



Técnicas Alternativas para a Sanitização do Leite

**Instituto de Tecnologia de Alimentos
Dra. Alcina Maria Liserre**



Tratamentos do leite

- pasteurização do leite:
72°C/15seg
 - remoção de microrganismos patogênicos e parte dos microrganismos deteriorantes
- tratamento UHT: 130-150°C, 2/4seg
 - comercialmente estéril
- ausência de menção na legislação dos tratamentos não térmicos de sanitização de leite



Tratamentos não térmicos

- microfiltração
 - alta pressão
 - pulso elétrico
-
- antimicrobianos
 - métodos combinados

- alimentos de alta acidez ($\text{pH} < 4,5$)
podem ser combinados tratamentos térmicos ou não térmicos mais brandos



- alimentos de baixa acidez ($\text{pH} > 4,5$)
oferecem risco a saúde devido maior possibilidade de crescimento de patógenos
requerem tratamentos térmicos ou não térmicos mais intensos

importante o uso de métodos combinados (ultra alta pressão e antimicrobianos, microfiltração e pasteurização)



Características do leite

- Leite - deteriora facilmente pela presença de microrganismos
- TAMBÉM deteriora pela atividade enzimática de lipases e proteases
 - a maioria dos psicrotróficos é destruída na pasteurização, mas há espécies que produzem lipases e proteases termoresistentes
- este problema com psicrotróficos aumenta após estocagem do leite cru a 4°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 2 dias

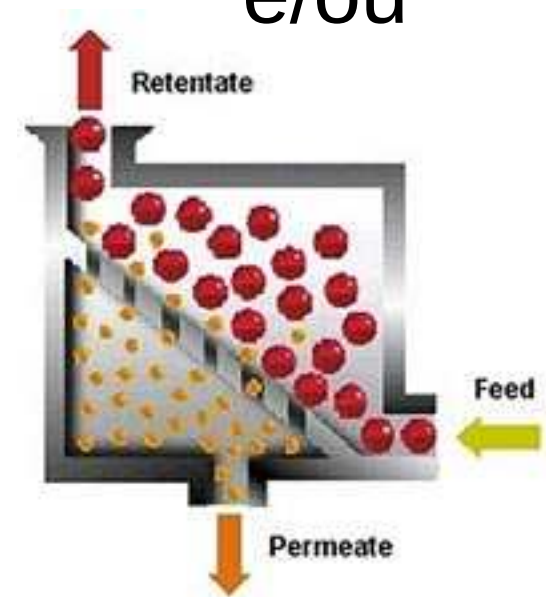
Vantagens dos tratamentos não térmicos

- demanda por produtos frescos e nutritivos
- demanda p/ desenvolvimento de tecnologias mais brandas do que os tratamentos térmicos
 - melhor manutenção do sabor, cor, aroma, textura e nutrientes dos alimentos processados quando comparados aos mesmos alimentos processados com emprego de calor



TECNOLOGIA COM MEMBRANAS

- Processo de separação de uma substância líquida em duas fases através de membranas semipermeáveis
- Objetivo: Fracionamento e/ou concentração



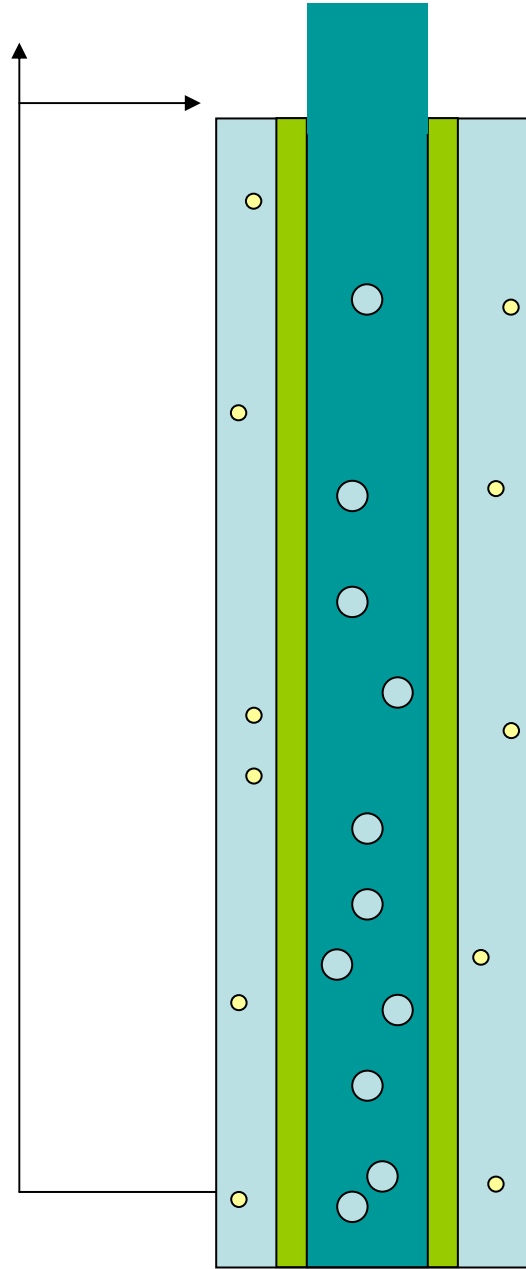
Fundamentos da MF

- a separação é baseada na massa e tamanho molecular, na forma dos compostos e nas interações com a superfície da membrana e outros componentes da mistura
- em ordem decrescente, os compostos do leite estão assim distribuídos: células somáticas (15-6 μm), glóbulos de gordura (15-0,2 μm), bactérias (6-0,2 μm) e micelas de caseína (0,3-0,03 μm)

Histórico e fundamentos - MF

- Bons resultados alcançados, principalmente nas indústrias químicas e de alimentos, permitem vislumbrar um futuro bastante promissor para essa tecnologia
- Década de 80: inovações tecnológicas em benefício da microfiltração tangencial foram desenvolvidas:
 - 1) novas membranas minerais com maior resistência ao cisalhamento (força aplicada paralelamente à superfície)
 - 2) e redução do entupimento durante o processo por recirculação do microfiltrado ao circuito do retentado e pela utilização de um gradiente de porosidade longitudinal na membrana





microfiltração

- **remove a maior parte da carga bacteriana do leite (de 99,9% a 99,999%)**
- **uso dessa tecnologia com a pasteurização, possibilita a obtenção de leite pasteurizado com maior vida útil**



