

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

REBECA KALITA DE OLIVEIRA RODRIGUES

ANÁLISE E MODELAGEM DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA MICROBIOTA
NATURAL DO LEITE CRU EM DIFERENTES CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS

JANDAIA DO SUL

2023

REBECA KALITA DE OLIVEIRA RODRIGUES

ANÁLISE E MODELAGEM DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA MICROBIOTA
NATURAL DO LEITE CRU EM DIFERENTES CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, como requisito à obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Angelo Longhi

JANDAIA DO SUL

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA JANDAIA DO SUL

Rodrigues, Rebeca Kalita de Oliveira

Análise e modelagem da inativação térmica da microbiota natural do leite cru em diferentes condições isotérmicas. / Rebeca Kalita de Oliveira Rodrigues. – Jandaia do Sul, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Paraná, Campus Jandaia do Sul, Graduação em Engenharia de Alimentos. Orientador: Prof. Dr. Daniel Angelo Longhi.

1. Tratamento térmico. 2. Pasteurização. 3. Microbiologia preditiva. 4. Cinética microbiana de inativação. I. Longhi, Daniel Angelo. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD: 664

Bibliotecário: César A. Galvão F. Conde - CRB-9/1747



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PARECER Nº
PROCESSO Nº
INTERESSADO:

92/2023/UFPR/R/JA
23075.071163/2021-31
COORDENAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

REBECA KÁLITA DE OLIVEIRA RODRIGUES

"ANÁLISE E MODELAGEM DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA MICROBIOTA
NATURAL DO LEITE CRU EM DIFERENTES CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS"

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

Profa. Dra. Dirlei Diedrich Kieling

Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Prof. Dr. José Eduardo Padilha de Sousa

Campus Jandaia do Sul, UFPR

Jandaia do Sul, 16 de fevereiro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **DIRLEI DIEDRICH KIELING, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/02/2023, às 10:08, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **JOSE EDUARDO PADILHA DE SOUSA, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/02/2023, às 10:09, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **DANIEL ANGELO LONGHI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/02/2023, às 10:09, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **5300863** e o código CRC **C1314433**.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder vida, saúde e força para superar as dificuldades.

Agradeço pelo apoio incondicional dos meus pais, Calio Antônio Rodrigues e Sonia Maria de Oliveira Rodrigues, nesse período e durante toda a minha vida, também por ensinarem a importância da verdade, amor, honestidade e gratidão. Eu os amo infinitamente.

Grata ao Professor/Orientador Dr. Daniel Angelo Longhi por me ensinar a trilhar os caminhos do conhecimento científico, pela amizade construída, e pela confiança e carinho em mim depositado.

À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de obter uma graduação em uma universidade pública e com ensino de qualidade.

À técnica de laboratório Cássia, pelo suporte, paciência, atenção e conversa.

Em especial, quero agradecer a amizade de Caio, Gabriel, Larissa, Marcia, Samuel, Vitor e Úrsula, pelo apoio, incentivo e por tornar os momentos tensos mais leves, vocês foram fundamentais durante toda a graduação.

À minha irmã, Raquel de Oliveira Rodrigues, pela parceria.

Ao meu noivo, Henrique Pinheiro Urbano, por todo o amor, carinho e compreensão.

A todos os meus familiares e amigos que sempre contribuíram de alguma forma para o meu crescimento pessoal e profissional durante o processo de graduação.

Aos professores, Dr. Daniel, Dr^a Ana, Dr^a Leomara, Dr^a Luana, Dr^a Erika, Dr^a Letícia, Dr^a Leda, Dr^a Renata, Dr^a Dirlei, Dr. Raimundo, Dr. Osvaldo, Dr. Fábio, Dr. José Eduardo e Dr. Bruno.

A todos, muito obrigada!

ANÁLISE E MODELAGEM DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DA MICROBIOTA NATURAL DO LEITE CRU EM DIFERENTES CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS

Rebeca Kalita de Oliveira Rodrigues

Daniel Angelo Longhi

RESUMO

O leite é um alimento amplamente consumido devido a sua complexidade nutricional e a influência no desenvolvimento humano. Sendo assim, é necessário garantir a segurança deste. Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo a análise e a modelagem matemática da resistência térmica da microbiota natural do leite cru em diferentes condições isotérmica. Duas amostras de leite cru (A e B) foram obtidas e caracterizadas no laboratório. Após, as amostras foram submetidas a cinco binômios de tempo e temperatura (condições isotérmicas): 63 °C durante 1800 s, 66 °C durante 365 s, 69 °C durante 99 s, 72 °C durante 20 s e 75°C durante 15 s. A modelagem matemática foi desenvolvida a fim de descrever as cinéticas de inativação obtidas para contagem bacteriana total e *Enterobacteriaceae*. Através das cinéticas obtidas foi possível determinar os parâmetros de destruição térmica, como valor de tempo de redução decimal – $D(s)$ e o aumento de temperatura necessário para que haja a redução de um ciclo logarítmico do valor de $D - z (^{\circ}C)$. Os valores de $z (^{\circ}C)$ para a contagem bacteriana total e *Enterobacteriaceae* foram de 5,98 °C e 6,68 °C, com coeficientes de determinação dos ajustes de $R^2 = 0,922$ e $R^2 = 0,921$, respectivamente. Diante disso, pode-se concluir que a microbiota natural do leite apresentou micro-organismos com maiores termoresistência do que o micro-organismo patogênico de referência do processo de pasteurização (*C. burnetii*).

Palavras-chave: tratamento térmico; pasteurização; microbiologia preditiva; cinética microbiana de inativação;

ANALYSIS AND MODELING OF THERMAL INACTIVATION OF RAW MILK NATURAL MICROBIOTA UNDER DIFFERENT ISOTHERMAL CONDITIONS

Rebeca Kalita de Oliveira Rodrigues

Daniel Angelo Longhi

ABSTRACT

Milk is a widely consumed food due to its nutritional complexity and influence on human development. Therefore, it is necessary to ensure its security. In view of this, the present work aimed to analyze and mathematically model the thermal resistance of the natural microbiota of raw milk under different isothermal conditions. Two raw milk samples (A and B) were obtained and characterized in the laboratory. Afterward, the samples were submitted to five binomials of time and temperature (isothermal conditions): 63 °C for 1800 s, 66 °C for 365 s, 69 °C for 99 s, 72 °C for 20 s, and 75 °C for 15 s. Mathematical modeling was developed in order to describe the inactivation kinetics obtained for total bacterial count and *Enterobacteriaceae*. Through the kinetics obtained, it was possible to determine the thermoresistance parameters, such as the value of the decimal reduction time – D (s) and the temperature increase necessary for the reduction of a logarithmic cycle of the value of $D - z$ (°C). The z (°C) values for the total bacterial count and *Enterobacteriaceae* were 5.98 °C and 6.68 °C, with adjustment determination coefficients of $R^2 = 0.922$ and $R^2 = 0.921$, respectively. Therefore, it can be concluded that the natural microbiota of milk presented microorganisms with greater thermoresistance than the pathogenic microorganism of reference to the pasteurization process (*C. burnetii*).

