Effect of Ohmic Heating in the Eliminatiin of Microorganisms

تأثير التسخين الأومي في القضاء على الأحياء المجهرية الجزء الثالث

حيدر إبراهيم علي اسعد رحمان سعيد ألحلفي غسان فيصل محسن
قسم علوم الأغذية – كلية الزراعة- جامعة البصرة

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث

المستخلص

تم دراسة تأثير التسخين الاومي على الاحياء المجهرية ونسبة أنزيم الفوسفاتيز المتبقي ونسبة الأحياء المجهرية المتبقية ونسبة بكتريا القولون المتبقية ونسبة المكورات العنقودية المتبقية ومعدل الهلاك وقد انخفضت معنوياً مع زيادة زمن التسخين.وكان معدل الهلاك للكائنات الحية عند التسخين الأومي بفروق الجهد 80, 110, 220 Vوكذلك البسترة التقليدية السريعة لمدة0.766, 0.783, 0.991, 0.611 min. وكانت في أنبوب المسك 0.25 min. لجميع المعاملات.

الكلمات المفتاحية: التسخين الاومي، الأحياء المجهرية، معدل الهلاك.

Abstract

Experiment was conducted to study the effect of ohmicheating on the elimination of microorganisms, and the percentage of remained phosphatase,
microorganisms, coliform and Staphylococcus. The rateof microbial death after treatments and the results showed that all of these percentages were decreased significantly withincreasing heating time and the ohmic heating atdifferent voltages 80,110,220V and also with conventional pasteurization which were for0.766,0.783 and 0.766 min.respectively and in the holding tube was 0.25 min for all treatments.

Keywords: Ohmicheating , microorganisms, Lethal rate.

المقدمة

لتقنية التسخين الأومي الدور المهم في القضاء على الأحياء ألمجهريه الحية الدقيقة الموجودة في الحليب ،إذإن هناك الكثير من التقارير والبحوث التي أشارت إلى قابلية التقنية الأومية في القضاء على الأحياء ألمجهريه بواسطة التأثير القاتل الحراري وغيرالحراري (التيار المتناوب) وخاصة تأثيرها على
Viable aerobesو2646*S .thermophilus*(Parelleu&,1970Sicard) و , Shimada &Shimahara (1981,1982,1983,1985a,1985b)،كما بين الباحثين المذكورين أن التأثير التثبيطي للتيار الكهربائي يعتمد على الطاقة و التيارالمار خلال الوسط وعلى الوقت الذي من خلالهتترك الخلايا الركود في الوسط بعد المعاملة الكهربائية .

بين (2002),Yoon*etal*إن تثبيط الميكروبات الذي يحدث بواسطة التسخين الأوميله صله وثيقة بفرق الجهدالكهربائيأو التردد ، وأشار أيضا إلىإن تثبيط الميكروبات المتسبب بواسطة التسخين الأومي كان بسبب Electroporationعلى أغشيةالخلايا بواسطة التيار الكهربائي .

ذكر Wouters*etal*,(2001) وGowrishankar*etal*,(2005) وLuis Machado *etal*,(2009) أن المجال الكهربائي غيرالحراري كان له دور مهم وكبير في قتل الميكروبات مثل بكتريا *Escherichiacoli* وخاصة المجال الكهربائي المتوسط (MEF) ،إذ اثبتوا أن النقصان في إعداد الكائنات الحية يعود إلى المجال الكهربائي وليس إلى الزيادة في درجات الحرارة ، وهذا ما أثبته كل منCho*et al*, (1999) ; Pereira*etal*. (2007) ; Huixian*etal*.(2007)في أن القتل غير الحراري للأحياء ألمجهريه ناتج عن الحقل الكهربائي المار في المادة الغذائية .

وقد وجد Palaniappan*etal*. (1992)إن لا اختلاف بين التسخين الأومي والتسخين بالطريقة التقليدية في نفس الدرجة الحرارية في القضاء على الخمائر وفي تيار كهربائي يتراوح بين (0.5- 1A) في تردد مقداره60Hz .

Huixian*etal*.(2007)بينوا إلىأن هناك اختلافات هامه بين البسترة بالتسخين الاومي والطريقة التقليدية في معدل هلاك الأحياء ألمجهريه وخاصة مع البكتريا المحبة للحرارة، إذ بينوا مدى أهميه تأثير التيارات الكهربائية في نسبه القتل بالمقارنة مع الحرارة ، لذا من الضروري توضيح الميكانيكيةغير الحرارية (الكهربائية) لتقنيه التسخين الأومي في القضاء على الأحياء ألمجهريه الدقيقة .يمثل حساب معدل الهلاك (الموت) الطريقة العامة لحساب المعاملة الحرارية . إن زمن هلاك الميكروبات الحراري المعين للعملية التصنيعية يجب ان يكون معلوما لجميع درجات الحرارة التي تتحقق من خلال عملية التصنيع وتعطي المساحة تحت المنحنى تأثير الموت الحراري على صورة وحدة زمن .