**Detalhe do equipamento de
microfiltração na Planta
Piloto de Queijos –
TECNOLAT - ITAL**





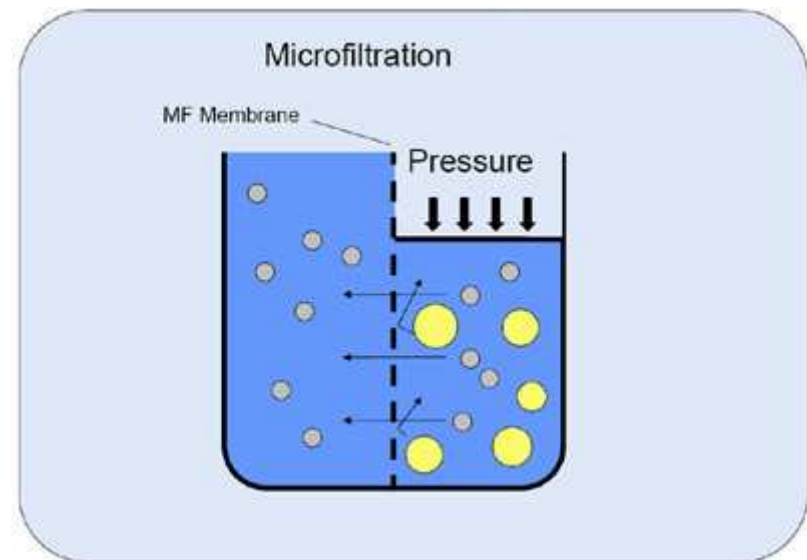
Outra imagem do
equipamento de
microfiltração na
Planta Piloto de
Queijos

MEMBRANAS

- Acetato de Celulose
- Polissulfonas, Poliamidas
- Minerais
 - » Grafite – Oxido de Zirconio
 - » Aço inoxidavel – Oxido de Zirconio
 - » Alumina - Alumina