Keywords: heat treatment; pasteurization; predictive microbiology; microbial kinetics;

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Sistema utilizado para aplicação da pasteurização em leite cru	11
FIGURA 2 – Aplicação da pasteurização no leite em banho térmico com agitadores mecânicos e sensores termopares para aquisição da temperatura	12
FIGURA 3 – Banho de gelo para o acondicionamento das amostras após a aplicação do tratamento térmico até a realização das análises microbiológicas.....	12
FIGURA 4 – Teste qualitativo de fosfatase alcalina	13
FIGURA 5 – Curvas do logaritmo do tempo de redução decimal em função da temperatura do tratamento térmico para estimar os valores de <i>z</i> para <i>Enterobacteriaceae</i> (Enter.) e Contagem Bacteriana Total (CBT) com os dados das amostras A e B. A linha preta representa a curva correspondente da bactéria de referência, <i>C. burnetii</i>	20
FIGURA A.1. – Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 63 °C... ..	26
FIGURA A.2. – Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 66 °C... ..	26
FIGURA A.3. – Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 69 °C... ..	27
FIGURA A.4. – Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 72 °C... ..	27
FIGURA A.5. – Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 75 °C... ..	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Binômios de tempo e temperatura utilizados para analisar as cinéticas de inativação dos micro-organismos presentes em leite cru	11
TABELA 2 – Pontos de coleta para o plaqueamento respectivo em cada regime aplicado.....	13
TABELA 3 – Composição do leite cru para as amostras (A) e (B).	16
TABELA 4 – logaritmo da concentração microbiana inicial das amostras (A) e (B) do leite cru obtidas antes da aplicação do tratamento térmico.....	17
TABELA 5 – Tempos de redução decimal (d) estimados pelo ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais de cbt para os tratamentos térmicos em diferentes condições isotérmicas.	18
TABELA 6 – Tempos de redução decimal (d) estimados pelo ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais de <i>Enterobacteriaceae</i> para os tratamentos térmicos em diferentes condições isotérmicas.....	19
TABELA 7 – Valores de z estimados pelo ajuste do modelo secundário aos dados de contagem bacteriana total (cbt) e <i>Enterobacteriaceae</i>	20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	10
2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS	10
2.3 PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA.....	10
2.4 COMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS	10
2.5 TRATAMENTOS TÉRMICOS	10
2.6 ANÁLISES DE FOSFATASE ALCALINA	13
2.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS POR PLAQUEAMENTO	14
2.8 MODELAGEM MATEMÁTICA.....	16
2.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	16
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4 CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS.....	23
APÊNDICE I – PERFIS DE TEMPERATURAS DAS AMOSTRAS DE LEITE E DO BANHO TÉRMICO.....	26

1 INTRODUÇÃO

O leite é um líquido gerado pelas glândulas mamárias dos mamíferos, a fim de promover alimentação, fortalecimento e crescimento de seus filhotes, sendo considerado como um dos alimentos mais completos nutricionalmente pela presença de cálcio, potássio, fósforo, zinco, magnésio, entre outros nutrientes necessários para uma alimentação humana. Devido a sua complexidade nutricional, o leite esteve presente como alimento essencial desde o início das civilizações e ainda nos dias atuais (CHALUPA-KREBZDAK; LONG; BOHRER, 2018).

Devido a importância do leite na alimentação humana, e por se tratar de um meio com condições excelente para o desenvolvimento de vários grupos de micro-organismos, é necessário garantir a comercialização segura desse produto. Sendo assim, os processos térmicos são aplicados, afim de evitar doenças transmitidas por micro-organismos patogênicos como também de prolongar a vida útil do produto (LANGONI; PENACHIO; CITADELLA, 2011; MULLER, 2002).

A pasteurização é um processo térmico aplicado em leite e é baseado em dois binômios de tempo e temperatura. O primeiro regime é classificado como pasteurização rápida que consiste em aquecer o leite em uma temperatura de 72 °C a 75 °C durante 15 s a 20 s, nomeado como processo *High Temperature Short Time* (HTST) e submeter ao resfriamento até 4 °C. O segundo regime é classificado como pasteurização lenta, que consiste em aquecer o leite a uma temperatura de 63 °C a 65 °C durante 30 minutos, nomeado como processo *Low Temperature Long Time* (LTLT) (BOOR et al., 2017, MATA; TOLEDO; BRASIL, 2018).

Os binômios apresentados acima possuem o objetivo de inativar os micro-organismos patogênicos, tendo como micro-organismo alvo a *Coxiella burnetti*, que possui condições de inativação a uma temperatura de 62,8 °C durante 30 minutos ou 71,7 °C durante 15 segundos (ENRIGHT; SADLER; THOMAS, 1957). Com essa resistência outros micro-organismos causadores de doença como, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella spp.*, *Brucella spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, também são inativados garantindo a segurança da saúde pública (TAMANINI et al., 2007).

Após a aplicação do processo térmico, existe alguns métodos que verificam a efetividade da pasteurização no leite, como a detecção da enzima fosfatase alcalina, sendo por fitas colorimétricas ou kit de reagentes, ambos sendo testes qualitativos. A enzima fosfatase alcalina é um indicador importante do processo de pasteurização do

leite, pois possui resistência térmica ligeiramente superior à *C. burnetii* (LIMA,1958). Diante disso, pode-se determinar se o binômio tempo e temperatura aplicados foram suficientes para garantir a segurança do leite para a comercialização (LIMA et al., 2021).

A qualidade microbiológica do leite pode ser avaliada através da contagem padrão em placas, que apresenta o ambiente desejável para o desenvolvimento dos micro-organismos presentes (SANTOS; VIEIRA,2021). Cinéticas do comportamento microbiano durante um processo térmico aplicado ao leite podem ser obtidas a fim de observar a inativação da microbiota naturalmente presente.

O comportamento cinético dos micro-organismos presentes no leite pode apresentar diferentes formatos de curvas de inativação microbiana. O caso clássico, log-linear, apresenta variação proporcional do logaritmo da concentração dos micro-organismos em relação ao tempo. Além do caso clássico, podemos observar a curva log-linear com ombro, que apresenta inicialmente uma termoresistência dos micro-organismos no início do tratamento aplicado. A curva log-linear com cauda apresenta um comportamento inicial igual ao caso clássico, porém, apresenta uma termoresistência no final do processo, que caracteriza a cauda no modelo. A curva log-linear com ombro e cauda apresenta a união desses dois comportamentos, tanto a termoresistência no início e final do tratamento. Ainda existem os casos das subpopulações com diferentes resistências térmicas, que são descritas pelas curvas log-não-lineares (GEERAERD; VALDAMIDS; VAM IMPE, 2004).

Para cada comportamento cinético microbiano, existem fatores que podem descrever, com modelos matemáticos através uma expressão algébrica que utiliza os parâmetros aplicados no processo de aquecimento e que prevê a explicação da inativação dos micro-organismos (ROBAZZA, TELEKEN, GOMES, 2010). Fundamentos da microbiologia preditiva podem ser aplicados a fim de calcular o tempo de destruição dos micro-organismos, associando com os fatores intrínsecos (atividade da água, pH, composição química) e extrínsecos (temperatura, umidade, composição gasosa do meio) (BARANYI, ROBERTS ,1994).

