

Matérias primas

5 - Altas Pressões Hidrostáticas

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

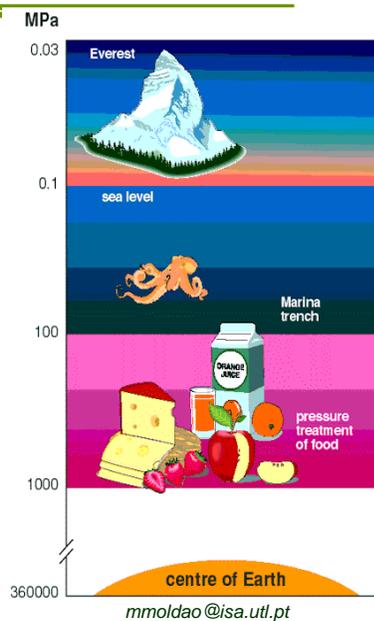
1

Altas Pressões Hidrostáticas

300 MPa < P < 600 MPa

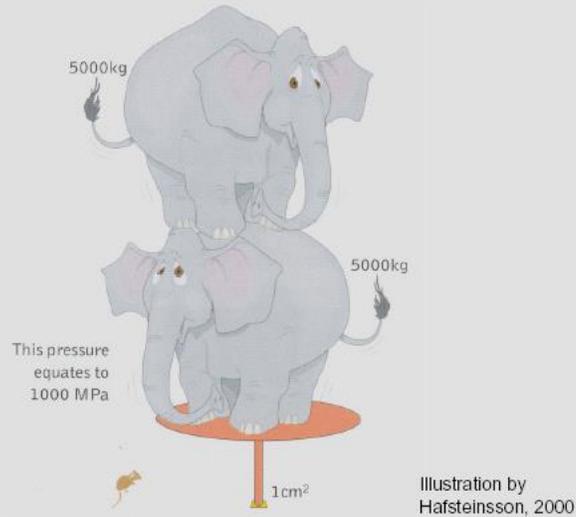
➤ Inativa microrganismos

Margarida Moldão



2

NON-THERMAL PROCESSING Ultra high pressure



TAFT-WEFTA Symposium Reykjavik June 11, 2003

3

Altas pressões hidrostáticas

- Processo industrial de pasteurização a frio em que o alimento pré embalado é submetido a elevadas pressões hidrostáticas (300-600 MPa).
- Dado que existem esporos resistentes de alguns microorganismos que sobrevivem ao processo HPP, os alimentos HPP são armazenados e distribuídos sob refrigeração $T < 5^{\circ}\text{C}$.

4

Fundamentos

- Princípio de Le Chatelier
- Princípio isostático. Teoria de Pascal

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

5

Princípio de Le Chatelier

- Qualquer reacção, alteração conformacional ou de transição de fase, que seja acompanhada de uma redução de volume será sempre favorecida por aumento de pressão

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

6

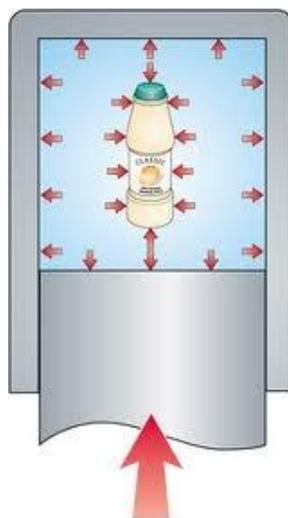
Princípio isostático

- A pressão é transmitida de forma uniforme e instantânea utilizando um líquido de baixa compressibilidade (H_2O a 680 MPa c.a. 18%,) como meio de transferência de pressão
- A pressão é aplicada em todas as direcções, o que permite aos sólidos manter a forma original
- O processo de pressurização é independente de:
 - Composição da amostra
 - Volume, massa e forma da amostra
 - Espessura da embalagem
 - Não exige scale-up
- Tempo de tratamento reduzido