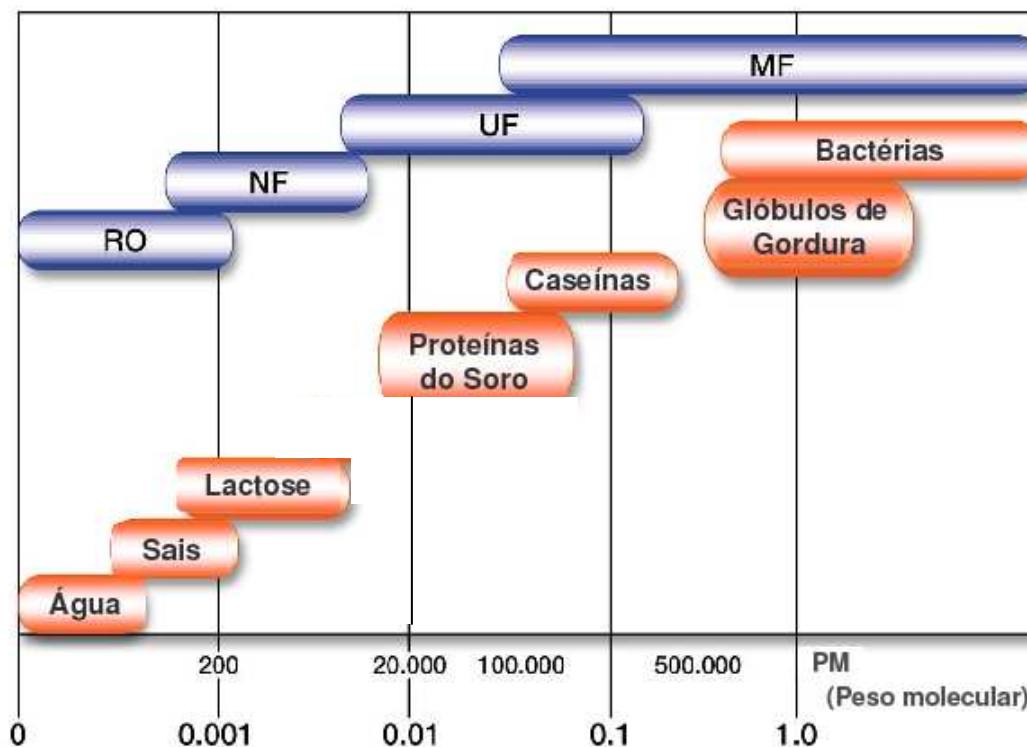
CAMPOS DE APLICAÇÃO DAS MEMBRANAS

- MICROFILTRAÇÃO (MF)
- ULTRAFILTRAÇÃO
- NANOFILTRAÇÃO
- OSMOSE REVERSA

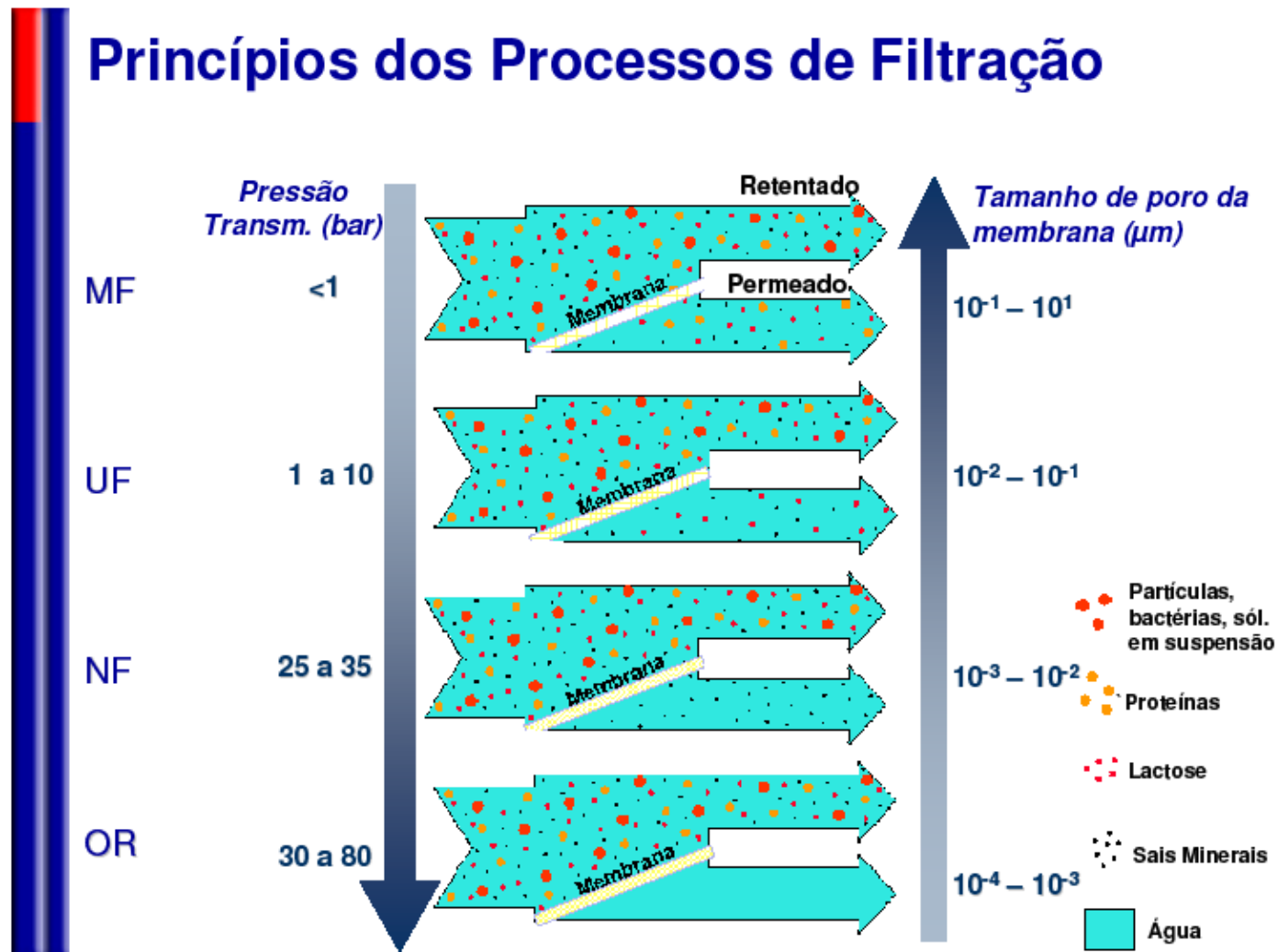


USO DE TECNOLOGIA DE MEMBRANAS NA INDÚSTRIA LÁCTEA

Distribuição dos componentes do leite



USO DE TECNOLOGIA DE MEMBRANAS NA INDÚSTRIA LÁCTEA



MICROFILTRAÇÃO DO LEITE

CONCENTRADO OU RETENTADO DE MF

(o que fica **retido** pela membrana)

LEITE → MF ↗

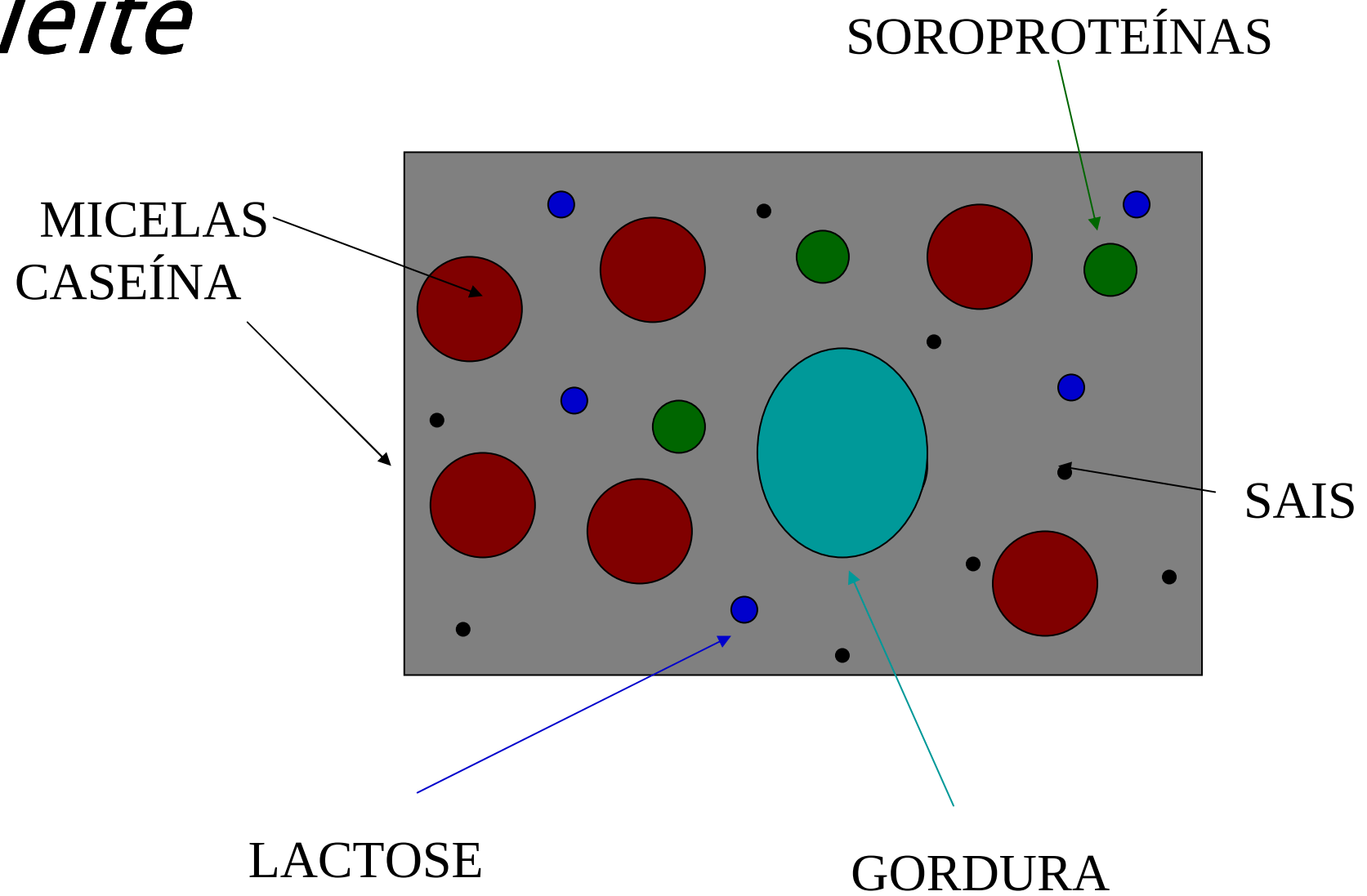
↘ PERMEADO OU MICROFILTRADO

(o que **passa** pela membrana)

COMPONENTES DO LEITE:

-células somáticas	⇒ 6 - 15 μm
-glóbulos de gordura	⇒ 0,2 - 15 μm
-bactérias	⇒ 0,2 - 6 μm
-micelas de caseína	⇒ 0,3 - 0,03 μm
-proteínas do soro	⇒ 3 - 5 nm
-lactose	⇒ 0,8 nm
-sais e água	⇒ 0,3 - 0,4 nm

leite



REMOÇÃO DE BACTÉRIAS DO LEITE DE CONSUMO



MISTURA
CREME(10%) + **MICROFILTRADO** (85,5%)



HOMOGENEIZAÇÃO



embalagem asséptica



leite cru com 15 dias
de vida de prateleira
a 6°C

“ marguerite”
França



PRODUÇÃO-QUEIJOS



pasteurização HTST

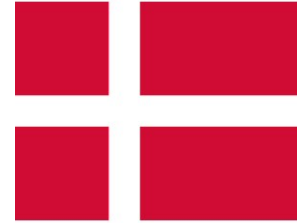
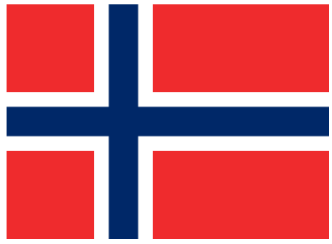


leite pasteurizado com 5 sem.
de vida de prateleira
a 6°C

Canadá, países do Norte
Europeu, Argentina

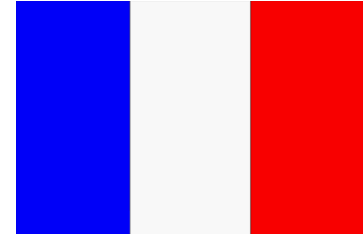
APLICAÇÕES DE MEMBRANAS NA INDÚSTRIA LATICINISTA

- ① REMOÇÃO DE BACTÉRIAS DO LEITE DE CONSUMO**
- ② PRODUÇÃO DE CASEÍNA MICELAR PARA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS**
- ③ RETIRADA DE GORDURA DO SORO RESULTANTE DA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS**
- ④ SEPARAÇÃO DOS GLÓBULOS DE GORDURA POR TAMANHO**
- ⑤ PURIFICAÇÃO DA SALMOURA DE QUEIJOS**
- ⑥ FRACIONAMENTO DAS PRINCIPAIS SOROPROTEÍNAS**