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo geral a análise e a modelagem matemática da inativação térmica da microbiota natural do leite cru em diferentes condições isotérmica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

O leite cru utilizado para aplicação da pasteurização foi adquirido de duas fontes (A e B) para a comparação dos resultados, adquiridos no mês de dezembro/2022. Os fornecedores pertencem ao município de Jandaia do Sul (PR). As amostras foram embaladas, encaminhadas e refrigeradas para análise no Laboratório de pesquisa de Bioativos e Microbiologia, no Campus Avançado de Jandaia do Sul.

2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Para ambas as amostras A e B, foram separadas alíquotas de 1 mL em tubos de ensaio esterilizados, para seguir com a aplicação dos tratamentos térmicos.

2.3 PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA

Para a contagem dos microrganismos presentes nas amostras analisadas, foram preparados dois meios de cultura. O primeiro meio utilizado foi o “*Plate Count Agar*” (PCA), para determinar a contagem bacteriana total (CBT). A proporção usada para o preparo do meio foi de 22,5 g/L, e após submetido a esterilização a 121 °C durante 15 minutos, recomendado pelo fornecedor. Para o segundo, foi utilizado o meio “*Violet Red Bile Dextrose*” (VRBD), para detecção de colônias de *Enterobacteriaceae*. A proporção utilizada do meio foi de 39,5 g/L, a diluição do meio ocorreu em água pura fervente, recomendado pelo fornecedor.

2.4 COMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS

Para determinar a composição das amostras (A) e (B) de leite cru em relação aos percentuais de gordura, lactose, proteínas e sólidos, bem como a densidade (g/cm³), utilizou-se o analisador de leite (*Milkscan*).

2.5 TRATAMENTOS TÉRMICOS

Os tratamentos térmicos aplicados sobre as amostras (A) e (B) consistiram em diferentes condições isotérmicas. A Tabela 1 apresenta os binômios de tempos e temperaturas, propostos a partir dos parâmetros apresentados pelo *Codex Alimentarius* (2011) para a pasteurização do leite, aplicados a fim de analisar as cinéticas de inativação dos micro-organismos presentes no leite cru.

TABELA 1 – Binômios de tempo e temperatura utilizados para analisar as cinéticas de inativação dos micro-organismos presentes em leite cru.

	Temperatura (°C)	Tempo (s)
Regime (1)	63	1800
Regime (2)	66	365
Regime (3)	69	99
Regime (4)	72	20
Regime (5)	75	15

FONTE: a autora (2023)

Após determinar as temperaturas e seu tempo respectivo, as amostras foram submetidas ao banho térmico. O banho térmico utilizado possui potência de 750 W (marca *Centauro*, modelo CBM15D), onde também foram adicionados 2 agitadores mecânicos com potência de 25 W (marca *Fisatom*) e rotação de 2000 rpm para auxiliar na circulação da água a fim de maior estabilidade da temperatura durante o processo de aquecimento. A Figura 1 apresenta o esquema montado para o processo.

FIGURA 1 – Sistema utilizado para aplicação da pasteurização em leite cru.



FONTE: a autora (2023)

Em seguida, a temperatura do banho térmico foi ajustada a temperatura do início do tratamento e um banho de gelo foi produzido em uma caixa térmica de poliestireno expandido para reduzir a temperatura das amostras até as análises microbiológicas. Para conferir com precisão a temperatura do banho relativa à amostra adicionada, utilizou-se sensores acoplados ao software PASCO Capstone v.2.5.2. Os pontos de aferimento da temperatura foram: um sensor termopar em uma amostra para aferimento da temperatura que foi adicionada ao banho juntamente com as demais amostras a serem analisadas, dois sensores bastão adicionados a água do banho, e um sensor termopar adicionado ao banho de gelo, representados pelas Figuras 2 e 3.

FIGURA 2 – Aplicação da pasteurização no leite em banho térmico com agitadores mecânicos e sensores termopares para aquisição da temperatura.



FONTE: a autora (2023)

FIGURA 3 – Banho de gelo para o acondicionamento das amostras após a aplicação do tratamento térmico até a realização das análises microbiológicas.



FONTE: a autora (2023)

Após atingir a temperatura desejada do banho térmico, foram adicionados simultaneamente os tubos de ensaio contendo as amostras de leite (1 mL). Para cada regime apresentado na Tabela 1, temos os pontos coletados durante a pasteurização, representados na Tabela 2.

Através da resistência térmica da *C. burnetti*, temos os regimes apresentados na Tabela 2 como equivalentes para a inativação, apresentando um tempo de redução decimal de referência (D_{ref}) de 6 min à temperatura de referência (T_{ref}) de 63 °C (CODEX ALIMENTARIUS, 2011).

No início de cada processo térmico, a coleta das amostras para as análises microbiológicas do leite cru foi realizada em temperatura ambiente ($22,6 \pm 3,0$ °C). Durante o período de aquecimento, a coleta das amostras foi realizada com base na temperatura (1 °C abaixo da temperatura definida para cada tratamento). Por fim, após a amostra atingir a temperatura definida para cada processo térmico, a amostragem

foi baseada em tempo (TABELA 2). Para cada amostragem, foi retirada do banho térmico um tubo de ensaio contendo a amostra referente a temperatura ou tempo, sendo estas submetidas imediatamente ao banho de gelo de aproximadamente 0 °C até a realização das análises microbiológicas.

TABELA 2 – Pontos de coleta para o plaqueamento respectivo em cada regime aplicado.

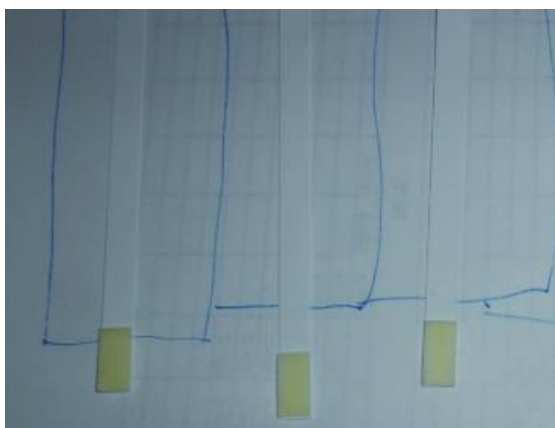
Regime (1)	Regime (2)	Regime (3)	Regime (4)	Regime (5)
leite cru	leite cru	leite cru	leite cru	leite cru
62 °C	65 °C	68 °C	71 °C	74 °C
63 °C: 0 s	66 °C: 0 s	69 °C: 0 s	72 °C: 4 s	75 °C: 6 s
10 min	1 min e 20 s	19,8 s	8 s	9 s
22 min	2 min e 43 s	39,6 s	12 s	12 s
24 min	4 min e 5 s	59,4 s	16 s	15 s
26 min	5 min e 26 s	1 min e 32 s	20 s	-
28 min	6 min e 8 s	2 min e 5 s	-	-
30 min	-	-	-	-

FONTE: a autora (2023)

2.6 ANÁLISES DE FOSFATASE ALCALINA

O teste comercial de fosfatase alcalina (marca CapLab), constitui um teste qualitativo que possui um reagente que detecta a presença da enzima. Sendo assim, para cada ponto coletado nos tratamentos térmicos acima, uma fita de teste foi mergulhada na amostra durante 10 segundos para que ocorra a absorção e esperou-se 2 a 3 minutos para proceder a leitura, de acordo com a recomendação do fornecedor. Se a fita apresentar coloração amarelada, conclui-se que a enzima não foi inativada, ou seja, a enzima ainda está presente na amostra. Se a fita não apresentar alteração de coloração, considera-se o resultado negativo, ou seja, ocorreu a inativação da enzima. Na Figura 4 temos a representação desse teste.