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

7



<http://www.ircnet.lu/src/request/pictures/HHP.jpg>

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

8

Variáveis de processo

- Pressão
- Tempo
- Temperatura

- Ter em conta:
 - Efeito termodinâmico do calor adiabático
 - Aquecimento durante a compressão
 - Arrefecimento durante a descompressão
 - Aumento de temperatura de 3 a 9°C por 100MPa

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

9

Impacto ambiental

- Tecnologia ambientalmente limpa
- Energeticamente muito eficiente (atingida a pressão, válvulas fecham e cessa o consumo de energia)
- A água é reutilizada
- Não gera efluentes

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

10

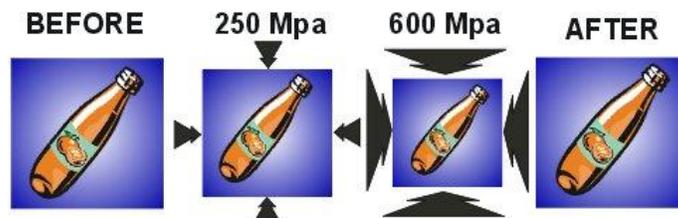
Pressão e temperatura

- Pressão isostática a frio. Congelação sob pressão
- Pressão isostática a temperatura moderada
- Pressão isostática a temperatura elevada:
 - Pressão de 100 a 400 MPa e temperatura > 2200°C.
 - Meio de pressurização - gás (árgon, azoto, hélio ou ar). Tecnologia utilizada na indústria metalúrgica e cerâmica.

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

11

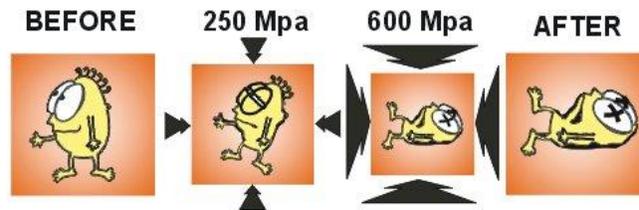


- A pressão hidrostática não cria forças de corte que deformem os alimentos.
- Os espaços devem estar cheios com líquido
- Não pode existir espaço de cabeça.
- Introduzindo um bago de uva numa garrafa com água podemos exercer pressão sem que haja esmagamento do bago de uva.

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

12



- As HHP provocam:
 - Alterações/ruptura da membrana celular
 - Desnaturação proteica
- As HHP não levam à formação de novos compostos químicos ou de radicais livres.
- TSS ⇨ efeito baroprotector.

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

13

HHP

- HHP afecta ligações não covalentes:
 - Ligações iónicas,
 - Pontes de hidrogénio,
 - Ligações hidrofóbicas.
- Não afecta ligações covalentes

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

14

Efeito das HHP nos alimentos

- Inativação de microrganismos.
- Modificação de biopolímeros (desnaturação de proteínas, inativação ou activação de enzimas, formação de gel...),
- Preservação da qualidade (sabor),
- Preservação das propriedades funcionais (Knorr, 1993).

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

15

Mecanismo de inactivação microbiana

- Alterações morfológicas observadas com o aumento da pressão:
 - compressão de vacúolos gasosos,
 - alongamento da célula,
 - contracção da membrana celular com a formação de poros,
 - modificações ao nível do núcleo e organelos intracelulares (acima 400 MPa, no caso de *Sacharomyces*),
 - coagulação de proteínas citoplásmicas,
 - desnaturações proteicas na membrana, modificando a permeabilidade e a selectividade desta
 - cristalização de fosfolipídeos da membrana
 - liberação de constituintes intracelulares (especialmente os de origem nuclear)
- Ruptura da membrana celular



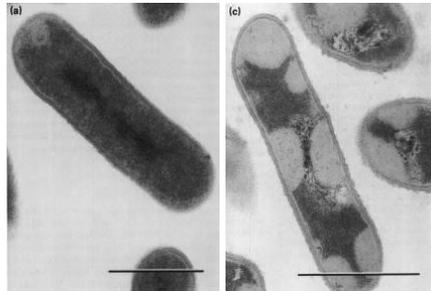
Alterando a permeabilidade celular e,
consequentemente da troca iónica.