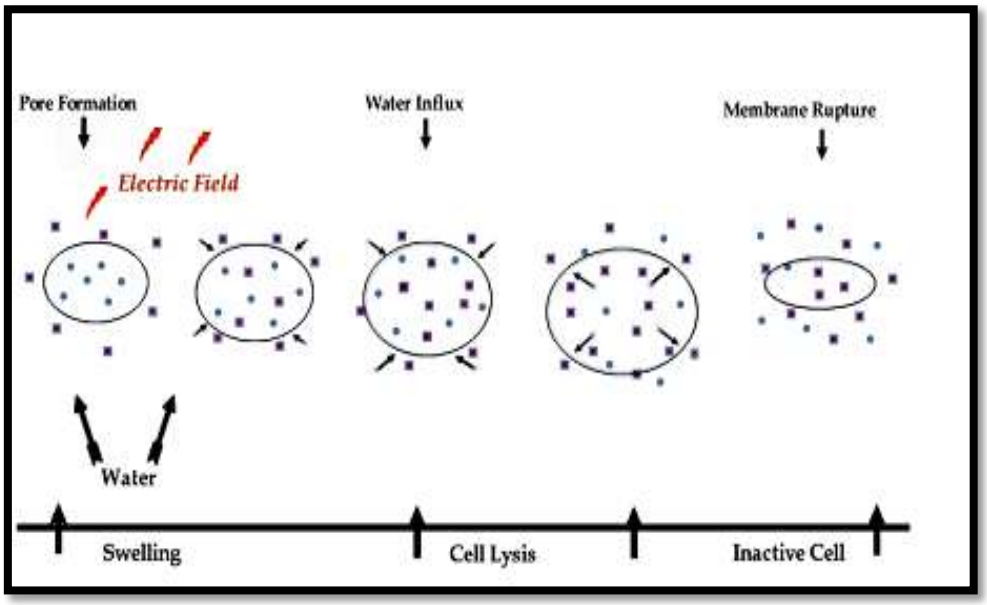
يعد استخدام درجة الحرارة المرتفعة المستمرة في التعقيم أو البسترة فريدا من حيث أن الموت قد يتراكم خلال زمن المكوث عند درجة حرارة التسخين . وهنا يعبر الموت الحراري عن تأثير التصنيع بصيغة تعني إن العملية التصنيعية تساوي وقت المكوث عند درجة حرارة معلومة . (اليحيى ، 1996) .

تستخدم الهلاكية (قيمة F) لتحديد زمن المسك عند درجة حرارة معينة (باعتبار أن عملية التسخين والتبريد لحضية) للوصول إلى العملية الحرارية المتكاملة . كما أنها يمكن إن تستخدم لمقارنة عمليات حرارية مختلفة (2000Lewis, &Heppell و تستعمل لتقييم مستوى العملية الحرارية في التصنيع الغذائي (Sumbo , 1973)

وبين حوباني وحسن (1997) أن هنالك قيم قياسية للكائنات الحية وعند استخراج قيمة معدل الهلاكية في تجربة ما يجب أن تكون مساوية للقيمة القياسية و إذا كانت غير مساوية فهنا يجب إضافة زمن للعملية الحرارية لغرض الوصول إلى قيمة الهلاك القياسية وهذا يعتبر من الأمور المهمة في التصنيع الحراري .

وقد وجد(Gut *et al*,(2004إن مقدار الهلاكية أثناء المسك هي min0.287 ($F_{72°C}$= 17.2) sec.). ولمجمل العملية الحرارية(HTST) أثناء التبريد والتسخين هي 0.761 min .

وتهدف الدراسة الحالية الى دراسة تأثير التسخين الأومي في القضاء على الأحياء المجهرية مقارنة بالبسترة التقليدية.



شكل(1): يوضح تأثير المجال الكهربائيعلى الخلايا (Destinee , 2008)

مواد وطرائق العمل

جهاز بسترة الحليب بالتسخين الاومي

استعمل جهاز بسترة الحليب بالتسخين الاومي المصنع من قبل الحلفي واخرون (2012) الذي يتكون من وحدة التسخين الاومي ووحدة السيطرة ووحدة التبادل الحراري. كما مبين بالشكل 1.تم الحصول على الحليب الخام (حليب الأبقار) من محطة الأبحاث الزراعية التابعة لكلية الزراعة/جامعة البصرة .

شكل (1) : صورة فوتوغرافية لجهاز بسترة الحليب بالتسخين الاومي .

اجريت التجارب بالتسخين الاومي عند فروق جهد مختلفة هي 80, 110, 220 V لحين وصول الحليب الى درجة حرارة 72 ^{o}C لمدة 15 sec. وكذلك بالبسترة التقليدية HTST بالتسخين الى درجة حرارة 72 ^{o}C لمدة 15 sec

الكشف عن وجود أنزيم الفوسفاتيز :

تم الكشف عن وجـود أنزيم الفوسفاتيز لعينات الحليب الخام و المبستر على وفق الطـريقة الإنزيمية والتي تضمن استخدام العدة التجارية (Kit) والمختبرة من قبل شركة Egyptian Company for Biotechnology .

الفحوصات الميكروبية :

أجريت الفحوصات المايكروبايولوجية على الحليب الخام والمبستر وبعد المدة الخزنيةالبالغة15يوم وقد استعملت طريقة الصب بالأطباق لحساب عدد الأحياء المهجرية في عينـات الحليب المـأخوذة . (ألشريفي ومحمد، 1992) .

العينات (النماذج) :

أخذت (11 مل) من عينات الحليب الخام و المبستر المختلفة وأضيف إليها (99 مل) من ماء البيتون والذي يحتوي على 0.1 % بيتون تحت ظروف معقمة ومزجت العينة جيدا ومن ثم أجريت التخافيف العشرية والبالغة ثلاثة تخافيف للحليب الخام وثلاثة تخافيف للحليب المبستر واستخدمت ماصات وأنابيب اختبار معقمة لذلك .