FIGURA 4 – Teste qualitativo de fosfatase alcalina.



FONTE: a autora (2023)

2.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS POR PLAQUEAMENTO

De acordo com a ISO 21149 (ABNT 21149:2008) o método de profundidade consiste em adicionar uma alíquota inicial (1 mL) ou diluição da amostra na placa de Petri e adicionar de 15 mL a 20 mL de meio de cultivo. Para a quantificação da CBT foi utilizado o agar PCA. Após a solidificação do ágar, as placas foram invertidas e submetidas à incubação a uma temperatura de $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h.

A contagem de *Enterobacteriaceae* também foi realizada por profundidade. De acordo com a ISO 21528 (ABNT 21528:2020), o método consiste em adicionar uma alíquota inicial (1 mL) ou diluição da amostra na placa de Petri e adicionar aproximadamente 15 mL de meio de cultivo, neste caso o ágar bile vermelho violeta glicose (VRBG). Após a solidificação desse meio, foi adicionado uma sobre camada do mesmo ágar preparado. Após a solidificação da sobre camada foi realizado a inversão da placa e submetida à incubação a uma temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

A contagem microbiológica foi realizada para determinar o número de unidades formadora de colônia por mililitro (UFC/mL). As placas que foram consideradas para a contagem apresentaram de 25 a 250 colônias, conforme a ISO 21149, a contagem é realizada devido a marcação de cada colônia na placa.

2.8 MODELAGEM MATEMÁTICA

O modelo primário clássico, que descreve o comportamento da curva de sobrevivência linear, onde há variação proporcional do logaritmo da concentração em relação ao tempo, foi utilizado. As curvas de inativação podem ser descritas através da Equação (1), onde t (min) representa o tempo, N (UFC/mL) a concentração microbiana no tempo t , N_0 (UFC/mL) a concentração microbiana inicial e D (s) o tempo de redução decimal (GEERAERD; VALDRAMIDIS; VAN IMPE, 2004).

$$\log N = \log N_0 - \frac{t}{D} \quad (1)$$

Resumidamente, aplicando a manipulação algébrica, temos a Equação (2), que substitui a equação anterior facilitando a aplicação do modelo aos resultados.

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = -\frac{t}{D} \quad (2)$$

O modelo secundário é aplicado através da Equação (3), que tem por finalidade determinar a constante z , que representa o aumento da temperatura (T) necessária para que ocorra a redução de um ciclo logarítmico do valor de D calculado através da Equação (2). Para o modelo secundário são utilizados os parâmetros de referência da *C. burnetti* nas condições de referência (D_{ref} e T_{ref}) (FRAVET, 2006; BIGELOW, 1921; SANTOS, 2011).

$$\log\left(\frac{D}{D_{ref}}\right) = \frac{T_{ref}-T}{z} \quad (3)$$

2.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para realizar a análise estatística, calculou-se o coeficiente de determinação (R^2), que representa uma medida estatística relacionada com a proporção da variação total dos dados em relação ao modelo aplicado aos dados de entrada. Sendo assim, o R^2 indica quão bem um modelo pode descrever os dados. Diante disso, a Equação (4) apresenta a expressão usada para a aplicação dessa análise (LAPPONI, 2005), em que y_i são os valores observados, y_p são os valores preditos pelo modelo e $\bar{y}$ é a média dos dados experimentais.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - y_p)^2}{\sum_{i=1}^n (y_p - \bar{y})^2} \quad (4)$$

Para a interpretação dos resultados, o R^2 apresenta valores de 0 a 1, onde valores próximos a 1 correspondem que o modelo apresenta uma boa representação dos dados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 são apresentados os resultados da análise de composição das amostras de leite cru. É possível observar que as amostras apresentaram teores de proteína ($> 2,9$ g por 100 g) e lactose ($> 4,3$ g por 100 g) dentro do padrão estabelecido na Instrução Normativa N° 77, de 26 de novembro de 2018 (BRASIL, 2018), sendo que o teor de gordura está ligeiramente abaixo do limite estabelecido na legislação ($> 3,0$ g por 100 g). A gordura é o componente mais variável do leite, que depende da alimentação das vacas, hidratação, raça, estação do ano e período de lactação. O leite produzido durante o verão tende a ter menos gordura do que o leite produzido durante o inverno, o que pode ser relacionando com o estado fisiológico das vacas (BRITO, 1998; RIBEIRO, 2012). A gordura é um componente que está em dispersão e por isso pode apresentar variação, entretanto, do ponto de vista do escopo do trabalho, o teor de gordura abaixo do estabelecido na legislação não é um fator limitante, mas a determinação do seu teor é fundamental para correlacionar com a termoresistência dos micro-organismos, a gordura presente no leite apresenta uma função protetiva dos micro-organismos (ORDÓÑEZ, 2004). O resultado apresentado se contrapõe contra essa referência, pois mesmo apresentando uma porcentagem menor que a estabelecida pela IN apresentada acima, a microbiota do leite apresenta uma resistência maior.

TABELA 3 – Composição do leite cru para as amostras (A) e (B).

Componentes	Amostra (A)	Amostra (B)
Gordura (%)	$2,63 \pm 0,03$	$2,73 \pm 0,04$
Lactose (%)	$4,81 \pm 0,02$	$4,87 \pm 0,04$
Sólidos (%)	$0,69 \pm 0,01$	$0,71 \pm 0,01$
Proteína (%)	$3,30 \pm 0,02$	$3,24 \pm 0,03$
Densidade (g/cm ³)	$1,031 \pm 0,001$	$1,031 \pm 0,000$

Fonte: a autora (2023)

Na Tabela 4 são apresentados os resultados do logaritmo da concentração microbiana inicial, obtidos experimentalmente para as amostras (A) e (B), antes da aplicação dos tratamentos térmicos nas diferentes temperaturas (os perfis de temperatura experimentais são apresentados no Apêndice I). É possível observar que as amostras apresentaram CBT próximas ou acima do limite estabelecido na legislação (< 300.000 UFC/mL = $5,48$ log UFC/mL) (BRASIL, 2018). Com relação a contagem de *Enterobacteriaceae*, não há padrão estabelecido na legislação para o

leite cru, apenas para o leite já tratado termicamente (pasteurizado). A contagem bacteriana total depende das boas práticas de manipulação no local da ordenha, bem como das boas condições de saúde do animal e da manutenção da temperatura de armazenamento após a realização da ordenha. Esses fatores influenciam diretamente a contaminação e a qualidade do leite, podendo aumentar a concentração de micro-organismos deteriorantes do leite. Por mais que todos os cuidados relacionados às boas práticas de fabricação sejam garantidas, inevitavelmente, esse leite não será livre de micro-organismos (BEHMER, 1999; TRONCO 2010; MENEZES, 2014).

