acidez do leite e diminuindo o pH.

A carga microbiana inicial da amostra de leite submetida ao primeiro regime é de 7,64 log UFC/mL, após o tratamento térmico, que alcançou uma taxa média de aquecimento de 0,67 °C/min, o número de unidades formadoras de colônias por mL de leite é reduzido à 4,48 log UFC/mL, o modelo proposto prevê que haja a inativação dos micro-organismos viáveis (até < 1 UFC/mL) após cerca de 60 minutos de tratamento.

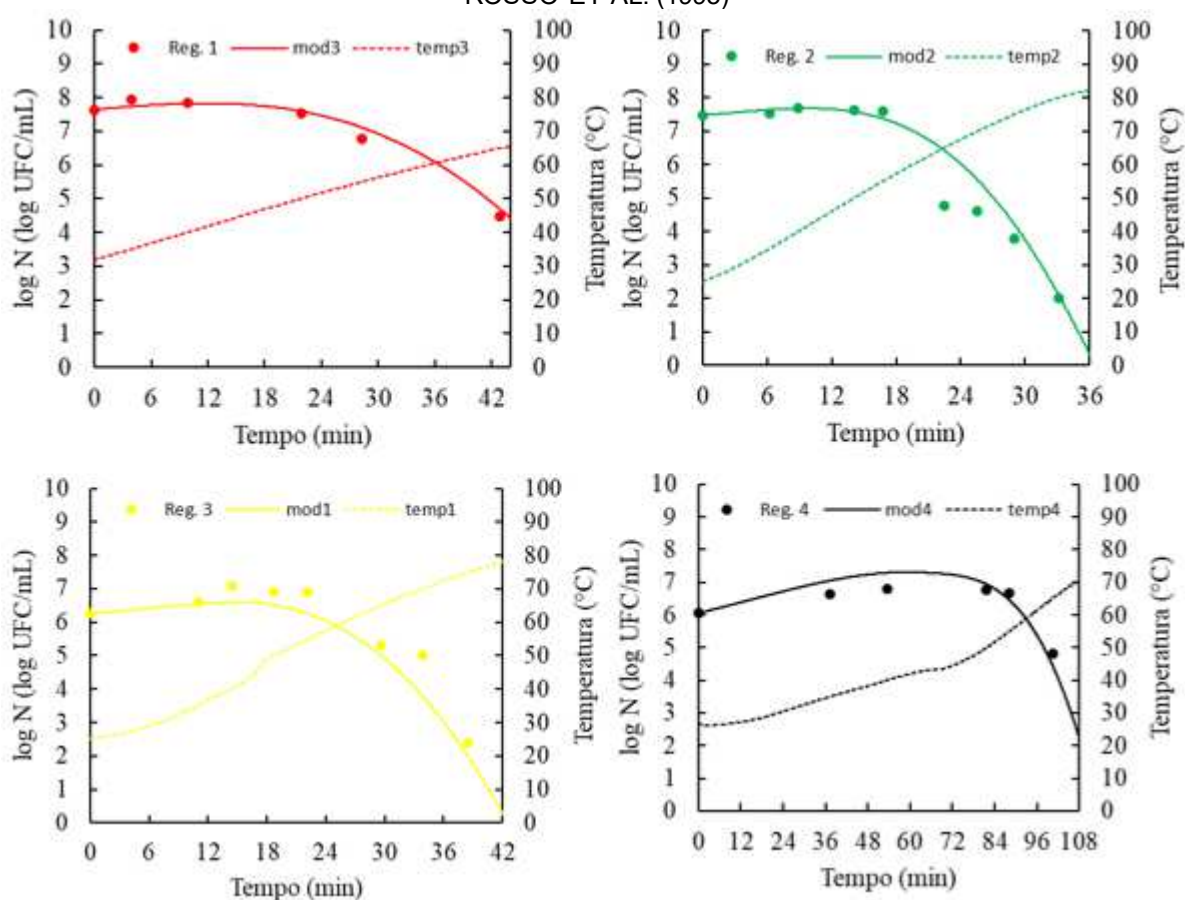
No regime 2 a carga microbiana inicial da amostra era de 7,47 log UFC/mL, valor pouco menor do que no primeiro regime, no entanto, observa-se que a redução microbiana em ciclos logarítmicos fora muito maior, chegando ao final do tratamento (33 minutos) com carga de 2,00 log UFC/mL, o modelo prevê inativação (até < 1 UFC/mL) em pouco mais que 36 minutos. Essa redução de ciclos logarítmicos é consequência da maior taxa de aquecimento (1,59 °C/min) neste regime, ou seja, devido ao maior tempo de exposição da amostra a temperaturas letais aos organismos presentes, em decorrência do uso de uma potência superior (1600 W), alcançando assim temperaturas de inativação mais rapidamente e o nível de letalidade desejada. Essa condição é semelhante à observada no terceiro regime, que apresentara taxa de 1,34 °C/min, apesar de ter iniciado com carga inferior (6,25 log UFC/mL) ao final da pasteurização alcançara 2,47 log UFC/mL, com previsão de inativação (até < 1 UFC/mL) em cerca de 42 minutos de exposição.

