

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Aspectos cinéticos e térmicos da inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã sob aquecimento convencional e ôhmico.

- Dissertação de mestrado –

Wagner Augusto Müller

Porto Alegre

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Aspectos cinéticos e térmicos da inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã sob aquecimento convencional e ôhmico.

Wagner Augusto Müller

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ligia Damasceno Ferreira Marczak

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Júlia Ribeiro Sarkis

Porto Alegre

2019

AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras, professoras Ligia Damasceno Ferreira Marczak e Júlia Ribeiro Sarkis, por todos ensinamentos e apoio dado ao longo da realização desse trabalho.

Aos colegas do LATEPA, por todo auxílio e companheirismo.

Aos meus pais, Ilar e Isolde, por todo carinho, amor e ensinamentos dados ao longo da minha vida. Ao meu irmão, Vinicius, pela amizade.

À minha namorada Jaqueline, pelo companheirismo constante e incondicional em todo o trajeto.

Aos mecanismos de fomento para educação de nível superior, em especial à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por proverem fundos para a realização dessa dissertação

RESUMO

Processos de pasteurização são necessários para assegurar a estabilidade microbiológica de produtos alimentícios. Os métodos convencionais de pasteurização demonstram certas desvantagens, como altos custos energéticos, altos tempos de processamento e perda de componentes desejáveis. Em adição, trabalhos recentes têm demonstrado a existência de fungos termorresistentes em sucos mesmo após os binômios de tempo/temperatura tipicamente empregados. O aquecimento ôhmico é uma tecnologia emergente que tem demonstrado ser uma alternativa aos métodos convencionais, embora sua utilização para inativação de fungos ainda tenha sido pouco abordada. O objetivo desse trabalho foi estudar a inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã através do processamento convencional e ôhmico, a partir de análises cinéticas e térmicas dos dois processos. Para isso, inicialmente os parâmetros cinéticos de inativação da espécie fúngica foram avaliados em 5 temperaturas distintas (75, 80, 85, 90 e 94°C) para ambos os processos. Os modelos de primeira ordem e de Weibull foram ajustados aos dados experimentais, juntamente com seus respectivos modelos secundários. O modelo de Weibull-Mafart demonstrou ser o mais efetivo para descrever a dinâmica comportamental do microrganismo segundo os índices estatísticos utilizados (*Residual Sum of Squares*, *Root Mean Square Error* e *Bayesian Information Criteria*). Diferenças estatísticas significativas nos parâmetros dos modelos de inativação foram encontradas nas três temperaturas mais baixas analisadas ($p < 0,05$), indicando a existência de fenômenos não-térmicos nessa faixa. O modelo cinético obtido foi integrado com dois modelos térmicos - espacialmente isotérmico e puramente difusivo - que representam as situações limite onde são obtidos os menores e maiores tempos de processamento, respectivamente. Observou-se que o aquecimento ôhmico apresentou tempos inferiores para redução de cinco ciclos logarítmicos do microrganismo em comparação com aqueles obtidos por aquecimento convencional. Para um mesmo tempo de processo, o aquecimento ôhmico pôde chegar a operar em temperaturas aproximadamente 10°C mais baixas. Em adição, observou-se que o aquecimento convencional é muito mais sensível à agitação do meio. Ao se comparar o aquecimento ôhmico na pior condição (puramente difusivo) com o aquecimento convencional na melhor (especialmente isotérmico), observa-se que o tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos no aquecimento ôhmico continuou sendo inferior.

Palavras-chave: Microbiologia preditiva. Efeitos não-térmicos. Transferência de calor. Integração de modelos.

ABSTRACT

Pasteurization processes are necessary to assure the safety of foodstuff. However, the conventional methods have some disadvantages, such as high energetic costs, high processing times and loss of desirable compounds. In addition, recent studies demonstrated the existence of thermoresistant fungi in juices even after the application of the time/temperature binomials usually applied by the food industry. Ohmic heating is an emergent technology which demonstrated to be an alternative to the pasteurization conventional methods, although its application in fungi inactivation has been addressed by few authors. The aim of this work was to study the thermal inactivation of the fungi *Aspergillus fumigatus* in apple juice by conventional and ohmic heating, analyzing both kinetic and thermal differences of the two processes. Initially, the kinetic parameters for the fungal species inactivation were evaluated in five temperatures (75, 80, 85, 90 and 94°C) for both processes. The first order and Weibull models were fitted to the experimental data, along with their respective secondary models. The Weibull-Mafart model was the most accurate to describe the dynamic behavior of the microorganism accordingly to the statistical indices evaluated (Residual Sum of Squares, Root Mean Square Error and Bayesian Information Criteria). Statistical differences in the inactivation models parameters were found in the three lower temperatures ($p < 0.05$), indicating the existence of non-thermal effects on that range. The kinetic model was integrated with two thermal models - spatially isothermal and purely diffusive - which represent the limit situations where the lowest and the highest processing times are obtained, respectively. Ohmic heating presented lower times for a five log reduction of the microbial species in comparison with conventional heating. For the same processing time, ohmic heating could operate in temperatures approximately 10°C lower. In addition, it was observed that the conventional heating is much more sensible to the agitation of the media. Comparing ohmic heating in the worst condition (purely diffusive) with conventional heating in the best (spatially isothermal), the time for a 5-log reduction in ohmic heating was lower.

Key-words: Predictive microbiology. Non-thermal effects. Heat transfer. Models integration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Quantidade de maçã produzida no Brasil.	20
Figura 2: Taxa de crescimento microbiano em função da temperatura para diferentes microrganismos.	25
Figura 3: Fotografias do fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> : micélio a olho nu crescido sob ágar extrato de malte (MEA) (A); hifas sob microscopia ótica 10x (B) e detalhe da extremidade da hifa com os esporos sob microscopia ótica 50x (C).	26
Figura 4: Desvios comportamentais ao modelo cinético de primeira ordem. (A) concavidade pra cima; (B) concavidade para baixo.	32
Figura 5: Esporos de <i>Aspergillus fumigatus</i> em lente de aumento de 50 vezes após 7 dias (A) e 21 dias (B).	48
Figura 6: Aparato do AO utilizado nos experimentos.	51
Figura 7: Célula ôhmica utilizada durante os experimentos cinéticos.	52
Figura 8: Perfil de evolução de temperatura a 75°C utilizando dois termopares distintos no (A) aquecimento convencional e (B) aquecimento ôhmico.	53
Figura 9: Perfis de aquecimento para AC e AO.	54
Figura 10: Cinética de inativação do fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> no suco de maçã em função da temperatura. Na Figura, ■ são os dados referentes ao AC, ● são os dados referentes ao AO, — é o modelo log-linear aplicado ao AC, — · é o modelo de Weibull aplicado ao AC, — é o modelo log-linear aplicado ao AO e — · é o modelo de Weibull aplicado ao AO.	59
Figura 11: Descrição da dependência do parâmetro b com a temperatura pelo modelo de Mafart (A) e pelo modelo log-logístico (B); descrição da dependência de D com a temperatura pelo modelo de Bigelow (C). Na Figura, ■ são os parâmetros referentes ao AC, ● são os parâmetros referentes ao AO, — são os modelos para descrição dos parâmetros do AC e — são os modelos para descrição dos parâmetros do AO.	67
Figura 12: Pontos experimentais e curvas propostas pelo modelo de Weibull + Mafart para inativação de <i>Aspergillus fumigatus</i> a 83°C (A) e 92°C (B). Na Figura, ● são os pontos experimentais referentes ao AC, ● são os pontos experimentais referentes ao AO, — é o modelo aplicado ao AC e — é o modelo aplicado ao AO.	68
Figura 13: Representação esquemática e foto da célula ôhmica utilizada.	72
Figura 14: Célula ôhmica utilizada para determinação da condutividade elétrica.	76
Figura 15: Malha computacional empregada nas simulações.	84

Figura 16: Posicionamento dos termopares para validação do modelo de AC puramente difusivo.	87
Figura 17: Medições de temperatura para dois termopares defasados em 180° para a mesma posição radial (3,5 cm) e altura (A) 5 cm (T1 e T5) e (B) 2,5 cm (T2 e T6).	88
Figura 18: Dispositivo utilizado para agitação.	88
Figura 19: Fluxograma do algoritmo implementado.	89
Figura 20: Volume de controle <i>P</i> cercado pelas vizinhanças <i>W</i> , <i>E</i> , <i>S</i> e <i>N</i>	90
Figura 21: Calor específico do suco de maçã em função da temperatura.	92
Figura 22: Massa específica do suco de maçã em função da temperatura.	93
Figura 23: Condutividade elétrica do suco em função da temperatura.	93
Figura 24: Logaritmo adimensional de evolução da temperatura em função do tempo.	94
Figura 25: Validação dos modelos térmicos espacialmente isotérmicos para (A) aquecimento convencional com temperatura de aquecimento de 87°C e vazão de 2,4 l/min; (B) aquecimento ôhmico com campo elétrico de 10 V/cm e temperatura ambiente de 25°C.	97
Figura 26: Validação do modelo puramente difusivo para AC nos termopares T1 ($z = 5$ cm, $r = 3,5$ cm), T2 ($z = 2,5$ cm, $r = 3,5$ cm), T3 ($z = 5$ cm, $r = 0$) e T4 ($z = 2,5$ cm, $r = 0$).	98
Figura 27: Dados experimentais de purê de batata aquecido ohmicamente e modelo ajustado por Marra et al. (2009) em nove posições distintas.	99
Figura 28: Modelo do AO puramente difusivo do presente trabalho adequado à média dos dados experimentais de Marra et al. (2009).	100
Figura 29: Resultados das simulações de perfil de temperatura da presente dissertação (esquerda) em comparação com aqueles publicados por Marra et al. (2009) (direita) para AO com (A) coeficiente global de transferência de calor $U = 5 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$ e (B) coeficiente global de transferência de calor $U = 10 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$	101
Figura 30: Tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de <i>A. fumigatus</i> em suco de maçã tratado convencionalmente com perfil de aquecimento espacialmente isotérmico em função da temperatura e da vazão volumétrica do fluido de aquecimento.	102
Figura 31: Evolução do perfil de temperatura para o AC com vazão volumétrica de: (A) 2 l/min; (B) 1,5 l/min e (C) 0,5 l/min.	103
Figura 32: Tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de <i>A. fumigatus</i> em suco de maçã tratado ohmicamente com perfil de aquecimento espacialmente isotérmico em função da temperatura do suco e do campo elétrico.	104

Figura 33: Evolução do perfil de temperatura para o AO com campo elétrico de: (A) 20 V/cm; (B) 10 V/cm e (C) 5 V/cm.....	105
Figura 34: Representação bidimensional do tempo de processamento das superfícies de resposta das Figuras 30 e 32, para AC (A) e AO (B).	106
Figura 35: Tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de <i>A. fumigatus</i> em suco de maçã tratado convencionalmente com perfil de aquecimento puramente difusivo em função da temperatura e da vazão volumétrica do fluido de aquecimento.	108
Figura 36: Perfis de temperatura do AC considerando vazão volumétrica de 1,5 l/min e temperatura de fluido de processo de 90°C para (A) 30 s; (B) 60 s; (C) 120 s; (D) 180 s; (E) 240 s; (F) 360 s; (G) 480 s; (H) 600 s e (I) 900 s.	109
Figura 37: Tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de <i>A. fumigatus</i> em suco de maçã tratado ohmicamente com perfil de aquecimento puramente difusivo em função da temperatura e do campo elétrico.....	111
Figura 38: Perfis de temperatura do AO considerando campo elétrico de 20 V/cm e temperatura de processo de 90°C para (A) 30 s; (B) 60 s; (C) 120 s; (D) 180 s e (E) 240 s..	112
Figura 39: Representação bidimensional do tempo de processamento das superfícies de resposta das Figuras 35 e 37, para AC (A) e AO (B).	113
Figura 40: Matriz de resposta para (A) AC espacialmente isotérmico; (B) AO espacialmente isotérmico; (C) AC puramente difusivo e (D) AO puramente difusivo.	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Padrões mínimos de identidade e qualidade para suco de maçã	20
Tabela 2: Assuntos e proporção de artigos relativos a microbiologia preditiva em edição do <i>International Journal of Food Microbiology</i>	28
Tabela 3: Propriedades físico-químicas do suco de maçã analisado.....	56
Tabela 4: Valores de D (min) em função da temperatura para inativação do fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> em suco de maçã.....	61
Tabela 5: Valores de b (min^{-1}) em função da temperatura para inativação do fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> em suco de maçã.....	62
Tabela 6: Valores de n em função da temperatura para inativação do fungo <i>Aspergillus fumigatus</i> em suco de maçã.....	63
Tabela 7: Tempo (min) previsto pelo modelo de Weibull para a redução de 5 ciclos logarítmicos do fungo <i>A. fumigatus</i>	64
Tabela 8: Parâmetros dos modelos secundários analisados.	64
Tabela 9: Índices estatísticos referentes à aplicação dos modelos primários para as cinéticas de AO e AC.	66
Tabela 10: Índices referentes a aplicação do modelo primário	66
Tabela 11: Índices estatísticos avaliados para validação do modelo cinético proposto.....	69
Tabela 12: Equações ajustadas para cálculo das propriedades do ar e da água (T em °C).	76
Tabela 13: Malhas utilizadas para aplicação da análise de GCI.	85
Tabela 14: Resultados da análise de convergência de malha para o tempo (em min) de redução de 5 ciclos logarítmicos nas condições discutidas na seção de Materiais e Métodos.	95
Tabela 15: Parâmetros obtidos na validação do modelo espacialmente isotérmico.....	97
Tabela 16: Diferenças de temperatura e índices estatísticos utilizados para validação do modelo de AC puramente difusivo.....	98
Tabela 17: Diferenças de temperatura e índices estatísticos utilizados para validação do modelo de AO puramente difusivo.....	100

LISTA DE SÍMBOLOS

a	Parâmetro do modelo log-logístico ($^{\circ}\text{C}^{-1}$)
a_w	Atividade de água
A_{TRANS}	Área da seção transversal (m^2)
A_i	Área do compartimento interno da célula ôhmica (m^2)
A_e	Área interna da camisa de aquecimento (m^2)
A_o	Área externa da camisa de aquecimento (m^2)
A_{ee}	Área externa da célula ôhmica (m^2)
C_1, C_2, C_3 e C_4	Constante de ajuste para correlações do número de Nusselt
c_p	Calor específico a pressão constante ($\text{J.kg}^{-1}.\text{^{\circ}\text{C}}^{-1}$)
D	Tempo de redução decimal (min)
D_i	Diâmetro do compartimento interno da célula ôhmica (m)
D_e	Diâmetro interno da camisa de aquecimento (m)
D_o	Diâmetro externo da camisa de aquecimento (m)
D_{ee}	Diâmetro externo da célula ôhmica (m)
D_{eq}	Diâmetro equivalente da camisa de aquecimento (m)
E	Tensão (V)
E_a	Energia de ativação (J.gmol^{-1})
g	Aceleração da gravidade ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)
$GCI_{i,j}$	Índice de convergência entre as malhas i e j
h	Coefficiente de troca de calor por convecção ($\text{W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$)
H_c	Altura da célula ôhmica (m)
H_{cam}	Altura da camisa de aquecimento (m)
I	Corrente elétrica (A)
q''_{COND}	Fluxo de calor condutivo (W.m^{-2})
q''_{CONV}	Fluxo de calor convectivo (W.m^{-2})
K	Parte da resolução analítica por séries de Fourier independente do tempo
k	Condutividade térmica ($\text{W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$)
k_v	Constante de velocidade para inativação de microrganismos (min^{-1})
L	Distância entre os eletrodos (m)
L_c	Comprimento característico (m)

m	Massa de amostra (kg)
n	Parâmetro de forma do modelo de Weibull
n_p	Número de pontos experimentais
N	Número de células microbianas
N_0	Número de células microbianas em $t = 0$
Nu	Número de Nusselt
p	Número de parâmetros de um modelo
pp	Ordem de convergência
Pr	Número de Prandtl
r	Coordenada radial (m)
rr	Fator de refinamento de malhas
R	Raio da célula (m)
R_{GI}	Constante dos gases ideais ($J.K^{-1}.gmol^{-1}$)
Ra	Número de Rayleigh
Re	Número de Reynolds
\dot{s}	Termo de geração de energia ($W.m^{-3}$)
S_{EXP}	Resultados observados experimentalmente
S_{PRED}	Resultados preditos pelo modelo
t	Tempo (s, min)
T	Temperatura ($^{\circ}C$, K)
T_c	Temperatura teórica na qual a taxa de inativação começa a aumentar acentuadamente ($^{\circ}C$)
T_e	Temperatura de equilíbrio ($^{\circ}C$)
T_0	Temperatura inicial ($^{\circ}C$)
T_{REF}	Temperatura de referência ($^{\circ}C$, K)
T_{SUP}	Temperatura de superfície ($^{\circ}C$)
T_{∞}	Temperatura de um fluido ($^{\circ}C$)
u	Velocidade de escoamento ($m.s^{-1}$)
U_{AC}	Coefficiente global de troca térmica no aquecimento convencional ($W.m^{-2}.K^{-1}$)
U_{AO}	Coefficiente global de perdas térmicas no aquecimento ôhmico ($W.m^{-2}.K^{-1}$)
V	Volume (m^3)
w	Parâmetro equivalente ao z do modelo de Mafart ($^{\circ}C$)

z Diferença de temperatura para alterar o valor de D em 10 vezes ($^{\circ}\text{C}$)

Símbolos gregos

α	Difusividade térmica ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)
β	Coeficiente de expansão térmica (K^{-1})
$\varepsilon_{i,j}$	Erro relativo as malhas i e j
ξ	Auto-valores da solução por séries
φ	Coordenada angular
θ	Adimensional de temperatura
ν	Viscosidade cinemática ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)
μ	Viscosidade dinâmica ($\text{kg}.\text{m}^{-1}.\text{s}^{-1}$)
σ	Condutividade elétrica ($\text{S}.\text{m}^{-1}$)
ρ	Massa específica ($\text{kg}.\text{m}^{-3}$)
ω	Convergência de solução numérica para faixa assintótica

Lista de siglas

AC	Aquecimento convencional
AO	Aquecimento ôhmico
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
AF	<i>Accuracy factor</i>
BIAS	<i>Bias factor</i>
BIC	<i>Bayesian information criteria</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
MEA	Ágar de extrato de malte
RSS	<i>Residual sum of squares</i>
RMSE	<i>Root mean square error</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
2.1 SUCO DE MAÇÃ	19
2.2 MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS	21
2.2.1 Fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a estabilidade de alimentos	22
2.2.2 Fungos.....	25
2.2.2.1 <i>Aspergillus fumigatus</i>	26
2.3 MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....	27
2.3.1 Microbiologia preditiva aplicada a processos de inativação	29
2.3.1.1 Modelos primários.....	29
2.3.1.1.1 <i>Modelo cinético de primeira ordem</i>	30
2.3.1.1.2 <i>Modelo de Weibull</i>	31
2.3.1.2 Modelos secundários	34
2.3.1.2.1 <i>Modelo de Arrhenius</i>	34
2.3.1.2.2 <i>Modelo de Bigelow</i>	34
2.3.1.2.3 <i>Modelos secundários com relação ao modelo de Weibull</i>	35
2.4 INATIVAÇÃO DE MICRORGANISMOS	36
2.4.1 Processamento convencional	37
2.4.2 Processamento ôhmico	38
2.5 TRANSFERÊNCIA DE CALOR.....	40
2.5.1 Condução.....	40
2.5.2 Convecção.....	41
2.5.3 Geração de energia	43
2.6 INTEGRAÇÃO DE MODELOS TÉRMICOS E CINÉTICOS	44
3 ESTUDO DA CINÉTICA DE INATIVAÇÃO MICROBIOLÓGICA	46
3.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1.1 Caracterização físico-química da amostra	46
Umidade	46
Sólidos solúveis	47
pH	47
Atividade de água	47
3.1.2 Preparo da suspensão de esporos	47

3.1.3 Suco de maçã utilizado nos experimentos	49
3.1.3 Temperaturas analisadas e aparato experimental	50
3.1.4 Tratamentos térmicos aplicados.....	51
3.1.5 Modelagem cinética	54
3.1.6 Validação do modelo cinético	56
3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
3.2.1 Propriedades físico-químicas do suco de maçã.....	56
3.2.2 Comparação dos parâmetros de inativação	58
3.2.3 Seleção do modelo cinético.....	65
3.2.4 Validação do modelo	68
3.3 CONCLUSÕES	69
4 MODELAGEM TÉRMICA E INTEGRAÇÃO DOS MODELOS CINÉTICO E TÉRMICO.....	71
4.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....	71
4.1.1 Propriedades termofísicas do suco de maçã.....	72
4.1.1.1 Capacidade calorífica a pressão constante.....	72
4.1.1.2 Massa específica	73
4.1.1.3 Difusividade térmica.....	74
4.1.1.4 Condutividade térmica.....	75
4.1.1.5 Condutividade elétrica.....	75
4.1.1.6 Outras propriedades	76
4.1.2 Modelos térmicos	77
4.1.3 Modelagem matemática do caso espacialmente isotérmico	77
4.1.3.1 Aquecimento convencional espacialmente isotérmico.....	78
4.1.3.2 Aquecimento ôhmico espacialmente isotérmico	80
4.1.4 Modelagem matemática do caso puramente difusivo	81
4.1.4.1 Aquecimento convencional puramente difusivo	81
4.1.4.2 Aquecimento ôhmico puramente difusivo.....	82
4.1.5 Malha computacional empregada.....	84
4.1.6 Validação dos modelos propostos.....	86
4.1.7 Integração dos modelos	89
4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	92
4.2.1 Propriedades termofísicas do suco de maçã.....	92

4.2.2.1 Calor específico	92
4.2.2.2 Massa específica	92
4.2.2.3 Condutividade elétrica	93
4.2.2.4 Difusividade térmica.....	94
4.2.2 Análise de convergência de malha	95
4.2.3 Validação do modelo espacialmente isotérmico.....	96
4.2.4 Validação do modelo puramente difusivo	97
4.2.4.1 Validação do AC puramente difusivo	98
4.2.4.2 Validação do AO puramente difusivo	99
4.2.5 Simulações do caso espacialmente isotérmico.....	101
4.2.5.1 AC espacialmente isotérmico	101
4.2.5.2 AO espacialmente isotérmico	103
4.2.5.3 Comparações entre os processos espacialmente isotérmicos	106
4.2.6 Simulações do caso puramente difusivo	107
4.2.6.1 AC puramente difusivo.....	107
4.2.6.2 AO puramente difusivo	110
4.2.6.3 Comparações entre os processos puramente difusivos.....	112
4.2.7 Comparações entre os processos puramente difusivo e espacialmente isotérmico	113
4.2.8 Comparação com os processos aplicados industrialmente	115
4.3 CONCLUSÕES	117
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	118
REFERÊNCIAS	120
APÊNDICE A – INFORMAÇÕES SOBRE A CEPA DE <i>Aspergillus fumigatus</i>	
UTILIZADA	130

1 INTRODUÇÃO

A proliferação de microrganismos é uma das principais causas de deterioração de produtos alimentícios. Além do descarte de produtos contaminados, que gera prejuízos econômicos significativos anualmente, a contaminação microbiológica de alimentos é potencial vinculadora de patologias, seja pela ingestão do próprio microrganismo ou de toxinas sintetizadas por algumas espécies, resultando em aspectos danosos à saúde pública. Frente a isso, torna-se fundamental a aplicação de processos industriais projetados de forma a minimizar a níveis aceitáveis o número de células microbianas presentes nessas matrizes. Usualmente, essa redução é realizada a partir da aplicação de calor ao produto e, quando esse calor é cedido por uma corrente fluida a altas temperaturas, nomeia-se o processo de aquecimento convencional. Esse processo aquece o produto principalmente por mecanismos de troca térmica condutivos e convectivos, o que pode resultar em gradientes internos de temperatura. Esses gradientes, somados ao fato do binômio ser calculado em relação ao ponto mais frio do produto, acarretam em sobrecarga de aquecimento nas zonas mais favorecidas pela troca térmica, maiores tempos de processo e custos energéticos mais altos. Ainda, diversos estudos têm mostrado a diminuição da concentração de compostos sensoriais (e.g., compostos aromáticos) bem como de compostos nutricionais voláteis (e.g., vitamina C e carotenoides) após a aplicação do aquecimento convencional.

As tendências de alimentação atuais demonstram que o perfil global do consumidor está cada vez mais conscientemente voltado a evitar produtos que passem por processamento excessivo, comprometendo características relativas ao produto fresco. Dentro desse contexto, a perda de compostos sensoriais e nutricionais inerentes ao alimento torna-se cada vez menos desejável. Frente a isso, e à demanda do setor industrial a processos com menor custo e maior aproveitamento energético, métodos de processamento de alimentos que visam a diminuição do número de microrganismos sem comprometer as características adequadas do produto têm

1. Introdução

sido amplamente pesquisados nos últimos anos. Esses novos processos são chamados de tecnologias emergentes e são exemplos o ultrassom, altas pressões hidrostáticas, radiação infravermelha, entre outras.

Dentre as tecnologias emergentes, uma passível de especial atenção nos últimos anos tem sido o aquecimento ôhmico. Similarmente ao aquecimento convencional, esse processo inativa microrganismos a partir da aplicação de altas temperaturas, embora o mecanismo de aquecimento seja fundamentalmente diferente. No aquecimento ôhmico, um potencial elétrico é induzido no alimento, que atua como uma resistência à passagem da corrente. Isso resulta em geração volumétrica de energia, diminuindo os gradientes térmicos internos e, por consequência, o superaquecimento exagerado de regiões mais quentes, tempo de processo e gasto energético.

Os microrganismos mais relevantes na ciência de alimentos são as bactérias e fungos. Dentre todas as espécies de fungos, aquelas mais relevantes industrialmente são as espécies termorresistentes; algumas das famílias de fungos pertencentes a essa classe e amplamente difundidas em ambientes produtivos são *Aspergillus*, *Byssoschlamys*, *Neosartorya*, *Paecylomyces* e *Talaromyces*. Um exemplo de alimento predominantemente contaminado por fungos são as frutas e, conseqüentemente, os sucos, uma vez que o baixo pH torna esses meios hostis à maioria das espécies de bactérias. O suco de maçã é um dos sucos mais consumidos no mundo, embora frequentes casos de deterioração sejam observados nesse produto, principalmente devido à ação de fungos e bactérias acidófilas.

Devido a lacuna de trabalhos analisando a inativação de espécies fúngicas no aquecimento ôhmico, o objetivo geral desse estudo foi analisar esse processo como uma alternativa ao aquecimento convencional para a inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã. Para isso, foram avaliados aspectos cinéticos (a fim de estudar os efeitos térmicos e não térmicos de inativação) e aspectos térmicos (referentes às vantagens de se processar um alimento por efeito Joule em comparação com processos convencionais condutivos/convectivos).

Dentro desse contexto, os objetivos específicos foram:

- caracterizar de forma físico-química o suco de maçã utilizado no trabalho a partir de variáveis de interesse da área microbiológica (teor de umidade, sólidos solúveis, atividade de água e pH);

1. Introdução

- estudar a cinética de inativação dos esporos sob condições isotérmicas (entre 75 e 94°C) tanto no aquecimento convencional quanto no aquecimento ôhmico;
- verificar o ajuste dos modelos cinéticos de inativação de primeira ordem e de Weibull (e seus respectivos modelos secundários) aos dados experimentais para seleção do melhor modelo descritivo;
- caracterizar a amostra com relação às variáveis termo-físicas relevantes para o entendimento de perfil de aquecimento/resfriamento (condutividade elétrica, difusividade térmica, massa específica e calor específico).
- elaborar modelos térmicos que caracterizem a pasteurização em batelada usando o aquecimento convencional e ôhmico considerando dois cenários: sem agitação (caso puramente difusivo) e agitação vigorosa (caso espacialmente isotérmico);
- integrar os modelos térmicos elaborados com o modelo cinético e utilizar o modelo integrado para estudar o efeito de variáveis relevantes (vazão volumétrica e temperatura do processo no aquecimento convencional; campo elétrico e temperatura da amostra no aquecimento ôhmico) no tempo total de pasteurização.

O presente trabalho estará estruturado conforme segue: no Capítulo 2 será realizada uma revisão de literatura quanto a aspectos teóricos fundamentais dos temas envolvidos nessa dissertação. Serão abrangidos aspectos relativos ao substrato analisado, microbiologia geral, microbiologia preditiva, processamento térmico por aquecimento convencional e ôhmico e fundamentos de transferência de calor necessários para o entendimento da modelagem matemática proposta.

O Capítulo 3 abordará os temas referentes à cinética de inativação do *Aspergillus fumigatus*. Inicialmente, a metodologia dessa etapa do trabalho será exposta, seguida pela apresentação e discussão dos resultados obtidos.

O Capítulo 4 abordará a modelagem térmica, bem como o modelo integrado térmico/cinético. Novamente, os materiais e métodos serão apresentados inicialmente, com subsequente apresentação dos resultados obtidos.

Por fim, serão apresentadas as conclusões obtidas frente aos resultados levantados e serão elencadas algumas possibilidades de pesquisas futuras.

2 REVISÃO DE LITERATURA E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A presente seção tem como objetivo apresentar a revisão bibliográfica e a fundamentação teórica dos conceitos fundamentais para entendimento dos procedimentos adotados nessa dissertação. Revisar-se-á questões referentes ao substrato analisado (suco de maçã) e sua importância socioeconômica, aspectos fundamentais de microbiologia e mecanismos de inativação de microrganismos, aspectos referentes à transferência de calor e integração de modelos térmicos e cinéticos.

2.1 SUCO DE MAÇÃ

Segundo Brasil (2009), o suco de maçã é a bebida não fermentada, não concentrada, não diluída, destinada ao consumo, obtida da parte comestível da maçã (*Pyrus malus*L), por processo tecnológico adequado e submetido a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. A produção brasileira de maçãs iniciou-se em meados dos anos 70 e apresenta crescimento em área de plantio e produtividade desde então. A Figura 1 mostra a produção interna brasileira de maçãs a partir dos anos 70 até 2015. Observa-se um salto de consumo nos anos recentes, que é parcialmente explicado pela liberação, a partir de 2013, do uso de suco de maçã como adoçante de outras bebidas, fazendo com que a quantidade de açúcar consumida na manufatura desses produtos seja diminuída. Considerando a conjuntura da safra brasileira de 2017/2018, 1,1 milhões de toneladas foram produzidas internamente, sendo o país o 11º maior produtor do mundo. A produção nacional é concentrada na região sul do país, sendo Santa Catarina o maior estado produtor, seguido pelo Rio Grande do Sul. Do total produzido, cerca de 20 a 25% são destinadas à industrialização, principalmente para a produção de sucos. Em torno de 15% do volume do suco de maçã produzido é destinado ao mercado interno, o que indica aumento no consumo brasileiro do

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

produto em relação aos anos anteriores, nos quais somente cerca de 5% eram consumidos dentro do país (MORAIS, 2018).

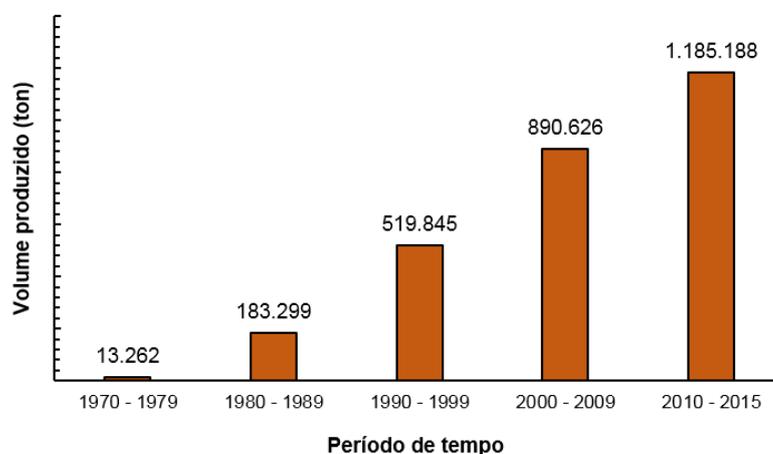


Figura 1: Quantidade de maçã produzida no Brasil.

Fonte: Elaborado pelo autor a partir dos dados de Petri e de Albuquerque (2016).

Além de sua importância econômica, a maçã, juntamente com seus derivados, é uma abundante fonte de nutrientes (DIAS et al., 2019). Segundo Rajauria e Tiwari (2018), tais produtos são fontes de monossacarídeos, minerais, fibras e compostos biologicamente ativos, tais como ácido ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos. O perfil sensorial do fruto é resultado basicamente de seus níveis de açúcar, ácidos e polifenóis. A legislação brasileira estabelece os padrões mínimos de qualidade para o suco de maçã, apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Padrões mínimos de identidade e qualidade para suco de maçã

Parâmetro	Mínimo	Máximo
Sólidos solúveis a 20°C (°Brix)	10,5	-
Acidez total (g ácido málico/100 g)	0,12	-
Açúcares totais naturais da maçã (g/100 g)	-	13,5
Acidez volátil (g ácido acético/100 g)	-	0,04

Fonte: Brasil (2018)

Considerando aspectos microbiológicos, o pH ácido da maioria dos sucos confere estabilidade a esses produtos frente à maior parte das bactérias existentes. Entretanto, a capacidade dos fungos de se adaptarem a meios com baixo pH torna-os potenciais fontes de contaminação dessas matrizes alimentícias. Santos et al. (2018) demonstraram níveis inaceitáveis de fungos termorresistentes em produtos derivados de maçãs, laranja e morango, mesmo após os processos de pasteurização usualmente aplicados na indústria de alimentos;

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

Wang et al. (2016) citam que espécies fúngicas podem provocar defeitos sensoriais em sucos de maçã que são praticamente imperceptíveis logo após o processamento, mas que geram perdas econômicas consideráveis *a posteriori*; Rico-Munoz (2017) cita que sucos de frutas que entram em contato direto com o solo após o amadurecimento (e.g., maçãs e mangas) possuem maior probabilidade de contaminação por fungos termorresistentes. Dessa forma, estudos referentes ao processamento térmico de sucos de maçã são relevantes atualmente para a melhoria da estabilidade microbiológica do produto.

2.2 MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

Um dos aspectos mais importantes no campo de tecnologia de alimentos é a identificação das causas de deterioração dos produtos alimentícios, visando sua compreensão e atuação para retardá-las ou evitá-las (quando possível). Segundo Erkmen e Bozoglu (2016), as alterações alimentares podem ser de origem enzimática (e.g. escurecimento enzimático), química (e.g. oxidação lipídica), física (e.g. contaminação por pragas) ou biológica (e.g. crescimento de microrganismos).

Dentre as possíveis causas de deterioração de alimentos, o crescimento de microrganismos é merecedor de especial atenção. Isso ocorre pois, além dos aspectos referentes a degradação e descarte do produto, que são comuns a todos processos deteriorantes, os microrganismos (ou metabólitos sintetizados por eles) podem ser também proliferadores de patologias. Dessa forma, além dos aspectos socioeconômicos relativos ao descarte, o crescimento de microrganismos se torna também um aspecto de saúde pública pertinente. Paralelamente, algumas espécies de microrganismos são utilizadas no processamento de alimentos de forma a assegurar as características desejadas ao produto final. Nesse contexto, convém a divisão dos microrganismos em três classes distintas:

- **Microrganismos deteriorantes:** promovem mudanças nos atributos sensoriais dos alimentos (e.g. odor, sabor, textura); essas alterações normalmente são originadas pela síntese de compostos danosos ao alimento. Essa classe de microrganismos não é vinculadora de patologias (i.e., não apresenta riscos à saúde do consumidor).
- **Microrganismos patogênicos:** apresentam risco à saúde do consumidor; são vinculadores de doenças que comumente têm como sintomas náuseas, dores de barriga, vômito, febre e diarreia.

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

- Microrganismos benéficos: são adicionados intencionalmente ou se encontram naturalmente no produto e contribuem para as características desejáveis do produto final.

As principais espécies de microrganismos deteriorantes/patogênicos relevantes em alimentos são as bactérias e os fungos. O objetivo da presente seção é fundamentar os principais conceitos relativos à microbiologia que serão relevantes para o entendimento dessa dissertação. Inicialmente serão debatidos alguns parâmetros que condicionam a estabilidade microbiológica em alimentos. A referência utilizada para escrita dessa seção, especificamente, foi Jay et al. (2005), exceto quando referenciado o contrário. Na sequência, são detalhados conceitos básicos sobre fungos, com especial foco na espécie que será utilizada na presente dissertação.

2.2.1 Fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a estabilidade de alimentos

Cada espécie de microrganismo possui suas peculiaridades e requerimentos nutricionais, que serão determinantes para sua dinâmica comportamental em distintos meios. Em alimentos, esses fatores são traduzidos em fatores intrínsecos (parâmetros inerentes ao próprio alimento) ou extrínsecos (propriedades do ambiente no qual o produto está inserido). O objetivo dessa seção é elucidar alguns dos principais parâmetros intrínsecos/extrínsecos, com especial atenção dada à temperatura, uma vez que esse estudo será focado em mecanismos de inativação térmicos.

Um dos fatores intrínsecos mais relevantes para o estudo do comportamento microbiológico em alimentos é o pH. A maioria dos microrganismos se reproduz de forma mais eficaz em ambientes com pH próximo à neutralidade (em geral, de 6,6 a 7,5). Dessa forma, meios ácidos ou básicos tendem comumente a desfavorecer a cinética de reprodução, motivo pelo qual alguns processos de conservação baseiam-se na acidificação proposital do meio (MUSYOKA et al., 2018). De modo geral, bactérias tendem a ser mais sensíveis ao valor de pH do meio do que fungos (considera-se que alimentos com pH inferior a 4,5 tenham baixíssima possibilidade de contaminação bacteriana). A maioria dos fungos e algumas espécies de bactérias acidofílicas conseguem germinar e se reproduzir mesmo em pHs extremamente ácidos.

Outra propriedade intrínseca que é condicionadora das espécies de microrganismos que prevalecerão em um determinado meio é a atividade de água (a_w). Basicamente, esse

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

parâmetro determina a quantidade de água livre no alimento disponível para reações químicas, enzimáticas e/ou microbiológicas. Quanto maior a atividade de água do alimento, mais propenso este será ao crescimento de microrganismos, motivo pelo qual a secagem ou a salga de alimentos aumentam a vida de prateleira dos produtos. Novamente, o mesmo comportamento explicitado no parágrafo anterior é observado, com fungos possuindo a habilidade de se adequar mais flexivelmente a menores valores de atividade de água do que bactérias.

Ainda, pode-se citar como exemplos de outros fatores intrínsecos a presença de antimicrobianos naturais no alimento, o potencial de oxi-redução e o conteúdo nutricional do produto.

Os principais fatores extrínsecos que condicionam a estabilidade microbiológica dos alimentos são a competitividade com outros microrganismos presentes no meio, umidade relativa do ar, composição atmosférica do produto e temperatura.