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

16

Aspecto de *Listeria monocytogenes*



Não tratada

500 MPa - 10 min

Imagem de microscopia electrónica de *Listeria monocytogenes*
(Mackey et al. 1994)

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

17

Inactivação microbiana f HHP

- ❖ Bactérias na fase log são mais barossensíveis
- ❖ Pressões moderadas (300-600 MPa)/5-10 min à temperatura ambiente inactivam células vegetativas
- ❖ Pressões de 350 MPa/30 min ou 400 MPa/5 min implicam uma redução de 1 log (Hoover et al., 1989).
- ❖ Tratamentos pulsados são mais efectivos (Aleman et al., 1996)
- ❖ > pressões para induzir a germinação de esporos e, posterior inactivação.

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

18

Inativação microbiana f HHP

- ❖ Bactérias gram negativas (Pseudomonas, Salmonela, Yersinia) 300 MPa
- ❖ Leveduras (Sacaromices, Candida) 400 MPa
- ❖ Bactérias gram positivas (Micrococcus, Stafilococcus) 600 MPa
- ❖ Bactérias esporoladas (Bacilus e Clostridium) >900 MPa/ 50°-80°C

Inactivam príões?

600MPa/T ambiente/ poucos minutos

Cinética idêntica à cinética de morte térmica

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

19

Parâmetros cinéticos de quantificação da barorresistência

- **D** - Tempo de redução decimal (Valor *D* ou *Dvalue*) - tempo (min) necessário para, a uma dada pressão, se destruir 90 % da microbiota
- tempo necessário para reduzir 10 vezes (1 ciclo logarítmico) a população sobrevivente, a uma dada pressão.

D maior ⇒ >> barorresistência do microrganismo.

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

20

Effect of high hydrostatic pressure on selected microorganisms in juices and phosphate buffer

Microorganism	Pressure/Temp. (MPa)/(°C)	Medium	pH	Dp ^a (min)	Dp ^b (min)	Zp (MPa)	Ref.
<i>S. cerevisiae</i> ^b	300–500/25	Orange	3.9	—	—	116.3	Zook et al. (1999)
		Apple	3.8	—	—	114.9	
<i>S. cerevisiae</i> ^a	210–270/25	Model food system ^c	—	—	—	68.0	Hashizume et al. (95)
<i>Z. bailii</i>	300/50	Orange	3.9	1.97	10.4	—	Raso et al. (1998)
		Cranberry	3.5	2.0	14.9	—	
		Apple	4.1	3.0	15.6	—	
		Grape	3.0	4.18	33.3	—	
		Pineapple	3.4	4.48	37.0	—	
<i>Z. bailii</i> ^a	241–345/21	Model food system	3.5 ^d	—	—	85.8	Palou et al. (1999b)
	14–517/21	Phosphate buffer	3.5 ^e	—	—	222.7	
<i>B. stearothermophilus</i> (spores)	10–60/95		7.0	—	—	31.6	Furukawa and Hayakawa, (2000)
	60–100/95		—	—	—	555.6	

^avegetative cells
^bascospores
^cD₉₉ = .99
^dD₉₈ = .98
^eD₉₅ = .95

Guerrero-Beltran et al, 2005)

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

21

Inactivação enzimática *f* HHP

Pressurização de proteínas em solução aquosa



Alteração conformacional (reversível ou irreversível) sobretudo a nível da estrutura terciária e quaternária



Alterações no centro activo



Alteração de actividade enzimática:

perda de actividade
mudanças na especificidade do substrato...