No quarto regime a carga inicial de micro-organismos era de 6,05 log UFC/mL, após a primeira etapa de aquecimento, na qual a temperatura do banho térmico fora fixada à 42 °C por 60 minutos, houve um aumento na concentração microbiana (7,30 log UFC/mL), só na segunda etapa do tratamento, quando a temperatura fora fixada em 90 °C, é que houve a inativação dos organismos, chegando ao final do aquecimento com 4,83 log UFC/mL, a baixa redução em escala logarítmica observada neste, assim como visto no primeiro regime, se dá devido à menor taxa de aquecimento, de 0,54 °C/min na segunda etapa de aquecimento.

O modelo de Rosso et al. (1995) também foi ajustado às curvas de sobrevivência experimentais (FIGURA 3), isso para comparação com os ajustes obtidos a partir do modelo preditivo proposto (EQUAÇÃO 11).

Os parâmetros cinéticos  $\alpha$ ,  $T_{ótimo}$  e  $T_{zero}$  estimados para o ajuste de ambos os modelos aos dados experimentais em função do tempo seguem expressos na TABELA 8, onde  $T_{zero}$  é a temperatura onde há a fronteira entre crescimento e inativação e  $T_{ótimo}$  é a temperatura ótima onde a velocidade de crescimento é máxima.

FIGURA 3 – CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA OBTIDAS ATRAVÉS DO MODELO ADAPTADO DE ROSSO ET AL. (1995)



FONTE: A autora (2021).

TABELA 8 - PARÂMETROS ESTIMADOS PARA OS AJUSTE DOS MODELOS DE ROSSO ET AL. (1995) E EMPÍRICO PROPOSTO

Modelo	a	$k_{ótimo}$	$T_{ótimo}$	$T_{zero}$
Empírico	2,35E-4	-	31,20	42,21
Rosso	-	2,82E-02	27,53	41,74

FONTE: A autora (2021).

A qualidade do ajuste de ambos os modelos fora avaliada por meio do *RMSE*, do  $R^2$  e dos percentuais de tendência ( $\%T$ ) e discrepância ( $\%D$ ) entre os valores observados e previstos, os resultando obtidos para tais índices estatísticos são apresentados na TABELA 9.

TABELA 9 - ÍNDICES ESTATÍSTICOS DOS AJUSTES DOS MODELOS DE ROSSO ET AL. (1995) E EMPÍRICO PROPOSTO

Regime	$R^2$		RMSE		$\%T$		$\%D$	
	Rosso	Empírico	Rosso	Empírico	Rosso	Empírico	Rosso	Empírico
1	0,986	0,985	0,182	0,173	1,2	1,2	3,0	2,6
2	0,925	0,933	0,655	0,644	7,2	7,8	13,2	13,5
3	0,950	0,947	0,564	0,586	-9,9	-10,4	13,7	14,3
4	0,949	0,955	0,321	0,335	0,8	0,8	5,4	5,7

FONTE: A autora (2021).

De forma geral, ambos os modelos apresentaram resultados muito semelhantes entre os índices estatísticos. A comparação com um modelo reconhecido na literatura é de suma importância para a validação do modelo empírico proposto (EQUAÇÃO 11) (SILVA, 2019).

Os valores de  $R^2$  e o *RMSE* indicam que os modelos demonstraram melhor ajuste aos dados do regime 1. Os percentuais de tendência e de discrepância são importantes indicadores da confiabilidade dos modelos preditivos. A partir da análise desses valores o modelo pode ser avaliado como “à prova de falhas” ou suas falhas serem classificadas entre perigosas (*fail-dangerous*) ou seguras (*fail-safe*) (ROSS, 1996; BARANYI et al., 1999; SILVA, 2019). Falhas na predição do comportamento dos micro-organismos foram observadas nos ajustes dos dois modelos testados, tanto a partir da análise visual das curvas quanto pela avaliação dos percentuais  $\%T$  e  $\%D$ , sendo que para estes, obtiveram-se valores semelhantes, assim como observado nos índices  $R^2$  e *RMSE*.