A umidade relativa do ar é importante para o crescimento microbiológico, principalmente em contaminações superficiais de produtos sólidos. Esse parâmetro está intimamente relacionado com a atividade de água do produto. Devido a fenômenos de transferência de massa, alimentos submetidos a ambientes com alta umidade tendem a ter aumentado seu valor de a_w . Paralelamente, em ambientes com baixa umidade, pode ocorrer migração de água livre do produto para o ar, o que torna o alimento inapto para o consumo. Novamente, fungos tendem a ser mais flexíveis a mudanças de umidade relativa do ar do que bactérias.

A composição do meio é um dos fatores mais relevantes para o controle microbiológico. Dentro desse contexto, cabe a divisão dos microrganismos em anaeróbios (desenvolvem-se na ausência de O_2), aeróbios (desenvolvem-se na presença de O_2) e anaeróbios facultativos (desenvolvem-se tanto na ausência quanto na presença de O_2). O conjunto entre o pH do meio e a composição atmosférica em termos de oxigênio é que determina o tipo de processamento térmico ao qual o produto será submetido (de forma geral, o processo de esterilização é somente empregado em alimentos com $pH > 4,5$ e armazenados em embalagem com ausência de oxigênio).

Embora os fatores debatidos até agora sejam todos relevantes para a compreensão da dinâmica comportamental de microrganismos, possivelmente o fator mais importante no controle microbiológico seja a temperatura (MADIGAN et al., 2017). Os microrganismos, seja como espécie ou como grupo, multiplicam-se em uma ampla faixa de temperaturas. O

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

armazenamento do produto deve levar em consideração a microbiota típica daquele alimento, de forma que esteja fora da faixa de reprodução das espécies potencialmente contaminadoras daquela matriz. Comumente, os microrganismos são classificados quanto a sua temperatura ótima de crescimento em três classes distintas:

- *Psicrófilos* – são microrganismos que se reproduzem idealmente em condições de baixas temperaturas; crescem em temperaturas que vão de 0°C (ou menos) até 10°C, com sua temperatura ótima sendo, em média, aproximadamente 5°C.
- *Mesófilos* – são microrganismos que se reproduzem idealmente em temperaturas médias; reproduzem-se em faixas de 10°C até 50°C, com a faixa de temperatura ótima de reprodução sendo de 25-40°C.
- *Termófilos* – são microrganismos que se reproduzem idealmente em temperaturas altas; reproduzem-se em faixas de 40 até 70°C, com a faixa de temperatura ótima de reprodução sendo de 45-60°C.
- *Hipertermófilos* – são microrganismos que se reproduzem idealmente em temperaturas muito altas; essas temperaturas podem variar de 70°C até temperaturas superiores a 110°C.

A Figura 2 mostra a taxa de crescimento de alguns microrganismos em função da temperatura, onde se observa a existência de uma temperatura ótima de multiplicação para cada microrganismo (pico onde a taxa de crescimento é máxima). Em temperaturas superiores ou inferiores a essa temperatura, a taxa de crescimento decai, até o ponto em que ela é inexistente. Essa faixa é conhecida como a faixa de temperatura de reprodução do microrganismo. Os processos de tratamento térmico devem ocorrer em temperaturas superiores ao limite máximo de reprodução.

Do mesmo modo que fungos são capazes de crescimento em maiores faixas de pH, atividade de água e disponibilidade de nutrientes, seu crescimento também se adapta a maiores faixas de temperatura em comparação com as bactérias. Vários fungos são capazes de se multiplicar tanto na faixa de temperatura dos psicrófilos quanto na faixa dos mesófilos. Algumas cepas de *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Thamnidium* são encontrados com certa frequência em ovos, frutas e sucos estocados mesmo a baixas temperaturas; cepas de *Aspergillus fumigatus*, por exemplo, conseguem se reproduzir em temperaturas variando de 12 até 53°C; cepas de *Aspergillus repens* conseguem se reproduzir em temperaturas variando de 7 até 38°C (AYERST, 1969). Dessa forma, mesmo o acondicionamento dos alimentos

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

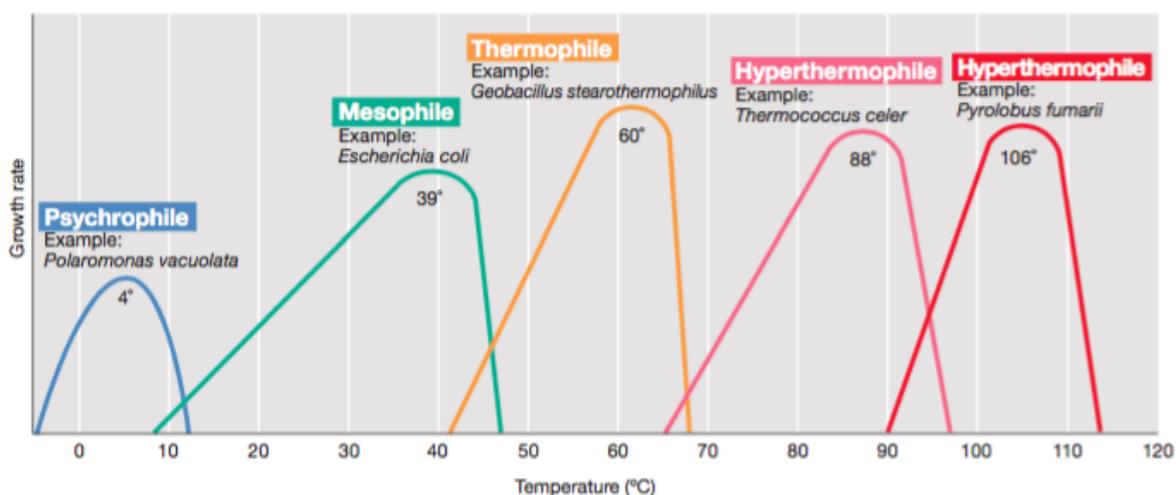


Figura 2: Taxa de crescimento microbiano em função da temperatura para diferentes microrganismos.

Fonte: Madigan et al. (2017).

sobre cenários de refrigeração comuns não são o suficiente para impedir o crescimento de algumas espécies de fungos.

Dessa forma, o estudo de fungos se justifica pela maior adaptabilidade dessa classe a variações de parâmetros intrínsecos e extrínsecos. Devido a questões evolutivas/adaptativas, fungos são usualmente encontrados apenas em ambientes que não são tipicamente contaminados por bactérias. Dessa forma, torna-se necessária a existência de uma condição hostil a espécies bacterianas para a proliferação fúngica. Em frutas (e seus produtos derivados), o baixo pH do meio torna o ambiente não propício ao crescimento bacteriano, o que justifica sua tradicional contaminação por espécies fúngicas.

2.2.2 Fungos

Os fungos são organismos eucariontes (com núcleo definido), contendo material genético (DNA) e envoltos por uma membrana celular. As diversas espécies podem ser uni ou multicelulares e tendem a possuir maior tamanho que as bactérias. Quando unicelulares, são chamados de leveduras. Os fungos mais típicos são multicelulares e são denominados fungos filamentosos (ou bolores); essas espécies podem ou não ser macroscópicas (TORTORA; FUNKE e CASE, 2012). As células dos fungos filamentosos tendem a ser alongadas e ramificadas, e são chamadas de hifas. O conjunto de hifas que forma a colônia fúngica recebe a denominação de micélio.

A reprodução dos fungos pode ser assexuada ou sexuada, e ocorre predominantemente

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

a partir da formação de esporos (pequenas partículas produzidas em grande quantidade pelo fungo e com capacidade de formar um novo indivíduo). Essas estruturas estão amplamente difundidas no ambiente, como na terra, no ar e na água. Essa ampla difusão ambiental que é responsável pelo fato de fungos serem encontrados contaminando diversos alimentos (SANTOS et al., 2018).

Dentre as variadas espécies de fungos existentes, especial atenção deve ser dada aos sintetizadores de esporos termorresistentes; tais esporos são capazes de sobreviver aos tratamentos térmicos tipicamente aplicados na indústria alimentícia, suportando temperaturas de 60°C por 30 minutos. Na sequência, dissertar-se-á com mais detalhes sobre o fungo *Aspergillus fumigatus*, que será utilizado na presente dissertação, a fim de compreender aspectos biológicos e a relevância tecnológica dessa espécie.

2.2.2.1 *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus é um fungo pertencente ao gênero *Aspergillus*, também denominado *Neasortorya fumigata*. Como todas espécies de *Aspergillus*, sua incidência tende a ser maior em zonas tropicais (PITT e HOCKING, 2009); é um fungo saprotrófico (que se alimenta de matéria orgânica), mesófilo (com temperatura ótima de crescimento próxima a 37°C) e altamente difundido na terra e no ar (O’GORMAN, FULLER e DYER, 2009). A Figura 3 mostra uma colônia desse fungo em meio de cultura de ágar extrato de malte (MEA), bem como detalhes de suas hifas e esporos.

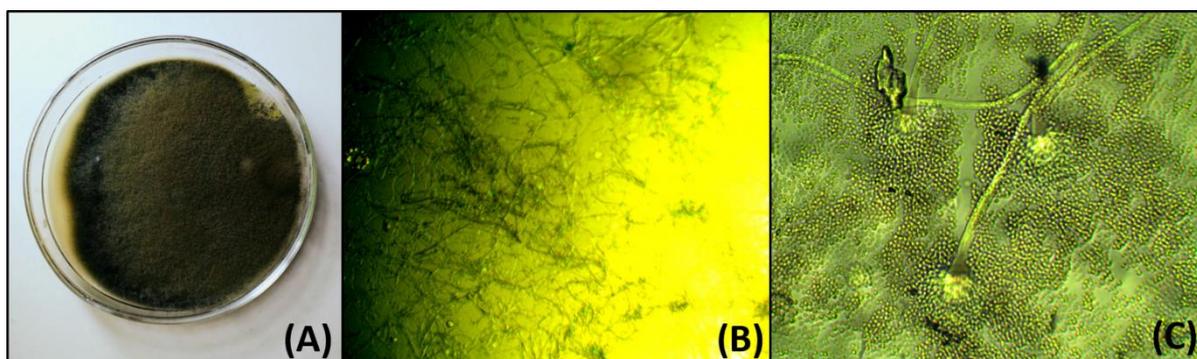


Figura 3: Fotografias do fungo *Aspergillus fumigatus*: micélio a olho nu crescido sob ágar extrato de malte (MEA) (A); hifas sob microscopia ótica 10x (B) e detalhe da extremidade da hifa com os esporos sob microscopia ótica 50x (C).

Fonte: Elaborado pelo autor.

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

Esse microrganismo é particularmente relevante uma vez que é tanto alergênico quanto potencialmente patógeno. As patologias encontram-se principalmente relacionadas a indivíduos imuno-comprometidos tais quais gestantes e idosos, e efeitos infecciosos podem chegar a abrangência de 50% dos casos de contato relevante. Ainda, a interação dessa espécie com outros microrganismos presentes no ar vem sendo associada frequentemente a casos de asma e sinusite. Dentre as micotoxinas sintetizadas por esse fungo, pode-se ressaltar a fumigaclavina, fumonisina, fumitremorginas e zearalenona (NIERMAN et al., 2005).

Quanto à incidência dessa espécie em alimentos, Aneja et al. (2014) demonstram que o *Aspergillus fumigatus* é uma das espécies de fungos mais comumente encontradas em sucos de frutas. Santos et al. (2018) estudaram a ocorrência, distribuição e níveis de contaminação de fungos termo-resistentes em produtos pasteurizados derivados de frutas com elevado grau de acidez. Os produtos eram derivados de morangos, laranjas e maçãs. Doze espécies de fungos, pertencentes a 4 gêneros distintos, foram identificadas difundidas em vários passos da cadeia produtiva. Dentre todas as espécies, *Aspergillus fumigatus* foi o fungo visualizado em mais amostras (após o processo de pasteurização, foram encontradas cepas desse microrganismo em 23,6% dos produtos analisados), justificando a relevância do estudo desse fungo na contaminação de derivados de frutos.

2.3 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

Conforme discutido na seção 2.2.1, o crescimento microbiano em alimentos depende de fatores extrínsecos e intrínsecos. A alteração de qualquer uma dessas condições provoca um efeito na população microbiana presente no produto. A microbiologia preditiva é o ramo da microbiologia que estuda a resposta de microrganismos frente a alterações dessas condições. Essa ciência busca, a partir do emprego de modelos matemáticos quantitativos, elucidar a dinâmica de resposta (comumente crescimento ou inativação) dos variados tipos de microrganismos em diversos sistemas.

O primeiro relato de utilização de modelos matemáticos aplicados a microrganismos deu-se em Esty e Meyer (1922), que descreveram que a inativação de esporos de *Clostridium botulinum* seguia um comportamento logarítmico-linear (i.e., a uma dada temperatura, a relação entre o logaritmo da inativação desse microrganismo com o tempo é constante). Entretanto, devido possivelmente à lacuna de conhecimento tecnológico da época, o campo seguiu sem avanços significativos por anos. A partir da década de 80, essa área de estudo

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

creceu de forma significativa em função do alto número de relatos de surtos alimentares provenientes da contaminação de alimentos por microrganismos patogênicos.

Segundo Ross e McMeekin (1994), a relevância da microbiologia preditiva na indústria de alimentos dá-se pela:

- predição das consequências de alterações na formulação no tempo de vida de prateleira do produto;
- avaliação das condições ideais de processamento, colaborando para a elaboração do plano de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC);
- avaliação das consequências de falhas de processamento e de sistemas de armazenamento sobre a qualidade microbiológica de produtos alimentícios.

McMeekin et al. (2007) realizaram uma revisão sobre os trabalhos abordando a microbiologia preditiva publicados no *International Journal of Food Microbiology*. A Tabela 2 mostra a proporção dos assuntos abordados na edição em questão.

Tabela 2: Assuntos e proporção de artigos relativos a microbiologia preditiva em edição do *International Journal of Food Microbiology*.

Assunto abordado	Proporção de papers publicados
Limiar de crescimento/não-crescimento	9,7%
Fase lag	19,3%
Crescimento microbiano	16,2%
Modelos secundários	9,7%
Micologia	3,2%
Cinética de inativação	9,7%
Desenvolvimento de base de dados	3,2%
Projeto de processos e otimização	9,7%
Avaliação de riscos quantitativa	19,3%

Fonte: McMeekin et al. (2007)

Pode-se observar que os trabalhos envolvendo estudo da dinâmica comportamental de fungos (micologia) foram raros dentro da edição analisada. Ainda, os trabalhos envolvendo a cinética de inativação tenderam a ser menos numerosos do que aqueles estudando o crescimento microbiano. Embora a revisão realizada por McMeekin et al. (2007) seja antiga, nenhum novo estudo analisando a proporção de artigos sobre microbiologia preditiva foi encontrado. Entretanto, pode-se ressaltar que a lacuna exposta anteriormente, referente a falta

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

de estudos sobre micologia, segue sendo existente (e.g., somente 2 trabalhos analisando a inativação de espécies fúngicas por AO foram encontrados, em comparação com mais de 30 estudos analisando bactérias).

Tratando-se de um campo da ciência que começou a se desenvolver de forma mais significativa apenas na década de 80, a microbiologia preditiva possui ainda uma série de potencialidades de pesquisa não exploradas. Fakruddin et al. (2011) citam como exemplos de limitações no campo a extrapolação dos dados experimentais para faixas que não foram analisadas experimentalmente, a alta variabilidade da fase *lag* e o fato de modelos tenderem a superestimar os dados cinéticos. Embora a subestimação de dados experimentais seja listada como uma limitação, esse comportamento é preferível em comparação com a subestimação, pois é melhor assegurar a segurança do produto às custas de processos mais longos do que utilizar processos mais curtos e comprometer a segurança do produto e do consumidor. Por fim, uma série de trabalhos têm demonstrado que modelos derivados em condições estáticas não são efetivos em condições dinâmicas (quando as propriedades ambientais e intrínsecas do alimento variam durante o processamento ou comercialização do produto).

2.3.1 Microbiologia preditiva aplicada a processos de inativação

A microbiologia preditiva aplicada a processos de inativação basicamente refere-se à predição da dinâmica de inativação de microrganismos em condições ambientais distintas e adversas às espécies presentes no meio. Como a variável analisada nesse trabalho será a temperatura, a seguinte explanação simplificará os mecanismos de inativação considerando que somente essa variável tenha influência na taxa de inativação. Entretanto, com pequenas alterações, os mesmos modelos debatidos podem ser aplicados para o estudo da influência de outras variáveis (e.g., pH e pressão).

2.3.1.1 Modelos primários

Dentro do contexto térmico, os modelos primários são aqueles que, em condições isotérmicas, descrevem a diminuição da população microbiológica com o tempo. Debater-se-á na sequência os dois principais modelos de inativação utilizados na literatura. Modelos utilizados em situações não-usuais, como por exemplo aqueles utilizados para predição de cenários em que a inativação apresenta um período de acréscimo no número de

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

microrganismos, não serão abordados. Para informações sobre tais modelos, sugere-se a leitura do primeiro capítulo de Peleg (2006), que será a referência base para a escrita dessa seção, exceto quando referenciado o contrário.

2.3.1.1.1 Modelo cinético de primeira ordem

Considera-se que a maioria das alterações que ocorrem em alimentos apresenta um comportamento cinético de primeira ordem; exemplos de processos que demonstram esse comportamento são a inativação enzimática e a degradação vitamínica. A primeira observação de fenômenos de inativação microbiológica seguindo esse comportamento data do século XX, a partir de estudos analisando a destruição microbiana de bactérias em produtos enlatados (MAFART, 2005). Essa dependência foi posteriormente descrita para várias espécies de microrganismos e é demonstrada na Equação 1, que também é denominada modelo log-linear.

$$\frac{dN}{dt} = -k_v N \quad (\text{Eq. 1})$$

onde N é o número de células microbianas, t é o tempo (min), e k_v é uma constante de velocidade (min^{-1}). Observando a Equação 1, nota-se que a taxa de inativação de microrganismos é dependente do número de organismos presentes em um determinado período de tempo. Dessa forma, conforme o valor de N é diminuído, necessariamente diminui-se a taxa de inativação. A consequência disso é que a inativação de todos indivíduos de uma população microbiana presente em um dado meio é inalcançável, uma vez que conforme o número de células tende a zero, o mesmo ocorre com a taxa de inativação

A Equação 1 pode ser resolvida analiticamente considerando a seguinte condição inicial:

- Em $t = 0$, $N = N_0$ (número de microrganismos presentes no tempo inicial)

A solução analítica desse problema de valor inicial (PVI) é dada pela Equação 2:

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = -k_v t \quad (\text{Eq. 2})$$

No cálculo de processamentos térmicos, a variável normalmente utilizada para a previsão da inativação em uma dada temperatura é o tempo de redução decimal (D). Esse

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

parâmetro corresponde ao tempo necessário para reduzir em 90% o número de esporos ou células presentes em um determinado meio; também é referido como o valor para que a curva de sobreviventes atravesse um ciclo logarítmico ou para que a população microbiana diminua em 10 vezes. Esse parâmetro está relacionado com a constante de velocidade k_v , a partir da Equação 3. Com relação ao modelo representado na Equação 2, a substituição do parâmetro k_v pelo parâmetro D consiste em uma mudança da função de logaritmo natural (ln) para uma função de logaritmo de base 10 (log), conforme mostrado na Equação 4.

$$D = \frac{2,303}{k_v} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = \log(S) = -\frac{t}{D} \quad (\text{Eq. 4})$$

O valor do tempo de redução decimal depende de vários fatores, como por exemplo o microrganismo estudado, a composição do meio e a temperatura. Ainda, a forma como o microrganismo se encontra (em estado vegetativo ou esporulado) também possui influência no valor do parâmetro. De forma geral, esporos tendem a possuir maior resistência térmica (i.e., menores valores de k_v e maiores valores de D) do que microrganismos em sua forma vegetativa. Ibarz e Barbosa-Cánovas (2003) citam que divergências nos valores de k_v e D na ordem 10^{10} min^{-1} e 1 min^{-1} são esperados, respectivamente, para bactérias em sua forma vegetativa e esporulada.

2.3.1.1.2 Modelo de Weibull

Embora o modelo cinético de inativação de primeira ordem seja utilizado com frequência na literatura, trabalhos antigos já demonstravam a existência de microrganismos nos quais esse comportamento não foi observado (e.g., Cerf (1977)). A maior crítica feita ao modelo é que a consideração de cinética de primeira ordem tem como consequência o entendimento que os microrganismos possuem um comportamento determinístico, i.e., considera-se que todas as células possuem igual probabilidade de morte térmica. Entretanto, a existência de heterogeneidade entre células de uma população bacteriana de uma mesma espécie já foi demonstrada na literatura para vários microrganismos (VAN BOEKEL, 2002).

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

Os casos de desvio comportamental ao modelo cinético de primeira ordem mais comuns são a presença de concavidades no gráfico logarítmico de número de células pelo tempo, como mostrado na Figura 4. Conforme observado na figura, previsões baseadas no modelo cinético de primeira ordem podem levar a sub ou super-processamento na presença de concavidades no gráfico logarítmico da curva de sobreviventes. Dessa forma, a busca por modelos que resultem em uma alternativa para esses casos é um assunto atualmente relevante.

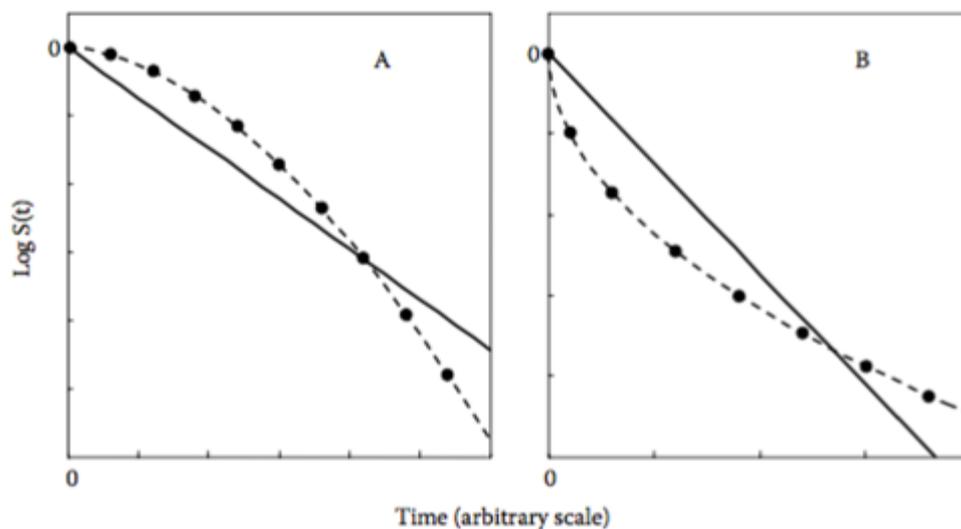


Figura 4: Desvios comportamentais ao modelo cinético de primeira ordem. (A) concavidade pra cima; (B) concavidade para baixo.

Fonte: Adaptado de Peleg (2006)

Uma alternativa é considerar o processo de inativação microbiana como sendo a falha de um organismo de resistir a determinadas condições ambientais por um determinado período de tempo. Dessa forma, avalia-se a probabilidade de um microrganismo resistir a uma dada condição ambiental (têm-se um modelo probabilístico em contraponto ao determinístico dado pelo modelo de primeira ordem). Essa avaliação probabilística já foi aplicada com sucesso em vários campos distintos sem aparente relação, como na área de finanças (Chen e Gerlach, 2013) e na inativação de enzimas (Klein et al., 2018) e vem sendo aplicada também a microrganismos. O modelo matemático usualmente utilizado para a descrição desses fenômenos é a distribuição de Weibull. Essa função, adaptada para o uso em fenômenos microbiológicos, é descrita pela Equação 5.

$$\frac{dN}{dt} = b n t^{n-1} \exp(-b t^n) \quad (\text{Eq. 5})$$

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

onde b é o parâmetro de escala (min^{-1}) e n é o parâmetro de forma da curva. Considerando a mesma condição inicial do modelo cinético de primeira ordem, a solução analítica da Equação 5 é dada pela Equação 6, válida para casos isotérmicos.

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = -b t^n \quad (\text{Eq. 6})$$

Pode-se ressaltar que o modelo cinético de primeira ordem pode ser visto como uma situação prevista no modelo de Weibull, em que $n = 1$. Nesse caso, o gráfico logarítmico do número de sobreviventes no processamento térmico em função do tempo é dado por uma reta. Se $n < 1$, o gráfico logarítmico apresentara uma concavidade voltada para cima; para o caso de $n > 1$, o gráfico apresentará uma concavidade voltada para baixo. Embora esse modelo seja empírico, uma relação pode ser feita entre o valor da constante e o comportamento fisiológico. Valores de $n < 1$ indicam, por exemplo, que as células remanescentes têm a capacidade de se adaptar ao estresse térmico produzido. Valores de $n > 1$ indicam que as células remanescentes tendem a sofrer ainda mais injúrias do tratamento com o passar do tempo. Em adição, podem ser feitas comparações entre o parâmetro b e o tempo de redução decimal D com pequenas modificações no modelo, realizadas, por exemplo, por Schottroff et al. (2019).

O uso do modelo de Weibull em comparação com o modelo cinético de ordem 1 foi analisado em 55 conjuntos de dados encontrados na literatura por Van Boekel (2002). O autor demonstrou que em 39 casos a constante n assumia valores maiores que 1 e em 14 casos valores menores que 1; em somente 2 casos o valor de n foi igual a 1, indicando que o comportamento cinético de primeira ordem tende a ser a exceção (e não a regra) em estudos de inativação de microrganismos.

Alegações ao uso do modelo cinético de primeira ordem em detrimento ao modelo de Weibull podem ser feitas a partir do princípio da parcimônia, que alega que os modelos devam ser o mais simples possíveis (i.e., com o menor número de parâmetros). Dentro desse contexto, o modelo cinético de primeira ordem, que contém somente um parâmetro para ajuste, seria mais simples que o modelo de Weibull, que contém dois parâmetros. Tal princípio é levado em consideração em alguns índices estatísticos como o *Bayesian Information Criteria* (BIC).

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

2.3.1.2 Modelos secundários

Modelos secundários aplicados a estudos de inativação microbiológica são aqueles modelos que descrevem a influência da alteração das condições intrínsecas ou extrínsecas (e.g. temperatura, atividade de água, pH) nos parâmetros do modelo primário. A seguir, serão abordados os modelos secundários utilizados para predição da dependência com a temperatura dos modelos primários revisados anteriormente.

2.3.1.2.1 Modelo de Arrhenius

O modelo de Arrhenius é utilizado em cinética para quantificar os efeitos da temperatura em reações. Basicamente, trata-se da expressão matemática dada pela Equação 7, que permite o cálculo da constante k_v em função de uma temperatura de referência e do conhecimento dessa constante nessa temperatura:

$$k_v(T) = k_{v,T,REF} \exp\left(-\frac{Ea}{R_{GI}}\left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{REF}}\right)\right) \quad (\text{Eq. 7})$$

onde $k_{v,T,REF}$ é a constante de velocidade em uma temperatura de referência (min^{-1}), Ea é a energia de ativação (J.gmol^{-1}), R_{GI} é a constante dos gases ideais ($\text{J.K}^{-1}.\text{gmol}^{-1}$), T é a temperatura (K) e T_{REF} é uma temperatura de referência (K).

2.3.1.2.2 Modelo de Bigelow

Como em processos de inativação recorre-se usualmente a utilização do parâmetro D como alternativa ao parâmetro k_v (vide seção 2.3.1.1.1), uma variação do modelo de Arrhenius mais comumente utilizada em microbiologia preditiva é o modelo de Bigelow. Esse modelo é expresso pela Equação 8:

$$D(T) = D_{T,REF} 10^{\left(\frac{T_{REF}-T}{z}\right)} \quad (\text{Eq. 8})$$

onde T_{REF} é uma temperatura de referência (K), $D_{T,REF}$ é o tempo de redução decimal na temperatura de referência (min) e z é a diferença de temperatura necessária para diminuir/aumentar o valor do parâmetro D por um fator de 10 vezes (K). A junção do modelo

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

de Bigelow com o modelo cinético de primeira ordem (Equação 1) e a definição de D (Equação 3) gera o modelo preditivo dado pela equação 9, que leva em conta os efeitos da variação de temperatura na taxa de inativação.

$$\frac{dN}{dt} = - \frac{2,303}{D_{T,REF} 10^{\left(\frac{T-T_{REF}}{z}\right)}} N \quad (\text{Eq. 9})$$

O modelo dado pela Equação 9 pode ser utilizado quando as propriedades variam com a temperatura. Segundo Ibarz e Barbosa-Cánovas (2003), os dados de temperatura que devem ser inseridos nesse modelo devem ser obtidos experimentalmente no ponto mais frio do equipamento utilizado no processo ou provenientes de modelos de transferência de calor, metodologia que será utilizada para fins dessa dissertação.

2.3.1.2.3 Modelos secundários com relação ao modelo de Weibull

Na ausência de comportamento logarítmico-linear dos parâmetros D/z em relação à temperatura, as previsões geradas pelo modelo de Bigelow tornam-se equivocadas. Demonstrou-se que o modelo de Weibull pode ser um modelo primário viável para a descrição quantitativa desses casos. A partir da Equação 6, observa-se que, mesmo que o parâmetro n dependa da temperatura (i.e., $n(T)$), a escala da dependência do modelo com a temperatura é condicionada principalmente ao parâmetro b , de tal forma que, se $b(T) = 0$, nenhuma inativação ocorrerá, independente da magnitude do parâmetro n .

Segundo Peleg (2002), um modelo conveniente para predição da variação do parâmetro de escala é o modelo log-logístico, dado pela Equação 10.

$$b(T) = \ln(1 + \exp(a(T - T_c))) \quad (\text{Eq. 10})$$

onde a é um parâmetro do modelo ($^{\circ}\text{C}^{-1}$) e T_c é a temperatura teórica na qual a taxa de inativação começa a subir mais acentuadamente ($^{\circ}\text{C}$).

Em comparação com o modelo de Bigelow, que possui somente o parâmetro z para ajuste, o modelo log-logístico torna-se mais custoso por possuir dois parâmetros ajustáveis (a e T_c). Ainda, o modelo log-logístico é um modelo puramente empírico e recebe algumas críticas devido à lacuna de conceitos biológicos em sua formulação. Dessa forma, a relação entre as variáveis com qualquer mecanismo de inativação a nível celular, ou até a questões cinéticas particulares de cada microrganismo, são dificilmente visualizadas. Entretanto, Peleg

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

(2006) ressalva que justamente o fato de o modelo ser empírico que o torna menos suscetível a falhas, uma vez que não possui como limitação as simplificações biológicas que os modelos tradicionais levam em consideração, principalmente a existência de um comportamento logarítmico-linear não observado em diversas situações práticas.

Em adição, Mafart et al. (2002) demonstram que um modelo similar ao modelo de Bigelow pode também ser aplicado para modelagem do parâmetro b em função da temperatura, dado pela Equação 11, denominado modelo de Weibull-Mafart.

$$b(T) = b_{T,REF} 10^{\left(\frac{T-T_{REF}}{w}\right)} \quad (\text{Eq. 11})$$

onde $b_{T,REF}$ é o valor de b em uma temperatura de referência (min^{-1}) e w é um parâmetro análogo ao valor de z no modelo de Bigelow ($^{\circ}\text{C}$). O modelo dado pela Equação 11 será doravante referenciado como modelo de Mafart.

No caso de haver existência de dependência significativa com a temperatura do parâmetro n , usualmente utiliza-se uma regressão linear para estimação desse comportamento, conforme mostrado na Equação 12.

$$n(T) = c.T + d \quad (\text{Eq. 12})$$

2.4 INATIVAÇÃO DE MICRORGANISMOS

Conforme mencionado anteriormente, é de vital importância para a indústria de alimentos assegurar que seus produtos sejam estáveis microbiologicamente. Para a indústria de sucos, que é onde reside o foco da presente dissertação, a *Food and Drug Administration* (FDA) recomenda uma redução de cinco ciclos logarítmicos em uma espécie microbiana relevante presente no meio (FDA, 2004). Quando temperaturas inferiores a 100°C são utilizadas, chama-se o processo de pasteurização. Para a correta aplicação desse processamento, deve-se utilizar um binômio tempo-temperatura adequado para assegurar a diminuição da população microbiana a níveis aceitáveis. Nesse sentido, convém a divisão dos processos de pasteurização em duas classes:

- LTLT (*Low Temperature, Long Time*): são processos que empregam baixas temperaturas (e.g., 62 e 72°C) e, dessa forma, resultam em maiores tempos de processamento.

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

- HTST (*High Temperature, Short Time*): são processos que empregam temperaturas mais altas (e.g., 85°C e 90°C) e, dessa forma, resultam em menores tempos de processamento.

Nos últimos anos, uma série de novas tecnologias vem sendo estudadas com o intuito de prover ao consumidor produtos mais próximos de suas características naturais, bem como diminuir o custo dos processos industriais. Essas novas tecnologias são conhecidas como tecnologias emergentes e são exemplos dessa classe o uso de altas pressões, processos de separação por membranas, ozonização e aquecimento ôhmico. Nessa seção, serão revisados aspectos referentes ao processamento térmico por aquecimento convencional e por aquecimento ôhmico, que são as tecnologias estudadas nessa dissertação.

2.4.1 Processamento convencional

Tradicionalmente, o processo de pasteurização de sucos é realizado através do aquecimento convencional (AC). Nesse processo, um fluido quente (tradicionalmente água) é utilizado para aquecer o produto até a temperatura do processo, no qual o alimento deve ser mantido por um determinado período de tempo. O tempo depende, basicamente, da temperatura na qual o processo ocorre: temperaturas mais altas geram processos mais curtos e vice-versa (IBARZ; BARBOSA-CÁNOVAS, 2003).

O efeito deletério do calor nos microrganismos diz respeito basicamente à desnaturação das estruturas terciárias e quaternárias das proteínas, causando desnaturação de enzimas necessárias para o metabolismo microbiano (MOLUGU et al., 2016). Além disso, em menor escala, também estão presentes fenômenos de rompimento da parede celular. O processamento pode ser conduzido em trocadores de calor contínuos ou em batelada, com o auxílio de serpentinas ou camisas de aquecimento, por exemplo.

Como o AC ocorre devido à troca de calor entre um fluido quente e o produto alimentício (principalmente por mecanismos condutivos e convectivos), gradientes de temperatura significativos são observados. Para o correto dimensionamento do tempo de pasteurização, deve-se assegurar que o ponto mais frio do produto passe pelo binômio tempo-temperatura relativo à redução de 5 ciclos logarítmicos de uma espécie de microrganismo chave do processo (i.e., o binômio deve ser calculado tendo como referência a temperatura do ponto mais frio do alimento). Devido aos gradientes de temperatura observados, altos tempos de processamento são observados em alguns produtos com propriedades termofísicas que não

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

beneficiem a troca térmica (como baixa condutividade térmica, observada em fluidos de forma geral). Dessa forma, a pasteurização por AC pode resultar em altos tempos de processo e alto consumo energético (TIAN, XIAOJING et al., 2018).

Paralelamente, sabe-se que o AC provoca perdas de compostos desejáveis do produto (CHEN et al., 2017; ILIOPOULOU et al., 2015; JAESCHKE et al., 2016; WAWIRE et al., 2016; YU et al., 2018). Em sucos de frutas, perdas de vitamina C, carotenóides e compostos aromáticos já foram relatadas (LEE e COATES, 2003). Em adição, diversos estudos têm demonstrado níveis inaceitáveis de contaminação fúngica (concentração > 10 esporos/mL) em sucos mesmo após os processos tradicionalmente utilizados, conforme discutido na seção 2.1. Considerando esse cenário, o estudo de tecnologias emergentes aplicadas ao processamento de sucos pode ser uma alternativa para superar as limitações existentes no AC.

2.4.2 Processamento ôhmico

Diversos estudos recentes têm sugerido que o aquecimento ôhmico (AO) pode ser uma alternativa ao AC (INMANEE et al., 2019; COSTA et al., 2018; KAUR; SINGH, 2016; RYANG et al., 2016). De forma semelhante ao AC, a inativação de microrganismos no AO também se dá pela aplicação de calor ao produto, embora o mecanismo físico da aplicação de energia seja diferente. No AO, o aumento de temperatura é provocado por geração interna no alimento, através do efeito Joule. Nesse sentido, dois eletrodos são inseridos no compartimento no qual o produto será aquecido e uma diferença de potencial elétrico é aplicada entre os eletrodos. Os íons presentes no produto se orientam em direção ao eletrodo que possui carga elétrica contrária à sua. Como a corrente aplicada é alternada, a partir de uma relação estabelecida pela frequência do equipamento, isso faz com que os íons estejam em constante movimento e se choquem continuamente durante o processo, o que resulta em conversão de energia elétrica em energia térmica. Devido ao aquecimento ocorrer por geração de energia, os gradientes de temperatura são consideravelmente reduzidos no processo (RUAN, YE, 1994).

As seguintes vantagens estão relacionadas ao AO em comparação ao AC: menor tempo de processo, aquecimento uniforme de alimentos bifásicos (desde que possuam condutividades elétricas semelhantes), maior eficiência energética e maior independência de algumas propriedades termofísicas (como a condutividade térmica do produto). Como consequência do menor tempo de processo, compostos desejáveis tendem a ser mais

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

preservados no AO. As maiores desvantagens do AO estão relacionadas a perda de material dos eletrodos, bem como a alta dependência do processo com o conteúdo iônico do produto (KAUR; SINGH, 2016).

Inicialmente acreditava-se que os valores das constantes dos modelos primários/secundários eram iguais nos aquecimentos convencional e ôhmico. Entretanto, pesquisas dos últimos 20 anos têm demonstrado fenômenos adicionais de inativação microbiana relacionadas à aplicação da corrente elétrica (CHO et al., 1999; KIM, et al., 2017; KIM e KANG, 2015; MURASHITA, KAWAMURA e KOSEKI, 2016; SCHOTTROFF et al., 2019; SOMAVAT, MOHAMED e SASTRY, 2013; TIAN et al., 2018; UEMURA e ISOBE, 2002). A magnitude desses fenômenos tende a ser proporcional à constituição do meio analisado, à espécie de microrganismo, à temperatura do processo, ao campo elétrico aplicado e à frequência do equipamento.

Para bactérias em estado vegetativo, diversos autores têm proposto que o fenômeno de inativação adicional provocado pela aplicação da corrente elétrica é a eletroporação. Esse fenômeno basicamente decorre do aumento do potencial transmembrana da membrana que separa o meio intracelular microbiano do meio extracelular. A partir do momento em que o potencial se encontra acima de um limite crítico, poros são formados na camada lipídica da membrana, o que resulta em uma carga adicional de inativação. Pode-se ressaltar que esse efeito já foi observado tanto em bactérias gram-negativas (menos termorresistentes) quanto gram-positivas (mais termorresistentes), embora estudos analisando a influência da espessura da camada de peptidoglicano possam ser potencialmente interessante para compreensão da extensão de mecanismos não térmicos (JAEGER et al., 2016). Somavat et al. (2012) e Somavat et al. (2013) sugerem que a eletroporação possivelmente não pode explicar efeitos não-térmicos em esporos bacterianos, uma vez que suas estruturas celulares são diferentes daquelas encontradas em bactérias em estado vegetativo. Recentemente, Schottroff et al. (2019) realizaram um estudo analisando a inativação de diversas espécies mutantes de *Bacillus subtilis* sob aquecimento convencional e ôhmico; os resultados demonstraram que, ao menos no que se refere a esporos bacterianos, parece existir um dano adicional relacionado ao núcleo do microrganismo, devido a um aumento na liberação de proteínas da célula (principalmente se essas não estão firmemente aderidas ao DNA).