22

Inativação enzimática f HHP

- A barorresistência das enzimas varia com
 - Tipo de enzima
 - Composição do alimento
 - pH
 - Pressão
 - Temperatura
 - Tempo
- Inativação
 - Completa
 - Parcial
- Reversível
- Irreversível

23



Effect of high hydrostatic pressure on selected enzymes in juices and phosphate buffer

Enzyme	Pressure/Temp. (MPa)/(°C)	Medium	pH	Zp (MPa)	Ref.
Polyphenoloxidase	750–900/25	Phosphate buffer	7.0	156.3	Weemaes et al., 1998
Pectinesterase	500–600/20	Orange	3.45	64.9	Goodner et al., 1998
Pectinmethyl-esterase	400–600/25	Orange	—	163.9	Nienaber and Shellhammer, 2001

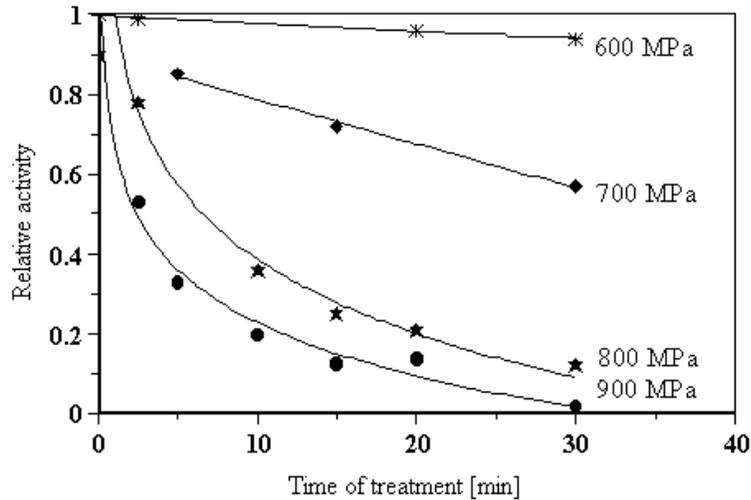
Guerrero-Beltran et al, 2005)

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

24

Efeito das HHP na actividade da PPO (Seyderhelm et al., 1996).



Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

25

Altas Pressões Hidrostáticas

- EFEITO SOBRE BIOPOLIMEROS
 - Desnaturação de proteínas 400 MPa
 - Gelatinização do amido 400- 600 MPa
 - Gelificação de polissacáridos a 600 MPa

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

26

HHP vs propriedades sensoriais

- Cor: Não altera ou alterações ligeiramente
 - 250-300 MPa/10°C ⇒ Ligeiro aumento de L* em carne
 - 400-500MPa/10°C ⇒ Ligeira diminuição de a*
 - Pigmentos vegetais sem alteração
 - HHP + Temperatura ⇒ Pode afectar a cor verde dos vegetais; pode desenvolver reacções de Maillard.

Nas carnes de aves e em peixe as alterações são menos drásticas do que nas carnes vermelhas

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

27

HHP vs propriedades sensoriais (cont.)

- Gosto: Não altera
 - Ex: ovos tratados por HPP não apresentam sabor a cozido pois não se libertam os grupos sulfidrilo
- Aroma: < 500 MPa Não altera
 - > 500 MPa pode desenvolver alguns aromas e sabores estranhos

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

28

HHP vs valor nutricional

- Perdas muito ligeiras de Vitamina C
- Melhora a estabilidade de compostos antioxidantes nomeadamente flavonóides (hisperidina e naringina)
- Aumenta a bio disponibilidade de carotenóides
- Melhora a bioextracção de outros compostos bio activos

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

29

Equipamento

- Câmara de pressão
- Sistema de geração de pressão
- Dispositivo de controlo de temperatura
- Sistema de manuseamento de material