Quanto a análise dos percentuais, valores iguais a zero, indicam um modelo sem falhas. Em relação ao  $\%T$ , a interpretação das falhas é realizada de acordo com o sinal, se o valor apresentar sinal negativo indica que o modelo testado superestima (predição *fail-dangerous*) a inativação, enquanto que  $\%T$  positivo indica que o modelo subestima (predição *fail-safe*) a inativação. O  $\%D$  é sempre maior ou igual a 0%,

sendo que, quanto maior o valor obtido, mais discrepante é a média das estimativas (BARANYI et al., 1999).

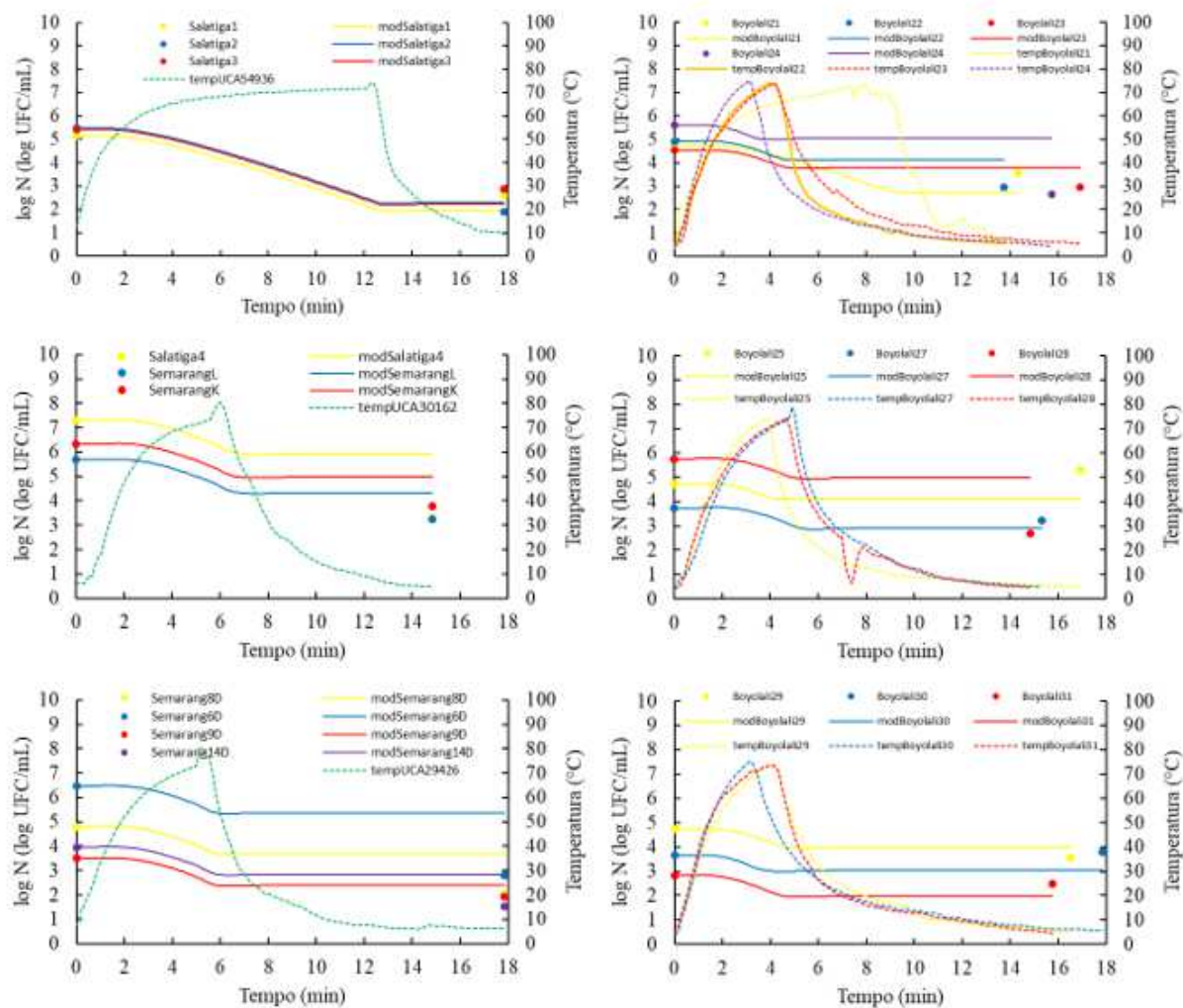
O regime 2 é o único em que os modelos predito e de Rosso et al. (1995) apresentam falhas perigosas na predição, ambos superestimam o tratamento térmico, apresentando percentuais de tendência de -10,4 e -9,9, respectivamente, indicando que a resistência dos micro-organismos ao aquecimento é menor, e assim a inativação é alcançada em um binômio tempo e temperatura inferior ao que realmente se observa na prática.