Em geral, estudos lidando com esporos fúngicos são menos numerosos do que aqueles lidando com bactérias. Dentre toda literatura analisada, somente dois trabalhos (Yildiz e Baysal (2006) e Hashemi et al. (2019)) lidando com tal classe de microrganismos foram

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

encontrados, sendo que em nenhum deles a curva de aquecimento foi igualada nos aquecimentos convencional e ôhmico; esse é um requisito de extrema importância para comparações entre os dois processos uma vez que a existência de fenômenos não térmicos só pode ser inferida quando tal condição é cumprida (SOMAVAT et al., 2012).

2.5 TRANSFERÊNCIA DE CALOR

A transferência de calor é uma forma de transmissão de energia que ocorre devido à existência de um gradiente de temperatura. No contexto da presente dissertação, os modelos térmicos serão utilizados para predição do perfil de temperatura do suco a ser processado. Dessa forma, uma sucinta revisão sobre aspectos teóricos relativos aos mecanismos de condução e convecção, bem como respectivos à geração de energia, será realizada. As referências utilizadas nessa seção serão Bergman et al. (2011) e Çengel e Ghajar (2012), exceto quando referenciado o contrário.

2.5.1 Condução

A condução é o mecanismo de transferência de calor que ocorre devido a movimentações a nível molecular. Como a temperatura está relacionado ao movimento das partículas, quando partículas com energia cinética mais alta colidem com partículas adjacentes de menor energia, ocorre a troca de calor pelo mecanismo condutivo. Em líquidos e gases, a condução ocorre devido às colisões, vibrações e difusões das moléculas em movimentos aleatórios, ao passo de que em sólidos ela ocorre devido à transmissão por elétrons livres e por meio de vibrações ao longo da rede cristalina. .

O valor da taxa de calor condutiva depende, em suma, da geometria analisada, de suas dimensões, do material analisado e do gradiente de temperatura estabelecido. O cálculo do fluxo energético condutivo pode ser obtido pela lei de Fourier (Equação 13), batizada em homenagem ao matemático e físico Jean Joseph Fourier, que a expressou pela primeira vez em 1822:

$$q''_{COND} = -k \cdot \vec{\nabla}T \quad (\text{Eq. 13})$$

onde q''_{COND} é o fluxo de calor condutivo ($\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$), k a condutividade térmica do material ($\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{C}^{-1}$) e $\vec{\nabla}T$ é o gradiente de temperatura ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{m}^{-1}$). A condutividade térmica é uma

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

variável termofísica dependente do material e do estado físico do sistema, sendo seu valor menor em gases e maior em sólidos. O gradiente de temperatura estabelece as variações espaciais de temperatura em cada uma das dimensões do problema. A Equação 14 estabelece esse gradiente para coordenadas cilíndricas, que são aquelas características do problema analisado no âmbito dessa dissertação.

$$\vec{\nabla}T = \frac{\partial T}{\partial r} + \frac{1}{r} \frac{\partial T}{\partial \varphi} + \frac{\partial T}{\partial z} \quad (\text{Eq. 14})$$

Durante o processamento térmico de alimentos, é de vital importância o conhecimento do perfil de temperaturas do produto, uma vez que o tempo de pasteurização é dependente da temperatura no ponto frio do alimento. Para conhecimento dessa variável em processos onde a troca térmica ocorre puramente por condução, deve-se resolver o balanço diferencial de energia que, para coordenadas cilíndricas, é expresso pela Equação 15.

$$\rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(k r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial \varphi} \left(k \frac{\partial T}{\partial \varphi} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k \frac{\partial T}{\partial z} \right) + \dot{s} \quad (\text{Eq. 15})$$

onde ρ é a massa específica (kg.m^{-3}), c_p é a capacidade calorífica a pressão constante ou calor específico ($\text{J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$) e \dot{s} é a taxa volumétrica de geração de calor (W.m^{-3}). Pode-se ressaltar que a solução da Equação 15 requer uma condição inicial, que diz respeito à distribuição de temperatura inicial do sistema, e condições de contorno relativas ao conhecimento das condições nas fronteiras do problema. As condições de contorno mais usuais são as de temperatura especificada, fluxo de calor especificado ou de troca de calor por convecção.

2.5.2 Convecção

A convecção é um fenômeno de transferência de calor que ocorre devido à soma de dois mecanismos distintos. Em adição aos movimentos moleculares aleatórios (condução), a energia também é transferida pela movimentação macroscópica do fluido (advecção), também conhecido por movimento *bulk*. Para que ocorra troca de calor convectiva, além de movimento, deve-se ter um fluido com temperatura diferente daquela do meio sendo aquecido.

Com relação à força motriz do escoamento do fluido, pode-se classificar a convecção de duas formas: natural e forçada. A convecção natural ocorre por forças de empuxo

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

provocadas pela diferença de massa específica do fluido em diferentes temperaturas. Já a convecção forçada estabelece-se quando o fluido escoar devido a forças mecânicas externas, tais quais ventiladores ou bombas. A Equação que descreve matematicamente a troca de calor convectiva é conhecida como Lei de Resfriamento de Newton:

$$q''_{CONV} = h (T_{\infty} - T_{SUP}) \quad (\text{Eq. 16})$$

onde q''_{CONV} é o fluxo de calor convectivo (W.m^{-2}), h é o coeficiente de troca de calor por convecção ($\text{W.m}^{-2}.\text{°C}^{-1}$), T_{∞} é a temperatura do fluido (°C) e T_{SUP} a temperatura da superfície sobre a qual o fluido escoar (°C). O valor de h depende da geometria da superfície onde ocorre a troca térmica, do regime de escoamento (se laminar ou turbulento), da velocidade (para convecção forçada) e das propriedades do fluido. Para o caso da convecção natural, o h também depende da diferença de temperatura ($T_{\infty} - T_{SUP}$).

No caso de convecção forçada, o coeficiente convectivo pode ser determinado a partir de correlações empíricas encontradas na literatura que apresentam o formato dado pela Equação 17.

$$Nu = C_1 Re^{C_2} Pr^{C_3} \left(\frac{\mu}{\mu_p} \right)^{C_4} \quad (\text{Eq. 17})$$

onde Nu é o número de Nusselt (Eq. 18), Re é o número de Reynolds (Eq. 19), Pr é o número de Prandtl (Eq. 20), μ e μ_p são a viscosidade dinâmica do fluido na temperatura média de escoamento e na parede, respectivamente, e C_1, C_2, C_3 e C_4 parâmetros de ajuste dependentes da classificação de escoamento e da geometria da superfície:

$$Nu = \frac{h Lc}{k_f} \quad (\text{Eq. 18})$$

onde Lc é o comprimento característico (m) e k_f é a condutividade térmica do fluido ($\text{W.m}^{-1}.\text{°C}^{-1}$). O número de Nusselt é um grupo adimensional que representa o ganho em troca térmica associada à convecção quando comparada à condução na mesma camada de fluido.

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

O número de Reynolds representa a razão entre as forças de inércia e as forças viscosas e é o responsável por determinar o regime de escoamento do fluido, definido por:

$$Re = \frac{\rho u Lc}{\mu} \quad (\text{Eq. 19})$$

onde u é a velocidade do fluido ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$). O número de Prandtl, dado pela equação (20), representa a importância relativa entre o transporte de quantidade de movimento e o transporte de energia:

$$Pr = \frac{\nu}{\alpha} \quad (\text{Eq. 20})$$

onde ν é a difusividade de quantidade de movimento ($\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) e α é a difusividade térmica ($\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$).

No caso de convecção natural, as correlações empíricas disponíveis apresentam formatos similares a aquele dado pela Equação 17, dependentes do tipo de convecção natural (se externa ou interna). Entretanto, nessas correlações, o número de Reynolds é substituído pelo número de Rayleigh, dado pela Equação 21.

$$Ra = \frac{g \beta (T_{SUP} - T_{\infty}) Lc^3}{\nu \alpha} \quad (\text{Eq. 21})$$

onde Ra é o número de Rayleigh, g é a aceleração da gravidade ($\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) e β é o coeficiente de expansão térmica (K^{-1}). O número de Rayleigh é um número adimensional que estabelece a associação entre as forças de empuxo e as forças viscosas.

2.5.3 Geração de energia

Várias aplicações de engenharia envolvem a conversão de alguma forma de energia em energia térmica. São exemplos as reações químicas (conversão de energia de ligação em térmica) e reações nucleares (conversão de energia nuclear em térmica). Em situações em que isso acontece, diz-se que ocorre de geração interna de energia (ou calor) (termo \dot{q} na Equação 15). Como consequência da geração, a temperatura do meio aumenta devido ao resultado da absorção de calor no período transiente.

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

No aquecimento ôhmico, a geração de calor está associada à conversão de energia elétrica em energia térmica. Conforme mencionado na seção 2.4.2, a presença de um campo elétrico faz com que os íons se orientem em direção ao eletrodo com carga elétrica contrária à sua. Essa orientação provoca choques entre os íons, que se mantêm em constante movimento devido a alteração da carga dos eletrodos dependente da frequência do equipamento. Esses choques provocados são os responsáveis pela geração de calor no meio, fazendo com que a temperatura aumente.

2.6 INTEGRAÇÃO DE MODELOS TÉRMICOS E CINÉTICOS

Devido à criticidade dos tratamentos térmicos em assegurar a estabilidade microbiológica dos alimentos, é de vital importância a estimação do campo de temperatura da forma mais acurada possível, seja por medições experimentais ou pelo emprego de modelos de transferência de calor. Dessa forma, a criação de modelos matemáticos que sejam responsáveis por prever esse campo é crucial para a indústria alimentícia.

A integração de modelos térmicos com modelos cinéticos para predição de tempos de processamento foi abordada por alguns autores. Marra (2014), por exemplo, analisou a esterilização de purê de batatas por aquecimento ôhmico a partir de uma redução de 12 ciclos logarítmicos de *Escherichia coli* no meio. Os autores utilizaram o modelo para estudar o efeito do isolamento térmico e da condutividade elétrica no tempo de esterilização. Maiores condutividades elétricas e menores perdas térmicas levaram a processos significativamente mais rápidos. Kamonpatana et al. (2013) analisaram a inativação de esporos de *Clostridium sporogenes* de castanhas em solução de amido (mistura sólido-líquido) em um aquecedor ôhmico contínuo. O modelo térmico analisado foi o previamente publicado por Sastry e Palaniappan (1992), onde o balanço de energia para o fluido é resolvido simultaneamente com a equação de difusão transiente para as partículas sólidas. O perfil de temperatura foi analisado para a partícula mais rápida do produto, uma vez que deve ser assegurado que mesmo o menor tempo de residência deve passar pelo binômio de inativação estabelecido. Adicionalmente, os autores simularam condições relativamente mais desfavorecidas termicamente (como menores condutividades elétricas) para assegurar a estabilidade microbiológica do produto final.

Trabalhos analisando modelos integrados para aquecimento convencional vem sendo publicados há mais tempo, embora também sejam escassos. Pode-se citar Bellara et al. (1999)

2. Revisão de literatura e fundamentação teórica

e Mackey et al. (2006), por exemplo. Em ambos, a equação da difusão de calor foi resolvida para coordenadas cilíndricas em processos bidimensionais e integrado com modelos cinéticos log-lineares para predição da inativação de microrganismos chaves em contaminações de produtos sólidos.

Embora o AC e o AO venham sendo comparados quanto a suas vantagens energéticas ou somente cinéticas, nenhum trabalho analisando ambos térmica e cineticamente foi encontrado. Dessa forma, modelos comparando essas duas tecnologias podem ser potencialmente interessantes para quantificar a total vantagem do processamento ôhmico frente ao convencional.

3 ESTUDO DA CINÉTICA DE INATIVAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A presente seção tratará sobre as questões relativas à comparação de cinética de inativação microbiológica dos processos de aquecimento convencional e ôhmico. Dessa forma, os procedimentos abordados e os resultados obtidos nessa seção não levarão em consideração eventuais vantagens na maior taxa de aumento da temperatura observada no aquecimento ôhmico em comparação com o aquecimento convencional (tema do capítulo 4). Nessa seção, serão abordados os três primeiros objetivos específicos elencados na seção de introdução.

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1 Caracterização físico-química da amostra

Os processos de reprodução e inativação dos microrganismos são extremamente dependentes do meio estudado e de variações em algumas de suas propriedades físico-químicas (LEE et al, 2015; PARK et al., 2017). Dessa forma, o presente estudo caracterizou as amostras utilizando quatro variáveis físico-químicas relevantes a estudos microbiológicos em alimento: teor de sólidos solúveis, umidade, atividade de água e pH, sendo que todas análises foram realizadas em triplicata.

Umidade

A umidade foi determinada segundo método sugerido pela *Association of Official Analytical Chemists*, disponível em A.O.A.C. (1990). Inicialmente, o suco foi homogeneizado e uma alíquota de 5 mL foi transferida para cápsulas já previamente secas e taradas. O

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

conjunto amostra + cápsula foi colocado em estufa com circulação de ar forçado (SL 102/100, Solab, Brasil) a 105°C, e ficou armazenado até que não houvessem mais variações na massa do sistema. Após, a amostra foi pesada e a diferença obtida entre a pesagem final e inicial dividida pela massa inicial de amostra foi considerada como sendo a umidade.

Sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis do suco de maçã foi medido utilizando um refratômetro digital (REDI-P-101, Ionlab, Brasil).

pH

O potencial hidrogeniônico (pH) do suco de maçã foi medido utilizando um pHmetro digital (modelo DM-22, Digimed, Brasil).

Atividade de água

A atividade de água foi medida em um medidor de atividade de água com temperatura controlada (Novasina STD, Labmaster, Brasil) previamente calibrado. A amostra foi inserida em um compartimento do equipamento e a leitura foi realizada continuamente pelo aparelho até que o sistema entrasse em equilíbrio. A condição de equilíbrio foi considerada como sendo a ausência de variação no valor mensurado após 20 minutos, momento no qual foi feita a leitura da atividade.

3.1.2 Preparo da suspensão de esporos

As cepas de *Aspergillus fumigatus* (CCT 2777) foram adquiridas da Fundação André Tosello – Coleção de Culturas Tropical (Campinas, SP). O fungo foi reativado previamente pela própria empresa e enviado em tubos de ensaio preenchidos com ágar, apresentando biomassa crescida sob toda a superfície do meio de cultura. O critério de seleção da cepa foi a necessidade de estar vinculada a uma potencial fonte de contaminação relacionada a frutos (a cepa foi isolada do solo). As informações disponibilizadas pela Fundação André Tosello estão disponíveis no Apêndice A. Após recebimento, a cultura foi armazenada sob condições de refrigeração (~10°C) durante a realização dos experimentos. Essa cultura constitui a primeira

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

geração de esporos fúngicos utilizados no âmbito dessa dissertação (colônia matriz). Em adição, essa colônia foi replicada trimestralmente em tubo de ensaio reclinado para assegurar sua viabilidade durante todo o período de realização dos experimentos.

O recipiente no qual a colônia matriz estava inserida teve sua superfície desinfetada com álcool 70% antes da utilização. Após, a embalagem foi aberta em capela de fluxo laminar, próxima a chama, para assegurar que o meio não fosse contaminado durante o procedimento de abertura. Com o auxílio de uma alça de níquel-cromo previamente flambada, a superfície de biomassa foi gentilmente raspada com intuito de remover parte dos esporos fúngicos aderidos às hifas. Esses fragmentos removidos pela alça foram esfregados em uma placa de Petri contendo meio de cultura solidificado de malte dextrose (MEA) previamente autoclavado a 121°C por 15 minutos. O meio de cultura foi produzido diluindo-se em 1 litro de água 15 gramas de ágar-ágar (Dinâmica, Brasil) e 30 gramas de ágar extrato de malte (Kasvi, Itália).

Os meios de cultura contendo os esporos fúngicos foram armazenados a 25°C. Várias referências indicam tempos de armazenamento distintos para a germinação de esporos de diferentes espécies de microrganismos. Ferreira et al. (2011) utilizaram 30 dias a 30°C para esporos de *Byssochlamys fulva* e de *Byssochlamys nivea*, por exemplo. Nakpan et al. (2019) utilizaram 25°C por 7 dias para esporos de *Aspergillus fumigatus*. A incubação por somente 7 dias demonstrou-se ineficiente pois os esporos ainda se encontravam firmemente aderidos às hifas (Figura 5). Considerando testes realizados no âmbito dessa dissertação, o tempo de armazenamento considerado foi de 21 dias a, aproximadamente, 25°C, e a esporulação foi confirmada a partir de microscopia ótica pela visualização do alto número de esporos produzidos e sua menor aderência à hifa (Figura 5).

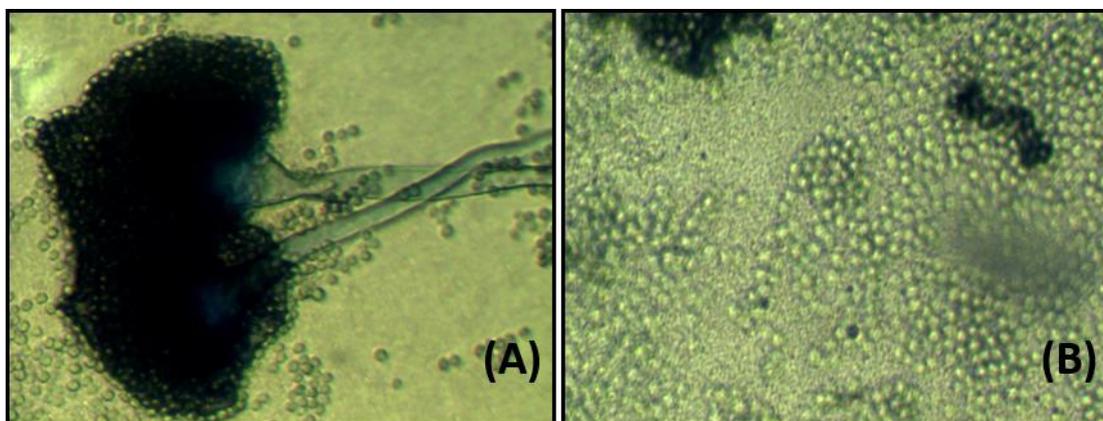


Figura 5: Esporos de *Aspergillus fumigatus* em lente de aumento de 50 vezes após 7 dias (A) e 21 dias (B).

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Após 21 dias, as superfícies dos meios de cultura estavam completamente preenchidas pela colônia fúngica. Cada placa de Petri foi lavada com 5 alíquotas de 2 mL de solução de Tween-80 (Dinâmica, Brasil) 1% (m/m), previamente autoclavada a 121°C por 15 minutos (SILVA et al., 2014). Após inserção de cada alíquota, as placas de Petri foram suavemente giradas, fazendo com que a solução entrasse em contato com toda a superfície da colônia fúngica. Ainda, raspou-se gentilmente a superfície da colônia com o auxílio de uma alça de níquel cromo, fazendo com que alguns esporos ainda aderidos a superfície do micélio fossem soltos. A solução foi vertida em tubo Falcon de 15 mL.

O procedimento descrito acima resultou em suspensões de, aproximadamente, 8 mL (em média, 2 mL da solução de Tween-80 não eram recuperadas pois haviam sido absorvidos pela colônia). Essas suspensões foram então filtradas 3 vezes em gaze estéril (com intuito de remover eventuais fragmentos de colônia e hifas provenientes da raspagem das placas de Petri), homogeneizadas e armazenadas sob refrigeração a, aproximadamente, 10°C até uso. Esporos fúngicos podem desenvolver dormência com o tempo se armazenados sob refrigeração, que pode ser quebrada a partir do uso de um tratamento térmico subletal prévio, procedimento chamado de ativação (FERREIRA et al., 2011). Nesse contexto, um tratamento anterior a utilização dos esporos foi realizado a 60°C por 20 minutos antes de todos experimentos.

Para quantificar o número de colônias da suspensão, o método de contagem em placas foi utilizado, onde dilui-se serialmente a solução obtida de forma a obter um número contável de esporos (MATURIN; PEELER, 2001). No mínimo três placas foram utilizadas para contagem em cada diluição. Essas placas foram armazenadas em estufa a 35°C por 3 dias e o número de esporos foi contado a olho nu. A concentração final da suspensão foi ajustada para, aproximadamente, 2×10^7 esporos/mL.

3.1.3 Suco de maçã utilizado nos experimentos

Suco comercial de maçã foi adquirido diretamente do fabricante após processo de pasteurização e armazenamento em embalagem Tetra Pak® pela própria empresa. Para garantir que variações referentes ao fruto utilizado no processo de manufatura não influenciassem os resultados, todo o suco utilizado foi proveniente do mesmo lote produtivo. Em adição, o suco teve que ser, necessariamente, livre de conservantes, de forma a garantir que não houvesse a influência desses aditivos nos resultados. O suco foi previamente

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

autoclavado e testado quanto à contagem de células microbianas para garantir inocuidade do produto pré-análise. Após cada experimento, o suco utilizado foi descartado.

3.1.3 Temperaturas analisadas e aparato experimental

Para avaliação da cinética de inativação do fungo, 5 temperaturas foram analisadas, a saber, 75, 80, 85, 90 e 94°C, que serão doravante referidas como temperaturas de processo.

Inicialmente, aproximadamente 0,5 mL da suspensão de esporos descrita na seção 3.1.2 foram inoculadas em 50 mL de suco de maçã. Dessa forma, a concentração de esporos fúngicos inicial foi de, aproximadamente, 2×10^5 esporos/mL. O substrato contaminado foi homogeneizado na célula ôhmica utilizada durante o protocolo experimental, previamente higienizada com álcool 70%. A homogeneização ocorreu a partir da utilização de um agitador magnético (C-MAG HS 10, IKA, Alemanha) em, aproximadamente, 1.000 rpm, de forma a assegurar que os microrganismos estivessem distribuídos de forma sistemática por todo o volume de amostra antes do experimento. Excepcionalmente nas temperaturas de 90 e 94°C, os microrganismos foram inoculados 2 minutos antes da amostra chegar à temperatura de processo, pois a inoculação prévia resultava em carga microbiana praticamente nula ao se chegar na condição desejada. Entende-se que essa diferença de procedimento não tenha afetado as comparações, uma vez que a inoculação 2 minutos antes da coleta da primeira amostra resulta em tempo suficiente para que o microrganismo seja homogeneamente distribuído. Após o suco chegar na temperatura de processo, foi retirada uma amostra e esse ponto foi considerado o tempo zero de análise.

A partir desse ponto, submeteu-se o fungo ao tratamento térmico planejado (ôhmico ou convencional). O detalhamento de cada tratamento será dado na próxima subseção. Os testes foram realizados em triplicata. A Figura 6 mostra o aparato que foi utilizado durante a realização dos experimentos. O equipamento para realização do aquecimento ôhmico está descrito por Sarkis et al. (2013).

O aparato utilizado consiste em dois banhos térmicos **(a)** e **(b)**, um sistema de by-pass **(c)**, uma célula ôhmica contendo a amostra, termopares e os eletrodos inseridos na amostra **(d)**, um agitador magnético **(e)**, um sistema de aquisição de dados **(f)**, um variador de tensão (responsável por ajustar a tensão entre 0 e 240 V) **(g)** e um computador para aquisição dos dados **(h)**. Os dados monitorados durante o processo foram tensão (V), corrente (A) e temperatura (°C) e a frequência do dispositivo foi de 60 Hz.

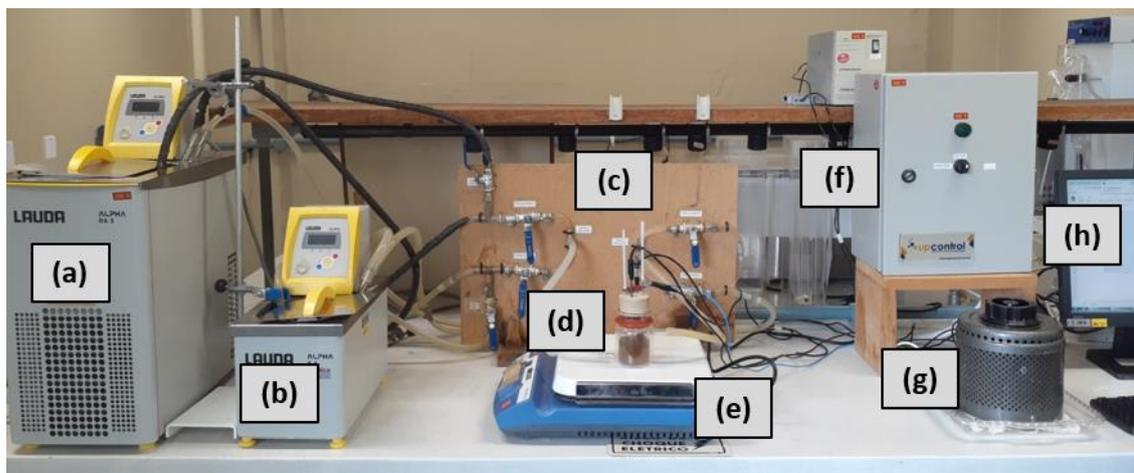


Figura 6: Aparato do AO utilizado nos experimentos.

3.1.4 Tratamentos térmicos aplicados

Para realização dos experimentos aplicando o AC, utilizou-se os dois banhos demonstrados na Figura 6 para aquecimento do sistema. O banho **b** foi ajustado na temperatura de 99°C para todos os experimentos (tanto de AO, quanto de AC) e foi o responsável por aquecer o produto até a temperatura de processo em todos cenários previstos no planejamento experimental. O banho **a** foi ajustado de tal forma a manter a amostra na temperatura de processo. Dessa forma, o processo pode ser dividido em 3 etapas:

- i) aquecimento do produto até a temperatura de processo pelo banho **b**;
- ii) acionamento da válvula de *by-pass* para o banho **b** e ativação do banho **a**;
- iii) manutenção do produto na temperatura de processo pelo banho **a**.

Alíquotas de 2 mL de amostra foram retiradas em períodos de tempo pré-determinados para cada temperatura em testes prévios à realização de cada experimento. Cabe salientar que, como as amostras foram retiradas do produto enquanto esse era mantido na temperatura de processo, uma adicional taxa de inativação pode ter ocorrido durante o resfriamento da amostra. Para minimizar esses efeitos, as amostras foram imediatamente submersas em banho-maria mantido a 5°C. Como a quantidade de amostra retirada foi pequena e o gradiente de temperatura entre o banho-maria e o processo era alto, entende-se que resfriamento ocorreu de forma rápida, minimizando os efeitos adicionais de inativação durante o resfriamento.

A realização dos experimentos utilizando o AO deu-se de forma diferente. Similarmente ao AC, o banho **b** foi ajustado à temperatura de 99°C e foi responsável por

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

aquecer o produto. Ao chegar na temperatura de processo, o aparato de AO foi ativado e uma tensão de 100 ± 5 V foi aplicada na amostra. Entretanto, diferentemente do AC, no AO não existe um limite de temperatura que possa ser atingido, de forma que, se a energia cedida pelo aparato ôhmico não for retirada de alguma forma, o produto continuará sendo aquecido até evaporação. Para evitar isso, o banho **a** foi ajustado a baixas temperaturas de forma a retirar o calor gerado pelo AO. Dessa forma, a pasteurização por AO pode ser resumida da seguinte forma:

- i) aquecimento do produto até a temperatura do processo pelo banho **b**;
- ii) acionamento da válvula de *by-pass* para o banho **b**, ativação do banho **a** e do variador de tensão na condição previamente descrita;
- iii) manutenção do produto na temperatura do processo a partir do calor gerado por efeito Joule e perda provocada pelo banho **a**.

A célula utilizada para realização dos experimentos de aquecimento convencional e ôhmica é mostrada na Figura 7. Os eletrodos utilizados eram curvados e a distância média entre eles foi de 5 cm, de forma que a média do campo elétrico aplicado foi de, aproximadamente, 20 ± 1 V/cm.



Figura 7: Célula ôhmica utilizada durante os experimentos cinéticos.

Somavat et al. (2012) indicam uma série de boas práticas que devem ser seguidas de forma a realizar uma comparação entre ambas formas de processamento. Na sequência, serão listadas as colocações dos autores e como a presente dissertação atuou de forma a diminuir tais erros.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

- *Falta de homogeneidade no aquecimento, que pode ser provocada, por exemplo, por correntes de convecção natural no produto ou diferenças entre a câmara de tratamento e o meio ao redor* – para assegurar que o aquecimento fosse homogêneo, diminuindo assim ao máximo possível os gradientes de temperatura internos, o agitador magnético foi utilizado no nível de agitação 5 (aproximadamente 1.200 rpm). Dessa forma, parcelas mais frias do produto eram continuamente misturadas com parcelas mais quentes, diminuindo os gradientes de temperatura. Para assegurar o cumprimento dessa condição, um termopar foi inserido perto de zonas onde são esperadas maiores temperaturas (próximo a parede no caso do AC e próximo aos eletrodos no caso do AO) e outro próximo ao centro geométrico da célula. A Figura 8 mostra as curvas de ambos termopares na temperatura de 75°C para o AC e AO. Adicionalmente, a agitação vigorosa ajuda a diminuir o número de microrganismos que podem sofrer menor tratamento por se aderirem a superfícies passíveis de menor temperatura (como as paredes da célula no caso do AO).

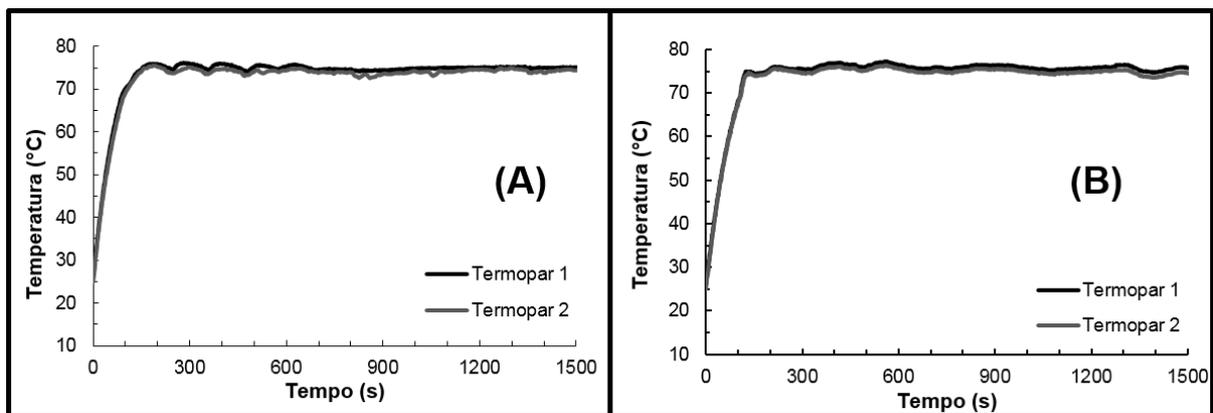


Figura 8: Perfil de evolução de temperatura a 75°C utilizando dois termopares distintos no (A) aquecimento convencional e (B) aquecimento ôhmico.

- *Os históricos de temperatura durante o AC e durante o AO são essencialmente diferentes e assegurar que tais históricos sejam semelhantes é de vital importância para comparações de ambos processos de inativação* – essa possivelmente é uma das condições mais críticas a serem cumpridas em trabalhos comparando o AC e o AO. Para assegurar que os perfis de aquecimento fossem similares, a amostra foi aquecida pelo banho **b** a 99°C independentemente do processo aplicado. Isso fez com que as duas curvas fossem muito parecidas, desde que a temperatura de processo fosse

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

mantida constante. A Figura 9 mostra as curvas relativas ao AC e ao AO para as temperaturas analisadas.

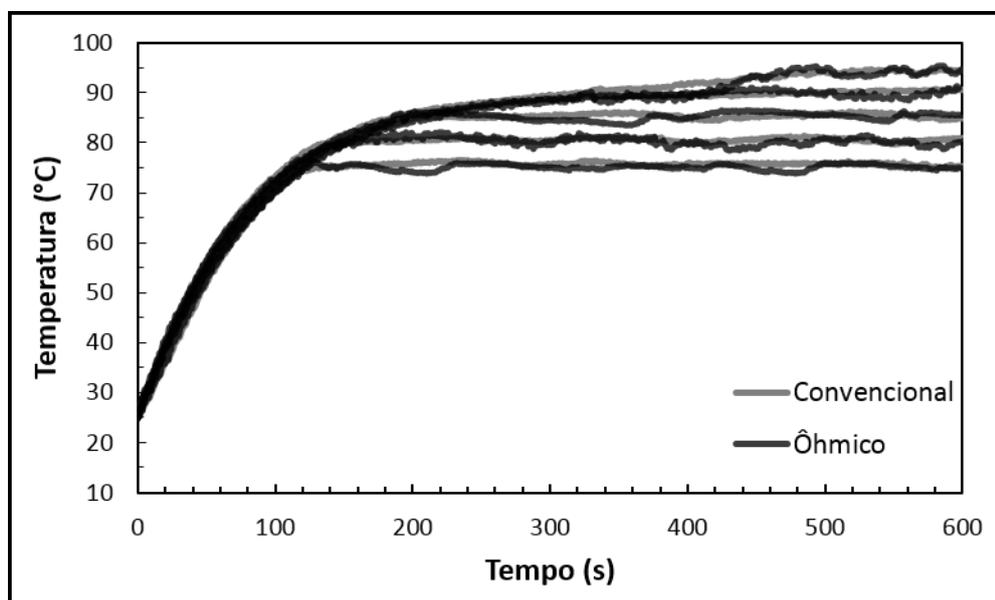


Figura 9: Perfis de aquecimento para AC e AO.

Adicionalmente, os autores atentam ao fato de que as temperaturas iniciais de análise, o tempo de preparação e retirada de amostras devem ser similares. Tais cuidados também foram tomados de forma a assegurar a comparação nas condições mais próximas possíveis.

Após o tratamento térmico, as amostras retiradas foram diluídas e emplacadas em ágar MEA. As placas de Petri foram cobertas com papel filme (para evitar contaminações do ambiente externo e perda de umidade) e armazenadas a 25°C por 6 dias. Transcorrido esse período de tempo, enumerou-se a concentração de esporos por contagem a olho nu.

3.1.5 Modelagem cinética

Os dados experimentais obtidos foram plotados em função do tempo em cada uma das temperaturas analisadas. Em cada temperatura, o experimento foi realizado em triplicata e no mínimo duas placas foram analisadas em cada ponto experimental. Os modelos log-linear (Eq. 4) e Weibull (Eq. 6) foram ajustados separadamente à cada uma das curvas experimentais. De início, testou-se também o modelo *shoulder tail*, que mostrou resultados inferiores e custosos devido a seu parâmetro adicional. O modelo log-linear foi ajustado utilizando o software Microsoft Excel 2013. Já o modelo de Weibull foi ajustado utilizando uma função interna de ajuste não linear *lsqnonlin* do software Matlab 2012b (Mathworks). A

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

avaliação da performance do modelo foi realizada por meio da aplicação dos índices estatísticos *Residual Sum of Squares* (RSS, Eq. 22), *Root Mean Square Error* (RMSE, Eq. 23) e *Bayesian information criteria* (BIC, Eq. 24), sugeridos por McKellar e Lu (2003), Moreno et al. (20015) e Deng e Paredes-Sabja (2018). O índice R^2 , tipicamente utilizado para avaliação de ajustes de modelos, não foi analisado uma vez que McKellar e Lu (2003) mostram que ele não é apropriado para mensuração da performance de modelos provenientes de equações não-lineares.

$$RSS = \sum_1^n (S_{EXP} - S_{PRED})^2 \quad (\text{Eq. 22})$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_1^n (S_{EXP} - S_{PRED})^2}{n_p}} \quad (\text{Eq. 23})$$

$$BIC = n_p \ln\left(\frac{RSS}{n_p}\right) + p \ln(n_p) \quad (\text{Eq. 24})$$

onde S_{EXP} e S_{PRED} são os resultados observados experimentalmente e preditos pelo modelo, respectivamente, n_p é o número de pontos experimentais e p é o número de parâmetros. Os índices RSS e RMSE medem a discrepância entre os dados experimentais e preditos e, quanto mais próximos de 0, mais exatos são os modelos. Já o índice BIC aplica uma penalidade para modelos com mais parâmetros e, quanto menor seu valor, melhor o modelo. O cálculo dos índices estatísticos foi realizado utilizando o Microsoft Excel 2013. Um teste de ANOVA (p-valor < 0,05) foi realizado de forma a verificar se os parâmetros eram dependentes da temperatura e do tipo de processo empregado (AC ou AO).

Para descrição da dependência dos parâmetros com a temperatura, os modelos de Bigelow (Eq. 8), log-logístico (Eq. 10) e de Mafart (Eq. 11) (modelos secundários) foram ajustados aos parâmetros obtidos nos seus respectivos modelos primários (log-linear e Weibull). O modelo de Bigelow e de Mafart foram ajustados utilizando o Microsoft Excel 2013 e o modelo log-logístico utilizando a mesma função interna do Matlab 2012b. Novamente os índices RSS, RMSE e BIC foram utilizados.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

3.1.6 Validação do modelo cinético

O modelo cinético obtido no item 3.1.5 foi validado em condições diferentes daquelas testadas na etapa de modelagem. Dessa forma, dois experimentos adicionais foram realizados em temperaturas distintas (83 e 92°C) de forma a verificar se o modelo seria apto a prever perfis de inativação em condições diferentes das analisadas para sua elaboração. Para quantificar a capacidade do modelo, os índices *bias factor* (BIAS, Eq. 25) e *accuracy fator* (AF, Eq. 26) foram utilizados.

$$BIAS = 10^{\frac{\sum_{i=1}^n S_{PRED} - S_{EXP}}{n}} \quad (\text{Eq. 25})$$

$$AF = 10^{\frac{\sum_{i=1}^n |S_{PRED} - S_{EXP}|}{n}} \quad (\text{Eq. 26})$$

Ambos os índices são indicadores de desvios entre os valores preditos e experimentais e, quanto mais próximos a 1, melhor o modelo. Adicionalmente, o índice BIAS é capaz de prever informações referentes aos erros associados às predições: valores maiores e menores do que 1 indicam que o modelo superestima ou subestima os dados experimentais, respectivamente.

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.1 Propriedades físico-químicas do suco de maçã

A Tabela 3 apresenta os resultados referentes às propriedades físico-químicas do suco de maçã utilizado durante os experimentos.

Tabela 3: Propriedades físico-químicas do suco de maçã analisado.