TABELA 4 – Logaritmo da concentração microbiana inicial das amostras A e B do leite cru obtidas antes da aplicação do tratamento térmico.

T (°C)	CBT		<i>Enterobacteriaceae</i>	
	log N (A)	log N (B)	log N (A)	log N (B)
63	5,45	5,70	c –	3,96
66	5,75	7,02	4,97	2,79
69	5,50	6,76	c –	2,77
72	a –	7,00	a –	2,89
75	a –	b –	a –	4,56

^a dados perdidos

^b incontável

^c ausente

FONTE: a autora (2023)

Na Tabela 5 são apresentados os resultados do tempo de redução decimal (*D*) obtidos a partir do ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais de CBT obtidos nos tratamentos térmicos em diferentes condições isotérmicas para as amostras (A) e (B), bem como os valores calculados para o coeficiente de determinação dos ajustes. É possível observar que a CBT apresenta decréscimo dos valores de *D* com o aumento da temperatura, o que é esperado, considerando que a termoresistência do microrganismo é menor em maiores temperaturas (JAY, 2005). Diante desses resultados, pode-se observar uma certa resistência térmica da microbiota presente nas amostras de leite, se comparada com a *C. burnetii* na mesma temperatura ($D_{ref} = 6 \text{ min} = 300 \text{ s}$).

A microbiota natural do leite é composta por micro-organismos patogênicos e deteriorantes. Há espécies que podem ser mais termoresistentes que a *C. burnetii*, mas essas espécies não representam perigos à saúde pública, já que a *C. burnetii* é considerada a espécie patogênica com maior termoresistência. Desta forma, essas bactérias presentes que podem sobreviver aos tratamentos térmicos tradicionais de pasteurização, normalmente estão relacionados e podem causar problemas de

qualidade nos produtos lácteos, que serão obtidos a partir das amostras de leite cru com tais contaminações iniciais, algumas dessas bactérias deteriorantes estão na classe dos *Bacillus* e *Echerichia coli*. O processo de aquecimento com o binômio de tempo e temperatura de 15 segundos a 71,7 °C garante a mesma eficácia em inativação que o binômio de 30 minutos a 61,7 °C (SCHRADER, 1941; SUPPLEE et al. 1941; LIN et al., 1998). Porém, de acordo com BALL (1943), mesmo que haja a manipulação correta e aferimento preciso de temperatura aos tratamentos térmicos tradicionais, esses princípios de binômio tempo e temperatura são relativos as bactérias termodúricas que possuem um binômio de inativação superior aos binômios de pasteurização.

A alta contagem de mesófilos totais no meio PCA, pode ser associada com procedimento de ordenha ou o habitat de determinada vaca com sujidades, como sujeiras do solo. Apesar da possibilidade da presença desses sub grupos, a legislação atual vigente exige parâmetros de qualidade apenas para *Enterobacteriaceae* (BRASIL, 2018).

TABELA 5 – Tempos de redução decimal (D) estimados pelo ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais de CBT para os tratamentos térmicos em diferentes condições isotérmicas.

Amostra	T (°C)	D (s)	log (D)	n*	R ²
A	63	360,85	2,557	2	1,000
B	63	409,47	2,612	4	0,993
A	66	258,5	2,412	5	0,859
A	69	81,98	1,914	5	0,967
B	72	6,33	0,801	3	0,971
B	75	6,07	0,783	2	1,000

*número de dados experimentais utilizados no ajuste.

FONTE: a autora (2023)

Na Tabela 6 são apresentados os resultados do tempo de redução decimal (*D*) obtidos a partir do ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais de *Enterobacteriaceae* obtidos nos tratamentos térmicos em diferentes condições isotérmicas para as amostras (A) e (B), bem como os valores calculados para o coeficiente de determinação dos ajustes. É possível observar que, assim como para CBT, *Enterobacteriaceae* apresenta decréscimo dos valores de *D* com o aumento da temperatura, o que é esperado, considerando que a termoresistência do microrganismo é menor em maiores temperaturas (JAY, 2005).

O padrão estabelecido na legislação é que, ao final do tratamento térmico, a contagem de *Enterobacteriaceae* seja de até 5 UFC/mL em duas de cinco amostras em um plano de amostragem de três classes. Assim, se qualquer uma das cinco amostras apresentar contagem acima de 5 UFC/mL, isso leva à rejeição do lote, bem como a presença de uma a cinco UFC/mL em três ou mais das cinco amostras leva também à rejeição do lote. *Enterobacteriaceae* representa biologicamente uma família de bactérias Gram negativas, com formato bacilar, abrange aproximadamente 53 gêneros e mais de 170 espécies. Dentro dessa variedade podem existir os fermentadores, como *Escherichia*, e não fermentadores, como *Salmonella*, apresentando resistência térmica inferior a ao micro-organismos alvo (*C. burnetii*), e possui indicadores para avaliação da segurança e higiene dos alimentos (RAMOS; NASCIMENTO, 2019; BOOR, 2017; EL-ZINEY, 2018, MOTARJEMI, 2014).

TABELA 6 – Tempos de redução decimal (D) estimados pelo ajuste dos modelos matemáticos aos dados experimentais de *Enterobacteriaceae* para os tratamentos térmicos em diferentes condições isotérmicas.

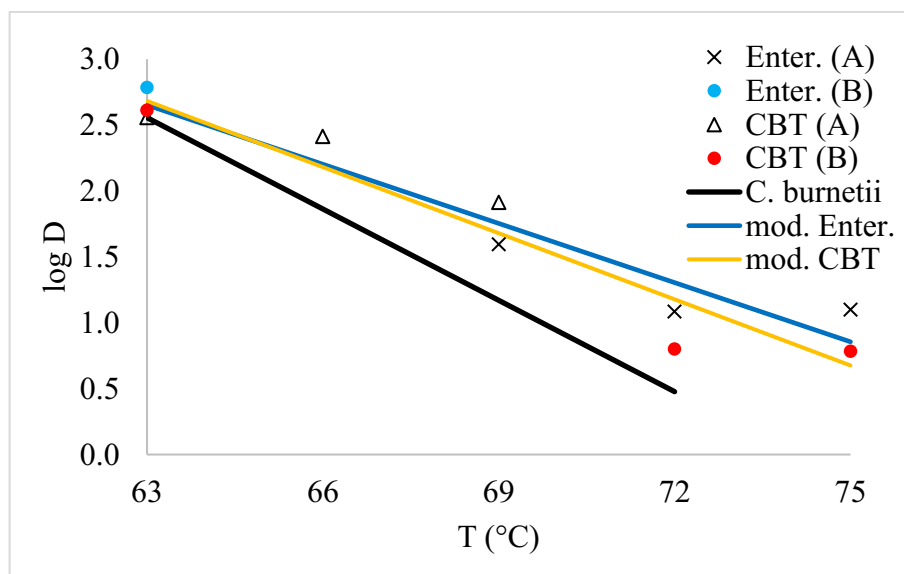
Amostra	T (°C)	D	log (D)	n*	R ²
B	63	611,38	2,786	2	1,000
A	69	39,40	1,595	4	0,993
A	72	12,12	1,084	5	0,859
A	75	12,6	1,100	5	0,967