تقدير العد الكلي للميكروبات :

استعمل الوسط ألزرعي الأكار المغذي Nutrient Agarالمجهز من شركة Himedia الهندية والمحضر بإذابة 28 غرام منه في لتر واحد من الماء المقطر والمعقم بالمؤصدة على درجة حرارة 121C°لمدة 15 min وسطاً زراعياً لحساب العدد الكلي للميكروبات ثم الحضن على درجة حرارة 37 °C و55 لمدة48hr – 24. بعدها تحسب المستعمراتالبكترية النامية .

تقدير بكتريا القولون :

جهز الوسط MacConkey Agar من شركة Himedia الهندية وحضر بإذابة 51.5 غرام منه في لتر واحد من الماء المقطر ثم عقم بالمؤصدة على درجة 121 °C لمدة 15 min. ثم الحضن على درجة حرارة 37 °C ولمدة24hr-48. بعدها تحسب المستعمراتالبكتيرية النامية .

تقدير بكتريا المكورات العنقودية الذهبية :

جهز الوسط Staphylococcus Medium No. 110 من شركة Himedia الهندية وحضر بإذابة 148 غم في لتر من الماء المقطر ثم عقم بالمؤصدة على درجة 121 °C لمدة 15 min. ثم الحضن على درجة حرارة 37 °C ولمدة24hr-48. بعدها حسبتالمستعمرات البكترية النامية .

الترحيل الكهربائي بهلام متعدد الاكريلامايد لبروتينات الشرش :

استخدمت طريقة Disc Poly Acryl amide Gel Electrophoresis (Disc PAGE) كما أوردها(1978), Groves

حساب نسبة الأحياء ألمجهريه المتبقية :

حسبت نسبة الأحياء ألمجهريه المتبقية من المعادلة التالية :(Maroulis&Saravacos, 2003)

$$log\left(\frac{N_j}{N_{oj}}\right) = -\int_o^t \frac{dt}{D_j} \dots\dots\dots (1)$$

$$D_j = D_{rj}10^{\frac{T_{ri}-T}{z}} \dots\dots\dots (2)$$

$\frac{N_j}{N_{oj}}$: نسبة الأحياء ألمجهريه المتبقية .

t : زمن التسخين (min)

D_j: زمن التخفيض العشري اللازم لهلاك 90 % من الأحياء ألمجهريه خلال دورة لوغارتيمية واحدة وعند درجة حرارة معينة .

D_{rj}: زمن التخفيض العشري اللازم لهلاك 90 % من الأحياء ألمجهريه خلال دورة لوغارتيمية واحدة وعند درجة حرارة معروفة .

Z : المقاومة الحرارية (°C)

وطبقت المعادلة (1) أيضا لحساب نسبة أنزيم الفوسفاتيز المتبقية بالاعتماد على قيمة D والتي تساوي 24.6min وقيمة Z التي تساوي 5.4 (Raoet *al* ,2005) . وحسبت D_{rj} من المعادلة التالية : (Valentas*etal*, 1997)

$$D_{rj} = \frac{t_2 - t_1}{logN_{oj} - logN_j} \dots\dots\dots (3)$$

N_{oj} : العد الأولي للأحياء ألمجهريه

N_j : العد النهائي للأحياء ألمجهريه

$t_2 - t_1$: التغير بالزمن (.min)

حسبت Z_jمن المعادلة التالية : (Valentas*etal*, 1997)

$$Z_j = \frac{T_2 - T_1}{logD_{rj} - logD_j} \dots\dots\dots\dots (4)$$

$T_2 - T_1$: الفرق بدرجة الحرارة (°C)

معدل الهلاك : Lethal rate

حسب معدل الهلاك للأحياء ألمجهريه من المعادلة التالية : (Gut *et al*, 2004)

$$F_{Tref} = \int_o^t L_t(t)dt = \int_o^t 10^{\frac{T_{(t)} - T_{ref}}{z}} dt \dots\dots\dots\dots (5)$$

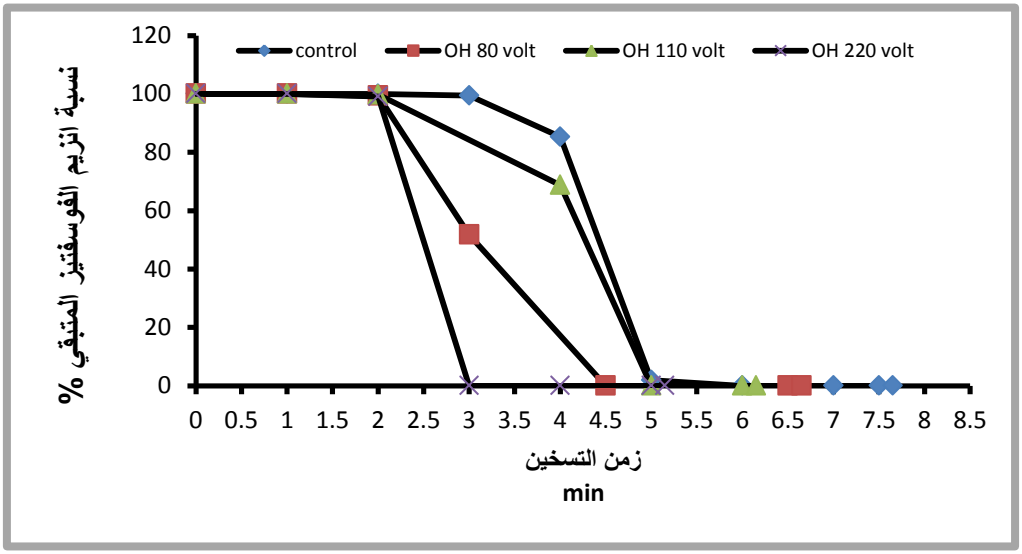
النتائج والمناقشة

الكشف عن أنزيم الفوسفاتيز :