Propriedade	Valor
Umidade em base úmida (g/100 g)	88,5 ± 0,1
Sólidos solúveis (°Brix)	12,8 ± 0,1
pH	3,7 ± 0,1
Atividade de água	0,963 ± 0,001

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Possivelmente, dentre todos constituintes, a água é aquela que possui maior influência nas propriedades do alimento, uma vez que altera substancialmente as variáveis do processo, as características do produto e a sua estabilidade. Nesse contexto, o teor de umidade indica a quantidade de água total do produto. Entretanto, o valor da umidade por si não é suficiente para prever a estabilidade de alimentos pois parte substancial da água presente pode estar ligada e indisponível. A atividade de água reflete a quantidade de água livre para reações microbiológicas, enzimáticas e químicas (FELLOWS, 2016). Segundo Pitt e Hocking (2009), a atividade de água é o fator mais relevante para estabilidade de produtos alimentícios em diversas situações, e o fato de fungos conseguirem se adequar a ambientes com valor de até 0,9 demonstra esquemas evolutivos complexos de adaptação a tais ambientes.

O alto valor de atividade de água da amostra analisada indica que o meio tem alto potencial para ser contaminado por microrganismos, sendo essa faixa adequada para o crescimento de bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Assim, a determinação dos microrganismos mais relevantes no meio depende fortemente da interação entre o valor da atividade de água com outras variáveis, principalmente o pH da amostra.

Espera-se que o pH de sucos de frutas seja relativamente baixo (com seu valor variando, usualmente, de 3 a 5) devido à alta quantidade de ácidos orgânicos presentes nesses produtos (AMIN et al., 2018). Dessa forma, a contaminação microbiológica de sucos tende a acontecer predominantemente por fungos, uma vez que tais microrganismos se adaptam mais flexivelmente, em comparação com a maioria das espécies bacterianas, a ambientes com baixo pH. Em adição, pode-se citar que o crescimento de algumas bactérias com inclinação a ambientes ácidos (acidófilas) também pode ser um problema no que se refere a contaminações de sucos de maçã (KIM et al., 2017). Neste contexto, é possível concluir que o suco de maçã analisado pode ser potencialmente contaminado principalmente por fungos e por algumas espécies de bactérias acidófilas uma vez que apresenta baixo pH.

Com relação ao teor de sólidos solúveis, observa-se que o valor da amostra se encontra acima do valor mínimo estabelecido pela legislação vigente (10,5°Brix), conforme valores da Tabela 1. Santos et al. (2016) citam que fatores como o clima, pluviosidade no cultivo e adição de água durante o processo podem ter efeito sobre o valor de sólidos solúveis em sucos. Segundo Karadeniz e Eksi (2002), os maiores responsáveis pelo teor de sólidos solúveis de sucos de maçã são a glicose, a frutose e a sacarose. Gabriel (2012) estudou a inativação de *Escherichia coli* em meio líquido em função da temperatura, pH e sólidos solúveis; os autores encontraram aumentos no valor *D* ao se aumentar o valor de sólidos

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

solúveis até 55°Brix, dependendo do pH aplicado. Em meios não ácidos, as moléculas de sacarose tendem a não se hidrolisar e formam uma espécie de barreira em torno do microrganismo, prevenindo a perda de componentes celulares. Já moléculas hidrolizadas, como por exemplo a glucose e a frutose, não parecem conferir proteção adicional à inativação térmica, justificando a diminuição dos efeitos em meios ácidos.

Em adição, o teor de sólidos solúveis tem efeito direto na taxa de aquecimento ôhmico, uma vez que afeta a condutividade elétrica da amostra. Moura et al. (1999) demonstraram que, para sucos de abacaxi, limão e tangerina, a condutividade elétrica das amostras aumentou até aproximadamente 30°Brix; valores maiores tiveram efeito oposto. Dessa forma, tanto para questões cinéticas quanto térmicas, o efeito do teor de sólidos solúveis é amplamente dependente da composição do meio e tamanho das moléculas.

A partir das propriedades físico-química elencadas, confirma-se que o meio analisado pode ser potencialmente contaminado por fungos.

3.2.2 Comparação dos parâmetros de inativação

A Figura 10 mostra as curvas da cinética de inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* obtidas experimentalmente e pelos modelos log-linear e de Weibull, para os aquecimentos convencional e ôhmico.

Observa-se que o número de células microbianas diminui em função do tempo, demonstrando que o uso das temperaturas selecionadas provocou inativação dos esporos em ambos os processos. Conforme descrito na subseção de materiais e métodos, a concentração inicial de microrganismos presentes no meio foi de 2×10^5 esporos/ml (antes do aquecimento do produto). Entretanto, em nenhum dos experimentos foi visualizada a inativação de 5 ciclos logarítmicos ao fim do processo, apesar da contagem inicial de esporos indicar a possibilidade desse feito, possivelmente devido à inativação de uma subpopulação de esporos menos termorresistentes durante a rampa de aquecimento. Nesse contexto, no tempo inicial de análise a concentração de esporos no suco já era menor que a inoculada no início do experimento. Na realidade, conforme comentado anteriormente, a inoculação dos fungos nas temperaturas de 90 e 94°C teve de ser realizada minutos antes da temperatura de análise ser atingida e não antes do início do aquecimento, como nas temperaturas de 75, 80 e 85°C. Isso indica um efeito considerável da rampa de aquecimento na taxa de inativação, agravado pelos altos tempos de aquecimento necessários para aquecer a amostra até 90 e 94°C. Em adição, as

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

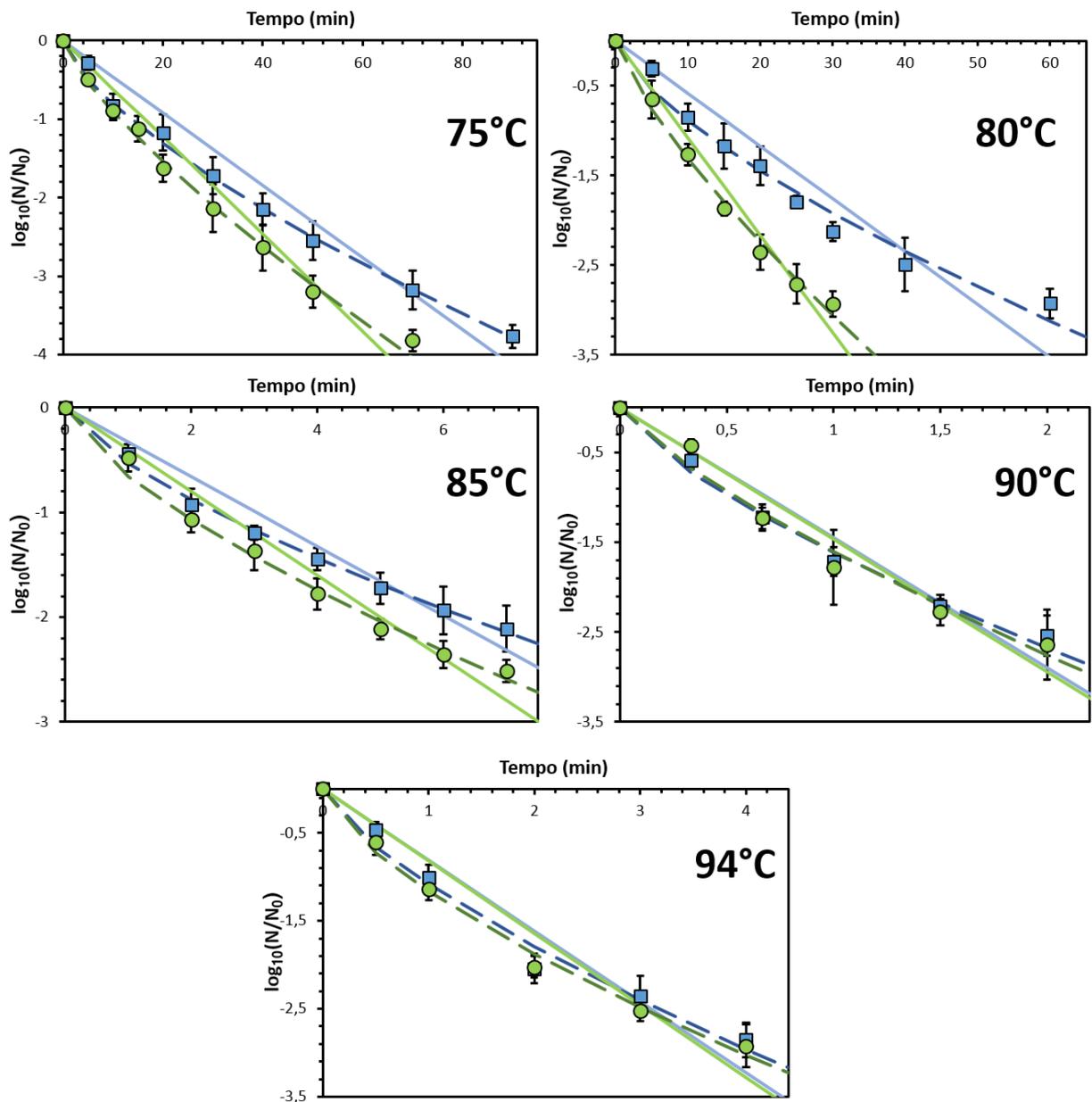


Figura 10: Cinética de inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* no suco de maçã em função da temperatura. Na Figura, \square são os dados referentes ao AC, \bullet são os dados referentes ao AO, --- é o modelo log-linear aplicado ao AC, - - - é o modelo de Weibull aplicado ao AC, --- é o modelo log-linear aplicado ao AO e - - - é o modelo de Weibull aplicado ao AO.

curvas mostradas na Figura 10 mostram um comportamento não-linear dos dados, com uma concavidade voltada para baixo em todos cenários analisados; isso indica que a taxa de inativação é maior no início do processo, mas diminui com o passar do tempo, demonstrando que as células restantes tenderam a se adaptar ao ambiente adverso ao qual foram submetidas.

Diferenças qualitativas podem ser observadas nas três menores temperaturas de análise, indicando que as diferenças entre os processos são mais expressivas a 75, 80 e 85°C.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Conforme discutido no Capítulo 2, quando o calor é cedido por AC, os fenômenos de inativação são decorrentes da desnaturação de enzimas necessárias ao metabolismo da célula microbiana. Adicionalmente, podem ocorrer em menor escala danos diretos ao ácido nucleico e rompimento da parede celular. Os efeitos adicionais do AO são atribuídos usualmente ao fenômeno de eletroporação das células, também conhecido por eletropermeabilização. Nesse sentido, a presença de um campo elétrico gerado por uma corrente alternada provoca a movimentação dos íons intracelulares em direção a carga extracelular contrária à sua. Dessa forma, íons intracelulares negativos são atraídos em direção a carga extracelular positiva, e vice-versa, provocando um potencial transmembrana na célula. Se o valor desse potencial for maior do que um limite crítico, ocorre o rompimento da célula, o que causa um dano adicional de inativação.

Somavat et al. (2012) e Somavat et al. (2013) demonstraram que, uma vez que esporos bacterianos têm estruturas diferentes das bactérias vegetativas, a eletroporação não constitui uma explicação plausível para a existência de efeitos não-térmicos nesses casos. Schottroff et al. (2019) realizaram um estudo pioneiro com esporos da bactéria *Bacillus subtilis* e de mutantes dessa espécie com ausência de componentes conhecidos por estarem atrelados a termorresistência desses esporos. Os autores demonstraram que o efeito mais pronunciado do campo elétrico se deu no núcleo do esporo, e não nas camadas mais externas da célula.

O estudo da inativação de esporos de fungos termorresistentes ainda é um assunto relativamente pouco abordado na literatura. Alguns trabalhos demonstram taxas de inativação médias de todas as espécies fúngicas presentes no meio (e.g., Leizeron e Shimoni (2005) e Kumar et al. (2014)), o que não provê parâmetros cinéticos para compreensão das particularidades das diferentes espécies. Yildiz e Baysal (2006) estudaram a inativação de *Aspergillus niger* por AO em diferentes campos elétricos. Embora os autores não tenham equalizado os perfis de temperatura, condição crítica para ser cumprida em ensaios microbiológicos, os autores demonstraram que maiores campos elétricos resultam em menores tempos de processamento. A discussão sobre os efeitos não-térmicos feita por Yildiz e Baysal (2006) foi realizada a partir de comparações com trabalhos analisando leveduras, que demonstraram lise de membrana e expelimento de material intracelular, indicando o fenômeno de eletroporação. Entretanto, em todos trabalhos analisados, não foi possível identificar alguma análise específica sobre fungos filamentosos e, particularmente, sobre espécies capazes de produzir ascósporos.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Os modelos log-linear e de Weibull possuem abordagens distintas, portanto, a discussão dos parâmetros de cada um dos modelos será realizada separadamente. A Tabela 4 mostra os valores do parâmetro D (do modelo log-linear) em todas as temperaturas analisadas.

Tabela 4: Valores de D (min) em função da temperatura para inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã.

	75°C	80°C	85°C	90°C	94°C
<i>Ôhmico</i>	16,2 ± 0,8 ^{aA}	9,2 ± 2,0 ^{aB}	2,52 ± 0,2 ^{aC}	1,22 ± 0,03 ^{aD}	0,68 ± 0,02 ^{aE}
<i>Convencional</i>	21,7 ± 1,3 ^{bA}	17,0 ± 0,7 ^{bB}	3,02 ± 0,3 ^{bC}	1,24 ± 0,03 ^{aD}	0,69 ± 0,04 ^{aE}

*Valores diferentes de letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ôhmico e convencional para uma mesma temperatura e valores diferentes de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre temperaturas para um mesmo tratamento.

Conforme pode ser observado, quanto maior a temperatura analisada, menor o tempo de redução decimal em todos cenários analisados. Isso acontece pois, quanto mais alta a temperatura, menor o tempo necessário para a redução de 90% das espécies microbianas presentes no meio devido à potencialização do efeito da temperatura nas células microbianas. Observa-se que o valor do parâmetro variou entre 16,22 e 0,68 min no AO e entre 21,71 e 0,69 min no AC.

Valores significativamente diferentes de inativação entre os tipos de tratamentos foram observados nas três menores temperaturas analisadas (75, 80 e 85°C), indicando a existência de efeitos não-térmicos nesses cenários. Nas maiores temperaturas analisadas, não foram observadas diferenças significativas, o que sugere que os efeitos não-térmicos tenham sido ofuscados pelos efeitos térmicos. Esse mesmo comportamento já foi mostrado anteriormente na literatura. Rodrigues et al. (2018) demonstraram que as células de *Escherichia coli* tiveram valores D significativamente diferentes apenas na menor das temperaturas analisadas (57,5°C), enquanto nas temperaturas de 60, 62,5 e 65°C nenhuma diferença foi observada. Somavat et al. (2013) demonstraram valores D diferentes dependendo da frequência aplicada a 95, 100, 105 °C, enquanto valores estatisticamente iguais foram encontrados a 110°C para análise da inativação de esporos de *Bacillus coagulans* em suco de tomate. Resultados similares de taxas de inativação estatisticamente iguais em altas temperaturas foram também observados por Somavat et al. (2012) e Tola e Ramaswamy (2014). Pode-se ressaltar, no entanto, que a temperatura na qual as taxas de inativação não divergem estatisticamente parece ser amplamente dependente do microrganismo analisado e do meio. No exemplo da *Escherichia coli*, temperaturas de 60°C já demonstraram igualdade nas taxas de inativação,

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

enquanto que, dos esporos de *Bacillus coagulans*, apenas em 110°C as taxas foram estatisticamente iguais.

Conforme discutido anteriormente, a escassez de dados de AO para diferentes espécies fúngicas torna difícil a comparação dos dados obtidos nesse trabalho com dados previamente publicados. Dijksterhuis (2007) apresenta um sumário de valores *D* para algumas espécies de fungos termorresistentes em suco de maçã tratados convencionalmente. Nesse contexto, o autor demonstra que esporos de *Neosartorya fisheri* e de *Talaromyces flavus* apresentam valores *D* de 13,2 min a 85°C e 7,8 min a 88°C, respectivamente. Os valores encontrados nessa dissertação, nas temperaturas próximas as citadas pelo autor, são inferiores aos das duas espécies citadas (3,02 min a 85°C e 1,24 min a 90°C), indicando que as células de *Aspergillus fumigatus* são menos termorresistentes que os esporos analisados, quando presentes em sucos de maçã. Pode-se ressaltar, entretanto, que mesmo que todos estudos tenham analisado suco de maçã, a composição centesimal e as variáveis físico-químicas relevantes podem ter efeito no tempo de redução decimal, alterando as diferenças citadas. Santos et al. (2018) demonstraram que a espécie *Aspergillus fumigatus* foi encontrada em 30,5% das amostras e 73,8% das bateladas analisadas de purê de maçã e Aneja et al (2014) declaram que *A. fumigatus* é um dos fungos mais comumente isolados em sucos de frutas. Dessa forma, embora a sua inativação pareça ocorrer de forma mais rápida em comparação com outras espécies de fungos, a ampla difusão ambiental desse fungo o torna um microrganismo passível de estudo para elaboração de processos mais seguros.

As Tabelas 5 e 6 mostram os valores dos parâmetros *b* e *n* do modelo de Weibull nos cenários analisados.

Tabela 5: Valores de *b* (min⁻¹) em função da temperatura para inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã.

	75°C	80°C	85°C	90°C	94°C
<i>Ôhmico</i>	0,357 ± 0,07 ^{aA}	0,514 ± 0,03 ^{aB}	1,513 ± 0,13 ^{aC}	2,687 ± 0,3 ^{aD}	3,699 ± 0,1 ^{aE}
<i>Convencional</i>	0,370 ± 0,03 ^{aA}	0,408 ± 0,05 ^{bB}	1,232 ± 0,09 ^{bC}	2,499 ± 0,4 ^{aD}	3,713 ± 0,3 ^{aE}

*Valores diferentes de letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ôhmico e convencional para uma mesma temperatura e valores diferentes de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre temperaturas para um mesmo tratamento.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Tabela 6: Valores de n em função da temperatura para inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã.

	75°C	80°C	85°C	90°C	94°C
<i>Ôhmico</i>	0,767 ± 0,04 ^{aA}	0,770 ± 0,01 ^{aA}	0,705 ± 0,03 ^{aA}	0,687 ± 0,1 ^{aA}	0,870 ± 0,04 ^{aA}
<i>Convencional</i>	0,702 ± 0,01 ^{bA}	0,701 ± 0,03 ^{bA}	0,714 ± 0,07 ^{aA}	0,724 ± 0,1 ^{aA}	0,732 ± 0,05 ^{aA}

*Valores diferentes de letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ôhmico e convencional para uma mesma temperatura e valores diferentes de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre temperaturas para um mesmo tratamento.

De forma geral, associa-se os valores do parâmetro b à taxa de decaimento de células microbianas enquanto o parâmetro n está associado à curvatura do modelo. Os valores de $n < 1$ observados indicam a existência de uma concavidade voltada para baixo nas curvas de inativação, que pode ser observada na Figura 10.

Observam-se valores distintos de b nas temperaturas de 80 e 85°C entre os tratamentos, enquanto que o parâmetro n apresentou valores estatisticamente diferentes nas temperaturas de 75 e 80°C. Esses resultados indicam que taxas similares de inativação são observadas a 75°C, embora com curvaturas distintas. A análise da Figura 10 mostra um comportamento claramente divergente associado a uma inativação mais rápida do AO nessa temperatura. No presente trabalho, os parâmetros do modelo de Weibull foram obtidos por uma função de otimização utilizando a função interna *lsqnonlin* do Matlab 2012b. Dessa forma, os parâmetros obtidos não possuem, necessariamente, significado físico. Peleg (2006) cita que uma das maiores vantagens associada ao modelo de Weibull é o fato de ele não ter que, necessariamente, fazer sentido biológico, fazendo com que seja mais efetivo para demonstrar os comportamentos associados às espécies microbianas em uma ampla gama de casos. Testes adicionais demonstraram que, caso o parâmetro n fosse igualado para ambos processos a 75°C, valores estatisticamente diferentes de b seriam observados. Considerando as outras temperaturas, ao se igualar o parâmetro n , nenhuma diferença foi visualizada em b . O FDA indica uma redução de 5 ciclos logarítmicos com relação a alguma espécie de microrganismo chave para a pasteurização de sucos. A Tabela 7 mostra esse tempo nas 5 temperaturas de análise, para o AC e AO, considerando as predições do modelo de Weibull.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Tabela 7: Tempo (min) previsto pelo modelo de Weibull para a redução de 5 ciclos logarítmicos do fungo *A. fumigatus*.

	75°C	80°C	85°C	90°C	94°C
<i>Tempo AO (min)</i>	92,6	56,7	17,8	8,3	3,7
<i>Tempo AC (min)</i>	133,9	117,3	22,9	8,2	4,7

Observa-se que, nas temperaturas em que os parâmetros divergiram estatisticamente (75, 80 e 85°C), tempos consideravelmente mais curtos de processo foram obtidos, devido aos efeitos não-térmicos previamente discutidos. Dessa forma, mesmo desconsiderando suas vantagens térmicas, o AO ainda poderia resultar em tempos de processamento consideravelmente mais curtos do que o AC, melhorando potencialmente a segurança de processos.

Um teste ANOVA ($p < 0.05$) foi utilizado para determinar a dependência dos parâmetros com relação à temperatura. Observou-se dependência dos parâmetros b e D ; o parâmetro n foi independente da temperatura em ambos os processos e, dessa forma, a média dos valores obtidos será utilizada nessa dissertação (valores de 0,742 e 0,715 para AO e AC, respectivamente). Mafart et al. (2002) sugerem que os valores de b obtidos no modelo podem ser reavaliados para um valor de n médio para melhorar a estabilidade da estimação desse parâmetro pelo modelo secundário, procedimento adotado nessa dissertação. Dessa forma, o ajuste dos modelos secundários foi realizado em relação a esses parâmetros reobtidos.

A Tabela 7 apresenta os valores dos parâmetros dos modelos de Bigelow (relacionado ao modelo log-linear) e dos modelos log-logístico e Mafart (relacionados ao modelo de Weibull). Nos modelos de Bigelow e Mafart, utilizou-se como temperatura de referência 75°C. Os valores de D médios nessa temperatura foram 21,69 e 16,2 min para AC e AO, respectivamente. Os valores de b médios foram 0,354 e 0,388 min^{-1} para AC e AO, respectivamente

Tabela 8: Parâmetros dos modelos secundários analisados.

	Bigelow	Log-logístico	Mafart	
	z (°C)	a (°C ⁻¹)	T_c (°C)	w (°C)
<i>Ôhmico</i>	13,6 ± 0,2 ^a	0,276 ± 0,01 ^a	80,8 ± 0,3 ^a	19,0 ± 0,4 ^a
<i>Convencional</i>	12,7 ± 0,2 ^b	0,306 ± 0,01 ^b	81,9 ± 0,2 ^b	18,7 ± 0,3 ^a

*Valores diferentes indicam diferenças significativas entre tratamentos.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Observa-se que o valor do parâmetro z é maior no AO, o que indica que maiores incrementos de temperatura são necessários para modificar o valor do parâmetro D . Possivelmente tal comportamento é decorrente dos efeitos não-térmicos, que provocaram taxas maiores de inativação nas temperaturas menores e que tiveram seu efeito reduzido em temperaturas inferiores. Dessa forma, nas baixas temperaturas, quando maiores valores de D seriam esperados, valores um pouco diferentes foram obtidos devido à existência de fenômenos de inativação não-térmicos. Valores maiores do parâmetro z no AO também foram encontrados por Rodrigues et al. (2018) e Pereira et al. (2007).

No que se refere ao modelo log-logístico, o parâmetro T_c indica uma temperatura teórica na qual o valor de b tende a começar a crescer mais acentuadamente. Observa-se que um maior valor é demonstrado no AC em comparação ao AO, indicando que a taxa de inativação tende a começar a aumentar antes no AO. Pode-se ressaltar que esse parâmetro não deve ser entendido literalmente, uma vez que taxas de inativação significativas foram encontradas mesmo abaixo dos valores obtidos (nas temperaturas de 75 e 80°C).

3.2.3 Seleção do modelo cinético

Nessa subseção os modelos obtidos no item anterior serão comparados frente aos índices estatísticos definidos na seção de metodologia. Na Tabela 9 os índices estatísticos com relação aos modelos primários são elencados para as temperaturas utilizadas.

Conforme já discutido, tanto os parâmetros RSS quanto o RMSE são melhores quanto mais próximos a zero. Nesse contexto, o modelo de Weibull demonstrou ser o melhor modelo em todas temperaturas analisadas para ambos tipos os de processamento. Ainda, especial atenção pode ser dada ao índice BIC, uma vez que ele aplica penalidades a modelos com mais parâmetros e, quanto menor seu valor, melhor o modelo. Observa-se que, mesmo com a penalidade aplicada a seu parâmetro extra, o modelo de Weibull é aquele que melhor descreve os dados experimentais.

A Tabela 10 mostra os índices estatísticos com relação aos parâmetros obtidos no modelo secundário. Optou-se por utilizar o logaritmo do valor dos parâmetros ao quantificar a performance dos modelos pelos índices. De outro modo, como os valores de D são substancialmente maiores em módulo, maiores resíduos seriam observados não necessariamente atrelados a uma melhor descrição do modelo.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Tabela 9: Índices estatísticos referentes à aplicação dos modelos primários para as cinéticas de AO e AC.

Temperatura (°C)	AO					
	Log-linear			Weibull		
	RSS	RMSE	BIC	RSS	RMSE	BIC
75	0,841 ± 0,44	0,297 ± 0,09	-20,20 ± 5,7	0,273 ± 0,14	0,170 ± 0,04	-27,9 ± 4,7
80	0,291 ± 0,04	0,204 ± 0,01	-20,36 ± 1,0	0,102 ± 0,03	0,120 ± 0,02	-25,9 ± 2,2
85	0,327 ± 0,22	0,195 ± 0,06	-24,64 ± 5,1	0,142 ± 0,08	0,130 ± 0,04	-28,9 ± 4,4
90	0,470 ± 0,26	0,273 ± 0,07	-14,1 ± 3,1	0,099 ± 0,07	0,119 ± 0,06	-23,4 ± 7,7
94	0,285 ± 0,09	0,216 ± 0,04	-16,7 ± 1,9	0,145 ± 0,05	0,154 ± 0,03	-19,0 ± 2,0

Temperatura (°C)	AC					
	Log-linear			Weibull		
	RSS	RMSE	BIC	RSS	RMSE	BIC
75	0,824 ± 0,42	0,294 ± 0,08	-20,39 ± 5,8	0,269 ± 0,14	0,169 ± 0,04	-27,9 ± 4,3
80	0,903 ± 0,11	0,316 ± 0,02	-18,53 ± 1,1	0,152 ± 0,12	0,158 ± 0,07	-30,1 ± 8,9
85	0,285 ± 0,06	0,200 ± 0,02	-20,58 ± 1,6	0,112 ± 0,07	0,121 ± 0,04	-26,3 ± 5,6
90	0,451 ± 0,22	0,267 ± 0,08	-14,40 ± 3,7	0,205 ± 0,03	0,184 ± 0,01	-16,7 ± 0,8
94	0,318 ± 0,14	0,225 ± 0,06	-16,37± 3,3	0,121 ± 0,10	0,189 ± 0,03	-21,2 ± 5,0

Tabela 10: Índices referentes a aplicação do modelo primário

	AO			AC		
	Bigelow	Log-logístico	Mafart	Bigelow	Log-logístico	Mafart
RSS	0,021	0,106	0,012	0,092	0,244	0,052
RMSE	0,065	0,146	0,051	0,136	0,220	0,101
BIC	-25,6	-16,0	-28,2	-18,4	-11,9	-21,2

Observam-se resíduos maiores no modelo log-logístico, seguido pelos modelos de Bigelow e Mafart et al. (2012). Para entendimento desses desvios, os parâmetros obtidos experimentalmente foram comparados com os parâmetros obtidos pelo modelo secundário e os resultados estão apresentados na Figura 11.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

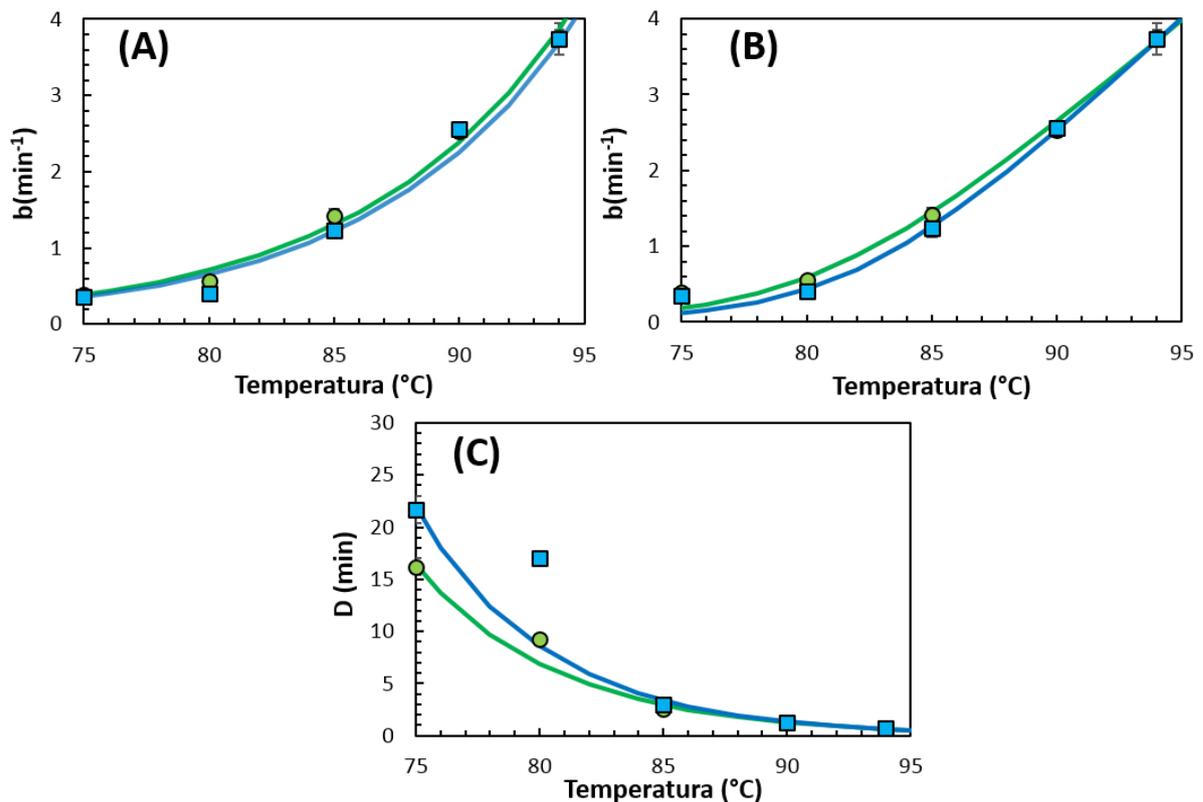


Figura 11: Descrição da dependência do parâmetro b com a temperatura pelo modelo de Mafart (A) e pelo modelo log-logístico (B); descrição da dependência de D com a temperatura pelo modelo de Bigelow (C). Na Figura, \blacksquare são os parâmetros referentes ao AC, \bullet são os parâmetros referentes ao AO, --- são os modelos para descrição dos parâmetros do AC e --- são os modelos para descrição dos parâmetros do AO.

Observa-se que todos os três modelos descreveram bem o comportamento das variáveis, o que também pode ser visualizado pelos baixos erros observados na análise. Qualitativamente, os resultados do modelo log-logístico parecem ser mais próximos aos valores obtidos experimentalmente em comparação com os modelos de Bigelow e Mafart. Entretanto, o desvio a 75°C demonstra ter efeitos severos na predição do tempo de processamento nesse ponto, embora isso não seja visualizado graficamente em virtude da baixa escala assumida pelo valor de b nessa condição. Entretanto, realizando os cálculos, a estimação do modelo resultaria em tempos de processo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de 331,1 e 267,7 min para AC e AO, respectivamente, enquanto que os dados experimentais sugerem que o tempo real de processo seria de 130,6 e 96,6 min. Isso justifica o pior desempenho desse parâmetro frente aos índices estatísticos levantados.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Os valores de n menores que 1 em todos cenários e processos indicam que o modelo logaritmo-linear acoplado com o modelo de Bigelow resultaria em sub-processamento do produto (erro do tipo I, falso positivo, considerar o produto seguro quando ele não é). Em trabalhos de microbiologia, o superprocessamento de um produto (erro do tipo II, falso negativo, considerar o produto não-seguro mesmo ele sendo) é mais aconselhável, uma vez que é preferível assegurar a segurança do produto às custas de um processo mais longo do que utilizar processos mais curtos e comprometer a segurança do produto e do consumidor (DING et al., 2010). Devido a isso, somado ao fato dos melhores índices estatísticos residirem no modelo de Weibull, mesmo o modelo de Bigelow mostrando valores de RSS e RMSE próximos ao modelo de Mafart, optou-se por não utilizar o modelo log-linear nas etapas subsequentes.

Diante dos resultados observados, o modelo de Weibull acoplado com o modelo secundário proposto por Mafart et al. (2012) foi selecionado para modelar a taxa de inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã.

3.2.4 Validação do modelo

O modelo selecionado no item 3.2.3 foi aplicado a duas temperaturas distintas (83 e 92°C), não utilizadas para modelagem, de forma a verificar se os resultados obtidos poderiam ser extrapolados para outras temperaturas dentro da faixa de análise. A Figura 12 mostra as curvas obtidas nesses pontos e os dados experimentais associados.

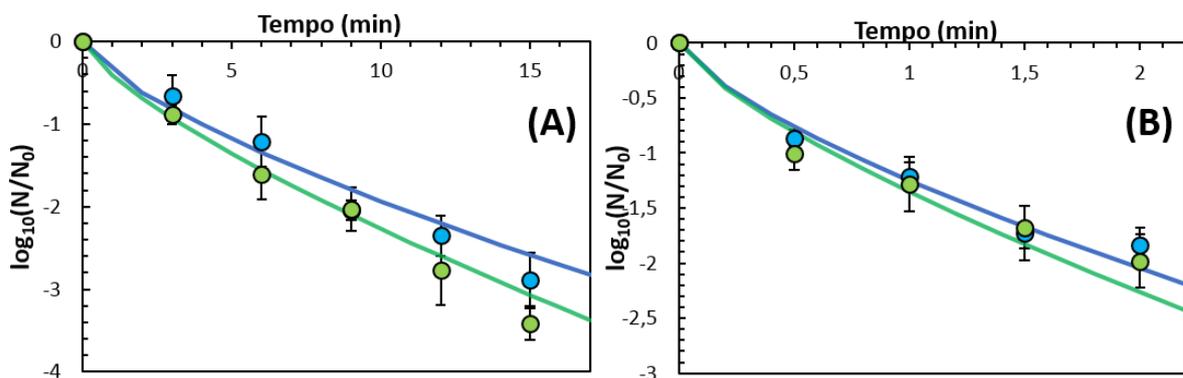


Figura 12: Pontos experimentais e curvas propostas pelo modelo de Weibull + Mafart para inativação de *Aspergillus fumigatus* a 83°C (A) e 92°C (B). Na Figura, ● são os pontos experimentais referentes ao AC, ● são os pontos experimentais referentes ao AO, — é o modelo aplicado ao AC e — é o modelo aplicado ao AO.

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

Observa-se que, de forma geral, as curvas associadas ao modelo estiveram dentro da faixa dada pela barra de erros nos cenários propostos. A Tabela 11 apresenta os índices estatísticos associados a aplicação do modelo.

Tabela 11: Índices estatísticos avaliados para validação do modelo cinético proposto.

Temperatura (°C)	Ôhmico		Convencional	
	<i>BIAS</i>	<i>AF</i>	<i>BIAS</i>	<i>AF</i>
83	1,03 ± 0,14	1,13 ± 0,01	0,993 ± 0,18	1,17 ± 0,06
92	0,92 ± 0,02	1,14 ± 0,02	1,01 ± 0,01	1,11 ± 0,07

Ross (1999) estudou modelos de microbiologia preditiva aplicados à indústria cárnea. Segundo a recomendação do autor, amplamente utilizada na literatura, valores de *BIAS* na faixa de 0,90-1,05 podem ser considerados bons; 0,70-0,90 e 1,06-1,15 são aceitáveis e valores fora dessa faixa são considerados inaceitáveis. Utilizando esse critério, todos os modelos podem ser considerados bons. Em adição, os valores maiores que 1 de *BIAS* nos experimentos a 83°C no AO e a 92°C no AC indicam que o modelo tende a superestimar os dados experimentais na média; o valor de AC à 83°C indica que o modelo tende a subestimar os dados experimentais.

Dessa forma, conclui-se que o modelo pode ser utilizado para predição das taxas de inativação em condições distintas a aquelas analisadas experimentalmente.

3.3 CONCLUSÕES

A presente seção analisou as questões cinéticas da inativação do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã sob aquecimento convencional e ôhmico. A caracterização físico-química do suco comprovou a hipótese inicial do meio ser potencialmente contaminável por fungos, principalmente devido a seu baixo pH e elevada atividade de água.

Diversos modelos cinéticos foram ajustados aos dados experimentais, e o modelo de Weibull, em conjunto com o modelo secundário de Mafart, foram selecionados frente aos índices estatísticos analisados (*Residual Sum of Squares*, *Root Mean Square Error* e *Bayesian Information Criteria*). Os parâmetros do modelo primário foram comparados entre os tratamentos térmicos para analisar a eventual presença de efeitos de inativação não térmicos. Diferenças significativas entre os parâmetros foram observados nas três menores temperaturas analisadas (75, 80 e 85°C), indicando a existência de taxas adicionais de morte térmica no AO

3. Estudo da cinética de inativação microbiológica

nesses cenários. Pode-se ressaltar que a origem física desses fenômenos em fungos filamentosos ainda não foi avaliada, de forma que não se sabe porque tais comportamentos foram observados.

Por fim, o modelo obtido foi validado satisfatoriamente em condições distintas daquelas analisadas experimentalmente. Dessa forma, ele pode ser interpolado dentro da faixa de análise para a predição de tempos de processamento em temperaturas distintas.

4 MODELAGEM TÉRMICA E INTEGRAÇÃO DOS MODELOS CINÉTICO E TÉRMICO

Esse capítulo abordará a elaboração/validação dos modelos térmicos e a integração dos modelos térmicos e cinéticos. Essa abordagem conjunta será utilizada para prever a influência de diferentes parâmetros no tempo total de processamento. Para o caso do aquecimento convencional (AC), serão avaliadas a temperatura e a vazão do fluido de aquecimento; no aquecimento ôhmico (AO) serão avaliadas a temperatura e a intensidade do campo elétrico. Dois perfis de aquecimento distintos serão analisados: **(i)** meio vigorosamente agitado, onde os gradientes espaciais de temperatura serão desconsiderados (situação designada como espacialmente isotérmica) e **(ii)** meio estagnado, com ausência total de agitação (situação designada como puramente difusiva). A situação **(i)** é uma idealização que resulta no cenário mais vantajoso de processamento, uma vez que o meio possui sua temperatura homogeneamente distribuída e, dessa forma, nenhum ponto interno é desfavorecido pela troca térmica. A situação **(ii)** é menos favorável ao tempo de processamento, uma vez que a troca de térmica ocorre sem qualquer homogeneização do sistema, resultando em maiores gradientes de temperatura. Embora dificilmente visualizada na prática, a simulação do caso **(ii)** pode oferecer informações úteis do máximo tempo de processamento para uma dada condição e do efeito de falhas no processo de agitação na estabilidade microbiológica do produto final.