*número de dados experimentais utilizados no ajuste

Fonte: a autora (2023)

Na Figura 5 são apresentados os dados do logaritmo do tempo de redução decimal em função da temperatura do tratamento térmico. Estes dados são importantes para estimar os valores de z para Contagem Bacteriana Total e *Enterobacteriaceae*, que são apresentados na Tabela 8.

FIGURA 5 – Dados do logaritmo do tempo de redução decimal em função da temperatura do tratamento térmico para estimar os valores de z para *Enterobacteriaceae* (Enter.) e Contagem Bacteriana Total (CBT) das amostras A e B. A linha preta representa a curva correspondente da bactéria de referência, *C. burnetii*.



Fonte: a autora (2023)

A resistência dos subgrupos de micro-organismos presentes no leite analisado, para as amostras (A) e (B), apresentam termo resistência maior que *C. burnetii* na faixa de temperaturas analisadas (de 63 °C a 75 °C). Enquanto *C. burnetii* apresenta valor de z de 4,3 °C, contagem bacteriana total apresentou z de 5,98 °C e Enterobacteriaceae de 6,68 °C. Exemplos disso são os micro-organismos termodúricos, que podem tolerar altas temperaturas de pasteurização, e que produzem esporos, que são formas de resistência contra condições adversas (PINTO, 2006). Portanto, o aumento de temperatura necessário para causar uma redução equivalente de um ciclo logarítmico no tempo de redução decimal é maior para a contagem bacteriana total e Enterobacteriaceae que para *C. burnetii*.

TABELA 7 – Valores de z estimados pelo ajuste do modelo secundário aos dados de contagem bacteriana total (CBT) e Enterobacteriaceae.

	Enterobacteriaceae	CBT
z (°C)	6,68	5,98
Dados	4	6
R^2	0,921	0,922

Fonte: a autora (2023)

Os testes colorimétricos para a validação dos processos de pasteurização por meio da fosfatase alcalina apresentaram resultados instáveis. É provável que o material, que teve aumento de temperatura durante o transporte, tenha sofrido

alterações, já que a recomendação do fabricante era a manutenção de baixa temperatura. Portanto, embora o método apresentado anteriormente tenha sido aplicado experimentalmente, os resultados não foram apresentados e considerados neste trabalho. Estes resultados poderiam comprovar que binômios de tempo e temperatura aplicados neste estudo, como os tratamentos térmico por pelo menos 365 s a 66 °C, ou por pelo menos 99 s a 69 °C, fossem equivalentes aos binômios estabelecidos na legislação atual (63 °C a 65 °C por 30 minutos ou 72 °C a 75 °C por 15 s a 20 s) (BRASIL, 2017).

4 CONCLUSÃO

A resistência térmica da microbiota natural do leite cru foi analisada experimentalmente a 63 °C, 66 °C, 69 °C, 72 °C e 75 °C. Os resultados obtidos e a modelagem matemática aplicada para as duas amostras analisadas mostraram, por meio da contagem bacteriana total e *Enterobacteriaceae*, que há espécies microbianas com maior termoresistência em relação ao micro-organismo patogênico de referência (*C. burnetii*). Estas espécies resistentes normalmente são deteriorantes, que causam a redução da vida útil do leite pasteurizado e dos produtos lácteos produzidos a partir do leite. Por meio da modelagem matemática foi possível estabelecer parâmetros de termoresistência da contagem bacteriana total e *Enterobacteriaceae*, que podem ser úteis para quantificar a concentração microbiana remanescente dos processos de pasteurização aplicados na indústria de alimentos.

As seguintes considerações são apresentadas para os trabalhos futuros que forem desenvolvidos:

- Aplicar uma análise qualitativa e quantitativa da enzima fosfatase alcalina, através da leitura do espectrofotômetro UV/Visível, a fim de validar os processos de pasteurização em condições isotérmicas;
- Avaliar comparativamente a termoresistência dos micro-organismos da microbiota natural com outros meios de aquecimento, como por micro-ondas e raios ultravioleta da banda C (UV-C).
- Avaliar o comportamento cinético de um micro-organismo específico na classe das *Enterobacteriaceae*.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR ISO 21149:2008 - Cosméticos Microbiologia - Contagem e Detecção de Bactérias Mesófilas Aeróbicas. Primeira Edição: 30.06.2008. ABNT: Rio de Janeiro, RJ.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR ISO 21528-2 – Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos – Método horizontal para detecção e enumeração de *Enterobacteriaceae*. Parte 2: Método de contagem de colônias.

BALL, C. O. (1943). Short-Time Pasteurization of Milk. *Industrial & Engineering Chemistry*, 35(1), 71–84. doi:10.1021/ie50397a017

BARANYI, József; ROBERTS, Terry A. Mathematics of predictive food microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, United Kingdom, p. 199-218.

BEHMER, M. L. A. Tecnologia do leite. 13 ed. São Paulo: Ed. Noel, 1999, 320 p.

BIGELOW, W. D. The Logarithmic Nature of Thermal Death Time Curves. **The Journal of Infectious Diseases**, England, 5 nov. 1921.

BOOR, Kathryn J.; WIEDMANN, Martin; MURPHY, Sarah; ALCALINE, Sam. A 100-Year Review: Microbiology and safety of milk handling. **Journal of Dairy Science**, New York, p. 9934-9951, 16 jun. 2017.

BRASIL. **Decreto no 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei no 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei no 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. [S. l.], 31 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de origem Animal. **Instrução Normativa n.76 de 26 de novembro de 2018. 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, Brasília, 30 nov. 2018.

BRITO, José Renaldi Feitosa; BRITO, José Renaldi Feitosa. A qualidade do leite. 1998.

CHALUPA-KREBZDAK, Sebastian; LONG, Chloe J.; BOHRER, Benjamin M. Nutrient density and nutritional value of milk and plant-based milk alternatives. **International Dairy Journal**, Canadá, p. 84-86, 22 jul. 2018.

CODEX ALIMENTARIUS. Milk and Milk Products. **Organização Mundial da Saúde e Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas**, Rome, Italy, 2011.

EL-ZINEY, Mohamed G. Evaluation of microbiological quality and safety of milk and dairy products with reference to European and Gulf Standards. Food and Public

Health, v.8, n.2, p.47-56, 2018.