#### 5.4 VALIDAÇÃO DOS MODELOS

Para validação e comparações dos modelos testados foram realizadas ainda simulações com os dados experimentais obtidos por Abduh; Setiani (2015), em seu estudo sobre a redução das contagens bacterianas do leite bovino tratado termicamente à temperatura de pasteurização, no qual vinte amostras de leite foram coletadas de três produtores distintos e estas foram submetidas ao binômio tempo-temperatura de 72° C por 15 s.

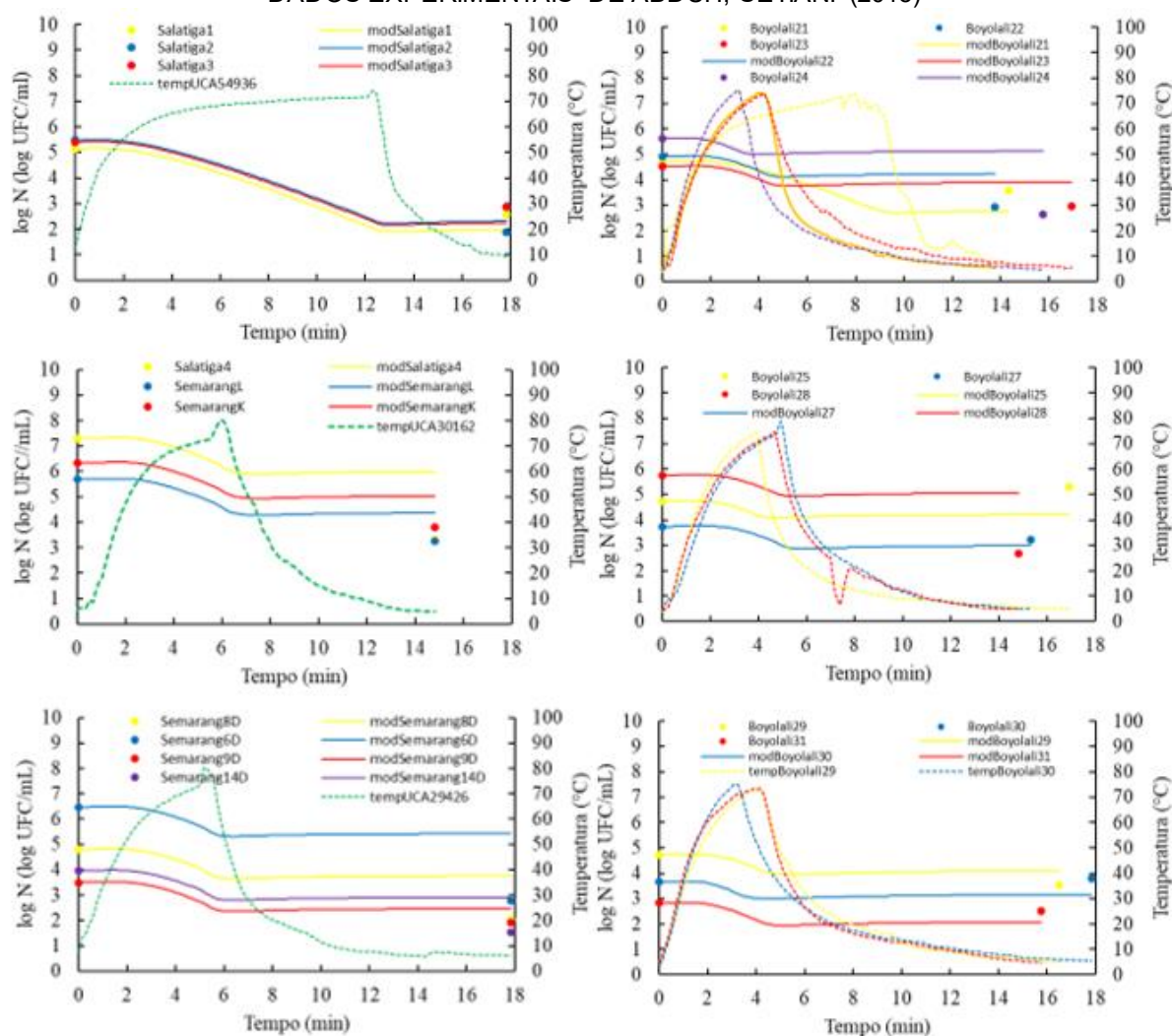
As simulações das curvas preditas pelo modelo empírico proposto e os dados experimentais são apresentadas nas FIGURAS 4 e 5. Os resultados dos índices estatísticos obtidos para as predições seguem descritos na TABELA 10, por simplicidade, os dados foram agrupados e intitulados como “Conjunto 1” (Salatiga 1, 2, 3), “Conjunto 2” (Salatiga 4, Semarang L e K), “Conjunto 3” (Semarang 6D, 8D, 9D e 14D) e “Conjunto 4” (Boyolali 21 a 31).