يُعد أنزيم الفوسفاتيز من الإنزيمات المهمة الواجب فحصها والذي يُعد اختباراً رسمياً لكفاءة عملية البسترة ومن العوامل المؤثرة عليه ارتفاع درجة الحرارة وتغير الـ pH . عند فحص عينة الحليب الخام المعد لعملية البسترة وجد إنزيم الفوسفاتيز فيها. و لا وجود لهذا الإنزيم عند بسترة الحليب على 220 Vو 110 و 80 وكذلك البسترة التقليدية . وهذا يتفق مع Fenollet *al.*(2002) الذي أشار إلى أن إنزيم الفوسفاتيز يتحطم بدرجة حرارة البسترة وهو موجود فقط في الحليب غير المبستر .

يبين الشكل (1) العلاقة بين إنزيم الفوسفتيز القاعدي المتبقي في الحليب مع الزمن على فروق جهد مختلفة80 ،110 ،220V بالإضافة إلى البسترة التقليدية السريعة . إذ نلاحظ استمرار بقاء الإنزيم علىV220 إلى إن بدا بالانخفاض الحاد إلى زمن مقداره 3 min. ثم تم القضاء التام على الإنزيم في زمن مقداره 5 min. علىV220. أما فيV110 فقد استمر الإنزيم في البقاء كما فيV220 إلى إن بدا بالانخفاض الحاد إلى زمن مقداره 4.5 min. ثم تم القضاء التام على الإنزيم في زمن 6.5 min. . وفي 80V استمر الإنزيم بالبقاء كما هو الحال فيV110 ،220 إلى إن بدا بالانخفاض الحاد في زمن 5 min. ثم تم القضاء التام على الإنزيم فيV 80 في 7min. . ونستنتج من ذلك إلى إن التفاوت والاختلاف في زمن التسخين على فروق الجهد المختلفة يرجع إلى شدة وسرعة التسخين إذ يتناسب فرق الجهد عكسيا مع الزمن أي بزيادة فرق الجهد يعني انخفاض زمن التسخين والعكس صحيح .

أما في البسترة التقليدية السريعة فنلاحظ استمرار بقاء الإنزيم أطول فترة من فروق الجهد المختلفة المذكورة أعلاه ثم بعد ذلك بدا بالانخفاض إلى زمن مقداره 5.1min. ثم تم القضاء التام على الإنزيم في البسترة التقليدية إلى زمن 7.5min. . ونستنتج من ذلك أن الحرارة كانت السبب الوحيد في تثبيط إنزيم الفوسفتيز القاعدي في البسترة التقليدية السريعة ألا أن البسترة بالتسخين الأومي كان الضغط الذي وصل الى 0.25-0.5 bar فوق الضغط الجوي ، والمجال الكهربائي من العوامل التي تساعد في التثبيط السريع للإنزيم بالإضافة إلى الحرارة .

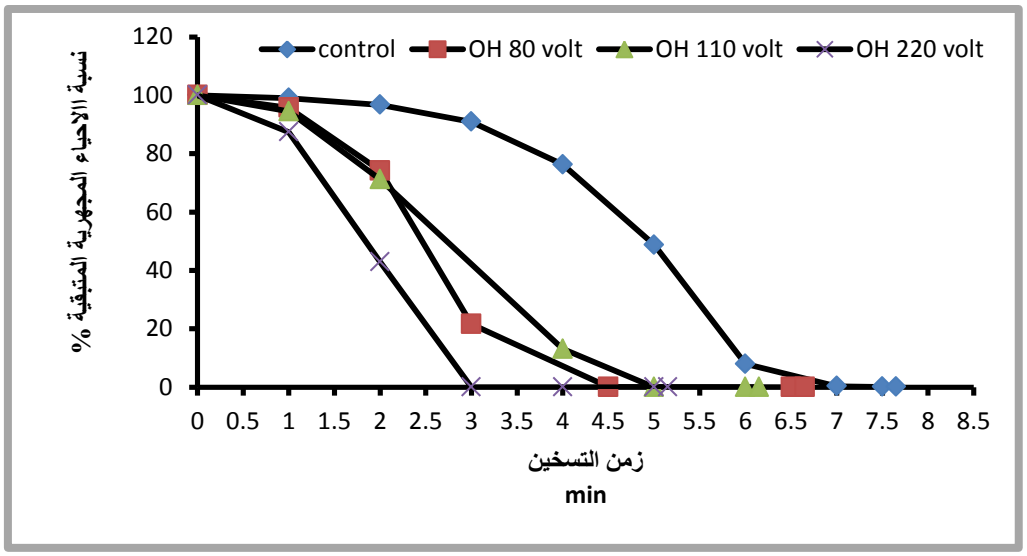


شكل (1) : العلاقة بين نسبة إنزيم الفوسفتيز المتبقي و زمن التسخينلفروق الجهد 80 ،110 ،220V والبسترة التقليدية السريعة