ENRIGHT, J. B., W. W. SADLER, and R. C. THOMAS. 1957. **Thermal Inactivation of *Coxiella burnetii* and Its Relation to Pasteurization of Milk**. Public Health Monograph No. 47, Public Health Service Publication No. 517. United States Government Printing Office, Washington, DC.

FRAVET, F.F.M.F. **Modelagem e simulação do processo de esterilização térmica em batelada de vegetais em conserva**. 2006. 191 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006.

GEERAERD, A.H.; VALDRAMIDIS, V.P.; VAN IMPE, J.F. GlnaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. **International Journal of Food Microbiology**, Leuven, Belgium, p. 1-11, 1 nov. 2004

LANGONI, H.; PENACHIO, D. S.; CITADELLA, J. C. C. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios**, Botucaru, SP, p. 1059-1065, 31 ago. 2011.
LAPPONI, J. C. Estatística usando Excel. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

LIMA, C. I. P. (1958). **Caracterização dos diferentes tratamentos térmicos na inativação da fosfatase alcalina para avaliação da eficiência da pasteurização do leite caprino**. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1988.

LIMA, J. S. SAMPAIO, A. P. P. O., SILVA, P. S., DUFOSSÉ, M. C. S., ROSA, A. M. B. P., MORAES, C. M., & ROOS, T. B. (2021). Evaluation of alkaline phosphatase detection methods in bovine, buffalo and goat milk. *Brazilian Journal of Food Technology*, 24, e2020130. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13020>.

LIN, S. et al. **Identification of contamination sources of *Bacillus cereus* in pasteurized milk**. *International Journal of Food Microbiology*, v. 43, p. 159 – 171, 1998.

MENEZES, Maria Fernanda Cáceres et al. Microbiota e conservação do leite. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, p. 76-89, 2014.

MOTARJEMI, Y. et al. Milk and Dairy Products. *Food Safety Management*, [s.l.], p.83-117, 2014.

MULLER, E.E. Qualidade do Leite, Células somáticas e prevenção da mastite. **Universidade Estadual de Londrina**, Paraná, Maringá, p. 206-217, 30 ago. 2002.

ORDÓÑEZ, J. A. Características gerais do leite e componentes fundamentais: Estrutura e a composição do leite. *In: TECNOLOGIA DE ALIMENTOS: Alimentos de origem animal*. [S. l.: s. n.], 2004. cap. Capítulo I, p. 13-40. ISBN 8536304367.

PINTO, C. J. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. **Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 26, n. 3, p. 645- 651, 2006.

RAMOS, G. L. P. A.; NASCIMENTO, J. S. Evaluation of Violet Red Bile Glucose agar specificity for Enterobacteriaceae isolation in raw goat milk. **Visa em debate (sociedade, ciência e tecnologia)**, Rio de Janeiro, Brasil, p. 91-96, 12 dez. 2019.

RIBEIRO NETO, A. C. et al. Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região Nordeste. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 1343-1351, 2012.

ROBAZZA, W.S.; TELEKEN,, J.T.; GOMES, G.A. Modelagem Matemática do Crescimento de Microrganismos em Alimentos. **Departamento de Engenharia de Alimentos**, Santa Catarina, 4 jun. 2010.

SANTOS, A. C. G. **Análise de dados cinéticos por novas metodologias.** 2011. 92 p. Dissertação - Universidade de Aveiro, Portugal, 2011.

SANTOS, R. N. S.; VIEIRA, S. M. Evaluation of the microbiological quality of chilled raw milk by means of the reductase test. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, p. 2151-2157, 9 jan. 2021.

SCHRADER, J. H. J., International Association of Milk Sanitarians. Journal of Milk Technology, 4, No 1, 2-4 (1941).

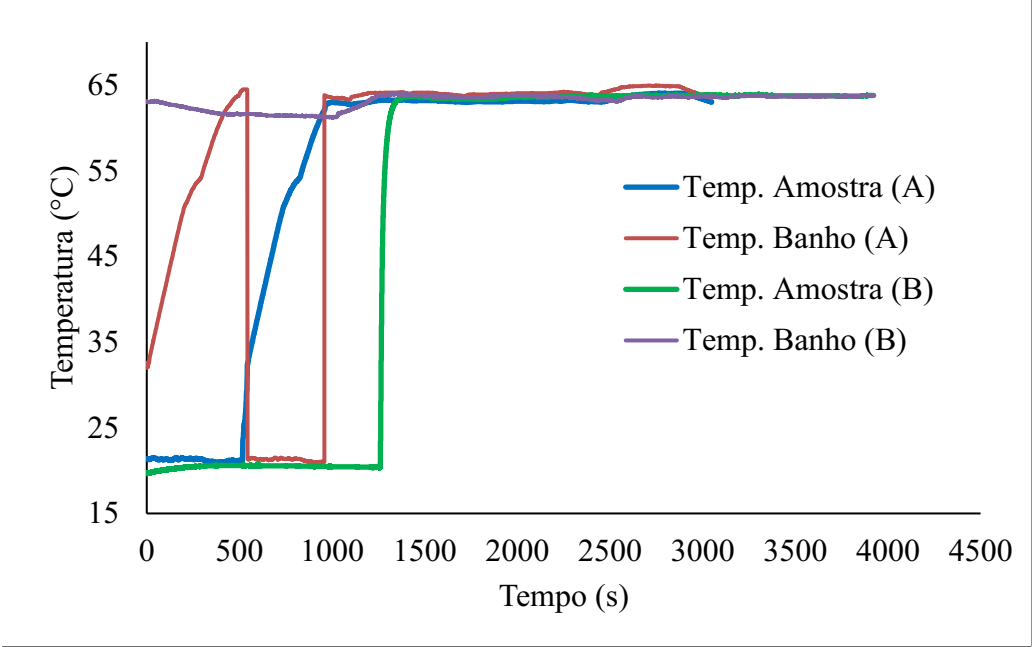
SUPPLEE, G.C., JENSEN, O.G. The Instantaneous Heat Treatment of Milk *, Journal of Food Protection, Volume 4, Issue 1, 1941, Pages 5-17, ISSN 0362-028X, <https://doi.org/10.4315/0022-2747.4.1.5>.

TAMANINI, Ronaldo; SILVA, Livia Cavaletti C.; MONTEIRO, Alexandre Amorim; MAGNANI, Douglas Furtado; BARROS, Márcia de Aguiar F.; BELOTI, Vanerli. **Microbiological quality evaluation and pasteurization enzymatic parameters in type “C” milk produced in the north of Paraná state, Brazil.** Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal., [S. l.], p. 449-454, 7 maio 2007.

TRONCO, V. M. Manual para Inspeção de Qualidade do Leite. Santa Maria: Ed. UFSM, 2010. p.203.