FIGURA 4 – PREDIÇÕES DO MODELO DE PROPOSTO E COMPARAÇÃO COM OS DADOS EXPERIMENTAIS DE ABDUH; SETIANI (2015)



FONTE: A autora (2021).

FIGURA 5 - PREDIÇÕES DO MODELO DE ROSSO ET AL (1995) E COMPARAÇÃO COM OS DADOS EXPERIMENTAIS DE ABDUH; SETIANI (2015)



FONTE: A autora (2021).

TABELA 10 - ÍNDICES ESTATÍSTICOS PARA COMPARAÇÃO DOS MODELOS DE ROSSO ET AL. (1995) E EMPÍRICO AJUSTADOS AOS DADOS DE ABDUH; SETIANI (2015)

Amostras	RMSE		%T		%D	
	Rosso	Empírico	Rosso	Empírico	Rosso	Empírico
Conjunto 1	0,560	0,580	-10,6	-12,1	27,3	28,1
Conjunto 2	1,820	1,780	47,6	46,3	51,4	50,2
Conjunto 3	1,745	1,674	74,8	67,7	76,4	72,7
Conjunto 4	1,305	1,277	12,1	9,3	42,5	42,2

FONTE: A autora (2021).

Os modelos apresentaram índices estatísticos semelhantes entre si em relação para cada conjunto de amostras, tendência já observada anteriormente nos ajustes aos dados da autora, que acabam por validar o modelo proposto. De acordo com o RMSE, as melhores predições foram obtidas aos dados do Conjunto 1 (Salatiga 1, 2, 3), os percentuais de discrepância obtidos foram os menores entre os conjuntos de dados, no entanto os percentuais de tendência obtidos para este conjunto foram inferiores a zero, indicando falhas perigosas na predição (BARANYI et al.,1999; SILVA, 2019).

Em geral, quando maior a área sob a curva de tempo-temperatura (UCA - *Under Curve Area*), melhores são as predições. Isso ocorre porque os parâmetros do modelo proposto foram estimados para curvas de aquecimento lento (que representa maiores valores de UCA). Por isso, os modelos demonstraram melhor predições aos perfis de temperatura mais demorados como os do Conjunto 1, mais semelhantes aos perfis de temperatura lentos obtidos neste estudo (ABDUH; SETIANI, 2015).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As temperaturas do leite e da água do banho térmico nos diferentes regimes de aquecimento foram quantificadas para a modelagem da transferência de calor. Os modelos de temperatura obtiveram melhores índices estatísticos para os dados do primeiro regime (1100 W), visto que os parâmetros dos modelos foram ajustados para tratamentos térmicos mais longos. Além disso, o coeficiente convectivo de transferência de calor ( $h$ ) obtido para este ensaio foi maior quando comparado aos dos demais regimes, fato decorrente do uso da agitação mecânica no leite durante o tratamento térmico.

Com relação ao impacto das condições de aquecimento no comportamento dos micro-organismos, pode-se observar o desenvolvimento microbiano entre às temperaturas de 30 e 40 °C, fato observado principalmente nos regimes 1 e 4 (perfis de temperatura mais lentos), resultando em um aumento expressivo nas acidez finais do leite e, por consequência, uma diminuição do pH das amostras submetidas a essas condições de aquecimento.

O modelo secundário de Rosso et al. (1995) e o modelo proposto (EQUAÇÃO 11) ajustados aos dados deste estudo, obtiveram índices estatísticos semelhantes entre si ( $R^2$ ,  $RMSE$ ,  $\%T$  e  $\%D$ ), o mesmo ocorre para as predições dos modelos aos

dados de Abduh; Setiani (2015). A semelhança observada entre as previsões de ambos os modelos para um mesmo grupo de dados nos permite concluir a validade do modelo proposto em prever a inativação térmica dos micro-organismos em diferentes condições de aquecimento, visto que a previsão do mesmo se compara à obtida por um modelo já validado na literatura. Portanto, os modelos sugeridos podem ser úteis na análise de processos de inativação térmica da microbiota natural do leite.