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 13 mostra uma foto/representação esquemática da célula ôhmica utilizada nos experimentos e considerada para os propósitos das simulações numéricas. O dispositivo consiste em uma célula cilíndrica encamisada com capacidade de contenção de 1 litro de

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

amostra, duas paredes de vidro e uma camisa, na qual há circulação de água de aquecimento (no AC) ou ar estagnado (no AO).

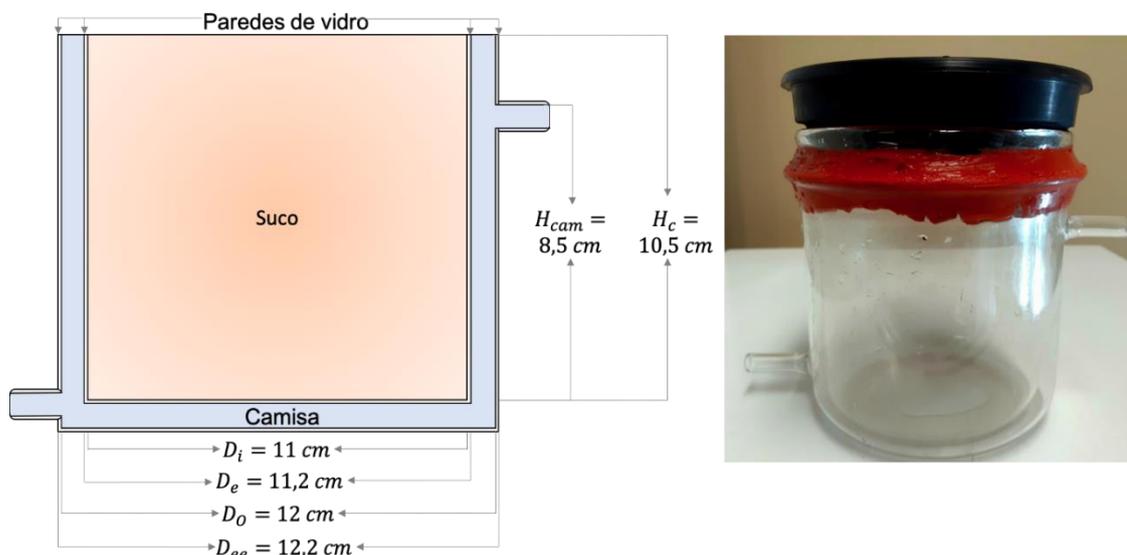


Figura 13: Representação esquemática e foto da célula ôhmica utilizada.

4.1.1 Propriedades termofísicas do suco de maçã

Para a aplicação de modelos térmicos, deve-se ter conhecimento das propriedades termofísicas do produto analisado, bem como informações relativas à sua dependência com a temperatura. A presente subseção irá descrever os protocolos experimentais seguidos para determinação de cada uma dessas variáveis.

4.1.1.1 Capacidade calorífica a pressão constante

A capacidade calorífica a pressão constante (ou calor específico) é definida como a quantidade de calor necessária para elevar uma unidade de massa do material analisado em um grau isobaricamente, e sua unidade no SI é $\text{J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$. Para a determinação do valor dessa variável utilizou-se um calorímetro diferencial de varredura (DSC 6000, Perkin Elmer, Brasil). O equipamento foi previamente calibrado utilizando índio e zinco (temperaturas de fusão de 156 e 180°C, respectivamente). O suco de maçã foi transferido para uma panela de 20 μl e pesado, para então ser submetido ao aquecimento no dispositivo; uma panela vazia foi aquecida simultaneamente para referência. As amostras foram primeiramente resfriadas até 15°C e então aquecidas isotermicamente até 100°C, com taxa de aquecimento de 5°C/min.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Foram monitorados o calor cedido e a variação de temperatura em cada passo de tempo. Com posse dessas informações, pode-se calcular o calor específico pela Equação 27:

$$c_p = \frac{Q}{m \cdot \Delta T} \quad (\text{Eq. 27})$$

4.1.1.2 Massa específica

A massa específica de um produto é uma relação entre a sua quantidade de massa e seu volume e sua unidade no SI é $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$. Para a determinação dessa propriedade, o método picnométrico, recomendado pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC), foi utilizado (AOAC, 1990). Nesse método, frascos de vidro projetados de forma a ter seu volume constante com relação à temperatura (picnômetros) são utilizados. As tampas dos picnômetros são perfuradas, de forma que o excesso de líquido é expelido do recipiente ao se fechar a vidraria.

Inicialmente deve-se determinar o volume real do picnômetro, pesando o compartimento vazio e, na sequência, cheio de água. A massa de água adicionada ao sistema pode ser calculada pela diferença das massas entre as duas pesagens. Com o conhecimento da massa específica da água na temperatura do experimento pode-se calcular o volume interno do picnômetro (V_{pic}) a partir da relação dada pela Equação 28:

$$V_{pic} = \frac{\rho_{\text{água}}(T)}{m_{\text{água}}} \quad (\text{Eq. 28})$$

A massa específica do suco em função da sua temperatura foi determinada na faixa de 25 a 95°C, com espaçamento próximo a 10°C entre os pontos. Os picnômetros contendo suco de maçã foram submersos em banho de aquecimento termostático (Alpha A6, Lauda, Brasil) até estabilização da temperatura (ambientação) e, então, foram fechados com a tampa de forma a expelir o excesso de amostra. O dispositivo foi seco e pesado em balança analítica. Com conhecimento do volume do picnômetro nessa condição, pode-se determinar a massa específica do suco em uma dada temperatura a partir da Equação 29.

$$\rho_{\text{suco}}(T) = \frac{m_{\text{suco}}(T)}{V_{pic}} \quad (\text{Eq. 29})$$

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

4.1.1.3 Difusividade térmica

A difusividade térmica de um produto é a razão entre a capacidade do meio de conduzir calor e sua capacidade de armazená-lo, e sua unidade no SI é $\text{m}^2.\text{s}^{-1}$. A determinação da difusividade térmica foi realizada a partir do protocolo experimental previamente descrito por Souza (2008), baseado na resolução da equação da condução do calor em coordenadas cilíndricas.

Recipientes cilíndricos com 11 mm de diâmetro interno e 105 mm de comprimento feitos de cobre foram preenchidos completamente com amostra. Um termopar tipo T foi inserido no centro geométrico da célula antes dela ser fechada com auxílio de rolhas de silicone. Um fio de nylon foi inserido esticado e colado ao termopar, de forma a assegurar que o medidor de temperatura não variasse de posição durante a realização do experimento. O sistema foi imerso em um banho de ambientação a 40°C até atingir equilíbrio térmico, com posterior deslocamento para um banho de aquecimento aproximadamente 30°C mais quente que o anterior (70°C). Dados da evolução da temperatura foram monitorados continuamente em função do tempo.

Considerando que o raio do cilindro é muito menor que seu comprimento, a troca de calor é apenas radial. A solução analítica para a temperatura no centro do cilindro é uma série infinita que pode ser aproximada por um único termo, resultando na Equação 30:

$$\theta = \frac{T_0 - T_e}{T_i - T_e} = K \exp \left[-\alpha \left(\frac{\xi^2}{R^2} \right) t \right] \quad (\text{Eq. 30})$$

onde K é o coeficiente da solução em série dependente do número de Biot, T_0 é a temperatura em função do tempo ($^\circ\text{C}$), T_e é a temperatura de equilíbrio ($^\circ\text{C}$), T_i é a temperatura inicial do suco ($^\circ\text{C}$), α a difusividade térmica ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$), ξ um autovalor dependente do número de Biot e R é o raio do dispositivo (m). A constante ξ foi considerada como sendo 2,405, valor associado à hipótese de resistência convectiva no ambiente externo negligenciável, que resulta no coeficiente da solução da série igual a 1,602. Essa aproximação pode ser realizada devido à existência de recirculação forçada de água na célula, promovendo contínua e vigorosa agitação. A Equação 30 pode ser linearizada da seguinte forma:

$$\ln(\theta) = \ln(1,602) - \alpha \left(\frac{2,405^2}{R^2} \right) t \quad (\text{Eq. 31})$$

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Dessa forma, a partir do conhecimento do raio e da evolução temporal da temperatura, pode-se determinar o valor da difusividade térmica a partir do coeficiente angular da reta. O valor da temperatura na qual a propriedade é avaliada é assumido como sendo a média entre as temperaturas dos banhos de ambientação e de aquecimento.

Esse experimento foi realizado para a temperatura de 55°C, e o valor obtido foi comparado ao valor da água nas mesmas condições. Em caso de similaridade entre os valores, a difusividade térmica da água em função da temperatura será utilizada como aproximação para fins dessa dissertação; em caso de não similaridade, considerar-se-á o valor obtido experimentalmente e essa propriedade não será descrita como função da temperatura.

4.1.1.4 Condutividade térmica

A condutividade térmica k oferece uma informação referente à capacidade do material de conduzir calor, sua unidade no SI é $\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ e seu valor pode ser obtido a partir do conhecimento das demais propriedades discutidas até o presente momento pela Equação 32.

$$k(T) = \alpha(T) \rho(T) c_p(T) \quad (\text{Eq. 32})$$

4.1.1.5 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica de um produto é uma medida do seu conteúdo iônico, e sua unidade no S.I. é $\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$. Para a determinação da dependência de seu valor com a temperatura, utilizou-se uma célula ôhmica cilíndrica com eletrodos acoplados nas extremidades no sentido do comprimento (Figura 14). Essa célula foi selecionada devido a seu baixo volume (o que diminui os gradientes internos de temperatura) e sua disposição geométrica, que transmite um campo elétrico praticamente constante em todas direções. Após a célula ser completamente preenchida com suco, submeteu-se a amostra ao AO em tensão de aproximadamente 100 V. Foram monitoradas a temperatura da amostra, a tensão e a evolução da corrente elétrica no meio. A partir do conhecimento dessas variáveis e das características geométrica da célula ôhmica, foi possível calcular o valor da condutividade elétrica em uma dada temperatura utilizando a Equação 33.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico



Figura 14: Célula ôhmica utilizada para determinação da condutividade elétrica

$$\sigma(T) = \frac{L I(T)}{A_{TRANS} E} \quad (\text{Eq. 33})$$

Na equação (33), L é a distância entre os eletrodos (m), $I(T)$ é a corrente elétrica a uma dada temperatura (A), A_{TRANS} é a área da seção transversal à passagem da corrente elétrica (m^2), E é a tensão (V) e σ é a condutividade elétrica (S.m^{-1}).

4.1.1.6 Outras propriedades

As propriedades do ar e da água foram obtidas de Çengel e Ghajar (2012). As propriedades do suco necessárias para a simulação dos mecanismos de convecção natural foram consideradas iguais às da água. Regressões lineares e quadráticas foram realizadas para descrever a influência da temperatura no valor de todas as propriedades, mostradas na Tabela 12. Todas as regressões foram realizadas considerando a temperatura em $^{\circ}\text{C}$.

Tabela 12: Equações ajustadas para cálculo das propriedades do ar e da água (T em $^{\circ}\text{C}$).

Variável	Equação	R ²
$\alpha_{\text{água}}$ ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	$-2,2 \times 10^{-12} T^2 + 5,67 \times 10^{-10} T + 1,33 \times 10^{-7}$	1
$\beta_{\text{água}}$ (K^{-1})	$6,7 \times 10^{-6} T + 1,04 \times 10^{-4}$	0,9924
$\mu_{\text{água}}$ ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$9,9 \times 10^{-11} T^2 - 1,94 \times 10^{-8} T + 1,26 \times 10^{-6}$	0,9969
$Pr_{\text{água}}$	$8 \times 10^{-4} T^2 - 0,1555 T + 9,3445$	0,9968
β_{ar} (K^{-1})	$1/(T+273)$ (considerando gás ideal)	-
ν_{ar} ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	$1 \times 10^{-7} T + 1 \times 10^{-5}$	0,9996
Pr_{ar}	$-0,0002 T + 0,7354$	0,9982

onde β é o coeficiente de expansão volumétrica (K^{-1}) e ν a viscosidade cinemática ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

4.1.2 Modelos térmicos

Nessa dissertação serão analisados dois modelos térmicos para prever a evolução da temperatura do suco de maçã:

- Espacialmente isotérmico: onde considerou-se que o meio estava perfeitamente agitado e, dessa forma, não existem gradientes espaciais de temperatura do meio. Na prática, isso resulta na ausência de um ponto frio dentro do dispositivo.
- Puramente difusivo: onde considerou-se que o meio se encontrava sem agitação e, dessa forma, os gradientes espaciais são os maiores possíveis devido à ausência de mistura entre zonas de maior e menor temperatura.

Esses dois modelos foram selecionados devido a gerarem informações relativas aos tempos limites de processamento: o caso espacialmente isotérmico resulta nos menores tempos de processamento para uma dada condição, enquanto que o puramente difusivo resulta nos maiores tempos. Os modelos matemáticos utilizados são mostrados nas seções 4.1.3 e 4.1.4.

Os modelos térmicos foram integrados com o modelo cinético para análise das variáveis de processo no tempo de pasteurização. No caso do AC, analisou-se a influência da temperatura de escoamento e da vazão volumétrica da água na camisa de aquecimento. O AO não possui um limite máximo de temperatura como o AC (onde esse limite é a temperatura de escoamento da água na camisa). Dessa forma, a evolução térmica no sistema deve ser parada de alguma forma em uma dada temperatura, ou o sistema será aquecido até ebulição. Essa temperatura onde o aumento de temperatura é parado, juntamente com o campo elétrico médio, foram as variáveis analisadas no AO. Aqui, utiliza-se o termo “campo elétrico médio” pois existe uma distribuição desse campo dentro da célula ôhmica, de forma que sua média foi considerada nas simulações.

4.1.3 Modelagem matemática do caso espacialmente isotérmico

No caso espacialmente isotérmico, considera-se a existência de agitação vigorosa no meio, de forma que as porções frias do suco estejam sendo continuamente misturadas com as porções quentes. Na prática, esse modelo resulta em ausência de gradientes de temperatura internos (i.e., o calor cedido ao sistema é homogeneamente distribuído).

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

O modelo matemático deste caso é obtido a partir da aplicação de um balanço global de conservação de energia (e) no volume de controle (Equação 34).

$$\{e_{ENTRA}\} - \{e_{SAI}\} + \{e_{GER}\} = \{e_{ACUMULADA}\} \quad (\text{Eq. 34})$$

4.1.3.1 Aquecimento convencional espacialmente isotérmico

No caso do aquecimento convencional, o suco foi aquecido a partir do escoamento de água a altas temperaturas em uma camisa de aquecimento. Nesse sentido, não ocorre geração de energia interna no meio. Em adição, medições prévias demonstraram que a temperatura de saída da água na camisa era similar a sua temperatura de entrada, de forma que seu valor foi considerado constante. Assim, é possível desconsiderar o termo de saída de energia na Equação 34. Dessa forma, o balanço global fica resumido à igualdade entre a taxa de calor que entra no sistema e o acúmulo de energia (Equação 35):

$$m c_P(T) \frac{dT}{dt} = U_{AC} A_i (T_\infty - T(t)) \quad (\text{Eq. 35})$$

onde A_i é a área interna da camisa (m^2), T_∞ é a temperatura de escoamento da água na camisa de aquecimento ($^\circ\text{C}$) e U_{AC} é o coeficiente global de transferência de calor ($\text{W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot^\circ\text{C}^{-1}$) baseado na área interna, dado pela Equação 36:

$$U_{AC} = \frac{1}{\frac{A_i \ln(D_e/D_i)}{2\pi k_v H_{cam}} + \frac{1}{h_{cam}} \left(\frac{A_i}{A_e}\right)} \quad (\text{Eq. 36})$$

onde D_e é o diâmetro externo da parede de vidro (m), D_i é o diâmetro interno da parede de vidro (m), k_v é a condutividade térmica do vidro ($\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot^\circ\text{C}^{-1}$), H_{cam} é a altura da camisa (m), h_{cam} é o coeficiente convectivo de escoamento da água ($\text{W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot^\circ\text{C}^{-1}$) e A_e é a área externa da camisa (m^2). É interessante ressaltar que a Equação 36 parte do pressuposto que a resistência à convecção interna, associada à agitação do suco dentro de célula ôhmica, é nula. Essa hipótese pode ser aplicada quando se considera agitação vigorosa do meio; nesse caso, o coeficiente convectivo tende ao infinito, de forma que o valor da resistência associado é muito baixo e pode ser desconsiderado.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Utilizando um diâmetro equivalente adequado, as correlações para escoamentos internos em tubulações podem ser estendidas para a geometria em questão. No caso de escoamento laminar na camisa ($Re_c < 2.300$), Coker (2015) sugere a correlação dada pela Equação 37 para cálculo do coeficiente convectivo associado ao fluido de aquecimento. No caso de escoamento turbulento ($Re_c > 2.300$), Luyben (2006) sugerem a correlação dada pela equação 38, atribuída a Sieder e Tate (1936), para o cálculo do coeficiente convectivo. O número de Reynolds na camisa (Re_c) é calculado a partir da Equação 39. A conversão da velocidade em vazão volumétrica na camisa, que foi a variável analisada nas simulações, é dada pela Equação 40.

$$h_{cam} = \frac{k_{\acute{a}gua}}{D_{eq}} 1,86 (Re_c)^{1/3} (Pr)^{1/3} \left(\frac{\mu_c}{\mu_{c,p}}\right)^{0,14} \quad (\text{Eq. 37})$$

$$h_{cam} = \frac{k_{\acute{a}gua}}{D_{eq}} 0,027 (Re_c)^{0,8} (Pr)^{1/3} \left(\frac{\mu_c}{\mu_{c,p}}\right)^{0,14} \quad (\text{Eq. 38})$$

$$Re_c = \frac{u D_{eq} \rho}{\mu_c} \quad (\text{Eq. 39})$$

$$\dot{Q} = \frac{u \pi (D_o^2 - D_e^2)}{4} \quad (\text{Eq. 40})$$

onde D_{eq} é o diâmetro equivalente (m), Pr é o número de Prandtl na camisa, u é a velocidade de escoamento da água ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) e \dot{Q} é a vazão volumétrica do fluido na camisa de aquecimento ($\text{m}^3\cdot\text{s}^{-1}$). Todas as propriedades foram avaliadas na temperatura de filme, com exceção de $\mu_{c,p}$, que foi avaliada na temperatura da parede. Segundo Ibarz e Barbosa-Cánovas (2003), o diâmetro equivalente pode ser calculado pela Equação 41:

$$D_{eq} = \frac{D_o^2 - D_e^2}{D_e} \quad (\text{Eq. 41})$$

onde D_o é o diâmetro externo da camisa (m).

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

4.1.3.2 Aquecimento ôhmico espacialmente isotérmico

No caso do aquecimento ôhmico, o sistema tem sua temperatura aumentada devido à geração de energia. Em adição, perdas térmicas ocorrem com relação ao ambiente externo por convecção natural. Dessa forma, somente o termo de entrada de energia pode ser desprezado da Equação 34. O modelo proposto para o aquecimento ôhmico é dado pela Equação 42:

$$m c_p(T) \frac{dT}{dt} = V \sigma(T) \vec{\nabla} E^2 - U_{AO} A_{ee} (T(t) - T_{\infty}) \quad (\text{Eq. 42})$$

onde V é o volume (m^3), $\vec{\nabla} E$ é o gradiente do potencial elétrico (V.m^{-1}), A_{ec} é a área externa da célula (m^2) e U_{AO} é o coeficiente global de transferência de calor no AO ($\text{W.m}^{-2}.\text{°C}^{-1}$), que pode ser estimado a partir da Equação 43 (definido com relação à área interna da célula). A célula considerada é composta por uma camada de vidro, uma camada de ar estagnado e outra camada de vidro (termos condutivos computados na Equação 43).

$$U_{AO} = \frac{1}{\frac{A_i \ln(D_e/D_i)}{2\pi k_v H_c} + \frac{A_i \ln(D_o/D_e)}{2\pi k_{ar} H_c} + \frac{A_i \ln(D_{ee}/D_o)}{2\pi k_v H_c} + \frac{1}{h_{ext}} \left(\frac{A_i}{A_{ee}}\right)} \quad (\text{Eq. 43})$$

onde A_{ee} é a área externa da célula ôhmica, respectivamente (m), k_{ar} é a condutividade térmica do ar ($\text{W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$), D_{ee} é o diâmetro externo da célula (m) e h_{ext} é o coeficiente convectivo associado à convecção natural na parte externa da célula ($\text{W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$). Segundo Çengel e Ghajar (2012), o coeficiente h_{ext} pode ser estimado pela Equação 44, atribuída a Churchill e Chu (1975), que corresponde à correlação para placa vertical:

$$h_{ext} = \frac{k_{ar}}{L_c} \left\{ 0,825 + \frac{0,387 Ra^{1/6}}{[1 + (0,492/Pr)^{9/16}]^{8/27}} \right\}^2 \quad (\text{Eq. 44})$$

onde L_c é o comprimento característico (m) correspondente à altura da célula. Essa correlação é válida para cilindro desde que $D_{ee} \geq 35 L_c / Gr_L^{1/4}$, condição cumprida em todas simulações apresentadas (onde Gr é o número de Grashof).

Segundo Ramaswamy et al. (2014) o gradiente de tensões pode ser avaliado pela relação dada pela Equação 45 em meios com temperatura homogeneamente distribuída.

$$\vec{\nabla} E \approx \frac{\Delta E}{L} \quad (\text{Eq. 45})$$

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Ambos modelos matemático foram resolvidos a partir da implementação de um código em Matlab 2012. O termo transiente foi resolvido utilizando o método de Euler temporalmente explícito, que oferece soluções diretas para cada passo de tempo.

4.1.4 Modelagem matemática do caso puramente difusivo

A modelagem matemática do caso puramente difusivo será realizada pela resolução da equação da difusão do calor para a geometria em questão (Equação 15). Nesse modelo, foi considerado que o suco estava estagnado dentro da célula ôhmica (ausência de agitação no meio), sendo essa a pior condição possível que pode ser obtida em um tratamento térmico (maiores gradientes de temperatura e, conseqüentemente, maiores diferenças de temperatura entre os pontos mais frios e quentes).

4.1.4.1 Aquecimento convencional puramente difusivo

No caso do aquecimento convencional, o suco foi aquecido a partir do escoamento de água a altas temperaturas em uma camisa de aquecimento. Como o fluido de aquecimento abrangia toda a superfície externa do recipiente do suco igualmente, pode-se considerar existência de simetria radial e ausência de gradientes de temperatura no sentido angular. Em adição, não há geração de energia interna no meio e a forma final da equação da condução do calor é descrita pela Equação 46:

$$\rho c_P \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(k r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k \frac{\partial T}{\partial z} \right) \quad (\text{Eq. 46})$$

As condições inicial e de contorno aplicada a esse caso foram:

- em $t = 0$, $T = T_i \forall z \forall r$ (*temperatura inicial conhecida*)
- em $z = 0$, $-k A \frac{\partial T}{\partial z} = U_{AC} A (T_\infty - T(t, 0)) \forall t > 0$ (*troca de calor na base da célula*)
- em $z = L$, $\frac{\partial T}{\partial z} = 0 \forall t > 0$ (*isolamento térmico na superfície superior da célula*)
- em $r = 0$, $\frac{\partial T}{\partial r} = 0 \forall t > 0$ (*simetria radial*)
- em $r = R$, $-k A \frac{\partial T}{\partial r} = U_{AC} A (T_\infty - T(t, R)) \forall t > 0 \forall 0 \leq z \leq H_{cam}$ (*troca de calor na lateral da célula abrangida pela camisa de aquecimento*)

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

- em $r = R$, $\frac{\partial T}{\partial r} = 0 \forall t > 0 \forall z > H_{cam}$ (isolamento na lateral da célula não abrangida pela camisa de aquecimento)

onde H_{cam} é a altura da camisa (m). O termo U_{AC} pode ser calculado conforme previamente discutido na seção 4.1.2.1 entre as Equações 36 a 40.

Testes iniciais demonstraram que a evolução do perfil de temperatura não conseguia ser adequadamente descrito por meio da Eq. 46, uma vez que a resolução da equação demonstrava um perfil de evolução de temperatura muito mais lento do que aquele observado experimentalmente. Possivelmente esse fato foi decorrente do desprezo dos termos advectivos associados a convecção natural. Bergman et al. (2011) e Çengel e Ghajar(2012) mostram que os mecanismos de advecção natural associados a esses casos podem ser interpretados como um aumento na condutividade térmica do sistema provocado pelas forças de empuxo. Nesse sentido, os autores sugerem a substituição da condutividade térmica do fluido por uma condutividade térmica equivalente, que pode ser calculada por meio da Equação 47.

$$k_{ef} = k Nu_{CN} \quad (\text{Eq. 47})$$

onde k_{ef} é a condutividade térmica efetiva ($\text{W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$) e Nu_{CN} é o número de Nusselt associado a convecção natural dentro da célula ôhmica. Hiddink (1975) revisa algumas correlações que podem ser utilizadas no caso de um fluido enclausurado dentro de uma geometria cilíndrica. Considerando a faixa de número de Rayleigh obtida nas simulações da presente dissertação, a correlação dada pela Equação 48, atribuída a Evans e Stefany (1966) foi selecionada.

$$Nu_{CN} = 0,55 Ra_{CN}^{0,25} \quad (\text{Eq. 48})$$

onde Ra_{CN} é o número de Rayleigh do problema em questão avaliado em respeito à diferença de temperatura média entre a parede e o centro da célula ôhmica.

4.1.4.2 Aquecimento ôhmico puramente difusivo

No caso do AO, o aumento de temperatura do sistema se dá, principalmente, pela geração de energia a partir da aplicação de campo elétrico. Considerou-se que os eletrodos

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

estavam posicionados nas superfícies superior e inferior da célula ôhmica. Testes numéricos prévios indicaram que, utilizando essa configuração, o sistema pode ser considerado bidimensional, uma vez que a distribuição angular do campo elétrico nesse caso é uniforme. A taxa de geração volumétrica de calor no aquecimento ôhmico pode ser calculada por meio da Equação 49.

$$\dot{s} = \sigma |\vec{\nabla}E|^2 \quad (\text{Eq. 49})$$

A distribuição de carga elétrica no meio pode ser calculada por meio da solução do Laplaciano dado pela Equação 50:

$$\vec{\nabla} \cdot (\sigma \vec{\nabla}E) = 0 \quad (\text{Eq. 50})$$

As condições de contorno necessárias para a resolução do Laplaciano da Equação 50 são de isolamento elétrico nas superfícies da célula e tensão conhecida na superfície dos eletrodos (RAMASWAMY et al., 2014).

A Equação 15 aplicada ao caso do aquecimento ôhmico é:

$$\rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(k_{ef} r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k_{ef} \frac{\partial T}{\partial z} \right) + \sigma |\vec{\nabla}E|^2 \quad (\text{Eq. 51})$$

As condições de contorno empregadas nesse caso são:

- em $t = 0$, $T = T_i \forall z \forall r$ (*temperatura inicial conhecida*)
- em $z = 0$, $\frac{\partial T}{\partial z} = 0 \forall t > 0$ (*isolamento térmico na base da célula*)
- em $z = L$, $\frac{\partial T}{\partial z} = 0 \forall t > 0$ (*isolamento térmico na superfície superior da célula*)
- em $r = 0$, $\frac{\partial T}{\partial r} = 0 \forall t > 0$ (*simetria radial*)
- em $r = R$, $-k A \frac{\partial T}{\partial r} = -U_{AO} A (T(t, R) - T_{\infty}) \forall t > 0$ (*perda de calor na lateral da célula*)

onde U_{AO} é o coeficiente global de transferência de calor no AO ($\text{W.m}^{-2}.\text{°C}^{-1}$), que pode ser estimado a partir da Equação 43.

Ambos modelos matemáticos foram resolvidos no software Matlab 2012b, a partir da elaboração de um código de volumes finitos para cada um dos casos. O termo transiente foi

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

resolvido utilizando o método de Euler temporalmente explícito, que oferece soluções diretas para cada passo de tempo. As derivadas foram computadas por diferenças finitas centrais (*Central Differencing Scheme*). O Laplaciano de distribuição de potencial elétrico foi resolvido a partir da implementação do algoritmo de Thomas à equação diferencial (método TDMA), admitindo um erro relativo de 1×10^{-6} entre as iterações.

4.1.5 Malha computacional empregada

A malha bidimensional utilizada tanto para o AC quanto para o AO está mostrada na Figura 15 e contém 1520 elementos. Observa-se que refinamentos foram aplicados nas fronteiras do volume de controle de forma a captar com precisão os maiores gradientes de temperatura referentes às condições de contorno. Considerando as variações temporais, passos de tempo de 1×10^{-2} segundos foram empregados em todas situações analisadas.

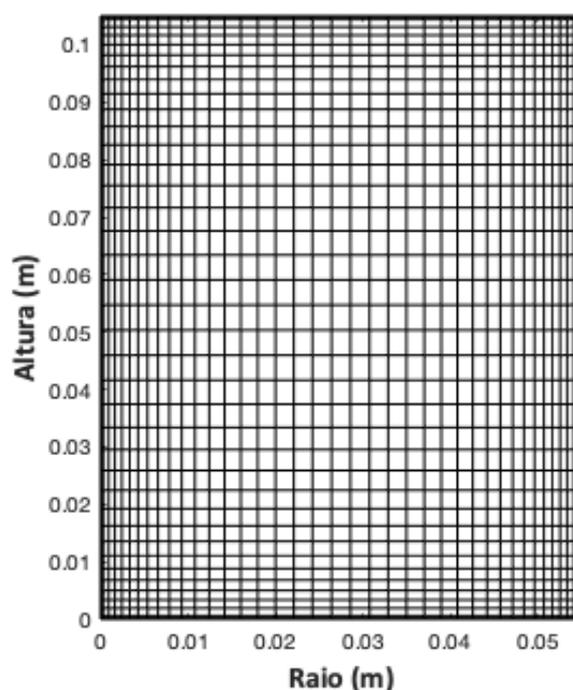


Figura 15: Malha computacional empregada nas simulações.

Para assegurar que o número de elementos analisados foi adequado, evitando assim problemas relativos à discretização do domínio, deve-se utilizar algum método para análise da malha computacional empregada. Nesse trabalho, o procedimento recomendado pela sociedade norte-americana de engenheiro mecânicos, o índice de convergência de malha

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

(GCI), foi aplicado, descrito em Celik et al. (2008); esse índice estima o desvio percentual entre o resultado calculado e aquele obtido em uma malha de resolução zero. Nesse método, três malhas diferentes são analisadas aplicadas ao mesmo volume de controle: a malha utilizada nas simulações, uma malha mais refinada e uma mais grosseira. A Tabela 13 mostra os elementos utilizados em cada uma das análises. As diferenças de passo de tempo no AC puramente difusivo foram necessárias devido a divergência do método com esquema temporal explícito em passos de tempo na ordem de 10^{-1} .

Tabela 13: Malhas utilizadas para aplicação da análise de GCI.

Tipo de malha	Malha refinada (1)	Malha utilizada (2)	Malha grosseira (3)
Temporal (com 1520 volumes de controle)	Passo de tempo de 1×10^{-3} s	Passo de tempo de 1×10^{-2} s	Passo de tempo de 1×10^{-1} s
Temporal para AC puramente difusivo (com 1520 volumes de controle)	Passo de tempo de 5×10^{-3} s	Passo de tempo de 1×10^{-2} s	Passo de tempo de 2×10^{-2} s
Espacial (com passo de tempo de 1×10^{-2} s)	6080 elementos	1520 elementos	380 elementos

A partir dessa informação, pode-se calcular o fator de refinamento das malhas (Equação 52). Nessa dissertação, o fator de refinamento entre as malhas refinadas e intermediárias foi igual ao fator das malhas intermediárias com as malhas grosseiras, conforme explicitado na Equação;

$$rr = \frac{h_2}{h_1} = \frac{h_3}{h_2} \quad (\text{Eq. 52})$$

onde rr é o fator de refinamento, h_2 é o número de elementos da malha intermediária, h_1 é o número de elementos da malha refinada e h_3 é o número de elementos da malha grosseira. Adicionalmente, deve-se calcular o erro relativo da malha pela Equação 53:

$$\varepsilon_{i,j} = \frac{f_j - f_i}{f_j} \quad (\text{Eq. 53})$$

onde $\varepsilon_{i,j}$ é o erro relativo entre as malhas i e j , f_j é a solução da variável analisada na malha j e f_i é a solução na malha i . Ainda, antes do cálculo do GCI, deve-se calcular a ordem de

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

convergência que, para o caso de fator de refinamento constante, é dado pela Equação 54:

$$pp = \frac{\ln\left(\frac{|f_3 - f_2|}{|f_2 - f_1|}\right)}{\ln(rr)} \quad (\text{Eq. 54})$$

onde pp é a ordem de convergência. A partir dessas informações, pode-se calcular o GCI a partir da Equação 55:

$$GCI_{ij} = \frac{1,25|\varepsilon_{ij}|}{(r^{pp} - 1)} \quad (\text{Eq. 55})$$

onde GCI_{ij} é o índice de convergência entre as malhas i e j . Quanto mais próximo esse valor for de 0, menores serão os erros de discretização no domínio analisado. Adicionalmente, pode-se calcular a convergência da solução para a faixa assintótica a partir do parâmetro ω , que deve ser próximo de 1 para uma discretização adequada.

$$\omega = \frac{GCI_{23}}{rr^{pp}GCI_{12}} \quad (\text{Eq. 56})$$

Como a variável de interesse no âmbito dessa dissertação é o tempo de processamento, essa foi a variável de resposta escolhida para aplicação do método GCI em todos os casos. No AC, considerou-se um caso onde a vazão volumétrica da água foi de 1,2 l/min e a temperatura do fluido de aquecimento foi de 85°C para análise; no AO, considerou-se aplicação de um campo elétrico de 20 V/cm e temperatura de 85°C.

4.1.6 Validação dos modelos propostos

Os modelos referentes ao sistema espacialmente isotérmico (seção 4.1.2) e ao AC puramente difusivo (seção 4.1.3.1) foram validados experimentalmente na célula ôhmica cilíndrica de 1 litro mostrada na Figura 13, em um dispositivo de aquecimento similar aquele previamente discutido por Sarkis et al. (2013). A temperatura do banho e do ambiente foram medidas antes do início do experimento, e a evolução de temperatura e tensão do sistema foram monitorados continuamente usando dois termopares Pt-100 (Novus, Brasil) previamente calibrados. Particularmente, para o caso do AO puramente difusivo (seção 4.1.3.2), a validação foi realizada utilizando os dados provenientes do trabalho de Marra

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

(2009), onde uma célula ôhmica cilíndrica foi usada para analisar a influência do coeficiente convectivo de perda de calor no aquecimento de purê de batata. Os autores inseriram termopares em nove regiões internas dentro da célula, que serão comparadas com os resultados simulados nesse trabalho. Para quantificação de performance de desempenho dos modelos, os índices BIAS (Eq. 24) e AF (Eq. 25) foram utilizados.

No caso do modelo puramente difusivo para AC, 6 termopares foram inseridos nas posições mostradas na Figura 16 e o sistema foi aquecido sem a utilização de agitação interna. Em adição, testes foram realizados para comprovar a hipótese de ausência de gradientes de temperatura na direção angular, mostrados na Figura 17. Nessa figura, observa-se que dois termopares defasados em 180° um do outro mostram perfis de evolução de temperatura idênticos, comprovando a hipótese de simetria angular. Dessa forma, a validação tratará somente dos termopares 1 e 2, visto que seus resultados são similares aos termopares 5 e 6.

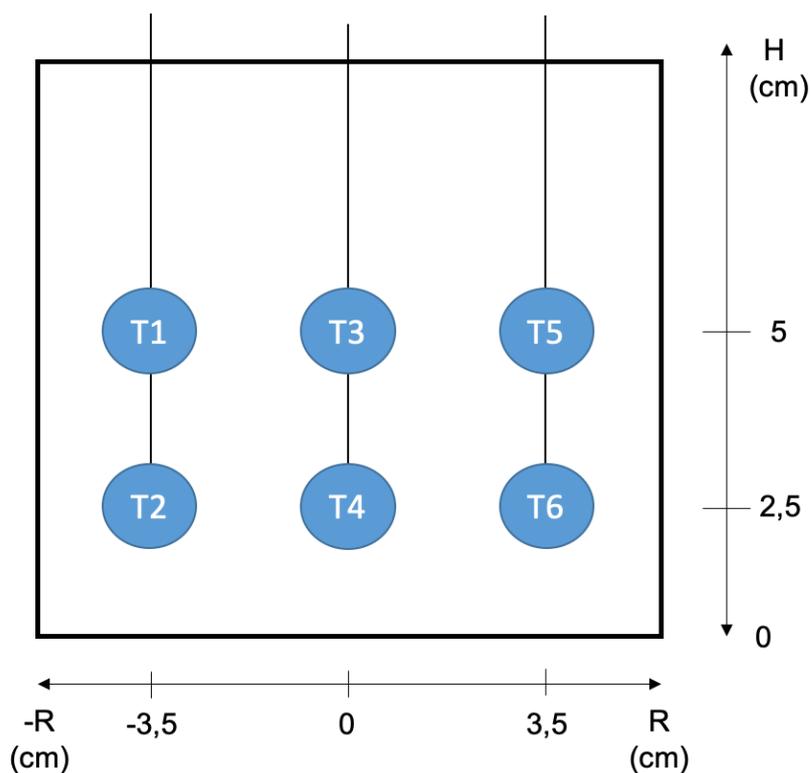


Figura 16: Posicionamento dos termopares para validação do modelo de AC puramente difusivo.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

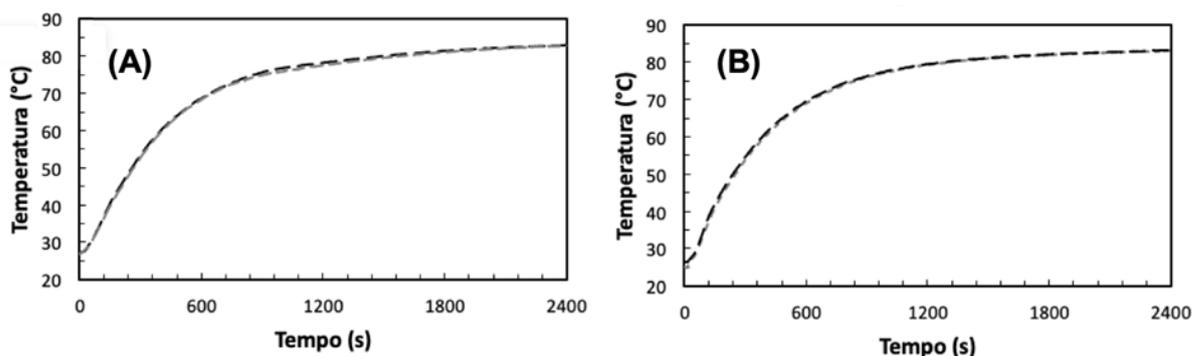


Figura 17: Medições de temperatura para dois termopares defasados em 180° para a mesma posição radial (3,5 cm) e altura (A) 5 cm (T1 e T5) e (B) 2,5 cm (T2 e T6).