Mercado da MF - leite

- No Brasil não há ainda legislação para leite microfiltrado
- comércio de leite MF: França, Países do Norte Europeu, Canadá e Reino Unido
- o produto também sofre pasteurização



Mercado da MF - leite

- no Reino Unido antes do enchimento asséptico, é aplicado HTST (72 °C/15 s) e produto tem vida de prateleira de 35 dias
- os leites MF têm sucesso comercial devido ao seu sabor (não possui gosto de cozido) e maior tempo de armazenamento
- tecnologia de MF do leite é, recentemente, empregada na Argentina

Canadá

Leite MF estéril

Leite MF



tratamento térmico 96°C/6seg



embalagem asséptica



leite estéril MF com vida de prateleira mínima de
3 meses a temperatura ambiente (20 a 25°C)

Outros estudos

- Elwell e Barbano (2006) produziram leite de “vida estendida” pela tecnologia de microfiltração:



leite durou 92 dias estocado a 0,1°C

e 78 dias a 2°C

leite de “vida estendida” (extended shelf life) preenche lacuna entre o pasteurizado por HTST (high-temperature short-time) com shelf-life de 5 dias sob refrigeração e o leite UHT que pode ser estocado por alguns meses sem refrigeração

Limitações da MF

- poucos estudos publicados com leite microfiltrado pasteurizado
- Limitação não por crescimento microbiano, mas sim pela ocorrência de uma atividade proteolítica (proteólise) suficiente para produzir defeito de sabor detectável sensorialmente

Limitações da MF

- “entupimento” (*fouling*) da membrana
- deve haver conhecimento dos parâmetros de operação:
 - condições hidrodinâmicas
 - pressão e fluxo
 - fator de redução do volume

Uso da MF pelo TECNOLAT

- (1) determinacao da vida útil de leite microfiltrado;
- (2) leite microfiltrado delactosado (lactose hidrolisado) adicionado de probióticos;
- (3) elaboração de queijo prato com leite MF para estudar a ação de fermentos para aceleração de cura reduzindo as bactérias NSLAB;
- (4) estudo da ação de bactérias lácticas isoladas de laticínios brasileiros como fermentos para aceleração de cura usando sistema modelo

Uso da MF pelo TECNOLAT



Figura 1. Etapas de obtenção do leite microfiltrado (tanque de alimentação do leite; tanque de equilíbrio do equipamento de microfiltração; coleta e envase do leite microfiltrado; resfriamento do leite microfiltrado em banho de gelo)

Determinacao da vida útil de leite microfiltrado – Tecnolat/ITAL

Tabela 1. Características microbiológicas do LDC durante processamento e estocagem a 8±2°C.

Determinações	LDC	LDCMF	Dias de estocagem		
			1	7	14
Microrganismos mesófilos ¹	8,0 x 10 ⁶	<10	<10	<10	1,0 x 10 ⁴
Coliformes totais ²	≥ 2,4 x 10 ³	<0,3	<10	<10	≥ 2,4 x 10 ³
Coliformes fecais ²	46	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Bolores e leveduras ¹	5,0 x 10 ³	<10	<10	<10	5,2 x 10 ²
Esporos mesófilos aeróbios ³	1,4 x 10 ²	<10	<10	<10	<10
<i>Salmonella</i> sp.	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS
<i>Staphylococcus aureus</i> ¹	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS

¹Resultados expressos em UFC.mL⁻¹ (unidade formadora de colônias por mililitro);

²Resultados expressos em NMP.mL⁻¹ (número mais provável por mililitro);

³Resultados expressos em contagens de esporos aeróbios/anaeróbios mesófilos por mililitro.

Determinacao da vida útil de leite microfiltrado – Tecnotat/ITAL

Tabela 1. Características microbiológicas do LDP durante processamento e estocagem a 8±2°C.

Determinações	Dias de estocagem				
	LDP	LDPMF	1	7	14
Microrganismos mesófilos ¹	2,4 x 10 ³	<10	<10	<10	8,6 x 10 ¹
Coliformes totais ²	2,4 x 10 ¹	<0,3	<0,3	<0,3	1,1 x 10 ²
Coliformes fecais ²	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Bolores e leveduras ¹	1,0 x 10 ³	<10	<10	<10	<10
Esporos mesófilos aeróbios ³	1,6 x 10 ³	<10	<10	<10	<10
<i>Salmonella</i> sp.	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS
<i>Staphylococcus aureus</i> ¹	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS

¹Resultados expressos em UFC.mL⁻¹ (unidade formadora de colônias por mililitro);

²Resultados expressos em NMP.mL⁻¹ (número mais provável por mililitro);

³Resultados expressos em contagens de esporos aeróbios/anaeróbios mesófilos por mililitro.

Uso da MF pelo TECNOLAT

Tabela 4: Resultados das análises microbiológicas do segundo processamento de leite desnatado pasteurizado lactose hidrolisado microfiltrado.

Estocagem (dias)	Microrganismos		
	Aeróbios mesófilos totais (log UFC.mL ⁻¹) ⁽¹⁾	Coliformes a 30-35°C (NMP.mL ⁻¹) ⁽²⁾	Coliformes a 45°C (NMP.mL ⁻¹) ⁽²⁾
5	<1	<0,3	<0,3
10	<1	<0,3	<0,3
15	<1	<0,3	<0,3
20	<1	<0,3	<0,3
25	6,74	<0,3	<0,3
30	1,94	<0,3	<0,3
35	3,94	<0,3	<0,3
40	4,85	<0,3	<0,3

⁽¹⁾UFC.mL⁻¹: Unidade formadora de colônias por mililitro. ⁽²⁾NMP.mL⁻¹: Número mais provável por mililitro