## REFERÊNCIAS

- ABDUH, S. B. M.; SETIANI, B. E. The reduction of aerobic bacterial counts of bovine milk as influenced by heat-treatments at pasteurization temperatures. **Procedia Food Science**, v. 3, p. 465-472, 2015.
- ALEXANDER, D. L. J.; TROPSHA, A.; WINKLER, D. A. Beware of R<sup>2</sup>: simple, unambiguous assessment of the prediction accuracy of QSAR and QSPR models. **Journal of chemical information and modeling**, v. 55, n. 7, p. 1316-1322, 2015.
- AMENDOLA, M.; DUSSÁN-SARRIA, S.; RABELLO, A. A. Determinação do coeficiente convectivo de transferência de calor de figos submetidos ao resfriamento rápido. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v. 13, p. 176-182, 2009.
- ARAÚJO, W. M. C.; CARUSO, J. G. B.; DE OLIVEIRA, A. J. Efeito do tratamento térmico do leite na qualidade do iogurte. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 46, n. 1, p. 201-214, 1989.
- BARANYI, J.; PIN, C.; ROSS, T. Validating and comparing predictive models. **International journal of food microbiology**, v. 48, n. 3, p. 159-166, 1999.
- BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. Mathematics of predictive food microbiology. **International journal of food microbiology**, v. 26, n. 2, p. 199-218, 1995.
- BERGMAN, T.; LAVINE, A. **Incropera - Fundamentos de Transferência de Calor e de Massa**. 8ª Edição ed. Grupo GEN, 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa n. 51, de 18 de setembro de 2002**. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade de Leite Tipo A, Tipo B, Tipo C e Cru refrigerado. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, seção 1, p.13., Brasília, 29 set. 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA, 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003**. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 26 ago. de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006**. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 12 dez. de 2006.

BUCHANAN, R. L. Predictive food microbiology. **Trends in Food Science and Technology**, v. 4, n. 1, p. 6-11, 1993.

CASTRO, M., T. Pasteurização do leite – Um pouco de história. **Food Safety Brazil**, 2019. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/pasteurizacao-do-leite-um-pouco-de-historia/>. Acesso em: 29 de maio de 2021.

CASTRO, M., T. Por que fazer a contagem de enterobactérias no leite pasteurizado? **Food Safety Brazil**, 2020. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/por-que-fazer-contagem-de-enterobacterias-no-leite-pasteurizado/>. Acesso em: 29 de maio de 2021.

ÇENGEL Y. A.; BOLES M. A. **Termodinâmica**, Editora McGraw Hill: 7ª edição, 2013.

CERF, O.; DAVEY, K. R.; SADOUDI, A. K. Thermal inactivation of bacteria—a new predictive model for the combined effect of three environmental factors: temperature, pH and water activity. **Food Research International**, v. 29, n. 3-4, p. 219-226, 1996.

CHANDLER, R. E.; MCMEEKIN, T. A. Temperature function integration and the prediction of the shelf-life of milk. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 40, n. 1, p. 10, 1985.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Processamento de leites de consumo**. Elsevier, 2017.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Química, bioquímica, análise sensorial e nutrição no processamento de leite e derivados**. Elsevier, 2016.

DALGAARD, P. Modelling of microbial activity and prediction of shelf life for packed fresh fish. **International Journal of Food Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 305-317, 1995.

DANNENHAUER, C. E. **Desenvolvimento de um aplicativo computacional para microbiologia preditiva**. Dissertação (mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2010.

DAVANÇO, F. V.; HARA, E. T.; SATO, R. T.; SIVIERI, K.; REZENDE, C. M.; RENSIS, C. M. V. B. Avaliação do efeito do tratamento térmico na capacidade de retenção de água do iogurte através da metodologia de superfície de resposta. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 369, p. 3-7, 2009.

DAVEY, K. R. Applicability of the Davey (linear Arrhenius) predictive model to the lag phase of microbial growth. **Journal of applied bacteriology**, v. 70, n. 3, p. 253-257, 1991.

DUH, Y.; SCHAFFNER, D. W. Modeling the effect of temperature on the growth rate and lag time of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*. **Journal of food protection**, v. 56, n. 3, p. 205-210, 1993.