No caso do modelo espacialmente isotérmico, para garantir o cumprimento da hipótese de agitação vigorosa, utilizou-se um agitador tipo hélice, feito de material polimérico não condutor de corrente elétrica, em nível de rotação de 5.000 rpm (modelo 713, Fisatom, Brasil). A temperatura foi monitorada continuamente por dois termopares randomicamente distribuídos de forma a assegurar que não haveriam variações espaciais de temperatura. A Figura 18 mostra o agitador utilizado juntamente com a célula ôhmica.



Figura 18: Dispositivo utilizado para agitação.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

4.1.7 Integração dos modelos

Uma vez validados, os modelos térmico e cinético foram integrados para o estudo da influência das variáveis de processo no tempo de pasteurização. Para o AC, as variáveis analisadas foram a temperatura e vazão volumétrica do fluido na camisa de aquecimento. No AO, por sua vez, as variáveis analisadas foram o campo elétrico médio aplicado e a temperatura de processo, conforme explicado na seção 4.1.2. O fluxograma do algoritmo numérico está resumido na Figura 19.

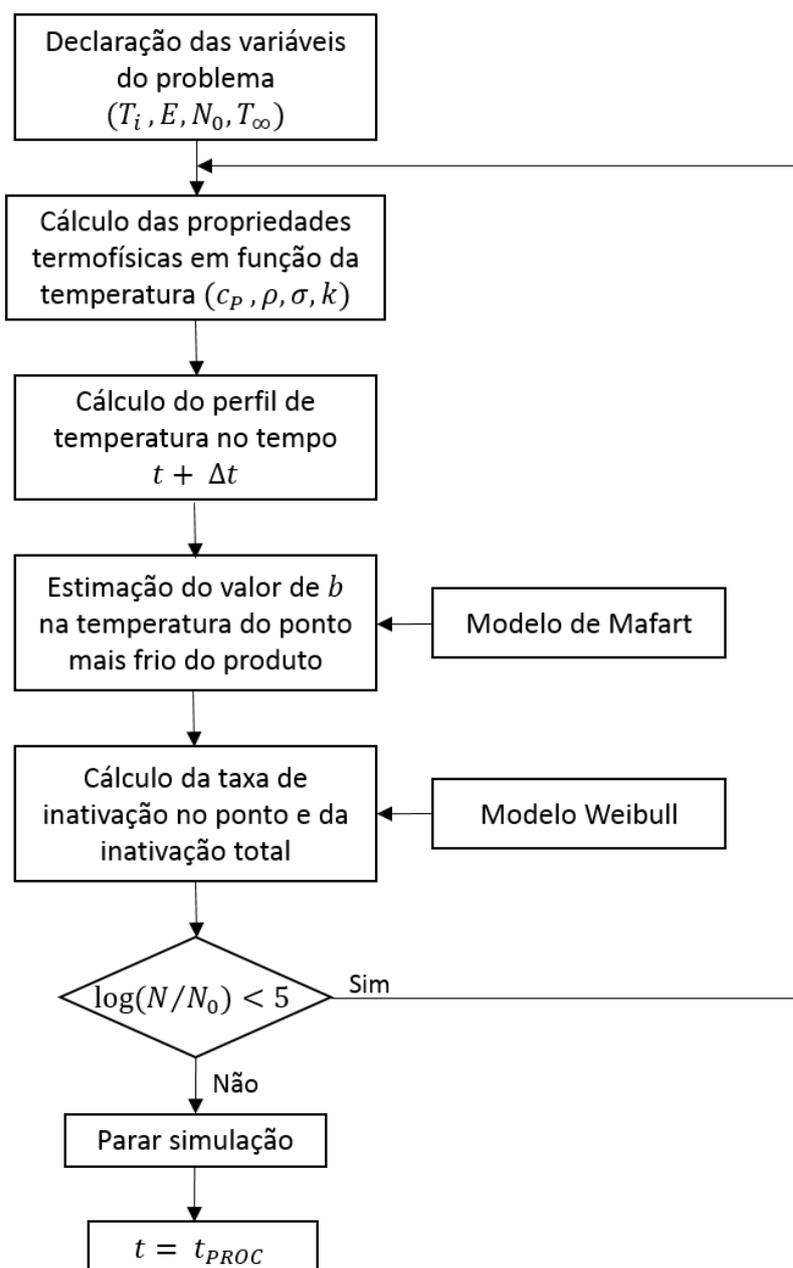


Figura 19: Fluxograma do algoritmo implementado.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Inicialmente deve-se declarar as variáveis relativas ao ponto inicial do problema (temperatura inicial, tensão aplicada, número de microrganismos inicial e temperatura do fluido). Após, as propriedades termofísicas da água, suco e ar são avaliadas nas respectivas temperaturas, seguida pela estimação do perfil de temperatura no próximo passo de tempo. Com este perfil, os parâmetros do modelo primário foram calculados a partir da relação estabelecida pelo modelo secundário de Mafart, seguida pela avaliação da taxa de inativação nesse passo de tempo utilizando o modelo de Weibull. Ressalta-se que, devido à variação da temperatura em função do tempo, o modelo primário teve que ser escrito em sua forma diferencial.

A discretização das equações diferenciais foi realizada da seguinte forma: considerando um volume de controle P cercado por volumes vizinhos E e W (radialmente), e S e N (no sentido do comprimento), conforme mostrado na Figura 20, pode-se considerar que a equação discretizada aplicada ao volume P é dada pela Equação 57:

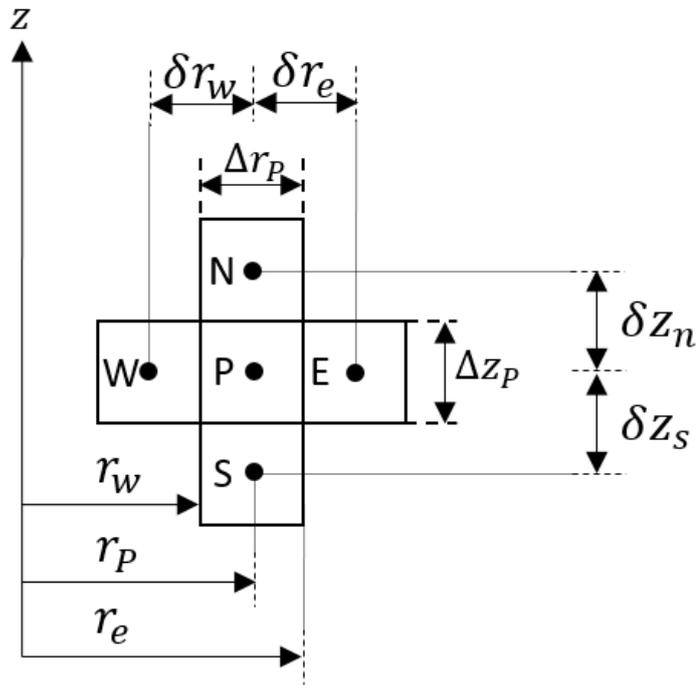


Figura 20: Volume de controle P cercado pelas vizinhanças W , E , S e N .

$$T^{t+\Delta t} = \frac{a_E T_E^t + a_W T_W^t + a_N T_N^t + a_S T_S^t + [a_P - a_E - a_W - a_N - a_S] T^t + \tau}{a_P} \quad (\text{Eq. 57})$$

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

onde os sobrescritos t e $t + \Delta t$ referem-se a temperatura do ponto no passo de tempo atual e no passo de tempo seguinte, e os índices a_E , a_W , a_N , a_S , a_P e τ são estimados por:

$$a_N = \frac{k_{ef.n} r_P \Delta r_P}{\delta z_N} \quad (\text{Eq. 58})$$

$$a_S = \frac{k_{ef.s} r_P \Delta r_P}{\delta z_S} \quad (\text{Eq. 59})$$

$$a_E = \frac{k_{ef.e} r_E \Delta z_P}{\delta r_E} \quad (\text{Eq. 60})$$

$$a_W = \frac{k_{ef.w} r_W \Delta z_P}{\delta r_W} \quad (\text{Eq. 61})$$

$$a_P = \frac{\rho_P c_{p,P} \Delta z_P \Delta r_P}{\Delta t} \quad (\text{Eq. 62})$$

$$\tau = \sigma \vec{\nabla} E_P^2 \left(\Delta r_P \cdot \Delta z_P \cdot \left(\frac{r_w + r_e}{2} \right) \right) \quad (\text{Eq. 63})$$

onde subscritos minúsculos indicam que a propriedade é avaliada na fronteira do volume de controle e subscritos maiúsculos indicam que a propriedade é avaliada no centro do volume de controle.

Segundo o FDA, uma redução de 5 ciclos logarítmicos com relação a um microrganismo chave é necessária para assegurar a segurança de produtos alimentícios. Nesse contexto, o algoritmo implementado repetia toda sua rotina caso o grau de inativação fosse inferior a esse limite; quando o grau de inativação foi igual a 5 ciclos logarítmicos, a simulação foi finalizada e o tempo foi gravado e considerado como sendo o tempo de processamento.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1 Propriedades termofísicas do suco de maçã

4.2.2.1 Calor específico

A Figura 21 mostra o calor específico do suco em função da temperatura. Observa-se que seu valor aumenta com relação a temperatura, conforme previamente descrito por Constenla et al. (1989). Esses autores demonstraram valores similares aos obtidos no presente trabalho, variando de 3750 até 3930 J.kg⁻¹.°C⁻¹ para um suco de maçã clarificado com teor de sólidos próximo ao do suco analisado.

O modelo linear aplicado apresentou bom coeficiente de regressão ($R^2 = 0,9758$) e baixo coeficiente de variação entre as triplicatas ($CV = [0,6; 1,47\%]$). Dessa forma, considera-se que o modelo linear se ajusta adequadamente aos dados experimentais.

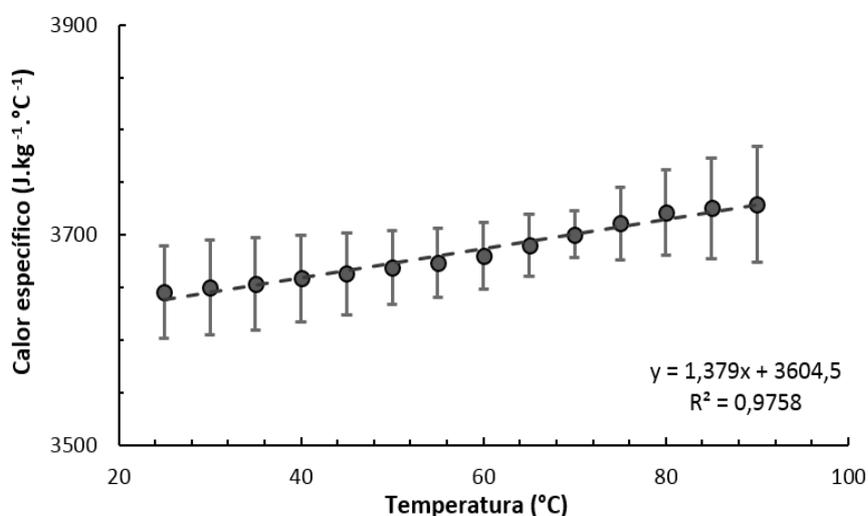


Figura 21: Calor específico do suco de maçã em função da temperatura.

4.2.2.2 Massa específica

A Figura 22 apresenta a dependência da massa específica com a temperatura, observando-se um decréscimo no valor da propriedade com o aumento da temperatura. Constenla et al. (1989) apresentou valores entre 1050 e 1020 para suco de maçã clarificado com teor de sólidos semelhante ao utilizado nessa dissertação; esses valores são próximos aos obtidos experimentalmente.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

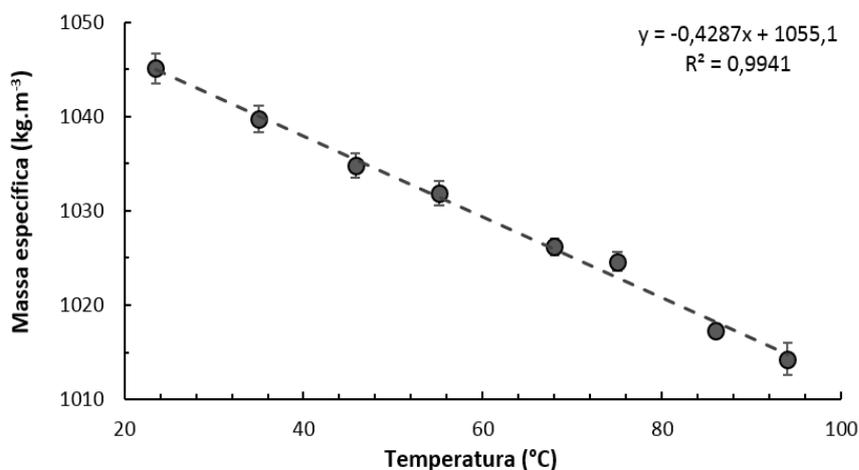


Figura 22: Massa específica do suco de maçã em função da temperatura.

Por apresentar alto coeficiente de regressão ($R^2 = 0,9941$) e baixo coeficiente de variação entre triplicatas ($CV = [0,07; 0,17\%]$), conclui-se que o valor da propriedade é satisfatoriamente descrito pelo modelo linear utilizado.

4.2.2.3 Condutividade elétrica

A Figura 23 apresenta as triplicatas das curvas experimentais obtidas para determinação da condutividade elétrica, bem como a regressão linear decorrente dos dados. Observa-se que a condutividade elétrica do suco de maçã aumenta linearmente com relação a temperatura, comportamento já mostrado por diversos autores (MARRA, F et al., 2009; MERCALI et al., 2011; RAMASWAMY et al., 2014; SASTRY; PALANIAPPAN, 1992; SOUZA, 2008).

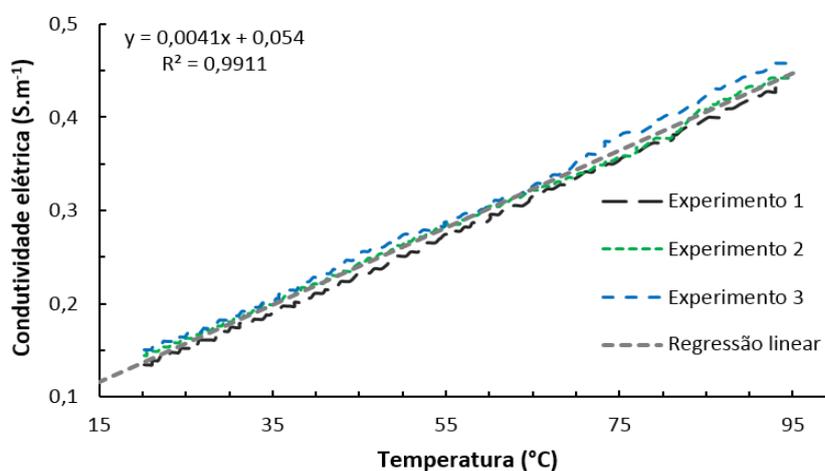


Figura 23: Condutividade elétrica do suco em função da temperatura.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Por demonstrar alto coeficiente de regressão ($R^2 = 0,9911$) e baixo coeficiente de variação entre triplicatas ($CV = [0,23; 3,52 \ %]$), considera-se que a dependência da condutividade elétrica com a temperatura é bem descrita pelo modelo linear utilizado. Ramaswamy et al. (2014) demonstraram a importância dessa propriedade na modelagem do aquecimento ôhmico, uma vez que a taxa de geração de calor do processo é diretamente proporcional a condutividade elétrica da amostra.

4.2.2.4 Difusividade térmica

A Figura 24 mostra as triplicatas das curvas de temperatura adimensional em função do tempo de processamento para obtenção da difusividade térmica a 55°C .

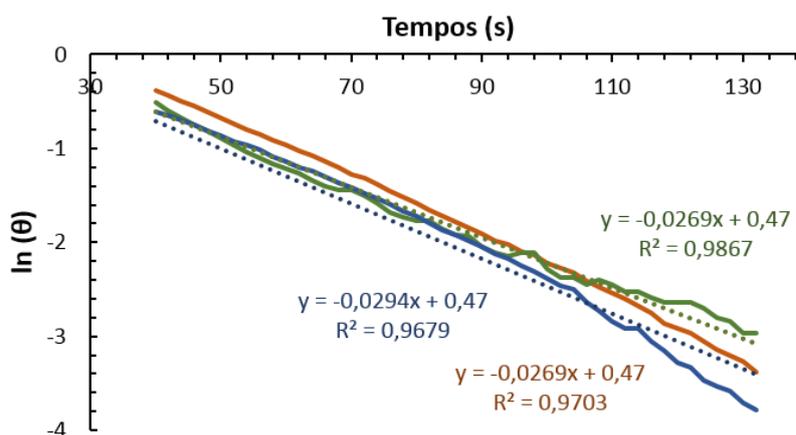


Figura 24: Logaritmo adimensional de evolução da temperatura em função do tempo.

O valor obtido pelas regressões lineares para a difusividade térmica foi de $1,46 \times 10^{-7} \pm 1 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$; o valor dessa propriedade para água nas mesmas condições é de $1,57 \times 10^{-7} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Como o valor encontrado é apenas 7% inferior ao da água, serão utilizadas as propriedades desse fluido como aproximação. Acredita-se que essa aproximação seja válida, uma vez que Mercali et al. (2011) encontraram valores estatisticamente iguais aos da água para polpa de acerola com teores de sólido de 8% e polpa de mirtilo com teor de sólidos de 14,24% (sendo esse último superior ao do suco analisado). Além disso, utilizando os dados de Constenla et al. (1989) para o cálculo dessa propriedade, obtém-se o valor de $1,52 \times 10^{-7} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para suco de maçã clarificado, que também é similar ao da água.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

4.2.2 Análise de convergência de malha

Os resultados obtidos a partir da análise de convergência de malha são mostrados na Tabela 14 que apresenta os tempos de processamento para redução de cinco ciclos logarítmicos nas condições descritas na seção de materiais e métodos.

Tabela 14: Resultados da análise de convergência de malha para o tempo (em min) de redução de 5 ciclos logarítmicos nas condições discutidas na seção de Materiais e Métodos.

	Malha refinada (1)	Malha utilizada (2)	Malha grosseira (3)	GCI₁₂ (%)	GCI₂₃ (%)	ω
Malha temporal espacialmente isotérmica CH	38,511	38,510	38,508	$4,8 \times 10^{-5}$	$5,7 \times 10^{-4}$	1,000
Malha temporal espacialmente isotérmica OH	22,302	22,302	22,303	$1,6 \times 10^{-5}$	$1,2 \times 10^{-3}$	0,999
Malha temporal puramente difusiva CH	50,649	50,649	50,650	$3,3 \times 10^{-4}$	$8,2 \times 10^{-4}$	0,999
Malha temporal puramente difusiva OH	22,448	22,448	22,450	$3,5 \times 10^{-5}$	$5,9 \times 10^{-4}$	1,000
Malha espacial puramente difusiva CH	49,57	50,65	55,61	$7,5 \times 10^{-1}$	$3,3 \times 10^0$	0,979
Malha espacial puramente difusiva OH	22,402	22,448	22,572	$1,5 \times 10^{-1}$	$4,1 \times 10^{-1}$	0,998

Observam-se erros de discretização temporais muito baixos em todos os cenários ($\omega \sim 1$ e $GCI \sim 0$). Isso indica que o passo de tempo utilizado em todas as simulações foi adequado, de forma que não é necessário aumentar o seu valor para captar de melhor forma as alterações temporais do sistema proposto.

Os erros de discretização espaciais, por sua vez, tiveram valores um pouco menos adequados, principalmente no caso do AC. Entretanto, ainda assim foram visualizados baixos valores de GCI e ω próximo a 1. Valores similares de GCI e ω foram encontrados em Maurer (2015) e Baker et al. (2019), por exemplo, para domínios bidimensionais.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Dessa forma, conclui-se que as malhas temporais e espaciais utilizadas nesse trabalho são adequadas para descrever o comportamento do sistema.

4.2.3 Validação do modelo espacialmente isotérmico

A Figura 25 mostra as curvas obtidas pelos modelos espacialmente isotérmicos em comparação com os dados experimentais para o AC (A) e o AO (B), indicando que ambos modelos se ajustam bem aos dados experimentais. Para o AC, observa-se uma aproximação logarítmica da temperatura do suco à temperatura do fluido na camisa com o passar do tempo. Já no AO, a temperatura aumenta monotonamente, com derivadas que aumentam com o passar do tempo. Esse comportamento já foi descrito por diversos autores na literatura (e.g., Sastry e Palaniappan (1992), Marra et al. (2009) e Kamonpatana et al. (2013)) e deve-se ao fato de que a taxa de geração de calor por efeito Joule é diretamente proporcional à condutividade elétrica, que, por sua vez, tem seu valor aumentado com a temperatura. Finalmente, destaca-se que a hipótese de agitação vigorosa é satisfeita, uma vez que os dados experimentais de temperatura dos dois termopares são similares.

A Tabela 15 mostra os desvios de temperatura médio e máximo do modelo em comparação com os dados experimentais, bem como os índices estatísticos BIAS e AF para mensuração da performance do modelo. Os desvios médios e máximos de temperatura entre os resultados experimentais e o modelo são similares se comparados os processos de AO e AC. Erros em relação ao AC podem estar associados à estimação do coeficiente convectivo do processo, enquanto erros relativos ao AO podem estar associados à estimação do coeficiente de convecção natural externo e da simplificação do gradiente de campo elétrico como sendo uniforme e constante.

Ambos os processos apresentaram valores de BIAS e AF muito próximos ao ideal (1,0). Considerando a proximidade dos índices estatísticos ao valor ideal, pode-se concluir que o modelo térmico tenha sido bem validado experimentalmente. Dessa forma, esse modelo pode ser integrado ao modelo cinético para o estudo da influência das variáveis de processo no tempo de pasteurização. Em adição, o valor de BIAS maior que 1,0 no AC indica que o modelo tende a superestimar os dados experimentais, enquanto que o valor menor que 1,0 no AO indica que o modelo tende a subestimar os dados.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

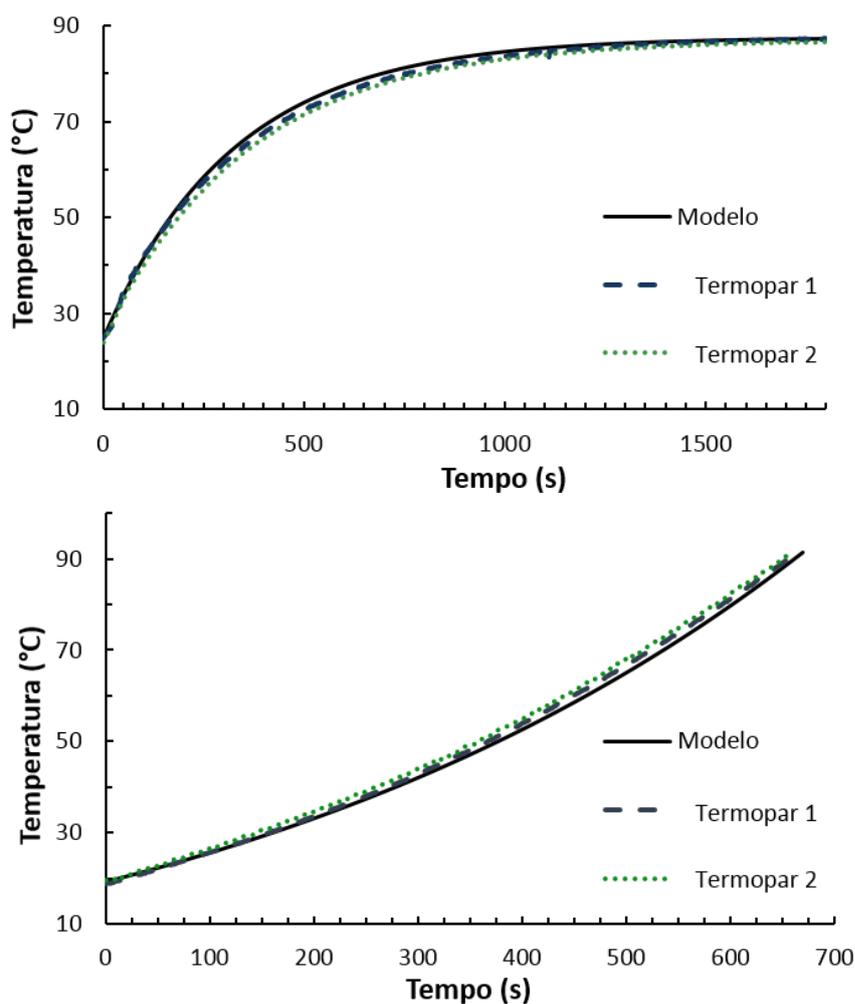


Figura 25: Validação dos modelos térmicos espacialmente isotérmicos para (A) aquecimento convencional com temperatura de aquecimento de 87°C e vazão de 2,4 l/min; (B) aquecimento ôhmico com campo elétrico de 10 V/cm e temperatura ambiente de 25°C.

Tabela 15: Parâmetros obtidos na validação do modelo espacialmente isotérmico.

Processo	Diferença de temperatura média (°C)	Diferença de temperatura máxima (°C)	BIAS	AF
AC	1,17	2,04	1,015	1,017
AO	1,24	2,27	0,979	1,023

4.2.4 Validação do modelo puramente difusivo

A presente subseção versará sobre a validação dos modelos puramente difusivos. Como os procedimentos adotados para validação foram diferentes no AC e no AO, os resultados serão apresentados separadamente.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

4.2.4.1 Validação do AC puramente difusivo

A Figura 26 mostra as curvas previstas pelo modelo do AC puramente difusivo em comparação com os dados coletados experimentalmente nas posições mostradas na Figura 16. Observa-se que os dados experimentais começam a ter sua temperatura aumentada mais rapidamente do que as previsões geradas pelo modelo. Entretanto, após essa defasagem inicial, o modelo demonstra bons resultados em comparação aos pontos experimentais. A Tabela 16 mostra os índices estatísticos e desvios observados.

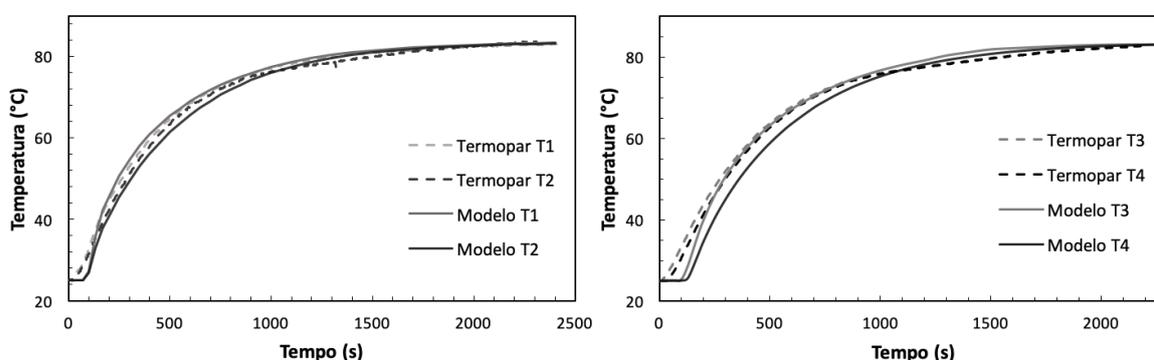


Figura 26: Validação do modelo puramente difusivo para AC nos termopares T1 ($z = 5$ cm, $r = 3,5$ cm), T2 ($z = 2,5$ cm, $r = 3,5$ cm), T3 ($z = 5$ cm, $r = 0$) e T4 ($z = 2,5$ cm, $r = 0$).

Tabela 16: Diferenças de temperatura e índices estatísticos utilizados para validação do modelo de AC puramente difusivo.

Termopar	Diferença de temperatura média (°C)	Diferença de temperatura máxima (°C)	BIAS	AF
T1	0,75	3,46	0,992	1,023
T2	0,85	5,79	0,998	1,018
T3	2,1	8,45	0,965	1,045
T4	1,62	8,21	0,984	1,034

Observam-se desvios de temperatura máxima relativamente altos; a análise da Figura 26 mostra que o modelo prevê um tempo necessário até os pontos analisados começarem a aquecer (de aproximadamente 100 s nos termopares 1 e 2 e 115 s nos termopares 3 e 4). Esse tempo de latência também foi observado nos dados experimentais, embora seja consideravelmente menor (na ordem de 10 a 20 segundos, aproximadamente). Essa diferença proporciona os desvios máximos entre a modelagem e o experimento no início da curva.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Possivelmente esses erros são decorrentes da simplificação dos mecanismos de convecção natural como sendo um aumento na condutividade térmica do sistema (Eq. 47) e seriam evitados ao se resolver as equações de Navier-Stokes para o escoamento em questão. Entretanto, como essas diferenças são significativas somente nos estágios iniciais de aquecimento, onde a taxa de inativação do microrganismo é essencialmente nula (até 65°C não ocorre inativação expressiva do microrganismo), entende-se que elas não irão interferir nos resultados. Em adição, os índices estatísticos se encontram próximos ao valor ideal (1,0), de forma que se pode concluir que o modelo, na média, descreve bem os dados experimentais. Ainda, os valores de BIAS menores que 1,0 indicam a tendência do modelo de subestimar os dados experimentais.

4.2.4.2 Validação do AO puramente difusivo

Conforme mencionado na seção de metodologia, a validação do AO puramente difusivo foi realizada a partir de dados provenientes do estudo de Marra et al. (2009). Os autores inseriram termopares em 9 localizações distintas na célula ôhmica preenchida com purê de batata. Os resultados estão mostrados na Figura 27. Observa-se pouca diferença entre os termopares, indicando que o aquecimento ocorre de forma homogênea no volume de controle analisado; dessa forma, considerar-se-á somente a média das temperaturas observadas para validação do modelo.

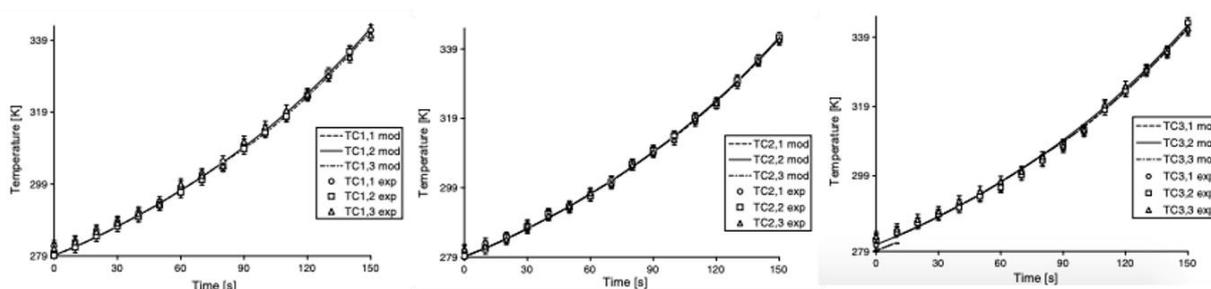


Figura 27: Dados experimentais de purê de batata aquecido ômicamente e modelo ajustado por Marra et al. (2009) em nove posições distintas.

Fonte: Marra et al (2009)

A Figura 28 mostra o modelo utilizado no presente estudo e os dados experimentais obtidos do trabalho de Marra et al (2009) utilizado para validação. Observa-se que o comportamento de aquecimento da amostra é similar a aquele observado no caso espacialmente isotérmico e que o modelo ajusta-se bem aos dados experimentais. A Tabela 17

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

mostra os índices estatísticos utilizados para quantificação da performance do modelo e os desvios médios e máximos da temperatura. Marra et al (2009) encontraram desvios médios e máximos de 0,71 e 2,07°C, respectivamente, que são bastante próximos aos encontrados no presente trabalho. Com relação aos índices estatísticos, tanto o BIAS quanto AF são próximos a 1, indicando que o modelo se ajusta bem aos dados. Ainda, o valor de BIAS menor que 1 indica que o modelo subestima os dados experimentais na média.

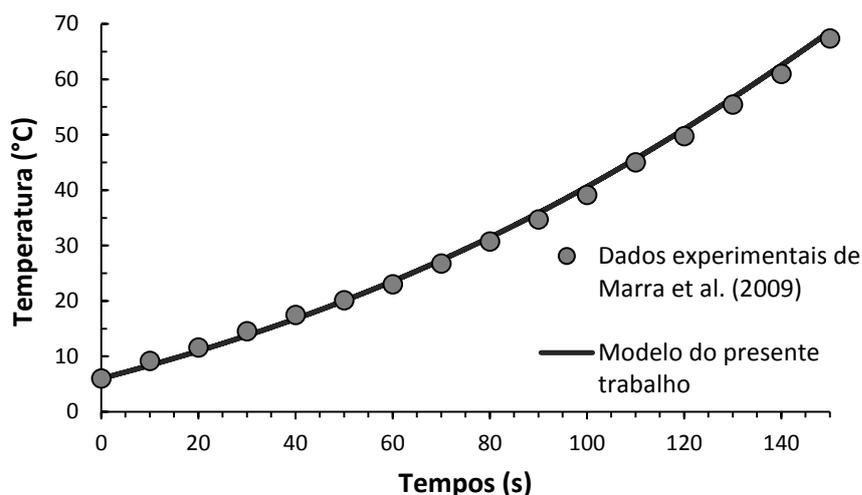


Figura 28: Modelo do AO puramente difusivo do presente trabalho adequado à média dos dados experimentais de Marra et al. (2009).

Tabela 17: Diferenças de temperatura e índices estatísticos utilizados para validação do modelo de AO puramente difusivo.

Diferença de temperatura média (°C)	Diferença de temperatura máxima (°C)	BIAS	AF
0,86	1,90	0,998	1,003

Em adição, a Figura 29 mostra as simulações realizadas por Marra et al (2009) em um domínio tridimensional comparadas com o modelo matemático bidimensional utilizado no âmbito dessa dissertação. Comportamentos idênticos são observados para a representação bidimensional em comparação com o previamente publicado pelos autores, indicando também a acurácia do modelo. Os pontos frios, localizados nas extremidades da célula, que são de suma importância para o cálculo de tratamentos térmicos, tiveram valores similares.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

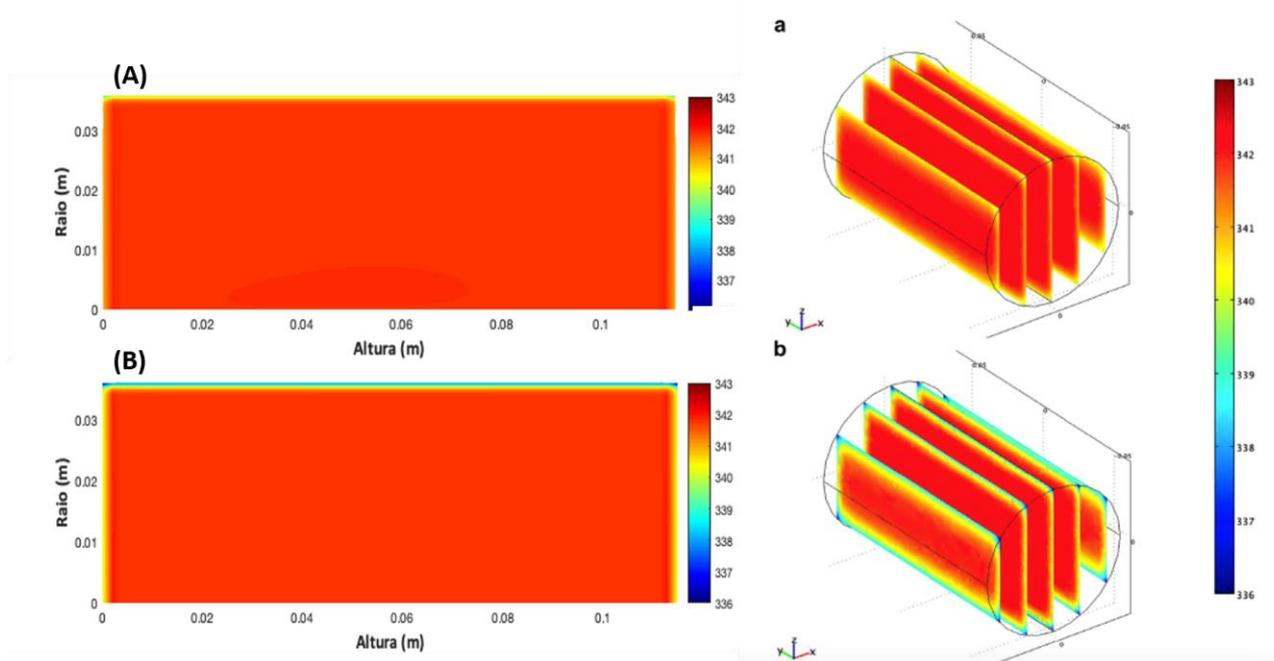


Figura 29: Resultados das simulações de perfil de temperatura da presente dissertação (esquerda) em comparação com aqueles publicados por Marra et al. (2009) (direita) para AO com (A) coeficiente global de transferência de calor $U = 5 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$ e (B) coeficiente global de transferência de calor $U = 10 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$.

4.2.5 Simulações do caso espacialmente isotérmico

4.2.5.1 AC espacialmente isotérmico

A Figura 30 mostra o tempo de processamento para uma redução de 5 ciclos logarítmicos do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã em função da vazão volumétrica da água na camisa e da temperatura para análise espacialmente isotérmica do aquecimento convencional. Observa-se redução do tempo de processamento tanto em função do aumento da temperatura quanto da vazão volumétrica, que variou de 156,4 minutos ($T_{\infty} = 75^{\circ}\text{C}$ e $\dot{Q} = 0,04 \text{ l/min}$) até 18,9 minutos ($T_{\infty} = 94^{\circ}\text{C}$ e $\dot{Q} = 3 \text{ l/min}$).