Aplicação da MF para pesquisa

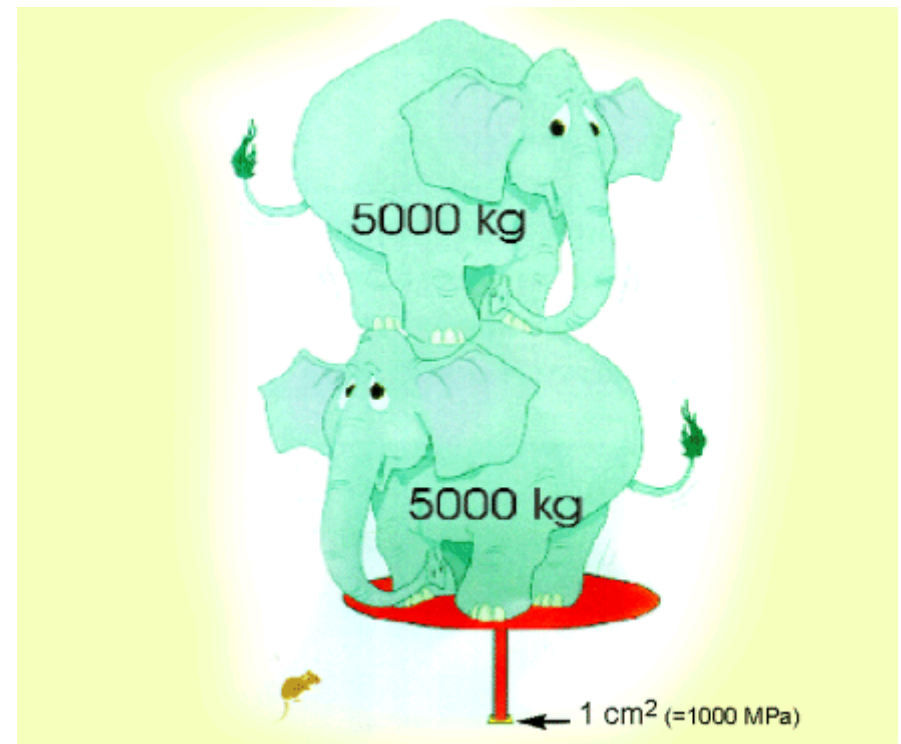
PROJETO: ESTUDO DO EFEITO DE CULTURAS ADJUNTAS COMO ALTERNATIVA TECNOLÓGICA PARA MELHORAR A QUALIDADE DO QUEIJO PRATO

- para o estudo da influência de culturas adjuntas no sabor e aroma dos queijos, é interessante partir de um leite estéril ou com uma contagem microbiológica inicial bastante baixa
- resultados são difíceis de serem avaliados quando ocorre interferência da microbiota endógena

Ultra Alta Pressão (UAP) = tecnologia que expõe produtos a pressões muito altas (**50 a 800 MPa $\approx$ 500 a 8000 atm**)

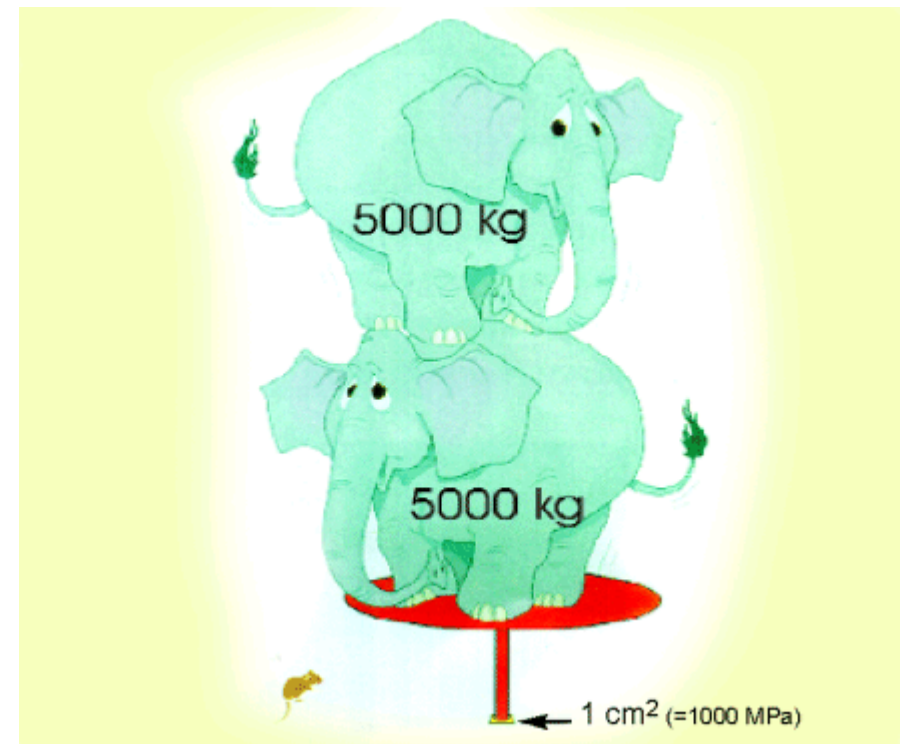
- Vem se **popularizando** nos últimos anos em função da fabricação de equipamentos que viabilizaram a tecnologia
- uso em alimentos leva a modificações na **atividade enzimática** e na **inativação de microrganismos**

ULTRA ALTA PRESSÃO



ULTRA ALTA PRESSÃO

- pesquisa pioneira na aplicação de UAP a leite data do século XIX
- primeiros produtos comerciais de UAP surgiram em 1991 no Japão
- uso de UAP p/ leite reduz sua carga microbiana
- UAP induz efeitos na membrana celular



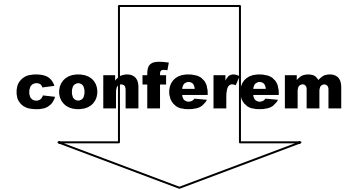
Alimentos UAP no mercado

- No Japão hoje já se processam geléias, sucos de frutas, bolos de arroz e sobremesas
- Outros alimentos: polpa de abacate, ostras, presunto cozido e guacamole
- mesmo em conservas de frutas ácidas, com pH abaixo de 4,6, deve-se ajustar o tratamento API pois a sacarose a concentrações superiores a 55% protege leveduras e fungos da destruição



Vantagens da UAP

- a inativação de enzimas e células vegetativas
- a retenção de pequenas moléculas responsáveis pelo aroma e sabor
- a manutenção da cor, da textura e a preservação de vitaminas



aos produtos processados por alta pressão **vida de prateleira prolongada e características de alimentos frescos.**

Tipos de tratamento com alta pressão

- homogeneização a ultra alta pressão (HUAP) = método contínuo
- alta pressão isostática (API) = método isostático ou em batelada