العد الكلي للبكتريا :

يبين الشكل (2) العلاقة بين نسبة الأحياء ألمجهريه المتبقية في الحليب مع زمن التسخين على فروق جهد مختلفة V 220،110،80 بالإضافة إلى البسترة التقليدية السريعة . إذ نلاحظ انخفاض نسبة الأحياء ألمجهريه في220 V مع انخفاض زمن التسخين إذ بدا الانخفاض في زمن .1min ثم بدا بالانخفاض الحاد إلى زمن مقداره .3 min ثم تم القضاء التام على البكتريا في زمن مقداره .5 min على 220V. أما في110 V نلاحظ الانخفاض الحاد في أعداد البكتريا المتبقية في زمن .1min ثم تم الانخفاض الحاد في أعداد البكتريا في زمن مقداره .5 min ثم القضاء التام للبكتريا في زمن .6min. وفي80 V كان الانخفاض في أعداد البكتريا في زمن مقداره .4.5 min ثم تم القضاء التام على البكتريا في زمن .6.5min . ويرجع السبب إلى أن الانخفاض الحاد في نسب البكتريا في 220V يرجع إلى قوة وسرعة التسخين بالمقارنة مع110 V،80 الذي كان اقل حده واقل سرعة في التسخين ، إضافة إلى تأثير المجال الكهربائي على البكتريا وهذا يتفق لما توصل إلية Huixian*etal*.(2007) الذين بينوا على إن نسب البكتريا المتبقية تقل كلما ازداد التيار الكهربائي الذي يرافقه الانخفاض في زمن التسخين .

أما في البسترة التقليدية السريعة نلاحظ عدم وجود الحدية في التسخين وقد يرجع السبب إلى اعتماد الحرارة فقط في التسخين بالنسبة للبسترة التقليدية مما يعني طول فترة التسخين إذ وصل زمن التسخين في البسترة التقليدية إلى .7min .



شكل (2) : العلاقة بين نسبة الأحياء المجهرية المتبقية وزمن التسخينلفروق الجهد 220V،110،80 والبسترة التقليدية السريعة

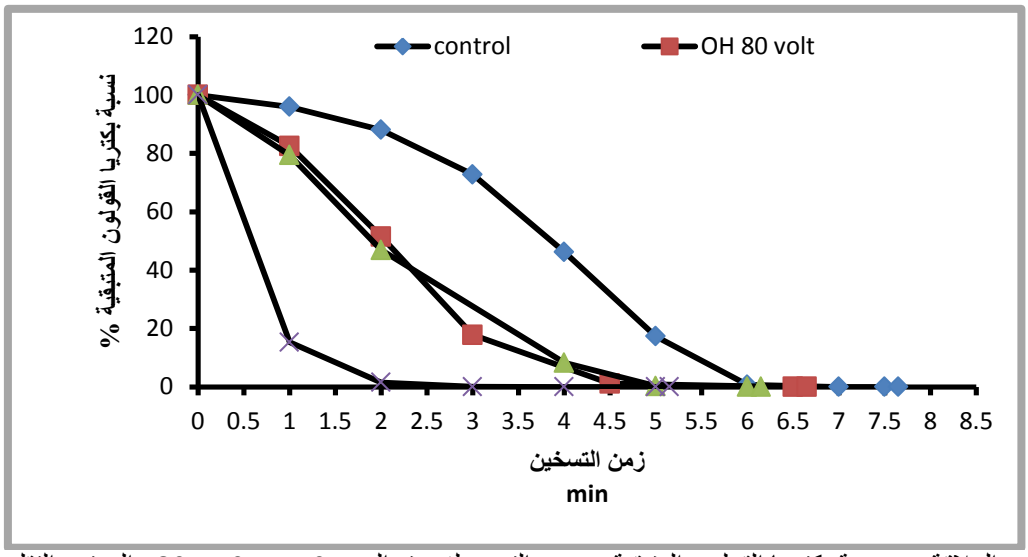
عد بكتريا القولون :

تعد بكتريا القولون من البكتريا المهمة في الحليب لأنها دليل على نظافته وسلامته وأن وجودها في الحليب المبستر دليل على عدم كفاءة البسترة .

يبين الشكل (3) الانخفاض الحاد في نسبة بكتريا القولون على220 V إلى زمن .1min ثم استمر بالانخفاض إلى زمن مقداره .2min إذ تم القضاء التام على بكتريا القولون في زمن .5min على 220 V.

أما في110 V نلاحظ الانخفاض الحاد في أعداد بكتريا القولون إلى زمن .5min ثم تم القضاء التام على بكتريا القولون في زمن مقداره .6 min . وفي80 V كان الانخفاض في أعداد البكتريا في زمن مقداره .4.5 min ثم تم القضاء التام على البكتريا في زمن .6.5min . ويرجع السبب إلى أن الانخفاض الحاد في نسب بكتريا القولون في220 V يرجع إلى قوة وسرعة التسخين بالمقارنة مع110 V،80 الذي كان اقل حده واقل سرعة في التسخين ، إضافة إلى تأثير المجال الكهربائي على قتل بكتريا القولون وهذا مقارب لما توصل إلية (Hong *et al*,(2008الذين بينوا على إن نسبة بكتريا القولون تقل كلما ازداد التيار الكهربائي الذي يرافقه الانخفاض في زمن التسخين .