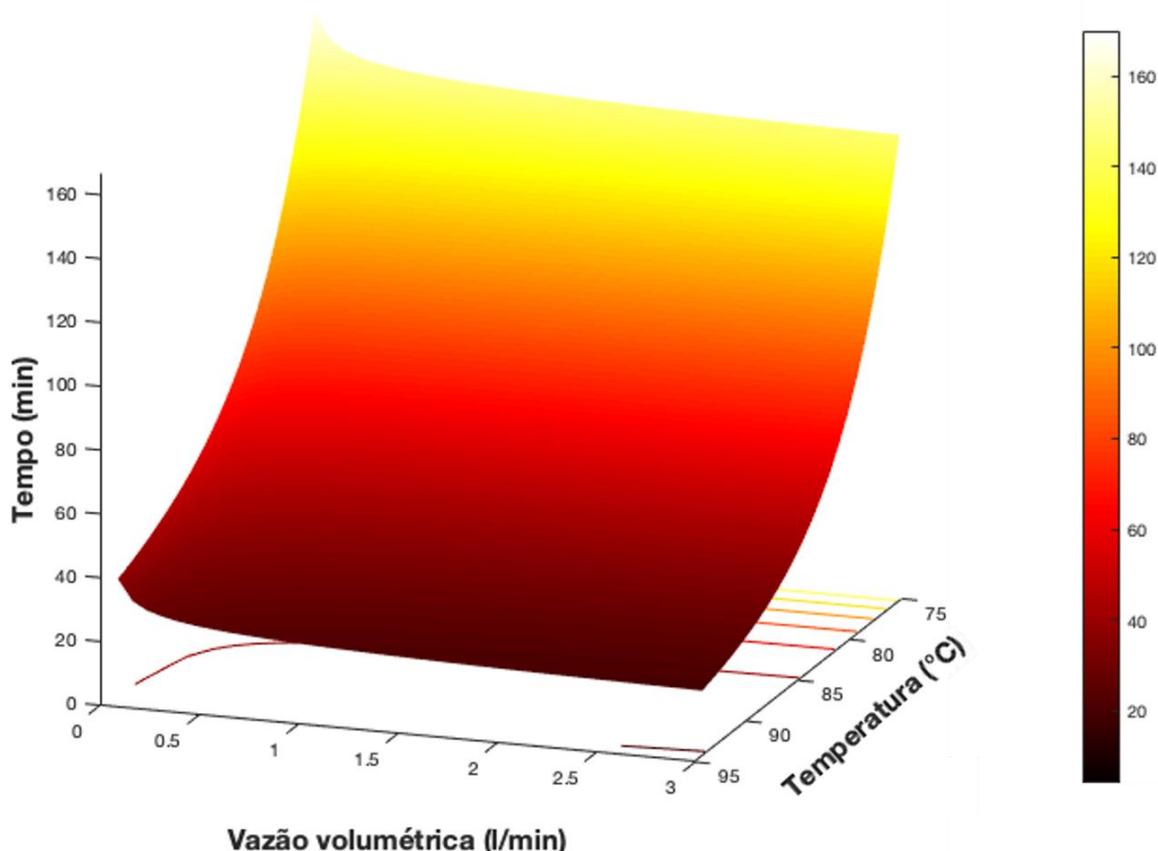


Figura 30: Tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *A. fumigatus* em suco de maçã tratado convencionalmente com perfil de aquecimento espacialmente isotérmico em função da temperatura e da vazão volumétrica do fluido de aquecimento.

Considerando o efeito da temperatura de escoamento do fluido na camisa, observa-se que ao se aumentar a variável do nível mínimo (75°C) para o máximo (94°C), uma redução de 76,9% no tempo de processo é visualizada na menor vazão volumétrica (0,04 l/min) e de 86,1% na maior vazão (3 l/min). O efeito da temperatura na cinética de inativação diz respeito, basicamente, à desnaturação das proteínas necessárias ao metabolismo microbiano. Sabe-se que, quanto maior a temperatura empregada, menor o tempo de processo necessário para uma mesma redução de qualquer célula microbiana, desde que essa temperatura esteja acima da temperatura letal mínima para um determinado microrganismo (CEBRIÁN; CONDÓN; MANÑAS, 2017). Esse comportamento foi confirmado nas simulações apresentadas.

Com respeito ao efeito da vazão volumétrica, observa-se que ao aumentar a variável do nível mínimo (0,04 l/min) para o nível máximo (3 l/min), uma redução de 12,9% no tempo

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

de processo é visualizada na menor temperatura (75°C) e de 48,0% na maior temperatura (94°C). O efeito da vazão volumétrica é observado na rampa de aquecimento do produto; a Figura 31 mostra a variação de temperatura ao longo do tempo para três vazões volumétricas. Vazões volumétricas maiores estabelecem maiores números de Reynolds, que levam a maiores coeficientes convectivos conforme as relações mostradas pelas Equações 17, 18 e 19. Dessa forma, quanto maior a vazão, maior o coeficiente global de troca térmica (Equação 36) do processo, uma vez que a resistência à convecção na camisa tende a valores próximos a 0 em vazões suficientemente altas (Bergman et al., 2011; Çengel e Ghajar, 2012). Entretanto, esse efeito é sentido até, aproximadamente, 1,9 l/min; após esse valor, variações na ordem de apenas 2% são observadas. Ao se avaliar a Equação 36, nota-se que, mesmo que o termo referente à resistência convectiva seja próximo a 0, o aquecimento ainda será afetado pela resistência à condução na parede da célula, de forma que, após o valor limite de vazão exposto, somente essa resistência atua de forma significativa no processo.

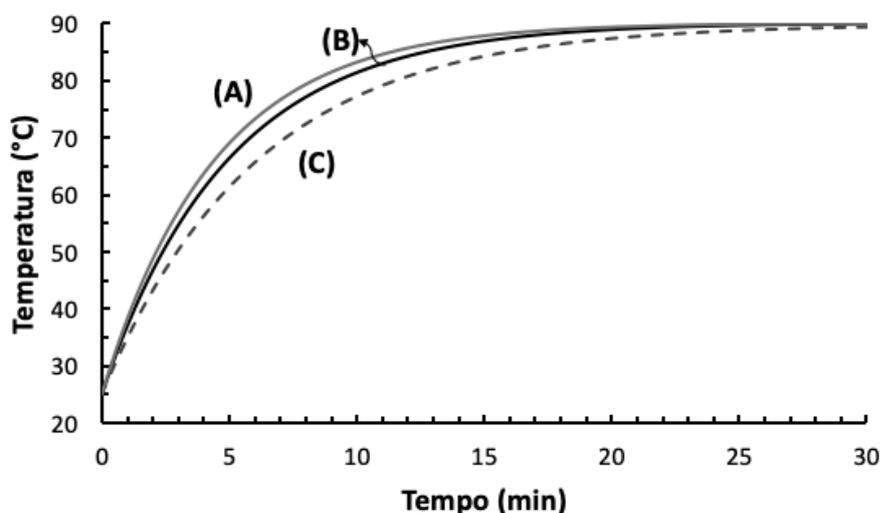


Figura 31: Evolução do perfil de temperatura para o AC com vazão volumétrica de: (A) 2 l/min;(B) 1,5 l/min e (C) 0,5 l/min.

4.2.5.2 AO espacialmente isotérmico

A Figura 32 mostra o tempo de processamento para uma redução de 5 ciclos logarítmicos do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã em função do campo elétrico e da temperatura de processamento para a análise espacialmente isotérmica do aquecimento ôhmico. Observa-se redução do tempo tanto em função do aumento da temperatura quanto do

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

campo elétrico aplicado, variando de 143,4 minutos ($T = 75^{\circ}\text{C}$ e $\nabla E = 5 \text{ V/cm}$) até 4,9 minutos ($T = 94^{\circ}\text{C}$ e $\nabla E = 50 \text{ V/cm}$).

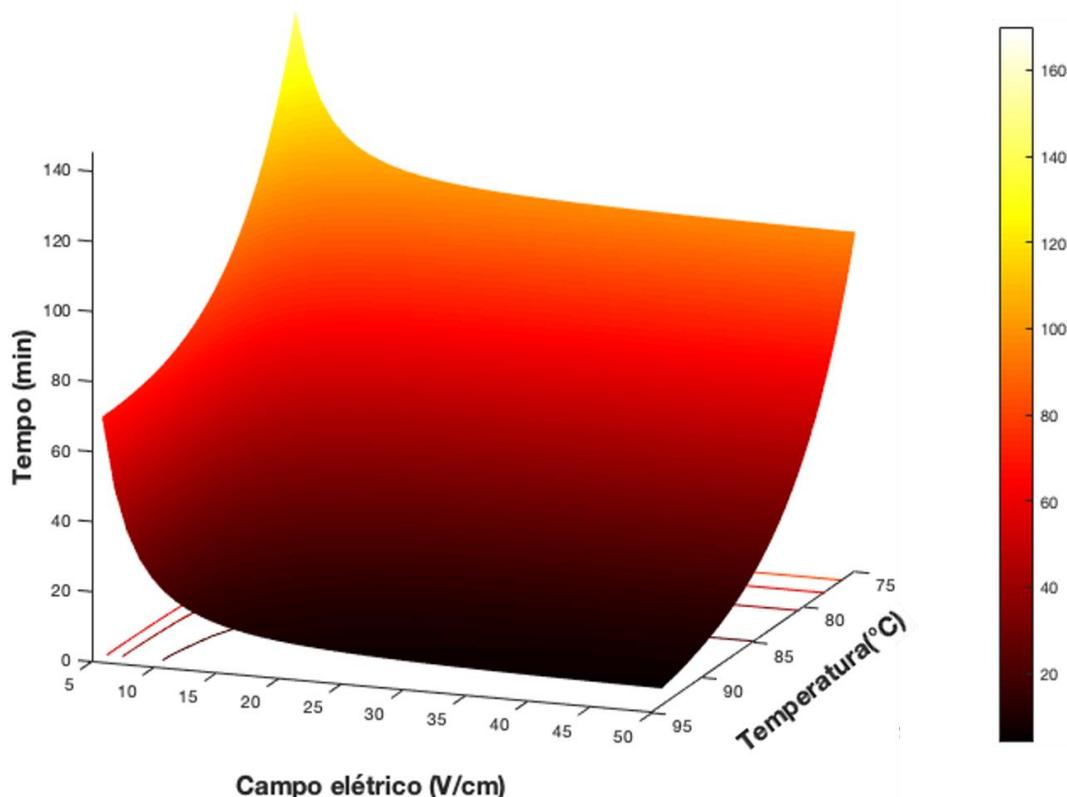


Figura 32: Tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *A. fumigatus* em suco de maçã tratado ohmicamente com perfil de aquecimento espacialmente isotérmico em função da temperatura do suco e do campo elétrico.

Observa-se novamente uma alta dependência do tempo de processo com a temperatura; ao se aumentar a variável do nível mínimo (75°C) para o nível máximo (94°C), uma redução de 55,1% no tempo de processamento é observada no menor campo elétrico (5 V/cm) e de 94,9% no maior campo elétrico (50 V/cm). O menor efeito em campos baixos deve-se ao fato de que altos tempos de aquecimento são observados em tais condições, o que faz com que maiores tempos de processamento sejam necessários independentemente da temperatura analisada. Já em tensões mais altas, o rápido aquecimento torna a inativação fortemente dependente dos parâmetros cinéticos, que variam substancialmente em relação à temperatura empregada.

Considerando o efeito do campo elétrico aplicado no tempo, observa-se que, ao se aumentar a variável do nível mínimo (5 V/cm) para o nível máximo (50 V/cm), uma redução de 32,4% no tempo de processamento é observada na menor temperatura e de 92,3% na maior

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

temperatura. Os efeitos do campo estão relacionados ao aumento da taxa de geração de calor no AO, o que diminui o tempo necessário para o produto atingir a temperatura de processo. A Figura 33 mostra a evolução da temperatura em função do tempo durante o AO do suco de maçã aplicando três campos elétricos distintos. Os tempos para que a temperatura de 90 °C fosse atingida são de 66,2, 15,8 e 3,9 min, para 5, 10 e 20 V/cm de campo elétrico, respectivamente. Resultados similares envolvendo a taxa de inativação microbiana em função da aplicação do campo elétrico já foram observados anteriormente. Sagong et al.(2011), por exemplo, demonstraram que o tempo para a redução de 5 ciclos logarítmicos de *Escherichia coli* em suco de tomate foi quase 75% mais curto ao se dobrar o campo elétrico de 10 V/cm para 20 V/cm; os autores também reportaram resultados similares para *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocytogenes*. Park, Ha e Kang (2017) estudaram esses mesmos microrganismos e mostraram que nenhum deles foi capaz de resistir a um tratamento de 60 V/cm por 30 s; quando um campo elétrico de 30 V/cm foi aplicado, contagens consideráveis de microrganismos foram observadas mesmo após 1 minutos de processamento.

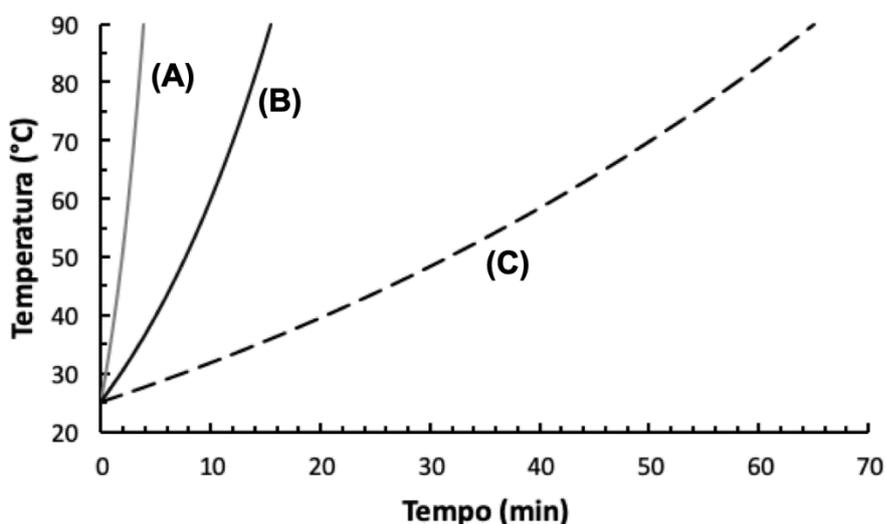


Figura 33: Evolução do perfil de temperatura para o AO com campo elétrico de: (A) 20 V/cm; (B) 10 V/cm e (C) 5 V/cm

Em adição, a análise da Figura 32 indica que, quando campos maiores que 40 V/cm são aplicados, efeitos adicionais de diminuição de tempo de processo não são observados (alterações menores que 5% em todas temperaturas). Esse comportamento decorre do rápido aquecimento em campos elétricos mais altos. Finalmente, vale ressaltar que os parâmetros cinéticos podem sofrer variações decorrentes dos efeitos elétricos, sendo que esses efeitos são funções da intensidade do campo elétrico (efeitos não avaliados nessa dissertação). Dessa

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

forma, campos maiores poderiam indicar tempos de processo ainda menores dependendo da temperatura analisada, conforme demonstrado por Baysal e Icier (2010) e Murashita et al. (2016).

4.2.5.3 Comparações entre os processos espacialmente isotérmicos

A Figura 34 apresenta as superfícies das Figuras 30 e 32 representadas em duas dimensões para o AC (A) e o AO (B), respectivamente. Observa-se que, para uma mesma temperatura, existe uma tendência a cores mais escuras no AO quando comparado ao AC, indicando menores tempos de pasteurização para o AO.

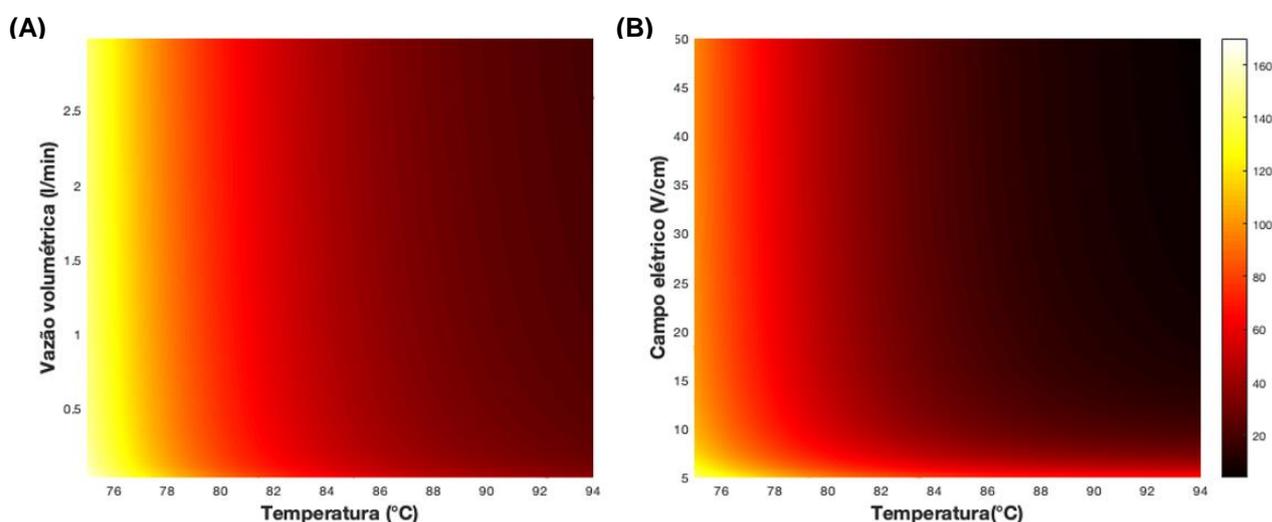


Figura 34: Representação bidimensional do tempo de processamento das superfícies de resposta das Figuras 30 e 32, para AC (A) e AO (B).

Conforme discutido no Capítulo 4, efeitos não-térmicos de inativação estão presentes em uma certa faixa de temperatura para o microrganismo analisado; por si só, esse efeito provocaria tempos de processamento menores em uma ampla gama de situações previstas pelos modelos, mesmo que a evolução do perfil de temperatura fosse semelhante em ambos os processos, conforme previamente demonstrado por diversos autores (CHO et al. 1996; PEREIRA et al., 2007; SOMAVAT et al., 2012; SOMAVAT et al., 2013; RODRIGUES et al., 2018;). Adicionalmente, a evolução do perfil de temperatura tende a ser mais rápida no AO, fazendo com que o produto chegue na temperatura desejada mais rapidamente (RUAN et al., 2002). A soma desses dois efeitos é responsável pelos melhores resultados do AO nas condições avaliadas. Pode-se acrescentar que, caso alterações em função do campo elétrico

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

aplicado nos parâmetros cinéticos fossem levadas em consideração, possivelmente as diferenças entre os dois processos seriam ainda maiores.

De forma geral, processos ôhmicos a 10 V/cm foram praticamente equivalentes aos processos convencionais na maior vazão volumétrica (3 l/min), para uma mesma temperatura. Informações referentes a processos equivalentes também podem ser úteis para o entendimento da diferença entre as tecnologias. Por exemplo:

- o mesmo tempo de processo (18,92 min) é observado a 94°C e 3 l/min no AC e a 85,5°C e 38 V/cm no AO;
- um tratamento convencional a 85°C e vazão de 1,5 l/min leva o mesmo tempo (41,1 min) que um tratamento ôhmico à 80°C e 28 V/cm;
- o tratamento de AO com menor tempo (4,9 min) não é possível no AC dentro das condições analisadas.

Desse modo, pode-se concluir que o AO é uma tecnologia que pode potencialmente diminuir os tempos de processamento nos cenários avaliados. Isso pode acarretar em diminuições de tempo de processamento para uma mesma temperatura, diminuição de gastos energéticos e manutenção dos componentes sensoriais e nutricionais do produto.

4.2.6 Simulações do caso puramente difusivo

4.2.6.1 AC puramente difusivo

A Figura 35 mostra o gráfico da análise puramente difusiva do AC com a variável de resposta sendo o tempo para inativação de 5 ciclos logarítmicos do fungo *Aspergillus fumigatus*. O tempo de processamento variou de 181,72 minutos ($T_{\infty} = 75^{\circ}C$ e $\dot{Q} = 0,04$ l/min) até 28,5 minutos ($T_{\infty} = 94^{\circ}C$ e $\dot{Q} = 3$ l/min).

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

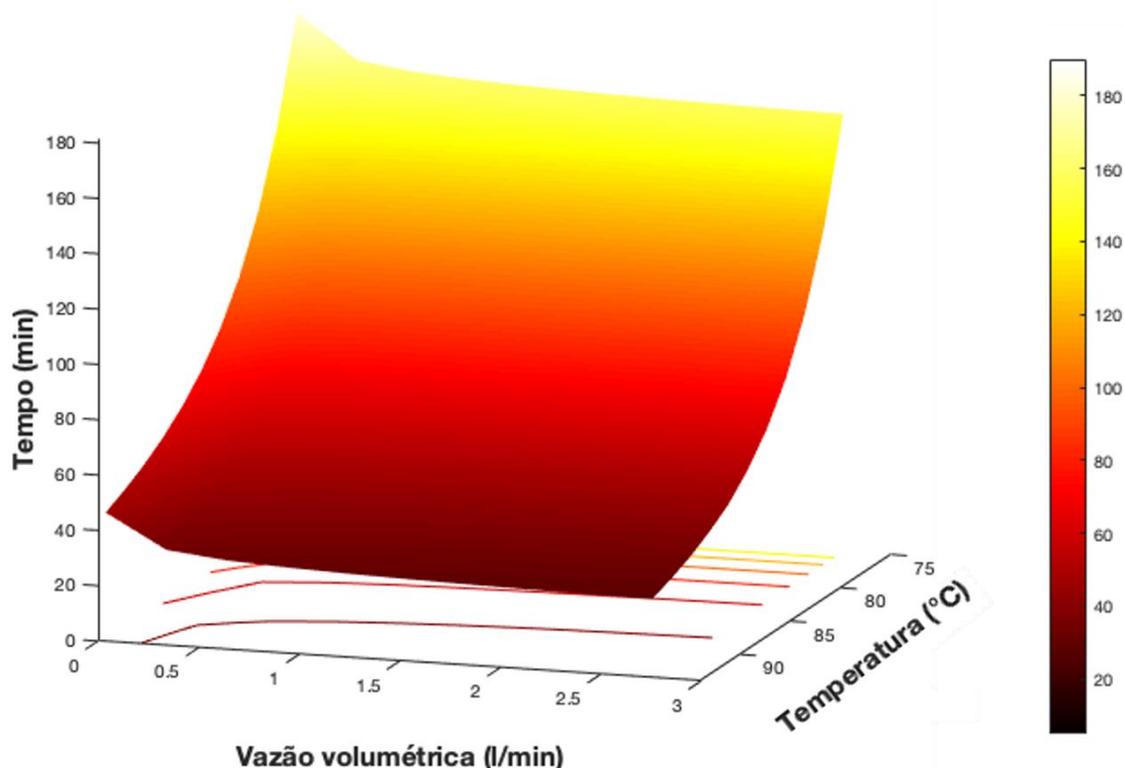


Figura 35: Tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *A. fumigatus* em suco de maçã tratado convencionalmente com perfil de aquecimento puramente difusivo em função da temperatura e da vazão volumétrica do fluido de aquecimento.

Os efeitos físicos responsáveis pela diminuição da variável de resposta em altas temperaturas e altas vazões são similares àquela discutida anteriormente na seção 4.2.5.1. Entretanto, quando avaliado o AC puramente difusivo, devido à distribuição não uniforme de temperatura na célula, o tempo de processo foi calculado com relação ao ponto mais frio do produto. Nesse caso, o ponto mais frio é no centro radial da superfície superior da célula; a Figura 36 mostra o perfil de temperatura em vários instantes do tempo para ilustração dos gradientes presentes nesse caso.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

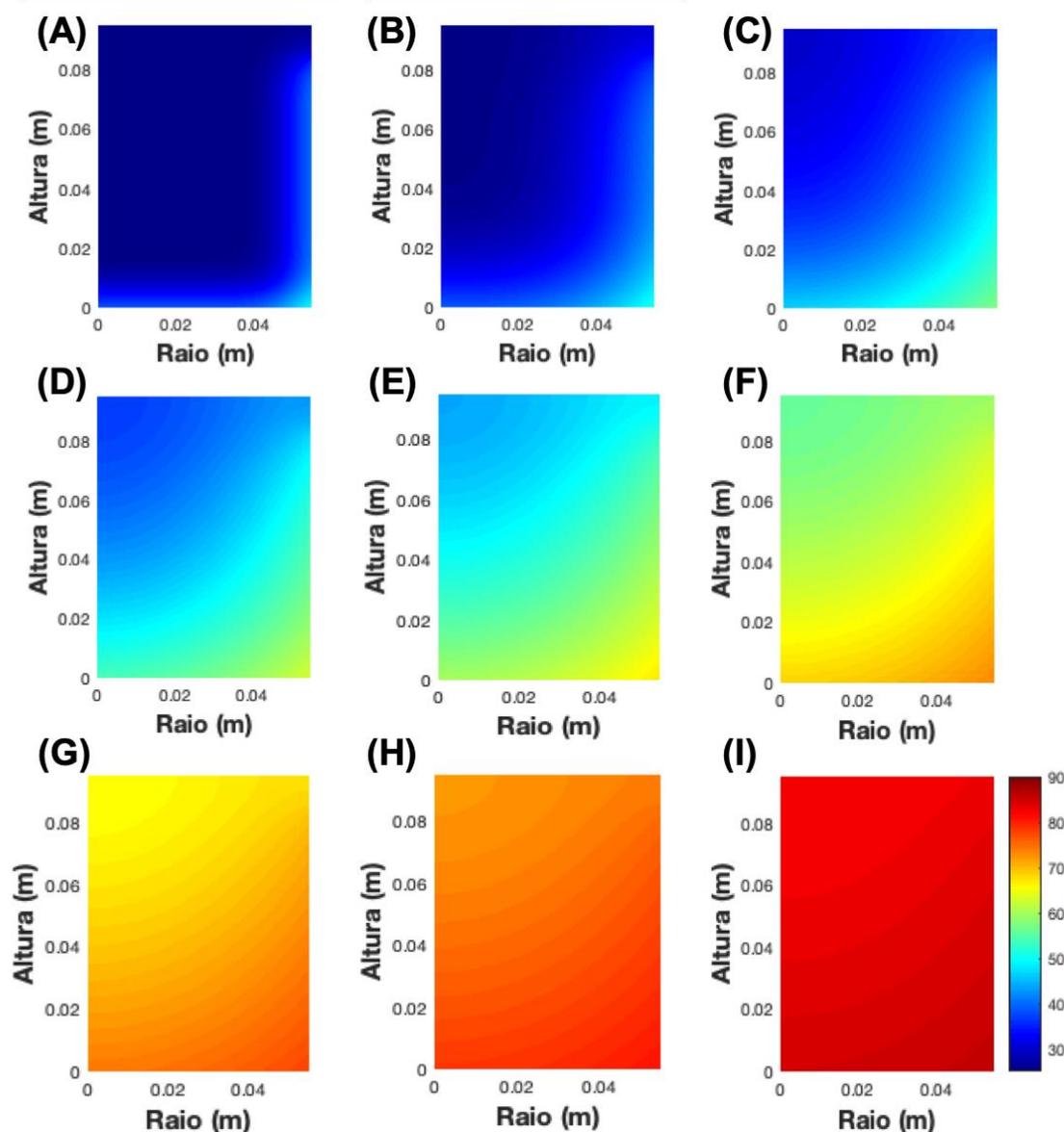


Figura 36: Perfis de temperatura do AC considerando vazão volumétrica de 1,5 l/min e temperatura de fluido de processo de 90°C para (A) 30 s; (B) 60 s; (C) 120 s; (D) 180 s; (E) 240 s; (F) 360 s; (G) 480 s; (H) 600 s e (I) 900 s.

Ao se aumentar a temperatura do nível mínimo (75°C) para o nível máximo (94°C), uma redução de 74,3% no tempo de processamento é observada na menor vazão volumétrica e de 82,0% na maior. Com respeito ao efeito da vazão volumétrica, observa-se que, ao aumentar a variável do nível mínimo (0,04 l/min) para o nível máximo (3 l/min), ocorre uma redução de 13,0% no tempo de processo na menor temperatura (75°C) e de 38,9% na maior temperatura (94°C).

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Os efeitos da variação da temperatura e da vazão no tempo de processamento são similares àqueles observadas para o caso perfeitamente agitado, embora a magnitude dos tempos seja diferente. Isso pode ser corroborado pela análise das curvas das Figuras 30 e 35, que demonstram comportamentos similares, embora com escalas de tempo diferentes devido aos gradientes mostrados na Figura 36. Comparações entre as duas formas de aquecimento serão realizadas na seção 4.2.7.

Mackey et al. (2006) utilizaram um modelo matemático similar para prever a influência de vários parâmetros no tempo de pasteurização de *Enterococcus faecium* em uma matriz sólida, considerando a inativação no centro do cilindro (ponto frio proveniente das condições de contorno utilizadas). Para um cilindro de 100 mm de diâmetro (similar ao tamanho utilizado nessa dissertação), os autores encontraram tempos de processamento que variaram entre 141 e 63 min para temperaturas de 60 e 95°C, respectivamente; não foi avaliado o efeito da vazão volumétrica uma vez que a condição de contorno estabelecida foi de temperatura prescrita. Observa-se que a diminuição observada no presente estudo no maior coeficiente convectivo (situação próxima a de temperatura prescrita) fez a variável de resposta mudar de aproximadamente 160 minutos para 28,5 minutos, considerando mudanças de temperatura de 75 para 94°C. Dessa forma, pode-se dizer que o efeito da temperatura é mais pronunciado nesse trabalho em comparação com o de Mackey et al. (2006).

4.2.6.2 AO puramente difusivo

A Figura 37 mostra a curva de nível proveniente da análise puramente difusiva do AO. Novamente, a variável de resposta é o tempo para inativação de 5 ciclos logarítmicos. Esse tempo variou de 149,1 minutos ($T = 75^{\circ}\text{C}$ e $\nabla E = 5 \text{ V/cm}$) até 5,0 minutos ($T = 94^{\circ}\text{C}$ e $\nabla E = 50 \text{ V/cm}$).

Os efeitos físicos responsáveis pela diminuição da variável de resposta em altas temperaturas e altos campos elétricos é similar àquela discutida anteriormente na seção 4.2.5.2; novamente, o tempo de processo foi calculado com relação ao ponto mais frio do produto que, no caso do AO, é na lateral da célula submetida a condição de contorno de perda de calor para o ambiente externo.

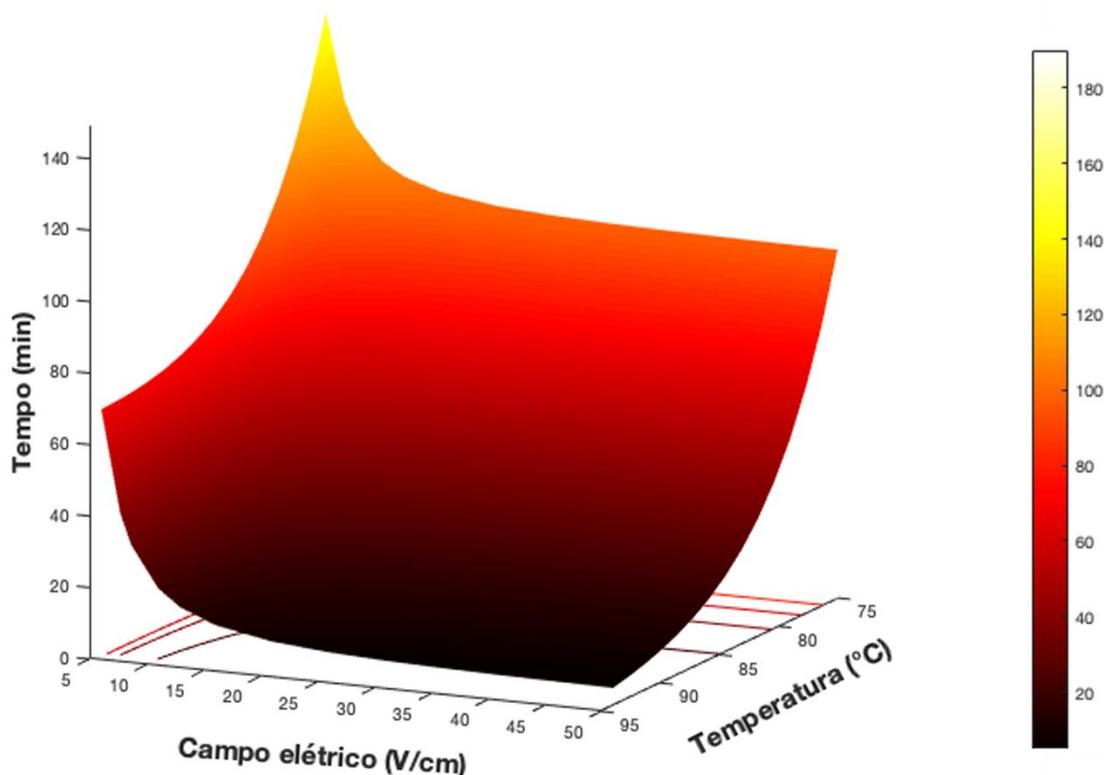


Figura 37: Tempo para uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *A. fumigatus* em suco de maçã tratado ohmicamente com perfil de aquecimento puramente difusivo em função da temperatura e do campo elétrico.

Ao se aumentar a temperatura do nível mínimo (75°C) para o nível máximo (94°C), uma redução de 55,3% no tempo de processamento é observada no menor campo elétrico e de 94,8% no maior. Considerando o efeito do campo elétrico aplicado no tempo de processamento, observa-se que, ao se aumentar a variável do nível mínimo (5 V/cm) para o nível máximo (50 V/cm), tem-se uma redução de 32,3% na menor temperatura e de 92,1% na maior temperatura. O perfil de temperaturas obtido para o AO puramente difusivo pode ser visualizado na Figura 38. Observa-se baixos gradientes de temperatura, o que indica que os tempos de processamento para o caso puramente difusivo são similares aqueles observados no caso espacialmente isotérmico; comparações entre ambos processos serão feitas na seção 4.2.7.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

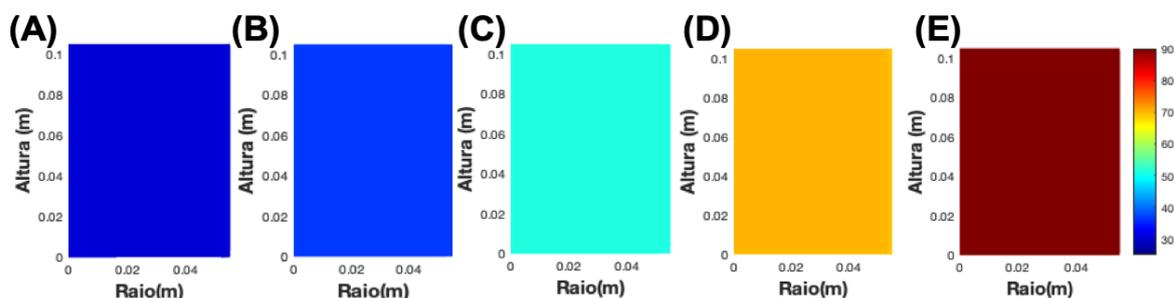


Figura 38: Perfis de temperatura do AO considerando campo elétrico de 20 V/cm e temperatura de processo de 90°C para (A) 30 s; (B) 60 s; (C) 120 s; (D) 180 s e (E) 240 s.

Marra (2014) utilizaram um modelo similar ao adotado no âmbito dessa dissertação para analisar a influência da condutividade elétrica e do isolamento térmico no tempo para uma redução de 12 ciclos logarítmicos de *Escherichia coli* O157:H17 em purê de batatas. Nas condições avaliadas pelo autor, a rampa de aquecimento foi suficiente para inativar a espécie microbiana ao nível desejado; os tempos de esterilização propostos foram de 127 segundos no melhor cenário analisado (isolamento térmico e maior condutividade elétrica) até 176 segundos (com coeficiente de perdas térmicas de $15 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$ e menor condutividade elétrica). Observa-se que os tempos de processamento obtidos pelo autor são menores que os obtidos nesse estudo, em virtude tanto da menor termorresistência da *Escherichia coli* em comparação com o fungo *A. fumigatus*, quanto da maior condutividade elétrica do purê de batatas (que variou entre 1,22 até $4,28 \text{ S.m}^{-1}$ para 5 e 85°C, respectivamente), proporcionando maiores taxas de aquecimento.

4.2.6.3 Comparações entre os processos puramente difusivos

A Figura 39 apresenta as superfícies das Figuras 35 e 37 representadas em duas dimensões para o AC (A) e o AO (B), respectivamente para comparação dos tipos de processamento a partir do emprego do modelo térmico analisado.

De forma análoga ao que foi discutido anteriormente, no AO são visualizadas cores mais escuras quando comparado com o AC em uma mesma temperatura. Tal comportamento indica menores tempos de processamento em todas as condições (devido aos efeitos de inativação não-térmicos e ao aquecimento mais rápido e homogêneo). Novamente, as seguintes considerações sobre tratamentos térmicos equivalentes em ambas as formas de processamento podem ser feitas:

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

- a melhor condição de AC (94°C, 3 l/min) corresponde ao mesmo tempo de tratamento (28,5 min) que o AO a 83°C e 27 V/cm ou 90°C e 9 V/cm ;
- um tratamento com o mesmo tempo (50 min) de AC a 85°C e 3 l/min corresponde a um tratamento de AO a 80°C e 12 V/cm;
- o menor tempo de tratamento no AO (5,0 min) não pode ser atingido no AC dentro das condições analisadas.

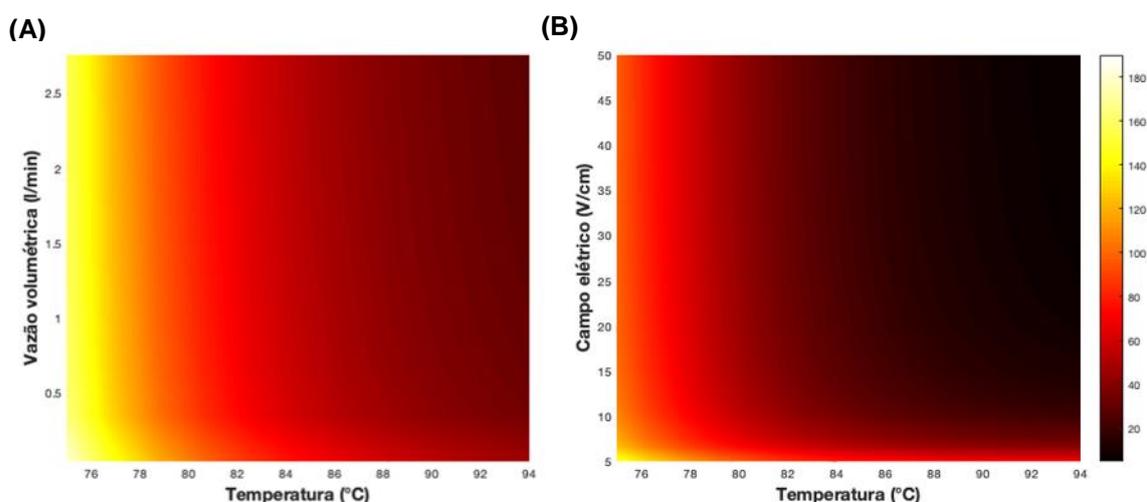


Figura 39: Representação bidimensional do tempo de processamento das superfícies de resposta das Figuras 35 e 37, para AC (A) e AO (B).