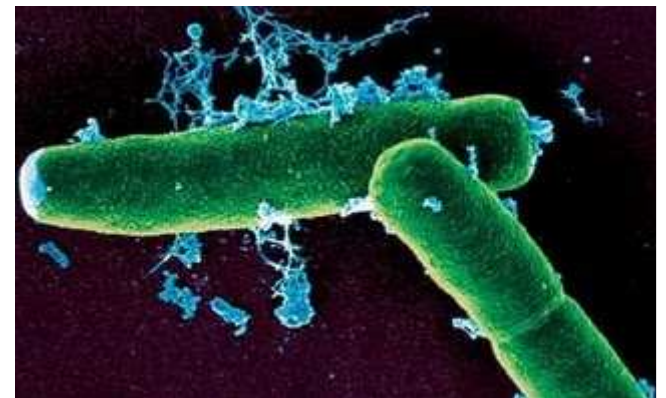


Fundamentos da UAP

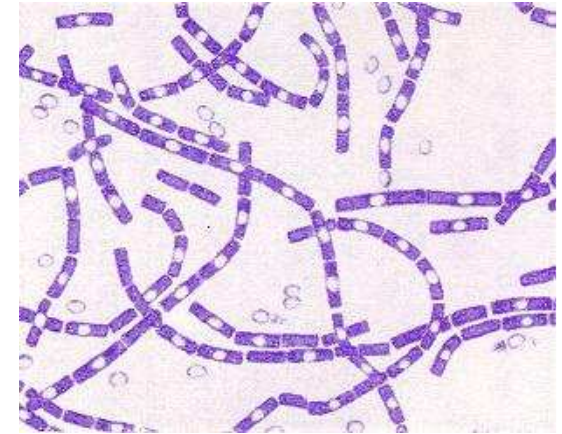
- nos processos de API ou nos de HUAP a pressão é transmitida de modo instantâneo ao fluido, sendo o tempo de processamento independente do volume e forma
- Em comparação com o tratamento térmico tradicional, o tratamento com altas pressões provoca menores alterações sensoriais nos alimentos.

Efeitos da UAP sobre células vegetativas dos microrganismos

Pressões de 400 a 600MPa pelo **método API**, a temperatura ambiente, **inativa células vegetativas e reduz a atividade de enzimas** resultando em produto pasteurizado, que pode ser estocado a 4-6°C por vários dias ou semanas



Efeitos da UAP sobre esporos bacterianos



- destruição de esporos foi obtida com pressões acima de 1000MPa no método isostático
- algumas espécies ou estados fisiológicos de esporos podem ser mais resistentes a UAP, o que inviabilizaria o seu uso para **esterilização** de alimentos
- a pressão induz a germinação dos esporos
- tratamentos posteriores dos microrganismos germinados com UAP parecem ser efetivos na redução da contagem de esporos

Tratamentos combinados

- Baixos valores de pH podem inibir a germinação de esporos induzida pela pressão
- pressão e temperatura têm sido estudados na inativação das bactérias esporuladas
- tratamentos combinando alta pressão, lisozima e lactoperoxidase também já foram propostos

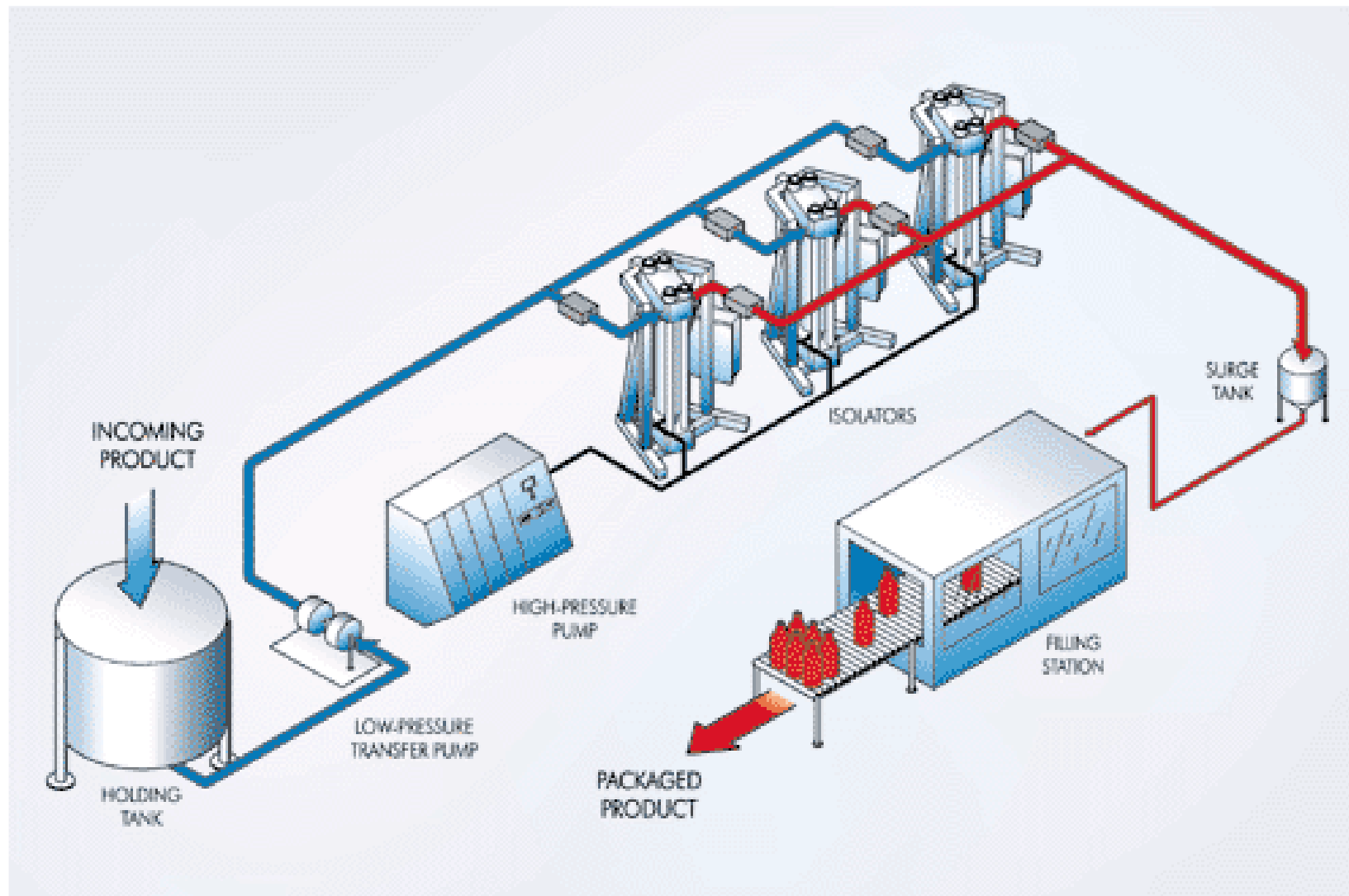
Embora o leite tenha sido o primeiro alimento a ser submetido a API (1899), o mesmo não se encontra disponível comercialmente.