EARLY, R. **Tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, p.459, 1998.

EMBRAPA. Anuário leite 2018: Indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro. **Embrapa gado de leite**. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa, 114 p. 2018.

EMBRAPA. Anuário leite 2019: novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. **Embrapa gado de leite**. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa, 104 p. 2019.

CARVALHO, G. R.; ROCHA, D. T.; CARNEIRO, A. V. Indicadores: leite e derivados, **Embrapa gado de leite**, v. 10, n. 96, 2019.

ENRIGHT, J. B.; SADLER, W. W.; THOMAS, R. C. Thermal inactivation of *Coxiella burnetii* and its relation to pasteurization of milk. **US Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service**, 1957.

FAO. **Milk and dairy products in human nutrition**. Roma, 2013.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. Lemos Editorial, 2001.

FRANCO, R. M.; CAVALCANTI, R. M. S.; WOOD, P. C. B.; LORETTI, V. P.; GONÇALVES, P. M. R.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 68-69, p. 70-77, 2000.

GEANKOPLIS, C. J. **Transport Processes and Unit Operations**. 3 ed. University of Minnesota, p. 921, 1993.

GEERAERD, A. H.; VALDRAMIDIS, V. P.; VAN IMPE, J. F. GlnaFiT, a freeware tool to assess non-loglinear microbial survivor curves. **International Journal of Food Microbiology**, 102: 95-105, 2005.

GIMENO, R.; COSANO, G. **Modelización predictiva del desarrollo bacteriano en los alimentos**. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental, v. 17, n. 1, p. 61-78, 2004.

GRIFFITHS, M. W. Predictive modelling: applications in the dairy industry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, n. 3-4, p. 305-315, 1994.

HANTSIS-ZACHAROV, E.; HALPERN, M. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 22, p. 7162–7168, 2007.

HERVERT, C. J.; ALLES, A. S.; MARTIN, N. H.; BOOR, K. J.; WIEDMANN, M. Evaluation of different methods to detect microbial hygiene indicators relevant in the dairy industry. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 9, p. 7033-7042, 2016.

HERVERT, C. J.; MARTIN, N. H.; BOOR, K. J.; WIEDMANN, M. Survival and detection of coliforms, Enterobacteriaceae, and gram-negative bacteria in Greek yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 950-960, 2017.

JAGANNATH, A.; TSUCHIDO, T. Predictive microbiology: a review. **Biocontrol science**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2003.

KREITH, F.; BOHN, M. S. **Principles of heat transfer**. 7 ed., 1997.

LABUZA, T. P.; FU, B.; TAOUKIS, P. S. Prediction for shelf life and safety of minimally processed CAP/MAP chilled foods: a review. **Journal of food protection**, v. 55, n. 9, p. 741-750, 1992.

LONGHI, D. A.; DALCANTON, F.; ARAGÃO, G. M. F.; CARCIOFI, B. A. M.; LAURINDO, J. B. Assessing the prediction ability of different mathematical models for the growth of *Lactobacillus plantarum* under non-isothermal conditions. **Journal of theoretical biology**, v. 335, p. 88-96, 2013.

MAIESKI, L. M. **Os principais microorganismos patogênicos que afetam a qualidade do leite**. Trabalho de conclusão de Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Produtos de Origem Animal. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária, 2011.

MCCLURE, P. J.; BLACKBURN, C. W.; COLEA, M.B.; CURTIS, P.S.; JONES, J. E.; LEGAN, J. D.; OGDENE, I. D.; PECK, M. W.; ROBERTS, T. A.; SUTHERLAND, J. P.; WALKER, S. J. Modelling the growth, survival and death of microorganisms in foods: the UK Food Micromodel approach. **International journal of food microbiology**, v. 23, n. 3-4, p. 265-275, 1994.

MCMEEKIN, T. A., BROWN, J., KRIST, K., MILES, D., NEUMEYER, K., NICHOLS, D. S., e SOONTRANON, S. Quantitative microbiology: a basis for food safety. **Emerging infectious diseases**, v. 3, n. 4, p. 541, 1997.

MILLER, Fátima A. et al. A microbiologia preditiva como instrumento da garantia da segurança de produtos alimentares, 2004.

MORISHITA, H.; DA BARROSA, M. R. **Princípios fundamentais da transferência de calor**. 2004.