أما في البسترة التقليدية السريعة نلاحظ عدم وجود الحدية في التسخين وقد يرجع السبب إلى اعتماد الحرارة فقط في التسخين بالنسبة للبسترة التقليدية مما يعني طول فترة التسخين إذ وصل زمن التسخين في البسترة التقليدية إلى .7min .



شكل (3) : العلاقة بين نسبة بكتريا القولون المتبقية و زمن التسخينلفروق الجهد 80،110،V220 والبسترة التقليدية السريعة

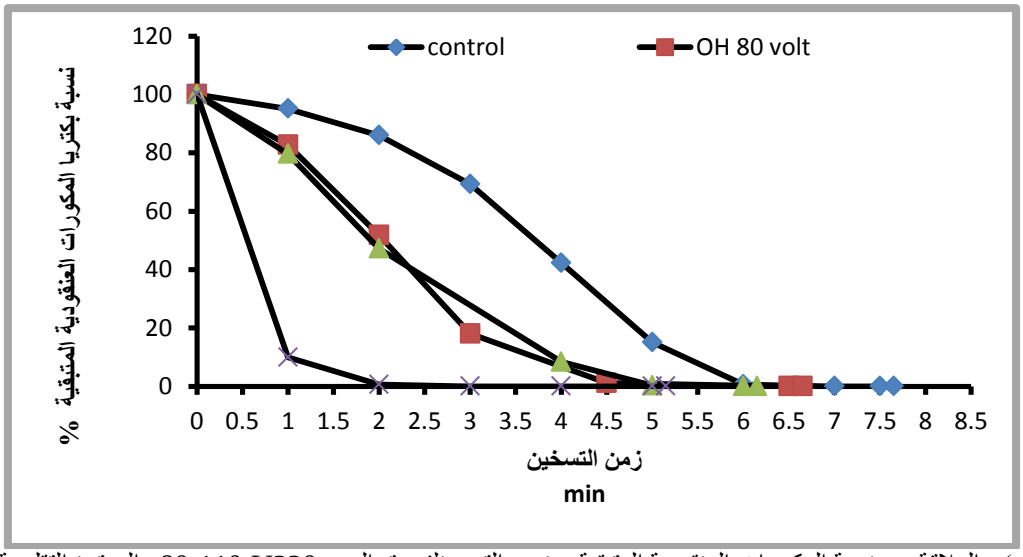
عد بكتريا المكورات العنقودية :

تعد بكتريا المكورات العنقودية أيضا من البكتريا المهمة في الحليب وان وجودها في الحليب المبستر يدل على عدم كفاءة البسترة .

الشكل (4) يبين الانخفاض الحاد في نسبة بكتريا المكورات العنقودية على220 V إلى زمن .1min ثم استمر بالانخفاض إلى زمن مقداره .2min إذ تم القضاء التام على البكتريا العنقودية في زمن .5min على220 V.

أما في110 V نلاحظ الانخفاض الحاد في أعداد بكتريا المكورات العنقودية إلى زمن .5min ثم تم القضاء التام على البكتريا العنقودية في زمن مقداره .6 min . وفي80 V كان الانخفاض في أعداد البكتريا في زمن مقداره .4.5 min ثم تم القضاء التام على البكتريا في زمن .6.5min . ويرجع السبب إلى أن الانخفاض الحاد في نسب البكتريا العنقودية في 220V يرجع إلى قوة وسرعة التسخين بالمقارنة مع 80،V 110 الذي كان اقل حده واقل سرعة في التسخين ، إضافة إلى تأثير المجال الكهربائي على قتل البكتريا العنقودية وهذا مقارب لما توصل إلية Hong *et al*,(2008)الذين بينوا على إن نسبة بكتريا المكورات العنقودية تقل كلما ازداد التيار الكهربائي الذي يرافقه الانخفاض في زمن التسخين .

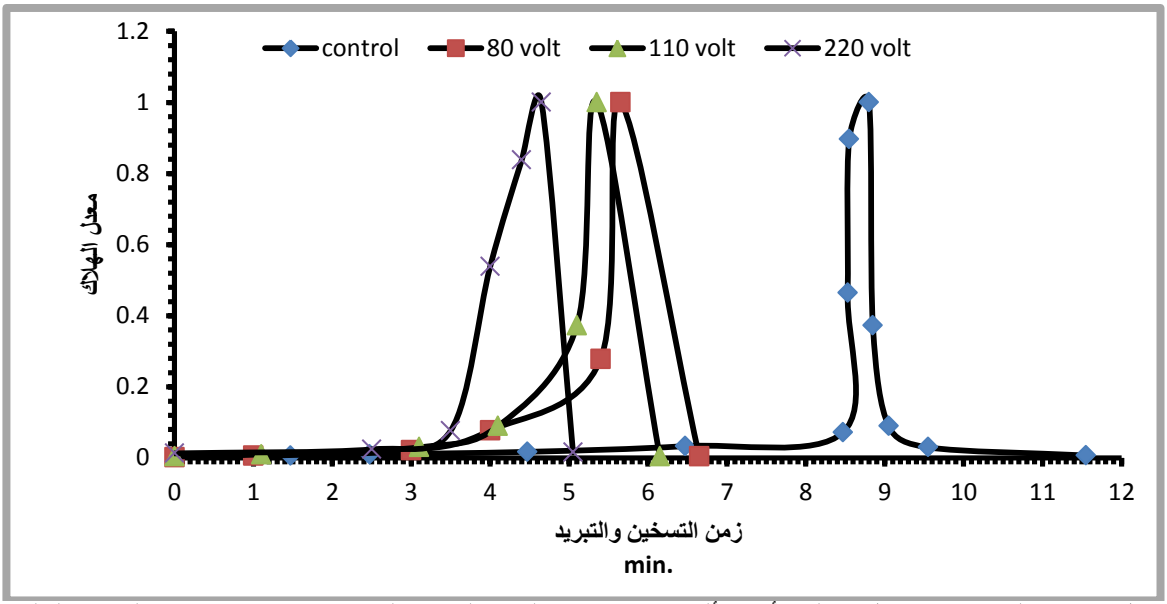
أما في البسترة التقليدية السريعة نلاحظ عدم وجود الحدية في التسخين وقد يرجع السبب إلى اعتماد الحرارة فقط في التسخين بالنسبة للبسترة التقليدية مما يعني طول فترة التسخين إذ وصل زمن التسخين في البسترة التقليدية إلى .7min .