Tecnologia de barreiras: API + agentes antimicrobianos (bacteriocinas-nisina) ou T. térmicos = opção interessante

Equipamentos industriais usados até o presente são descontínuos (10 a 500l de capacidade) para alimentos sólidos, viscosos e particulados e semi-contínuos (1 a 4 ton/h de capacidade) ou em batelada para líquidos

The cold isostatic press





- Food Science Facilities at Ohio - Ultra high pressure processing lab. Food . Ultra High Pressure . for investigating the effects of high pressure on food

Pulso Elétrico

- O emprego de campos elétricos pulsados (CEP) é alternativa promissora p/ substituir o tratamento térmico de pasteurização e a esterilização comercial
- Também é uma alternativa para processar o leite e evitar efeitos adversos sobre o sabor e os nutrientes
- **Potencial:** substituir tratamento térmico para alimentos líquidos homogêneos que podem ser bombeados



Problemas para utilização dos CEP

ruptura dielétrica = descarga elétrica entre os dois eletrodos da câmara, fenômeno análogo a um relâmpago

- esta descarga de energia pode catalisar reações indesejáveis no alimento e até a explosão da câmara de tratamento

- ocorrência se relaciona a condutividade elétrica do alimento

- alimentos sólidos com ar no interior ou não homogêneos têm maior probabilidade de ocorrência da ruptura dielétrica porque a condutividade elétrica do ar é maior em relação aos alimentos

- um fatores limitantes da intensidade de campo elétrico a se usar

Diferenciando os tipos de campos elétricos

- **campo elétrico** com finalidade de aquecer os alimentos (**tratamento ôhmico**)
- **campos elétricos pulsados (CEP)** usados para submeter o alimento a uma “pasteurização” não térmica

Histórico

- interesse pelo uso de campos elétricos como tecnologia de conservação de alimentos teve seu início no começo do século XX
- **aquecimento ôhmico:** alimento submetido a uma diferença de potencial elétrico (V), produz aquecimento devido a sua resistência elétrica intrínseca
- Em 1928 Fetterman desenvolveu um processo de pasteurização de leite por aquecimento ôhmico
- De 1928 a 1938, mais de 200 milhões de litros de leite foram pasteurizados nos EUA mediante este processo
- os efeitos sobre microrganismos e enzimas neste processo é devido ao calor produzido

Histórico

- os efeitos de eletroporação que a aplicação de campos elétricos causa nas células são conhecidos desde 1940
 - ocorrem quando a célula é submetida a campo elétrico
 - eram usados para manipulação de material intracelular
- o marco inicial da tecnologia de rompimento de células com campo elétrico se deu com registro, na Alemanha, da patente de Dovenspeck em 1960 p/ os primeiros equipamentos utilizados e possíveis efeitos de sua aplicação
- Em 1967 aconteceram os primeiros estudos sobre o mecanismo de ação dos CEP com os microrganismos

Histórico

- o efeito do campo elétrico nos alimentos em si, começou a ser estudado somente a partir dos anos 60
- a partir daí se desenvolveu o tratamento via campos elétricos pulsados que utiliza pulsos elétricos de pequena duração para minimizar o efeito Joule e diminuir o aquecimento do produto
- Assim, utilizam-se os efeitos elétricos e não os térmicos para os alimentos.

O que está avançando em CEP

Nas últimas décadas de estudos ocorreram:

- melhoria dos equipamentos
- esclarecimento dos mecanismos de atuação em microrganismos e enzimas

e

- estabelecimento de parâmetros de tratamento para cada produto



Equipamentos

- A linha para processamento de alimentos via aplicação de campos elétricos pulsados (CEP) é composta por
 - um sistema de geração de CEP
 - uma câmara de tratamento e
 - um sistema de envase asséptico



Equipamentos

- O sistema gerador de pulsos elétricos é simples e contém:
 - uma fonte de alta voltagem
 - um banco de capacitores
 - resistências elétricas
 - um osciloscópio para medir a intensidade dos pulsos elétricos gerados
 - outros componentes eletrônicos comuns a vários sistemas elétricos
 - a câmara de tratamento possui dois eletrodos entre os quais passa o alimento a ser tratado



Extraída de Ramos et al (2006)

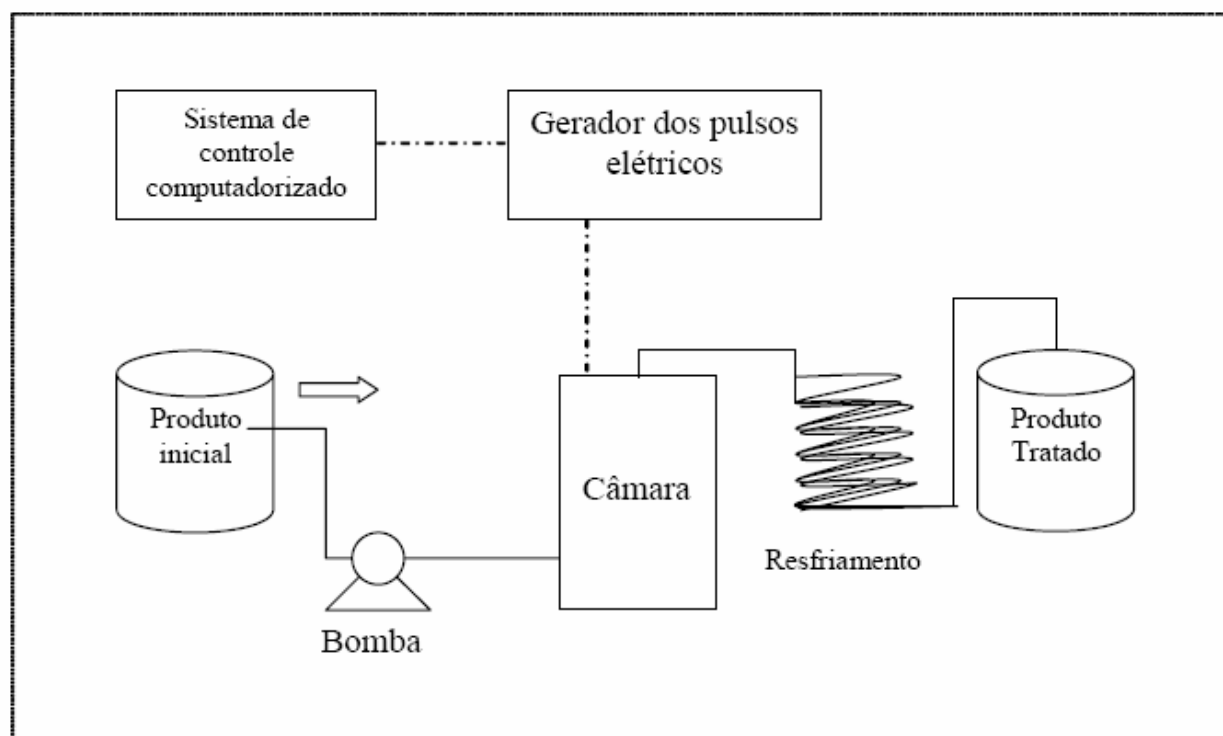


Figura 1 – Sistema de processamento por meio de aplicação de CEP

Equipamentos



As câmaras possuem:

- sondas de voltagem e de medição de temperatura
- dispositivo para retirada de ar a fim de evitar a ruptura dielétrica
- podem possuir ou não sistema de refrigeração para diminuir o aquecimento durante o tratamento
- Há câmaras estáticas que atendem à atividade de pesquisas
- Há câmaras contínuas para processos industriais

Equipamentos

- as principais características das câmaras:

- possibilitar tratamento homogêneo
- minimizar possíveis reações eletroquímicas e a possibilidade de ocorrer ruptura dielétrica no alimento enquanto estiver submetido aos campos