NASH, R. A; WACHTER, A.H. **Pharmaceutical process validation** (3rd ed., rev. & expanded). Marcel Dekker, New York, 2003.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. M., SANTOS, E. D. A., SILVA, S. M. F., SANTOS, A. C. A., e SILVA, G. F. D. Determinação do coeficiente convectivo de transferência de calor experimental em cupcake de chocolate resfriado a temperatura ambiente. 2013.

PARISOTTO, E. L. B. Determinação de parâmetros, modelagem matemática e simulação numérica da secagem de polpa de tomate por cast-tape drying. 2016.

- PARK, Y. J., KANG, H.K., KIM, C.J., Heat transfer characteristics of a two-phase closed thermosyphon to the fill charge ratio. **J. of Heat and Mass Transfer**, v. 45, p. 4655–4661, 2002.
- PELEG, M.; COLE, M. B. Reinterpretation of microbial survival curves. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n. 5, p. 353-380, 1998.
- PÉREZ, M. R. R. **Desarrollo y validación de modelos matemáticos para la predicción de vida comercial de productos cárnicos**. Tese (doutorado em Veterinária). Universidad de Córdoba. 2003.
- RAO, M. A.; RIZVI, SYED SH; DATTA, ASHIM K. Engineering properties of foods. 3 Ed. 2005.
- RATKOWSKY, David A. et al. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. **Journal of bacteriology**, v. 149, n. 1, p. 1-5, 1982.
- ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 81, n. 5, p. 501-508, 1996.
- ROSSO, L., LOBRY, J. R., BAJARD, S., & FLANDROIS, J. P. Convenient model to describe the combined effects of temperature and pH on microbial growth. **Applied and environmental microbiology**, v. 61, n. 2, p. 610-616, 1995.
- ROUPAS, P. Predictive modelling of dairy manufacturing processes. **International dairy journal**, v. 18, n. 7, p. 741-753, 2008.
- RUSSO, G. **Estudo e modelagem da transferência de calor em um processo de pasteurização em sistema tubular**. Tese (mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, 2019.
- SANTOS E. D. A.; SILVA, S. M. F.; SANTOS, A. C. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, A.; SILVA, G. Determinação do coeficiente convectivo de transferência de calor experimental em cupcake de chocolate resfriado a temperatura ambiente. **Anais do simpósio internacional de inovação tecnológica - SIMTEC**. 1. 399-403, 2013.
- SAVELLO, P. A., DARGAN, R. A. Reduced yogurt syneresis using ultrafiltration and very-high temperature heating. **Milchwissenschaft**, v. 52, p. 573-577, 1997.
- SILVA, B. M. F. **Avaliação do comportamento de Escherichia coli produtora de toxina Shiga O157: H7 sob o efeito do pH e temperatura**. Dissertação (mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2019.
- DELGADO DA SILVA, M. C., LYRA DA SILVA, J. V., SANTOS RAMOS, A. C., DE OLIVEIRA MELO, R., e OMENA OLIVEIRA, J. Microbiological and physico-chemical characterization of pasteurized milk for the milk program in the State of Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 226-230, 2008.
- SOUZA, Poliana Mendes de. **Estudo comparativo da pasteurização de leite pelo método convencional e por microondas**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2007.

TAMIME, A.Y.; ROBINSON, R.K. Yogurt: ciencia y tecnología. Oxford, **Pergamon Press**, p.1-43, 1991.

TAMINE, A.Y.; DEETH, H.C. Yogurt; technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, Ames, 43: 939-77, 1980.

TATINI, S. R., MEKALA, P., EL-HABAZ, A., e GRIFFITHS, M. W. (1991). Rapid detection of psychrotrophic bacteria in manufacturing grade raw milks. **Journal of food protection**, v. 54, n. 11, p. 861-867, 1991.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção de qualidade do leite** – 5. Ed. – Santa Maria: Ed. da UFSM, 2013.

VAN IMPE, J. F., NICOLAÏ, B. M., MARTENS, T., DE BAERDEMAEKER, J., & VANDEWALLE, J. Dynamic mathematical model to predict microbial growth and inactivation during food processing. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 9, p. 2901-2909, 1992.

VARNAM, A. H., SUTHERLAND, J. P. **Leche y productos lácteos: tecnología, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia, p. 63-72. 1994.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology**. 2 ed, Boca Raton: CRC Press. 2006.

WHITING, R. C.; BUCHANAN, R.L. A classification of models for predictive microbiology. **Food Microbiology**, v. 10, p. 175-177, 1993.

ZWIETERING, M. H., DE KOOS, J. T., HASENACK, B. E., DE WITT, J. C., E VAN'T RIET, K. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 4, p. 1094-1101, 1991.