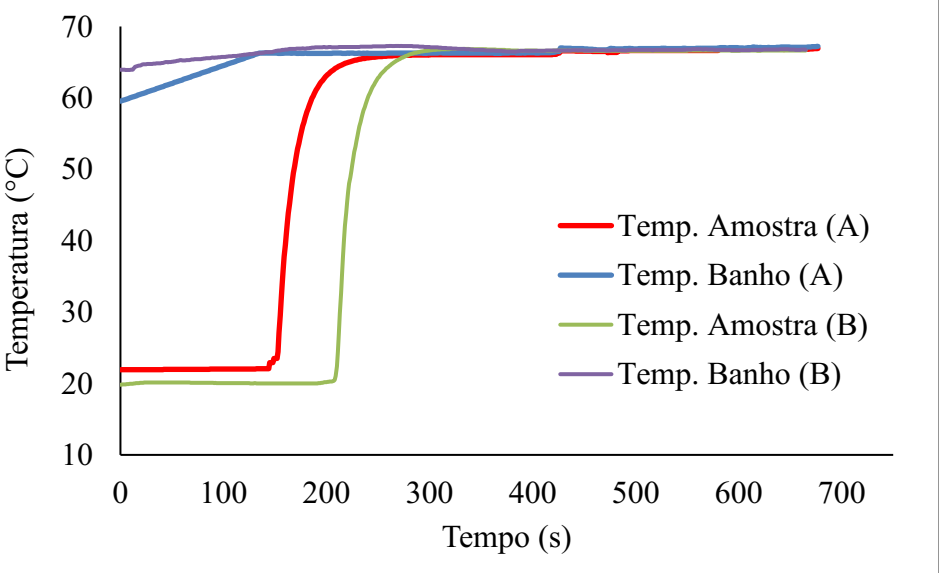
APÊNDICE I – PERFIS DE TEMPERATURAS DAS AMOSTRAS DE LEITE E DO BANHO TÉRMICO

FIGURA A.1. Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 63 °C.



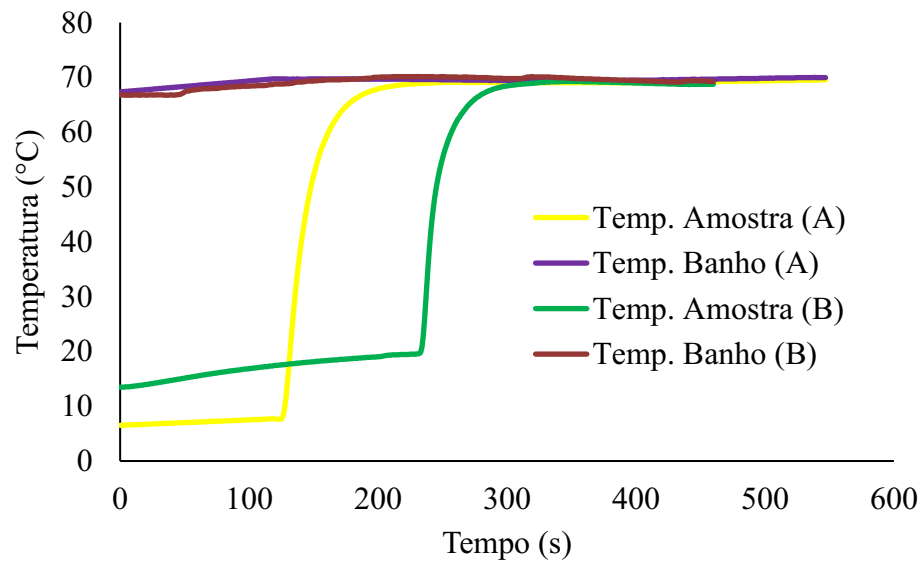
FONTE: a autora (2023)

FIGURA A.2. Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 66 °C.



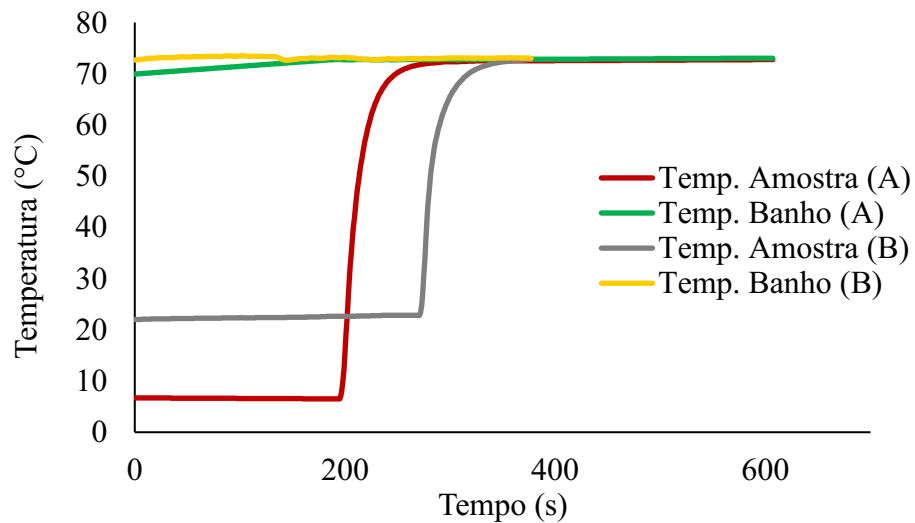
FONTE: a autora (2023)

FIGURA A.3. Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 69 °C.



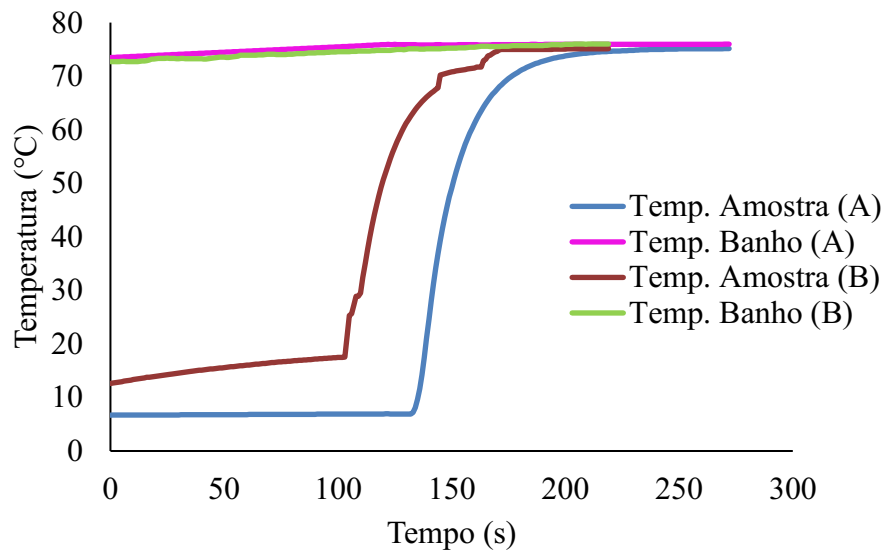
FONTE: a autora (2023)

FIGURA A.4. Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 72 °C.



FONTE: a autora (2023)

FIGURA A.5. Perfis de temperaturas das amostras de leite e do banho térmico da condição inicial até o final do tratamento térmico na condição isotérmica de 75 °C.



FONTE: a autora (2023)