CEP e destruição de microrganismos

- CEP pode atingir altos índices de inativação de microrganismos deteriorantes e patogênicos
- O nível de destruição alcançado pelos campos depende, principalmente, da força do campo e do número de pulsos aplicados durante o processo
- leite pasteurizado inoculado com *E.coli*, *Salmonella* Dublin, *Listeria innocua*, *P.fluorescens* e *B.cereus* foi tratado com CEP e se obteve redução de 2 a 4 ciclos logarítmicos na inativação

Odriozola-Serrano et al, (2006)

CEP e destruição de microrganismos

- leite cru tratado com campos elétricos pulsados (40 kV/cm) e estocado sob refrigeração apresentou vida de prateleira (quanto a critérios microbiológicos) de 2 semanas
- vida de prateleira de leite processado por CEP e mesmo leite pasteurizado depende:
 - da concentração inicial de microrganismos resistentes aos pulsos
 - de sua capacidade de se multiplicar sob refrigeração

Odriozola-Serrano et al, (2006)

Microrganismo	Meio	Campo(kV/cm)	Tempo (microseg)	Reduções decimais
<i>S. Cerevisiae</i>	Suco de maçã	12	55,40	4
	Suco de maçã	35	25	>6
	Suco de laranja	6,7	100	5
	iogurte	35	2000	2
<i>Salmonella dublin</i>	Leite desnatado	28	100	2,5 a >5
<i>E. coli</i>	LSU	25	n.e.	2,8
	LSU	70	160	9
	Ovo Líquido	26	n.e.	5 a 6
<i>Bacillus subtilis</i>	Sopa de ervilha	33	60	5
<i>Lactobacillusbrevis</i>	Leite	22	400	4,6
<i>S. aureus</i>	Leite	60	n.e.	>5

* tempo total de tratamento = número de pulsos vezes a duração de cada pulso; n.e = não especificado; LSU = leite simulado ultrafiltrado.
 Fonte: adaptado de Petit *et al.* (2002).

- há vários estudos sobre a inativação microbiana em produtos líquidos, como leite e sucos de frutas via utilização de CEP
- PORÉM os trabalhos sobre os efeitos dos CEP na inativação Enzimática e de esporos são em menor número



CEP e inativação de enzimas e esporos

- já se estudou a inativação de proteases de *Pseudomonas* e *Bacillus subtilis* e da fosfatase alcalina
- em geral, as enzimas requerem tratamentos com pulsos elétricos mais intensos que os microrganismos para que se obtenha inativação significativa
- a eliminação de esporos é mais eficiente em tratamentos combinados





Antimicrobianos

- **Bacteriocinas:** Compostos antimicrobianos naturais produzidos por microrganismos
 - Melhoram a conservação do alimento, estendendo ou não sua vida útil
- O uso de bacteriocinas é uma das técnicas mais promissoras para substituição dos aditivos químicos em alimentos

PRINCIPAIS BACTERIOCINAS

- **Estudadas:**
 - Nisina: *Lc. lactis* subsp. *lactis*;
 - Pediocinas: *Pediococcus acidilactici*;
 - Sakacinas: *Lactobacillus sake*;
 - Outras:
 - Lacticina 3147
 - Lacticina 481
- **Comercializadas:**
 - Nisina - Nisaplin™ (PD45003-7EN, Danisco, Dinamarca);
 - Pediocina PA-1 - ALTATM 2431 (Kerry Bioscience, Carrigaline, Co. Cork, Irlanda).

NISINA

- Utilizada em mais de 48 países;
- Aprovada pelo FDA (Food and Drug Administration);
- Efetiva em numerosos sistemas de alimentos,
- Inibição de uma ampla variedade de bactérias Gram-positivas, incluindo microrganismos patogênicos como *Listeria monocytogenes*;
- Uso recomendado para alimentos enlatados e produtos lácteos;
- Especialmente efetiva em requeijão e outros queijos processados para proteção contra bactérias

Métodos combinados

- uso dos antimicrobianos e ultra alta pressão
- uso dos antimicrobianos e aplicação de campos elétricos pulsados
- uso de microfiltração e antimicrobianos
- uso de microfiltração e pasteurização



Outros estudos – USO de CO₂

- Substituição do oxigênio pelo dióxido de carbono
- formação de ácido carbônico na fase aquosa do alimento
- efeito direto sobre o metabolismo dos microrganismos



Outros estudos – USO de CO₂

Como o CO₂ é solúvel em lipídeos, se dissolve na camada lipídica da membrana celular passando através dela e se concentrando no citoplasma.

Com a alteração do pH intracelular ocorre a injúria na célula



Outros estudos – USO de CO₂

Dependendo da temperatura de armazenamento do leite a vida-de-prateleira pode ser aumentada em até 6 dias dias, apresentando também menor

proteólise e lipólise, associados com a menor contagem de psicotróficos



Bibliografia

1. Barbosa-Cánovas GV, Pothakamury UR, Palou E, Swanson BG (1999) Conservación no Térmica de Alimentos. Zaragoza, Acribia. 280p.
2. Devlieghere, F.; Vermeiren, L.; Debevere, J. New preservation technologies: possibilities and limitations. **International Dairy Journal**, v. 14, n.4, pg. 273-285. 2004.
3. Elwell, m.W.; Barbano, d.M. Use of microfiltration to improve fluid milk quality. **Journal of Dairy Science**, v.89, E. Suppl., p:E20-E30,2006.
4. Maubois, J. L. Current use of future perspectives of MF technology in the dairy industry. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n. 320, p. 37-40, 1997.
5. Odriozola-Serrano, I.; Bendicho-Porta, S.; Martí'n-Belloso, O. Comparative Study on Shelf Life of Whole Milk Processed by High-Intensity Pulsed Electric Field or Heat Treatment. **Journal of Dairy Science** Vol. 89 No. 3, 2006



Bibliografia

6. Ramos, A.M.; Teixeira, L.J.Q.; Stringheta, P.C.; Chaves, J.B.P; Gomes, J.C. Aplicação de campos elétricos pulsados de alta intensidade na conservação de alimentos. **Revista Ceres**. Julho/Agosto, pag. 425-438. 2006

7. ROBERTS, C.M.; HOOVER, D.G. Sensitivity of *Bacillus coagulans* spores to combinations of high hydrostatic pressure, heat, acidity and nisin. **Journal of Applied Bacteriology**, 81(4): 63-68. 1996

8. STEWART, C.M.; DUNNE, C.P.; SIKES, A.; HOOVER, D.G. Sensitivity of spores of *Bacillus subtilis* and *Clostridium sporogenes* PA679 to combinations of high pressure and other processing parameters. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 1 (1) 49-56, 2000

9. Spadoti et al. Aplicação da microfiltração na melhoria da qualidade do leite fluido. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 62(353): 471-476, 2007

9. Zhong K, Hu X, Zhao G, Fang Chen X (2005) Inactivation and Conformational Change of Horseradish Peroxidase Induced by Pulsed Electric Field. *Food Chemistry* 92:473-479

Muito obrigada!!

Alcina Maria Liserre

(19) 3743-1858

alcina.maria@ital.sp.gov.br