شكل (4) : العلاقة بين نسبة المكورات العنقودية المتبقية و زمن التسخينلفروق الجهد 80،110،V220 والبسترة التقليدية السريعة

الهلاكيـــة Lethality

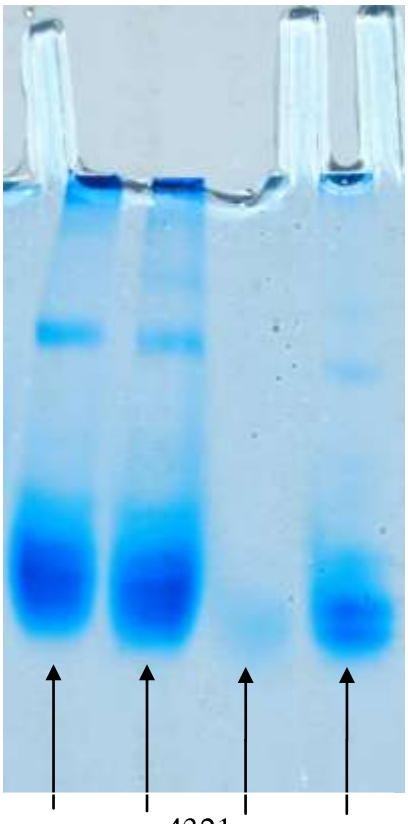
يبين الشكل (5) معدل الهلاك للكائنات الحية عند التسخين الأومي بفروق الجهد 80،110،V220 والبسترة التقليدية السريعة . ان معدل الهلاكية للعملية الحرارية الكلية والمتمثل بحساب المساحة تحت المنحنى كان 0.611min، 0.991، 0.783 ، 0.766 وكانت في أنبوب المسك min0.25 لجميع المعاملات وهذا يدل على كفاءة العملية الحرارية ، لان عملية القضاء على إنزيم الفوسفتيز هو عند معدل هلاك 0.25 min وهو يمثل زمن المسك .



شكل (5) : العلاقة بين معدل هلاك الأحياء ألمجهريه و زمن التسخينلفروق الجهد 80،110،V220 والبسترة التقليدية السريعة.

دنترة بروتينات الشرش :

ويوضح شكل (6) بروتينات الشرش المفصولة من حليب الأبقار على فروق جهد مختلفة220 V ، 110 ، 80 بالإضافة إلى Control على درجة حرارة 72°C لمدة 15sec. إذ ثبت من خلال الحزم المفصولة تأثر بروتينات شرش الحليب المعامل على فرق جهد220 V بالمقارنة مع بروتين شرش الحليب المعامل بفرق جهد110 V الذي كان اقل تأثرا ويرجع السبب إلى شدة التسخين إذ إن التسخين الشديد يتسبب بدنترة كبيرة لبروتينات الشرش ، أما التسخين على فرق جهد80 V فان الدنترة في بروتينات الشرش تكاد تكون معدومة إذ كان هناك تأثر محسوس جدا عند مقارنته مع Control . وهذا يتفق مع (Pereira *et al*,2010) الذي بين ان لدرجة الحرارة تأثير على بروتينات الشرش عند استخدام التسخين الأومي ، إذ أن زيادة درجات الحرارة مع زيادة في زمن التسخين يعني دنترة اكبر لبروتينات الشرش .



شكل (6) الترحيل الكهربائي على هلام متعدد الاكريل امايد لبروتينات الشرش على فروق جهد مختلفة والعينة القياسية :
1- 80 V, 2- 110 V, 3- 220 V, 4- CONTROL

المصادر

الحلفي، اسعد رحمان سعيد وعلي، حيدر ابراهيم ومحسن، غسان فيصل (2012). تصميم مبستر اومي للحليب و دراسة كفاءته. مجلة ابحاث البصرة (العلميات). 4 (38) : 1- 18.

ألشريفي ، حسن رحيم ومحمد ، سالم حسين (1992) . مايكروبايلوجي الألبان (العملي) دار الحكمة للطباعة ، جامعة البصرة ، البصرة ـ العراق .

اليحي ، سليمان عبد العزيز والراشد ، راشد محمد (1999). تقنية التصنيع الغذائي ، المملكة العربية السعودية.