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

30

Equipamento



Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

31

Equipamento compacto para investigação



$P < 690 \text{ Mpa}$
 $T: 10 \text{ a } 90^\circ\text{C}$

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

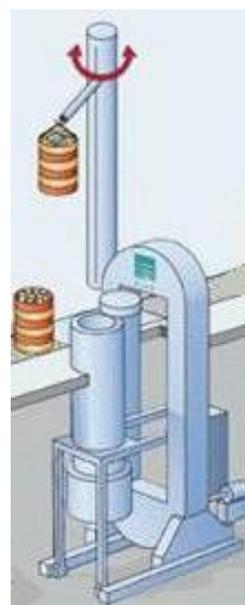
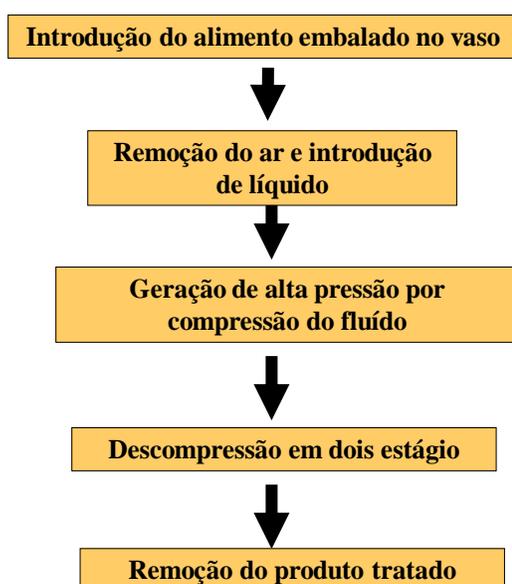
32

Equipamento de 3ª geração de 350 L, 600 MPa. 2300 kg /h. Avure.)



33

Processo em “batch”



34

HHP são aplicáveis a que tipo de alimentos?

Alimentos adequados

- Alimentos com volumes de água elevados.
- Alimentos com um volume de ar baixo.
- Alimentos termo sensíveis
- Produtos de elevado valor económico
- Produtos com possível contaminação. (Elimina eficientemente *Vibrio*, *E coli* e *Listeria*)

Alimentos não adequados

- Produtos secos
- Produtos com elevado volume de ar tipo pão ou bolos

35

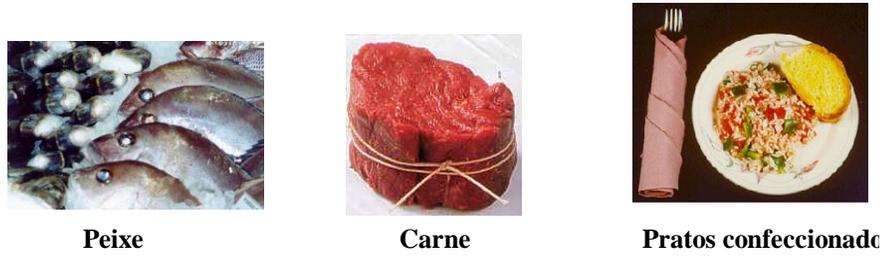
Produtos processados por HHP (Norton et al. 2008)

EMPRESA	PAÍS	ANO	PRODUTO	CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO	TEMPO DE VIDA ÚTIL
Pampryl	França	1994	Sumo de laranja e limão	400 MPa	18 dias a 4 °C
Espuña	Espanha	1998	Presunto fatiado	400 MPa / 15 °C / 10-20 min	25 dias
Jumex	México	2001	Sumos cítrico	500 MPa	32 dias
-	Líbano	2001	Sumos de fruta (54 variedades)	500 MPa	30 dias
Frubaça	Portugal	2001	Sumo de maçã	500 MPa / 120 s	28 dias a 4 °C
-	Itália	2001	Sumo de maçã, pêra, morango e cenoura	600 MPa / 1 min	1 a 2 meses
-	EUA	2002	Sumo de laranja e limonada	500 MPa	21 dias
Campo Frio	Espanha	2002	Presunto de frango fatiado	600 MPa / 20 °C / 3 min	35 dias
Vismara	Itália	2004	Presunto "Prosciutto", salame e mortadela	600 MPa / 20 °C	-
-	Rep. Checa	2004	Sumo de brócolos com maçã	550 MPa / 22 °C	21 dias

36



37



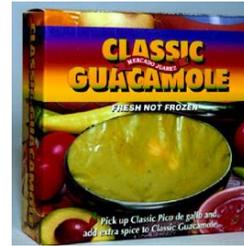
38



Fiambre



Sumos de fruta



Guacamole



Lulas



Ostras

39

Produtos do mar

- Rigor mortis
 - 100 MPa \Rightarrow Compactação de fibras
 - 200-300 MPa \Rightarrow Desintegração da fibra
- Fácil remoção de casca.
- Abertura de conchas (ostra).
- Descontaminação.
- Aumento de período de vida útil.