4.2.7 Comparações entre os processos puramente difusivo e espacialmente isotérmico

A presente seção discutirá as diferenças obtidas entre o modelo puramente difusivo e o modelo espacialmente isotérmico, tanto no AC quanto no AO. Para melhor visualização dos resultados, as superfícies do tempo de processamento referentes ao AC (A e C) e ao AO (B e D) são rerepresentadas para ambos os modelos térmicos na Figura 40.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

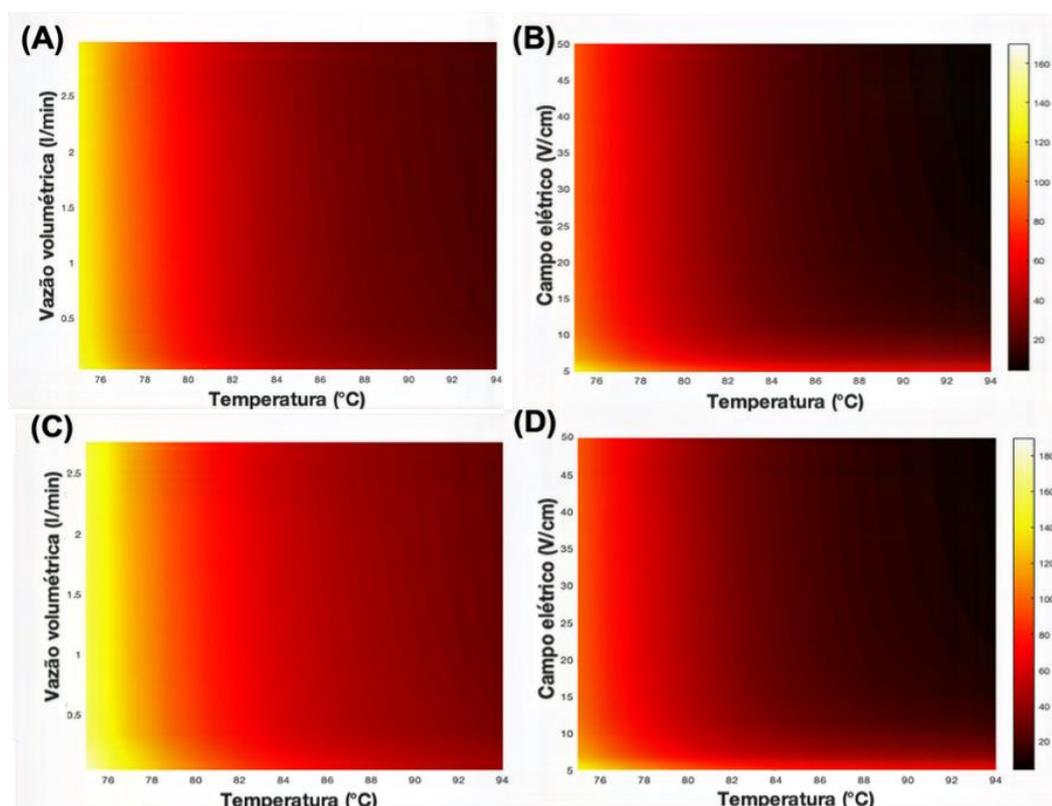


Figura 40: Matriz de resposta para (A) AC espacialmente isotérmico; (B) AO espacialmente isotérmico; (C) AC puramente difusivo e (D) AO puramente difusivo.

Conforme pode ser observado, há, qualitativamente, pouca diferença quando são comparadas as curvas do AO, indicando que os perfis de temperatura são similares em ambos os tipos de processamento. Na realidade, o tempo do modelo puramente difusivo foi apenas 2 à 4% maior do que no caso espacialmente isotérmico; as simulações mostraram uma diferença máxima de temperatura na ordem de 5 minutos (no menor campo elétrico e menor temperatura); diferenças menores que 1 minuto foram encontradas em praticamente todos os casos restantes. Cho, Yousef e Sastry (1999) e Ramaswamy et al. (2014) já indicaram que o aquecimento homogêneo e maior independência de algumas propriedades termofísicas (principalmente a condutividade térmica) são vantagens atribuídas ao processamento ôhmico. Dessa forma, mesmo em meios que conduzam pouco calor, o aquecimento ocorre de forma rápida desde que a condutividade elétrica do produto seja superior a um valor mínimo. Ressalta-se que, na célula ôhmica analisada, considerou-se perda de calor para o ambiente externo. Considerando a célula isolada, o tempo de processamento do caso puramente difusivo e espacialmente isotérmico seriam iguais.

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

Com relação aos processos de AC, as diferenças qualitativas observadas em (A) e (C) da Figura 37 são mais pronunciadas. Como o modelo sem agitação é o pior cenário possível de distribuição térmica, grandes gradientes de temperatura são encontrados no suco. Considerando os cenários propostos, o aquecimento puramente difusivo resultou em processos de 16,8 a 55,6% mais longos em comparação com o aquecimento espacialmente isotérmico nas condições extremas analisadas (75°C e 0,04 l/min e 94°C e 3 l/min, respectivamente). Na condição mais branda (com baixas temperaturas e vazões volumétricas) os tempos de processamento são elevados e o efeito da rampa de aquecimento se torna menos importante no tempo total de processo. Pode-se ressaltar que, nesse modelo, não foram consideradas perdas térmicas como no AO, uma vez que a temperatura do fluido de aquecimento não variou entre sua entrada e saída. Dessa forma, a colocação de isolamento não poderia diminuir os tempos de processo uma vez que o cenário analisado já é o mais vantajoso possível.

Para ilustrar as diferenças de aquecimento do modelo puramente difusivo dos dois processos, pode-se observar as Figuras 36 e 38. Observa-se a existência de gradientes significativos de temperatura no AC e um sistema praticamente isotérmico no AO, mesmo na ausência de agitação e considerando perdas de calor para o ambiente externo.

Com relação à comparação entre os tratamentos, uma vez que o tratamento mais vantajoso é o AO, comparar-se-á essa tecnologia no pior cenário (puramente difusivo) com o AC no melhor cenário (espacialmente isotérmico). Dessa forma, alguns tratamentos equivalentes que podem ser levantados são:

- o melhor tratamento possível (18,92 min) em AC (94°C e 3 l/min) é equivalente ao tratamento por AO sem agitação de 86°C e 25 V/cm ou 91°C e 12 V/cm;
- um tratamento de AC a 85°C e vazão de 1,5 l/min leva o mesmo tempo (41,1 min) que o AO sem agitação de 80,4°C e 35 V/cm;
- o melhor tratamento de AO sem agitação (5,0 min) não pode ser atingido mesmo com AC espacialmente isotérmico.

4.2.8 Comparação com os processos aplicados industrialmente

Na maioria dos casos, os binômios de pasteurização utilizados em processos de manufatura são segredo industrial. Segundo recomendações da *FDA*, uma redução de cinco

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

ciclos logarítmicos deve ser realizada considerando um microrganismo chave para o produto em questão. As recomendações sugeridas em FDA (2001) indicam que o binômio tempo/temperatura para sucos deve ser dependente de espécies patogênicas usualmente contidas nos produtos, citando como exemplos a inativação de *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella*. Entretanto, a literatura apresenta exemplos de esporos de bactérias patogênicas e fungos produtores de micotoxinas que possuem resistência térmica muito maior que a desses microrganismos (KIM, N. H. et al., 2017; TOLA; RAMASWAMY, 2014; TRANQUILLINI et al., 2017).

Bahçeci e Acar (2007) indicam que tempos na ordem de 15-20 segundos são comumente utilizados, com temperaturas variando entre 90 e 95°C, para a pasteurização de suco de maçã. Os melhores processos térmicos analisados nessa dissertação resultaram em binômios de 18,9 e 4,9 min para AC e AO, respectivamente. Dessa forma, os processos tradicionalmente empregados resultariam em níveis inaceitáveis de contaminação. Bahçeci e Acar (2007) mostraram que, para esporos da bactéria *Alicyclobacillus acidoterrestris*, os binômios usualmente empregados também resultariam em carga microbiana inadequada pós-processamento (tratamentos de AC de 3 min a 100°C seriam necessários para reduzir esse microrganismo a níveis adequados).

Diversos estudos têm relatado níveis inaceitáveis de contaminação de fungos termorresistentes após os processos tradicionalmente empregados uma vez que, de forma geral, esses apresentam maior termorresistência do que as bactérias usualmente utilizadas para cálculo do processo. Isso é particularmente crítico quando os microrganismos sobreviventes são potenciais produtores de micotoxinas. Os estudos realizados mostraram que o AO pode diminuir consideravelmente as cargas microbianas do produto final, tanto pela presença de efeitos não-térmicos quanto pelas maiores taxas de aquecimento observadas nessa tecnologia. Entretanto, considerando os tempos de pasteurização disponíveis na literatura, nem mesmo essa tecnologia conseguiria diminuir a carga microbiana a níveis adequados. Em adição, relatos de fungos com maior termorresistência do que a espécie avaliada são abundantes na literatura (e.g., FERREIRA et al., 2011; SANTOS et al., 2018; SOUZA et al., 2017).

Dessa forma, pode-se concluir que, mesmo que o AO seja uma alternativa para processos de pasteurização consideravelmente mais rápidos, os binômios tradicionalmente empregados ainda não conseguiriam reduzir em cinco ciclos logarítmicos a espécie analisada. Pode-se ressaltar que, caso boas práticas de fabricação sejam cumpridas a nível industrial, e o

4. Modelagem térmica e integração dos modelos cinético e térmico

armazenamento do produto seja realizado em condições abaixo de 20°C, os níveis de contaminação iniciais podem ser reduzidos, de forma que os processos possam tornar o alimento seguro, mesmo não passando pela redução de 5 ciclos logarítmicos (BAHÇECI e ACAR, 2007).

4.3 CONCLUSÕES

A presente seção analisou os modelos térmicos aplicados aos processos convencional e ôhmico, bem como a integração entre os modelos térmicos e cinéticos. Dois foram os perfis de evolução de temperatura analisados: agitação vigorosa (e conseqüente ausência de gradientes espaciais de temperatura) e ausência de agitação (maiores gradientes de temperatura possíveis). Ambos os modelos foram satisfatoriamente validados.

Os modelos térmicos de AC foram utilizados para prever o efeito do aumento da temperatura e vazão do fluido de aquecimento (água) no tempo total de processo; observou-se uma redução no tempo de pasteurização em função do aumento dessas duas variáveis. A evolução da temperatura no AO segue até evaporação do produto caso o aquecimento não seja parado de alguma forma. Desse modo, essa temperatura de estabilização, juntamente com o campo elétrico aplicado, foram as variáveis simuladas para o produto tratado ôhmicamente; novamente observou-se redução no tempo de processamento em função do aumento de ambas variáveis.

Com relação à comparação entre os processos, observou-se tempos de pasteurização consideravelmente mais curtos no AO em comparação com o AC, tanto na presença quanto na ausência de agitação. Esse comportamento foi explicado por dois motivos: (i) presença de efeitos não térmicos de inativação em alguns cenários e (ii) maiores taxas de aquecimento observadas no AO. Em adição, a ausência de agitação no meio teve um efeito menor no AO em comparação ao AC, uma vez que a distribuição de temperaturas foi praticamente uniforme devido a geração volumétrica de energia. Por fim, mesmo comparando o AO no pior cenário (sem agitação) com o AC no melhor cenário (com agitação vigorosa), menores tempos de processamento foram visualizados no tratamento ôhmico.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente dissertação de mestrado apresentou um estudo referente à inativação térmica do fungo *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã utilizando duas formas de processamento distintas: aquecimento convencional e aquecimento ôhmico. Nesse contexto, foram avaliados aspectos cinéticos (a fim de se estudar os efeitos térmicos e não-térmicos da aplicação de cada uma das tecnologias no tempo necessário para a redução do número de esporos fúngicos) bem como aspectos térmicos (referentes às vantagens de se utilizar um processamento com aquecimento por efeito Joule em comparação com um processamento com aquecimento por mecanismos clássicos de troca de calor (condução e convecção)).

A caracterização físico-química do suco de maçã demonstrou que a amostra possui pH 3,7 e atividade de água de 0,963. A alta atividade de água observada, em conjunto com o baixo pH, torna o ambiente hostil à maioria das espécies bacterianas, embora seja propício para espécies fúngicas, justificando a escolha do microrganismo analisado para o meio. O estudo da cinética de inativação do *Aspergillus fumigatus* demonstrou que as taxas de inativação no aquecimento ôhmico são estatisticamente superiores às do aquecimento convencional, nas três menores temperaturas analisadas (75, 80 e 85°C); a 90 e 94°C não houve diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). Possivelmente, a ausência de diferença em temperaturas mais altas se dá pela prevalência de efeitos térmicos frente a efeitos não-térmicos.

Dois modelos primários foram ajustados de forma a explicar a dinâmica de inativação dos esporos no meio analisado: o modelo log-linear e o modelo de Weibull. O modelo de Weibull demonstrou ser a melhor alternativa quando comparados diferentes índices estatísticos. Posteriormente, três modelos secundários, foram utilizados para explicar a dependência dos parâmetros dos dois modelos primários com a temperatura. O modelo previamente descrito por Mafart et al. (2002) foi o selecionado devido a sua simplicidade e menor margem de erro. O modelo final obtido foi validado em duas condições distintas das

5. Considerações finais

utilizadas na etapa de modelagem e demonstrou ser adequado frente aos índices estatísticos analisados.

Na segunda parte do trabalho foi realizada uma análise térmica e cinética dos dois processos estudados. Essa abordagem permite considerar as duas possíveis vantagens do AO: aquecimento rápido e efeitos não-térmicos. As propriedades termofísicas do suco de maçã foram determinadas para aplicação do modelo. Os resultados obtidos encontraram-se de acordo com aqueles reportados na literatura (calor específico [3638 ; 3736] J.kg⁻¹.K⁻¹, massa específica [1044 ; 1014] kg.m⁻³, condutividade elétrica [0,136 ; 0,444] S.m⁻¹ e difusividade térmica 1,46x10⁻⁷ m².s⁻¹ a 55°C).

Todos os modelos foram validados com sucesso apresentando BIAS e AF próximos ao seu valor ideal (1,0). Dessa forma, os modelos cinético e térmico puderam ser integrados para analisar o efeito das variáveis de processo no tempo de pasteurização. De modo geral, tempos de processo expressivamente menores foram encontrados no AO em todas situações analisadas, tanto pela existência de fenômenos de inativação não-térmicos, quanto pelas maiores taxas de aquecimento que ocorrem no AO. Ainda, demonstrou-se que o processamento por AO apresenta temperaturas de processo homogêneas em diferentes pontos da célula, mesmo quando o processo é realizado sem agitação; esse comportamento não foi observado no aquecimento convencional

Esse estudo apresenta resultados que podem servir para a reavaliação de processos de pasteurização, bem como para colaborar para a escolha de tecnologias mais rápidas, eficientes, ambientalmente amigáveis e que resultem em produtos com característica mais próxima as do produto natural.

Para pesquisas futuras, sugere-se:

- extensão dessa pesquisa para espécies de fungos mais termorresistentes, de forma a entender a plenitude dos fenômenos não-térmicos nessa classe de microrganismos;
- extensão dessa pesquisa para diferentes valores de campo elétrico e de frequência do equipamento utilizado, a fim de compreender a influência dessas variáveis no tempo de pasteurização do suco de maçã;
- aplicação de estudos mais refinados, que busquem as origens biológicas/físico-químicas dos fenômenos não-térmicos em fungos;
- modelagem de outros dispositivos de aquecimento, como pasteurizadores contínuos, para observar a extensão dos efeitos térmicos nesses casos;
- aumento de escala dos equipamentos simulados, de forma a entender as diferenças de processo em equipamentos de porte industrial.

REFERÊNCIAS

A.O.A.C. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Washington D.C., 1990.

AMIN, R.; RAHMAN, S. S.; HOSSAIN, M.; CHOUDHURY, N. Physicochemical and Microbiological qualities' assessment of popular Bangladeshi mango fruit juices. **The open microbiology journal**, v. 12, p. 135–147, 2018.

ANEJA, K. R.; DHIMAN, R.; AGGARWAL, N. K.; KUMAR, V.; KAUR, M. Microbes associated with freshly prepared juices of citrus and carrots. **International Journal of Food Science**, v. 2014, 2014.

AYERST, G. The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. **Journal of Stored Products Research**, v. 5, p. 127–141, 1969.

BAHÇECI, K. S.; ACAR, J. Modeling the combined effects of pH , temperature and ascorbic acid concentration on the heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestis*. **International Journal of Food Technology**, v. 120, p. 266–273, 2007.

BAKER, N.; KELLY, G.; SULLIVAN, P. D. O. A grid convergence index study of mesh style effect on the accuracy of the numerical results for an indoor airflow profile. **International Journal of Ventilation**, p. 1–15, 2019.

BAYSAL, A. H.; ICIER, F.. Inactivation kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestis* spores in orange juice by ohmic heating: Effects of voltage gradient and temperature on inactivation. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 2, p. 299–304, 2010.

BELLARA, S. R.; FRYER, P. J.; MCFARLANE, C. M.; THOMAS, C. R.; HOCKING, P. M.; MACKEY, B. M. Visualization and modelling of the thermal inactivation of bacteria in a model food. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 3095–3099, 1999.

BERGMAN, T. D.; INCROPERA, F. P.; DEWITT, D. P.; LAVINE, A. S. **Fundamentals of heat and mass transfer**. 7. ed.: John Wiley & Sons, 2011.

BRASIL. **Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas/arquivos/decreto-no-6-871-de-4-de-junho-de-2009.doc/view>, 2009

BRASIL. Instrução normativa nº 37, de 1º de outubro de 2018. **Diário Oficial da União**, p. Disponível em: <http://www.in.gov.br/materia/-/asse>, 2018.

CEBRIÁN, G.; CONDÓN, S.; MANÑAS, P. Physiology of the inactivation of

Referências

vegetative bacteria by thermal treatments: Mode of action, influence of environmental factor and inactivation kinetics. **Foods**, v. 6, 2017.

CELIK, I.B.; GHIA, U.; ROACHE, P. J.; FREITAS, C. J; COLEMAN, H.; RAAD, P. E. Procedure for estimation and reporting of uncertainty due to discretization in CFD applications. **Journal of Fluids Engineering**, v. 130, n. 7, 2008.

ÇENGEL, Y. A.; GHAJAR, A. J. **Transferência de calor e massa: Uma abordagem prática**. 4^a ed., 2012.

CERF, O. Tailing of survival curves of bacterial spores. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 42, p. 1–19, 1977.

CHEN, Q.; GERLACH, R. H. The two-sided Weibull distribution and forecasting financial tail risk. **International Journal of Forecasting**, v. 29, n. 4, p. 527–540, 2013.

CHEN, Z.; XU, M.; WANG, C.; ZHOU, H.; FAN, L.; HUANG, X. Thermolysis kinetics and thermal degradation compounds of alliin. **Food Chemistry**, v. 223, p. 25–30, 2017.

CHO, H.; YOUSEF, A. E; SASTRY, S. K. Growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus* under ohmic heating. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 49, p. 334–340, 1996.

CHO, H. Y.; YOUSEF, A. E.; SASTRY, S. K. Kinetics of inactivation of *Bacillus subtilis* spores by continuous or intermittent ohmic and conventional heating. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 62, n. 3, p. 368–372, 1999.

CHURCHILL, S. W.; CHU, H. H. S. Correlating equations for laminar and turbulent free convection from a vertical plate. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 18, p. 1323–1329, 1975.

COKER, A. K. **Ludwig's applied process design for chemical and petrochemical plants, volume 3**. Elsevier, 2015.

COSTA, N. R.; CAPPATO, L. P.; FERREIRA, M. V.; PIRES, R. P.; MORAES, J.; ESMERINO, E. A.; SILVA, R.; NETO, R. P.; TAVARES, M. I.; FREITAS, M. Q.; JÚNIOR, R. N.; RODRIGUES, F. N.; BISAGGIO, R. C.; CAVALCANTI, R. N.; RAICES, R. S.; SILVA, M. C.; CRUZ, A. G. Ohmic Heating: A potential technology for sweet whey processing. **Food Research International**, v. 106, n. November 2017, p. 771–779, 2018.

DA SILVA, P. R. S.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F. Modeling and simulation of *Byssoschlamys fulva* growth on papaya pulp subjected to evaporative cooling. **Chemical Engineering Science**, v. 113, p. 134 - 143, 2014.

Referências

- DENG, K.; PAREDES-SABJA, V. J. J. S. Inactivation model and risk-analysis design for apple juice processing by high-pressure CO₂. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 258–264, 2018.
- DIAS, J. V.; SILVA, R. C.; PIZZUTTI, I. R.; SANTOS, I. D.; DASSI, M.; CARDOSO, C. D. Patulin in apple and apple juice: method development, validation by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and survey in Brazilian south supermarkets. **Journal of Food Composition and Analysis**, p. 103242, 2019.
- DIJKSTERHUIS, J. Heat-resistant ascospores. **Food Microbiology: A Multifaceted Approach to Fungi Food**. 1. ed. CRC Press, 2007. p. 424.
- DING, T.; SHIM, Y.; CHOI, N.; HA, S.; CHUNG, M.; HWANG, I.; OH, D. Mathematical modeling on the growth of *Staphylococcus aureus* in sandwich. **Food Science and Technology Research**, v. 19, n. 3, p. 763–768, 2010.
- ERKMEN, O.; BOZOGLU, T.F. Principals of food spoilage. In: JOHN WILEY & SONS, Ltd (Org.). **Food Microbiol. Princ. into Prat**. 2016. p. 458.
- ESTY, J. R.; MEYER, K. F. The heat resistance of the spores of *B. botulinus* and allied anaerobes. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 31, n. 6, p. 650–664, 1922.
- EVANS, L.B.; STEFANY, N.E. An experimental study of transient heat transfer to liquids in cylindrical enclosures. Chemical Engineering Symposium, 1966. p. 209–215.
- FAKRUDDIN, M. D.; MAZUMDER, R. M.; MANNAN, K. S. B. Predictive microbiology : Modeling microbial responses in food. **Ceylon Journal of Science**, v. 40, n. 2, p. 121–131, 2011.
- FDA. **Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables: Guidance for Industry**. 2004.
- FDA. **Guidance for Industry: Questions and answers on juice HACCP regulation**, 2001.
- FELLOWS, P. J. **Food processing technology: principles and practice**. 4. ed. [S.l.]: Elsevier B.V., 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.09.004>>.
- FERREIRA, E. H. R.; MASSON, L. M. P.; ROSENTHAL, A.; SOUZA, M.; TASHIMA, L.; MASSAGUER, P.R. Termorresistência de fungos filamentosos isolados de néctares de frutas envasados assepticamente. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p. 164–171, 2011.
- HASHEMI, S. M. B.; MAHMOUDI, M. R.; ROOHI, R.; TORRES, I.; SARAIVA, J. A. Statistical modeling of the inactivation of spoilage microorganisms during ohmic heating

Referências

of sour orange juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 111, p. 821–828, 2019.

HIDDINK, J. **Natural convection of liquids, with reference to sterilization of canned food**. 1975. 143 f. Agricultural University, Wageningen, 1975.

IBARZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. **Unit Operations in Food Engineering**. 1^a ed. CRC Press, 2003.

ILIOPOULOU, I.; THAERON, D.; BAKER, A.; JONES, A.; ROBERTSON, N. Analysis of the thermal degradation of the individual anthocyanin compounds of black carrot (*Daucus carota* L.): A new approach using high-resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 31, p. 7066–7073, 2015.

INMANEE, P.; KAMONPATANA, P.; PIRAK, T. Ohmic heating effects on *Listeria monocytogenes* inactivation, and chemical, physical, and sensory characteristic alterations for vacuum packaged sausage during post pasteurization. **LWT Food Science and Technology**, v. 108, p. 183–189, 2019.

JAEGER, H.; ROTH, A.; TOEPFL, S.; HOLZHAUSER, T.; ENGEL, K.; KNORR, D.; VOGEL, R. F.; BANDICK, N.; KULLING, S.; HEINZ, V.; STEINBERG, P. Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 55, p. 84–97, 2016.

JAESCHKE, D. P.; MARCZACK, L. D. F.; MERCALI, G. D. Evaluation of non-thermal effects of electricity on ascorbic acid and carotenoid degradation in acerola pulp during ohmic heating. **Food Chemistry**, v. 199, p. 128–134, 2016.

KAMONPATANA, P.; MOHAMED, H. M. H.; SHYNKARYK, M.; HESKITT, B.; YOUSEF, A. E.; SASTRY, S. K. Mathematical modeling and microbiological verification of ohmic heating of a solid–liquid mixture in a continuous flow ohmic heater system with electric field perpendicular to flow. **Journal of Food Engineering**, v. 118, n. 3, p. 312–325, 2013.

KARADENIZ, F.; EKSI, A. Sugar composition of apple juices. **European Food Research and Technology**, v. 215, n. 2, p. 145–148, 2002.

KAUR, N.; SINGH, A. K. Ohmic heating: concept and applications—A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 14, p. 2338–2351, 2016.

KIM, N. H.; RYANG, J. H.; LEE, B. S.; KIM, C. T.; RHEE, M. S. Continuous ohmic heating of commercially processed apple juice using five sequential electric fields results in rapid inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores. **International Journal of Food**

Referências

Microbiology, v. 246, p. 80–84, 2017.

KIM, S. S.; KANG, D. H.. Comparative effects of ohmic and conventional heating for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in skim milk and cream. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 6, p. 1208–1214, 2015.

KLEIN, M. P.; SANT'ANA, V.; HERTZ, P. F.; RODRIGUES, R. C.; NINOW, J. L. Kinetics and Thermodynamics of Thermal Inactivation of β -Galactosidase from *Aspergillus oryzae*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, p. 1–12, 2018.

KUMAR, M.; JYOTI; HAUSAIN, A. Effect of ohmic heating of buffalo milk on microbial quality and texture of paneer. **Asian Journal of Dairying & Foods Research**, v. 33, n. 1, p. 9, 2014.

LEE, H. S.; COATES, G. A. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 153–156, 2003.

LEE, J. Y.; KIM, S. S.; KANG, D. H. Effect of pH for inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* in orange juice by ohmic heating. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 83–88, 2015.

LEIZERSON, S.; SHIMONI, E. Effect of ultrahigh-temperature continuous ohmic heating treatment on fresh orange juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3519–3524, 2005.

LUYBEN, W.L. **Chemical reactor design and control**. 1. ed.: John Wiley & Sons, 2006.

MACKEY, B. M.; KELLY, A. F.; COLVIN, J. A.; ROBBINS, P. T.; FRYER, P. J. Predicting the thermal inactivation of bacteria in a solid matrix : Simulation studies on the relative effects of microbial thermal resistance parameters and process conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, p. 295–303, 2006.

MADIGAN, M. T.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; SATTLEY, W. M.; STAHL, D. A. **Brock Biology of Microorganisms**. 15^a ed., Pearson, 2017.

MAFART, P. Food engineering and predictive microbiology: On the necessity to combine biological and physical kinetics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 100, n. 1–3, p. 239–251, 2005.

MAFART, P.; COUVERT, O.; GAILLARD, S.; LEGUÉRINEL, I. On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, p. 107–113, 2002.

Referências

- MARRA, F.; ZELL, M.; LYNG, J. G.; MORGAN, D. J.; CRONIN, D. A. Analysis of heat transfer during ohmic processing of a solid food. **Journal of Food Engineering**, v. 91, n. 1, p. 56–63, 2009.
- MARRA, F. Mathematical model of solid food pasteurization by ohmic heating: Influence of process parameters. **The Scientific Word Journal**, v. 2014, 2014.
- MATURIN, L.; PEELER, J.T. Aerobic Plate Count. **U.S. Food and Drug Administration**, Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-aerobic-plate-count>, 2001.
- MAURER, G. **Modelagem da radiação térmica considerando a injeção de fuligem em uma câmara de combustão operando com chama turbulenta demetano**. 2015. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Dissertação de mestrado, 2015.
- MCKELLAR, R. C.; LU, X. **Modeling microbial responses in food**. 1^a ed.: CRC Press, 2003.
- MCMEEKIN, T. A.; MELLEFONT, L. A.; ROSS, T. **Predictive microbiology: Past, present and future**. Woodhead Publishing Limited, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1533/9781845692940.1.7>>.
- MERCALI, G. D.; SARKIS, J. R.; JAESCHKE, D. P.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F. Physical properties of acerola and blueberry pulps. **Journal of Food Engineering**, v. 106, n. 4, p. 283–289, 2011.
- MOLUGU, T. R.; CHAWLA, U.; OITA, R. C.; WANG, T.; BROWN, M. F.; GARCIA, J. G. N. Thermal Denaturation and Domain Stability of NAMPT Protein. **Biophysical Journal**, v. 110, 2016.
- MORAIS, L. C. Anuário 2018 - 2019 - Retrospectiva. **Hortifruti Brasil**, p. 50, 2018.
- SERMENT-MORENO, V.; FUENTES, C.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.; TORRES, J.A.; WELTI-CHANES, J. Evaluation of high pressure processing kinetic models for microbial inactivation using standard statistical tools and information theory criteria , and the development of generic time-pressure functions for process design. *Oregon State University Journal*, v. 8, n. 6, p. 1244–1257, 2015.
- MOURA, S. C. R.; VITALI, A. A.; HUBINGER, M. D. A study of water activity and electrical conductivity in fruit juices : Influence of temperature and concentration. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, p. 31–38, 1999.
- MURASHITA, S.; KAWAMURA, S.; KOSEKI, S. Effects of ohmic heating, including electric field intensity and frequency, on thermal inactivation of *Bacillus subtilis*

Referências

spores. **Journal of Food Protection**, v. 80, n. 1, p. 164–168, 2016.

MUSYOKA, J. N.; ABONG, G. O.; MBOGO, D. M.; FUCHS, R.; LOW, J.; HECK, S.; MUZHINGI, T. Effects of acidification and preservatives on microbial growth during storage of orange fleshed sweet potato puree. **International Journal of Food Science**, v. 2018, p. 11, 2018.

NAKPAN, W.; YERMAKOV, M.; INDUGULA, R.; REPONEN, T.; GRINSHPUN, S. A. Science of the total environment Inactivation of bacterial and fungal spores by UV irradiation and gaseous iodine treatment applied to air handling filters. **Science of the Total Environment**, v. 671, p. 59–65, 2019.

NIERMAN, W. C. et al. Genomic sequence of the pathogenic and allergenic filamentous fungus *Aspergillus fumigatus*. **Nature**, v. 438, n. 7071, p. 1151–1156, 2005.

O’GORMAN, C. M.; FULLER, H. T.; DYER, P. S. Discovery of a sexual cycle in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. **Nature**, v. 457, n. 7228, p. 471–474, 2009.

PARK, I. K.; HA, J. W.; KANG, D. H. Investigation of optimum ohmic heating conditions for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in apple juice. **BMC Microbiology**, v. 17, n. 1, p. 1–8, 2017.

PELEG, M. **Advanced Quantitative Microbiology for Foods and Biosystems**. 2006. Disponível em: <<http://www.crcpress.com/product/isbn/9780849336454>>.

PEREIRA, R. N.; MARTINS, J.; TEIXEIRA, J. A.; MATEUS, C. Death kinetics of *Escherichia coli* in goat milk and *Bacillus licheniformis* in cloudberry jam treated by ohmic heating. **Chemical Papers**, v. 61, n. 2, p. 121–126, 2007.

PETRI, J. L.; DE ALBUQUERQUE, M. L. Anuário 2016 - Maçãs. **Campo & Negócios**, p. 78, 2016.

PITT, J.; HOCKING, A. **Fungi and Food Spoilage**. 2009.

RAJAURIA, G.; TIWARI, B. **Fruit Juices: Extraction, composition, quality and analysis**. Book aid international, 2018.

RAMASWAMY, H. S.; MARCOTTE, M.; SASTRY, S.; ABDELRAHIM, K. **Ohmic heating in food processing**. CRC Press, 2014.

RICO-MUNOZ, E. Heat resistant molds in foods and beverages: recent advances on assessment and prevention. **Current Opinion in Food Science**, v. 17, p. 75–83, 2017.

RODRIGUES, R. Q.; DALMÁS, M.; MULLER, D. C.; ESCOBAR, D. D.; PIZZATO,

Referências

- A. C.; MERCALI, G. D.; TONDO, E. C. Evaluation of nonthermal effects of electricity on inactivation kinetics of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* during ohmic heating of infant formula. **Journal of Food Safety**, v. 38, n. 1, p. 1–8, 2018.
- ROSS, T.; MCMEEKIN, T. A. Predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 241–264, 1994.
- RUAN, R.; YE, X.; CHEN, P.; DOONA, C.J.; TAUB, I. Ohmic heating. In: **Nutr. Handb. Food Process**. 2002. p. 241–265.
- RYANG, J. H.; KIM, N.H.; LEE, B. S.; KIM, C. T.; LEE, S. H.; HWANG, I. G.; RHEE, M. S. Inactivation of *Bacillus cereus* spores in a tsuyu sauce using continuous ohmic heating with five sequential elbow-type electrodes. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, n. 1, p. 175–184, 2016.
- SAGONG, H.; PARK, S. H.; CHOI, Y. J.; RUY, S.; KANG, D. H. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in orange and tomato juice using ohmic heating. **Journal of Food Protection**, v. 74, n. 6, p. 899–904, 2011.
- SANTOS, J. L. P.; SAMAPUNDO, S.; BIYIKLI, A.; IMPE, J. V.; AKKERMANS, S.; HÖFTE, M.; ABATIH, E. N.; SANT'ANA, A. S.; DEVLIEGHERE, F. Occurrence, distribution and contamination levels of heat-resistant moulds throughout the processing of pasteurized high-acid fruit products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 281, p. 72–81, 2018.
- SANTOS, E. H.; NETO, A. F.; DONZELI, V. P. Aspectos físico-químicos e microbiológicos de polpas de frutas comercializadas em Petrolina (PE) e Juazeiro (BA). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, 2016.
- SARKIS, J. R.; MERCALI, G. D.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F Evaluation of key parameters during construction and operation of an ohmic heating apparatus. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 18, p. 145–154, 2013.
- SASTRY, S. K.; PALANIAPPAN, S. Mathematical modeling and experimental studies on ohmic heating of liquid-particle mixtures in a static heater. **Journal of Food Process Engineering**, v. 15, n. 86, p. 241–261, 1992.
- SCHOTTROFF, F.; PYATKOVSKYY, T.; REINEKE, K.; SETLOW, P.; SASTRY, S. K.; JAEGER, H. Mechanisms of enhanced bacterial endospore inactivation during sterilization by ohmic heating. **Bioelectrochemistry**, v. 130, p. 107338, 2019.
- SIEDER, E. N.; TATE, G. E. Heat transfer and pressure drop of liquids in tubes.

Industrial & Engineering Chemistry Research, v. 28, p. 1429–1435, 1936.

SOMAVAT, R.; MOHAMED, H. M. H.; CHUNG, Y.; YOUSEF, A. E.; SASTRY, S. K. Accelerated inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores by ohmic heating. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 1, p. 69–76, 2012.

SOMAVAT, R.; MOHAMED, H.; SASTRY, S. K. Inactivation kinetics of *Bacillus coagulans* spores under ohmic and conventional heating. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 194–198, 2013.

SOUZA, D. **Estudo das Propriedades Físicas de Polpas e Néctares de Pequenos Frutos**. 2008. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Dissertação de Mestrado). 171 f. 2008.

SOUZA, P. B. A.; POLTRONIERI, K. F.; ALVARENGA, V. O.; GRANATO, D.; RODRIGUES, A. D. D.; SANT'ANA A. S.; PEÑA, W. E. L. Modeling of *Byssochamys nivea* and *Neosartorya fischeri* inactivation in papaya and pineapple juices as a function of temperature and soluble solids content. **LWT - Food Science and Technology**, v. 82, p. 90–95, 2017.

TIAN, X.; YU, Q.; WU, W.; LI, X.; DAI, R. Comparative proteomic analysis of *Escherichia coli* O157:H7 following ohmic and water bath heating by capillary-HPLC-MS/MS. **International Journal of Food Microbiology**, v. 285, n. 17, p. 42–49, 2018.

TIAN, X.; YU, Q. WU, W.; DAI, R. Inactivation of Microorganisms in Foods by Ohmic Heating: A Review. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 7, p. 1093–1107, 2018.

TOLA, Y. B.; RAMASWAMY, H. S. Thermal destruction kinetics of *Bacillus licheniformis* spores in carrot juice extract as influenced by pH, type of acidifying agent and heating method. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 1, p. 131–137, 2014.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10^a ed., 2012.

TRANQUILLINI, R.; SCARAMUZZA, N.; BERNI, E. Occurrence and ecological distribution of Heat Resistant Moulds Spores (HRMS) in raw materials used by food industry and thermal characterization of two *Talaromyces* isolates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 242, p. 116–123, 2017.

UEMURA, K.; ISOBE, S. Developing a new apparatus for inactivating *Bacillus subtilis* spore in orange juice with a high electric field AC under pressurized conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 56, n. 4, p. 325–329, 2003.

UEMURA, K.; ISOBE, S. Developing a new apparatus for inactivating *Escherichia coli* in saline water with high electric field AC. **Journal of Food Engineering**, v. 53, n. 3, p.

Referências

203–207, 2002.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, n. 1–2, p. 139–159, 2002.

WANG, H.; HU, Z.; LONG, F.; GUO, C.; YUAN, Y.; YUE, T. Early detection of *Zygosaccharomyces rouxii*-spawned spoilage in apple juice by electronic nose combined with chemometrics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 217, p. 68–78, 2016.

WAWIRE, M.; OEY, I.; MATHOOKO, F. M.; NJOROGE, C. K.; SHITANDO, D.; HENDRICKX, M. Kinetics of thermal inactivation of peroxidase and color degradation of african cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 1, p. E56–E64, 2016.

YILDIZ, H.; BAYSAL, T. Effects of alternative current heating treatment on *Aspergillus niger*, pectin methylesterase and pectin content in tomato. **Journal of Food Engineering**, v. 75, n. 3, p. 327–332, 2006.

YU, Y.; JIN, T.Z.; FAN, X.; WU, J. Biochemical degradation and physical migration of polyphenolic compounds in osmotic dehydrated blueberries with pulsed electric field and thermal pretreatments. **Food Chemistry**, v. 239, p. 1219–1225, 2018.

**APÊNDICE A – INFORMAÇÕES SOBRE A CEPA DE *Aspergillus fumigatus*
UTILIZADA**

Nº CCT	2777
Histórico	< Attili, D.S., 04/92
Crescimento	MEA, 24°C
Taxonomia	<i>Deuteromycetes</i>
Isolamento	Solo (floresta atlântica)
Nível de biossegurança	2

Dados disponíveis em <http://fat.org.br/catalogo-de-culturas-online>, acesso em 07/11/2019.