حوباني، علي ابراهيم ابو بكر وحسن ، بكري حسين (1997). العمليات المتكاملة في التصنيع الغذائي . مترجم عن ار. ال . ايرل (1992) . النشر العلمي والمطابع ، جامعة الملك سعود.

Cho, H. Y.; Yousef , A. E.; &Sastry, S. K. (1999). Kinetics of inactivation of *Bacillussubtilis* spores by continuous or intermittent ohmic and conventional heating. *Biotechnology and Bioengineer*, 62(3), 368e372.

conductive heat treatment and electrical pretreatment on thermal death kinetics of selected microorganisms. *Biotechnol.Bioeng.* 39, 225-232.

Escherichia coli.*Appl. Microbiol.*, 19, 421-424.

Fenoll, J.; G. Jourquin& J.M. Kauffmann (2002) .Fluorimetric determination of alkaline phosphatase in solid and fluid dairy products.*Elsevier Talanta*,56:021.

Gowrishankar, T.R.; Stewart, D.A.; Weaver, J.C. (2005). Model of a confined spherical cell in uniform and heterogeneous applied electric fields.*Bioelectrochemistry* 68, 185–194.

Groves,M.L. (1978). Disc gel electrophoresis of minor milk .Proteins .Edited by Harold Swaisgood.

Gut , J . A.W.; Fernandes , R . ; Tadini , C.C. and Pinto , J . M. (2004). HTST milk processing , Evaluating The Thermal Lethality inside plate heat exchangers. ICEF 9.

Hong,S.H.; Jeong,J.; Shim,S.; Kang ,H.; Kwon,S.; Ahn,K.H.; Yoon,J. (2008).Effect of Electric Currents on Bacterial Detachment and Inactivation.*Biotechnology and Bioengineering,* Vol. 100, No. 2, June 1, 2008.

Huixian ,S.; Shuso , K.; Jun-ichi , H.; Kazuhiko , I.; Tatsuhiko , W. and Toshinori , K.(2008). Effect of ohmic heating on microbial counts and denaturation of protein in milk ,*Food Sci . Technol.Res*.,14(2),117-123.

Lewis , M . &Heppell , N .(2000). Continuous Thermal processing of foods : Pasteurization and UHT Sterilization , *Aspen Publishers , Gaithersburg.* 447p.

Louise ,E.K.; Kil, J.P.; Miriam, D.H.; Fernanda, E.X.M.andPatrícia, M.A. (2008). Thermal conductivity and thermal diffusivity of papaya (*Carica papaya* L.)and cashew apple (*Anacardiumoccidentale*L.)Braz. *J. Food Technol*., v. 11, n. 1, p. 78-85, jan./mar

Maroulis , Z.B. and Saravacos , G. D. (2003) . Food process Design .Marcel Dekker , Inc . U.S.A .

Palaniappan ,S .;Sastry , S. K .;and Richter, E . R .(1992) . Effects of electro

conductive heat treatment and electrical pretreatment on thermal death kinetics of selected microorganisms. *Biotechnol.Bioeng.* 39, 225-232.

Pareilleux , A .; and Sicard , N . (1970). Lethal effects of electric current on

Escherichia coli.Appl. Microbiol., 19, 421-424.

Pereira, R.; Pereira, M.; Teixeira, J.; & Vicente, A. (2007a). Comparison ofchemical properties of food products processed by conventional and ohmicheating. *Chemical Papers*, 61(1):30–35.

Pereira, R.N.; Teixeira, J.A.; and Vicente, A.A.(2010) . Denaturation of Whey Proteins of milk during Ohmic heating, IBB-Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre for Biological Engineering , University of Minho Campus de Gualtar , 4700-035 Braga , Portugal .

Rao , M . A .; Rizvi , S . S .H .; Datta , A .K .(2005). Engineering properties of Food . Third edition .CRC Press.US.P.732.

Shimada,K.and Shimahara,K.(1981). Factors affecting the surviving fractions of resting *Escherichia coli* B and K-12 cells exposed to alternating current. *Agric. Biol. Chem.*, 45, 1589-1595.

Shimada, K. and Shimahara, K. (1982). Responsibility of hydrogen peroxide for the lethality of resting *Escherichia coli* B cells anaerobically exposed to an alternating current in phosphate buffer solution. *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1329-1337.

Shimada, K. and Shimahara, K. (1983).Sublethal injury to resting *Escherichia coli* B cells aerobically exposed to alternating current.*Agric. Biol. Chem.*, 47, 129-131.

Shimada, K. and Shimahara, K. (1985a). Changes in surface charge, respiratory rate and stainability with crystal violet of resting *Escherichia coli* B cells anaerobically exposed to an alternating current. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 405-411.

Shimada, K. and Shimahara, K. (1985b). Leakage of cellular contents and morphological changes in resting *Escherichia coli* B cells exposed to an alternating current. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 3605-3607.

Sumbo ,C.R.(1973). Thermobacteriology in food processing,*Academic press* . New York . 329p.

Valentas , K.J. ; Rotestein , E .; and Singh , R.P. (1997). Handbook of food Engineering practice .CRC press, LLC.

Wouters , P.C .; Alvarez , I .; Raso , J. (2001) . Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing .*Trends in FoodScience and Technology* 12, 112– 121.

Yoon, S. W., Lee, C. Y. J., Kim, K. M. and Lee, C. H. (2002).Leakage of cellular material from *Saccharomyces cerevisiae*by ohmic heating.*J .Microbiol.Biotechnol.*, 12, 183-188.