40

Produtos do mar

- Gambas
 - 400MPa/10 min/7°C ⇒ ligeiras alterações mas o musculo mantém-se intacto
- Ostras
 - 400MPa/10 min/7°C ⇒ sem alterações , aspecto de fresco.
- Polvo
 - 200-300MPa/10 min/7°C ⇒ endurecimento
 - 400-450MPa/10 min/7°C ⇒ amolecimento

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

41

Carne

- Eliminação de aditivos.
- Aumento de retenção de água.
- Descontaminação, (eliminação de Listéria).
- Facilita o marinar de carnes.



42

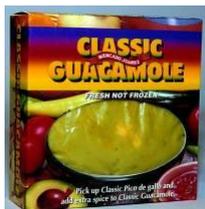
Ovos

- Capacidade de formação de espuma
 - Pressurização a baixas temperaturas (2°C) diminui a capacidade de formação de espuma
 - Pressurização a temperaturas moderadas (50°C) aumenta a capacidade de formação de espuma
- Cor
 - Os carotenos e as xantofilas não são afectados pelos tratamentos de pressão
- Gosto
 - Ovos pressurizados não apresentam gosto a cozido pois não se libertam grupos sulfidrido

43

Produtos vegetais

- Eliminação de aditivos.
- Manutenção do sabor e cor do produto fresco
- Descontaminação, (eliminação de E. coli).
- Aumento de período de vida útil .



44

Aplicações Comerciais em Portugal

- Sumo de maçã da FRUBAÇA
- Outros sumos



45

HHP - Vantagens

- Pode ser efetuado \leq temperatura ambiente
- Minimização de operações prévias
- Segurança microbiológica
- Toxicidade não evidenciada
- Manutenção de características sensoriais
- Algumas alterações de textura desejáveis
- Tempos de processamento curtos
- Tempos do processo independentes da dimensão do produto a processar
- Boa aceitação por parte do consumidor
- Mais eficiente sob o ponto de vista energético do que a maioria dos métodos de conservação por altas temperaturas.
- Não prejudica o ambiente.

46

HHP - Inconvenientes

- Pouco efectivo no controlo de actividade enzimática
- Produtividade baixa, equipamento com volumes entre 35 L e 300 L, taxa de enchimento $\approx 50\%$.
- Os alimentos a tratar devem ter no mínimo 40% H₂O
- Custos de investimento (0,5 a 2,5 milhões de euros).
- Manutenção dispendiosa.
- Necessidade de dois equipamentos (fiabilidade baixa).
- Poucos Fabricantes.
- Opções de embalagem limitadas.

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

47

Bibliografia

- Barbosa-Cánovas, G; Pothakamury, U.R. ; Palou, E E Swanson, B.G., (1998). *Nonthermal preservation of foods*, Marcel Dekker, Inc., New York. (Q02-367).
- Fellows P. (2000). *Food Processing and Technology. Principles and practice*. CRC Press. Boca Raton.
- KNORR, D. (1995a) Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology. In: G. W. Gould (ed.) *New Methods of Food Preservation*. Blackie Academic and Professional, London, pp. 159–175.
- LEIGHTON, T. G. (1998) The principle of cavitation. In: M. J. W. Povey and T. J. Mason (eds) *Ultrasound in Food Processing*. Blackie Academic and Professional, London, pp. 151–182.
- [Seyderhelm, L., Boguslawski, S., Michaels, G. & Knorr, D. 1996. Pressure induced inactivation of selected food enzymes. J. Food Sci. 61: 308-310.](#)
- JOSÉ A. GUERRERO-BELTRÁN¹, GUSTAVO V. BARBOSA-CÁNOVAS¹ AND BARRY G. SWANSON (2005) High Hydrostatic Pressure Processing of Fruit and Vegetable Products, *Food Reviews International*, 21:411–425.

Margarida Moldão

mmoldao@isa.utl.pt

48