

## ESTUDO COMPARATIVO DA EFICÁCIA DE SANITIZANTES POR MEIO DA TÉCNICA DE ATP-BIOLUMINESCÊNCIA EM SISTEMAS DE HIGIENIZAÇÃO DO TIPO *CLEAN-IN-PLACE* (CIP)\*

### Comparative study of the efficacy of sanitizers through the technique of ATP-bioluminescence in hygienic systems cleaning *clean-in-place* (CIP)

*Adbeel de Lima Santos*<sup>1</sup>  
*Luiz Carlos Gonçalves Costa Junior*<sup>1\*\*</sup>  
*Vanessa Aglaê Martins Teodoro*<sup>1</sup>  
*Maximiliano Soares Pinto*<sup>1</sup>  
*Paulo Henrique Costa Paiva*<sup>1</sup>  
*Amanda Tafuri Paniago Passarinho*<sup>2</sup>  
*Livia Beatriz Almeida Fontes*<sup>3</sup>

#### SUMÁRIO

Utilizou-se o método de ATP-bioluminescência para avaliação de procedimentos de higienização CIP, com diferentes sanitizantes, de um homogeneizador em uma indústria de laticínios de Juiz de Fora – MG. A eficácia do processo foi comparada com base na utilização de dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa, hipoclorito de sódio, ácido peracético e iodóforo. Os resultados obtidos permitiram concluir que o dióxido de cloro e o ácido peracético possuem a mesma eficácia. O mesmo ocorre com o hipoclorito de sódio e o iodóforo, porém, estes últimos não foram eficazes nas condições analisadas.

**Termos para indexação:** laticínios, sanitização, dióxido de cloro, ATP.

#### 1 INTRODUÇÃO

A microbiota do leite, de maneira geral, depende do estado de saúde do animal, das condições higiênicas de obtenção, transporte e manipulação, dos hábitos higiênicos dos colaboradores, da temperatura de conservação, do tempo gasto até seu processamento e da capacidade dos microrganismos de se desenvolverem nestas condições. Para PINHEIRO & MOSQUIM (1991), ao eliminarmos a variável que se refere à saúde animal, ou seja, considerando-se que o leite foi obtido de animais sadios, os microrganismos contaminantes podem ser oriundos do ambiente, superfícies e da água.

A aplicação das boas práticas agropecuárias, de fabricação e de higiene é fundamental para garantir produtos de qualidade e assegurar a segurança dos consumidores. Desta forma, a escolha correta e a aplicação eficiente das técnicas de sanitização são essenciais para garantir a eficácia do processo.

Procedimentos de higienização incorretos de equipamentos e utensílios têm como consequência a permanência de resíduos que servem de substratos para o crescimento de microrganismos deterioradores e patógenos. Estes podem interagir com essa superfície condicionante formando biofilmes, complexo mais resistente aos sanitizantes que, durante o processamento de leite e derivados, podem se desagregar, aumentando a carga microbiana dos produtos. Desta forma, os produtos finais terão qualidade inferior, menor vida-de-prateleira e segurança duvidosa.

A higienização compreende duas etapas, limpeza e sanitização. A primeira tem por objetivo a remoção dos resíduos orgânicos e inorgânicos das superfícies de processamento, a segunda visa à eliminação de patogênicos e à redução a níveis aceitáveis de deterioradores (ANDRADE, 2008).

A limpeza é realizada por meio de soluções detergentes, constituídas por várias substâncias que

\* Parte integrante de ensaios para realização do projeto APQ-7540-5.05/07 financiado pela FAPEMIG;

1 Professores e pesquisadores do Instituto de Laticínios Cândido Tostes da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG 1º autor e responsável pela publicação: lima@epamig.br ;

2 Acadêmica de Engenharia de Alimentos – Departamento de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Viçosa.

3 Bolsista BIC FAPEMIG no ILCT EPAMIG

\*\* Coordenador do projeto

atuam de forma sinérgica. A sanitização pode ocorrer por ação física ou química. Dentre os sanitizantes físicos o mais utilizado é o calor, seja na forma de vapor ou de água quente. Devido às características de processamento da indústria de laticínios, os sanitizantes químicos são os mais utilizados (HAYES, 1995; LELIEVELD *et al.*, 2003).

Os produtos de limpeza e desinfecção devem ter uso permitido para alimentos e registro no Ministério da Saúde (MS). BRASIL (2007) estabelece que os princípios ativos dos produtos desinfetantes em uso na indústria de alimentos devem ser aqueles que constam da lista do *Code of Federal Regulation* nº 21, parágrafo 178.1010 e as da Diretiva nº 98/8/CE.

De acordo com o leiaute de produção, os sistemas de higienização utilizados são classificados em dois tipos básicos, o *Open-Plant-Clean* (OPC) e o *Clean-in-Place* (CIP). O primeiro tipo é aplicado para superfícies, ambientes e equipamentos abertos. O segundo é utilizado em circuitos total ou parcialmente fechados (LELIEVELD *et al.*, 2003).

As variáveis envolvidas em um procedimento de limpeza e sanitização são fundamentalmente tempo, temperatura, ações química e mecânica. A busca pela otimização da correlação entre elas determina a eficácia da operação (FRYER *et al.*, 2006), e, qualquer alteração no valor de uma delas implicará em um rearranjo do sistema. Assim, a diminuição no tempo de contato exigirá maior concentração dos detergentes e sanitizantes, ou maior ação mecânica (SCHRODER, 2005). É importante salientar que a relação entre essas variáveis não é linear, existindo uma ação sinérgica entre elas. A grande vantagem da utilização do sistema CIP é justamente a possibilidade de otimização dessas variáveis (ANDRADE, 2008).

### 1.1 Sanitização com dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>)

O dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) foi descoberto em 1811 por meio da acidificação do clorato de potássio com ácido sulfúrico (RIBEIRO, 2001), sua aplicação data de 1944 para tratamento de água nos Estados Unidos (ARENSTEIN, 2003).

No estado gasoso, é altamente instável e pode tornar-se explosivo se sua concentração no ar for superior a 10% em volume (LAPOLI *et al.*, 2005). Este fato, aliado aos inconvenientes de seu emprego, tal como formação de subprodutos e custos operacionais, impediu por muito tempo seu emprego em larga escala pela indústria de alimentos. A viabilização da utilização do ClO<sub>2</sub> ocorreu recentemente com o desenvolvimento de soluções aquosas estabilizadas, mais seguras e de fácil utilização.

A utilização do ClO<sub>2</sub> na indústria de laticínios é muito variada e pode ocorrer em várias etapas do processamento como na desinfecção pós-lavagem de instalações e equipamentos, na sanitização no

processamento de leite e derivados, bem como no tratamento de salmouras (ARENSTEIN, 2003).

As principais características do ClO<sub>2</sub> são:

- Amplo espectro de atuação, sendo muito efetivo contra bactérias, esporos bacterianos, vírus, fungos e leveduras (ARENSTEIN, 2003);
- Ação efetiva na prevenção e remoção de biofilmes microbianos (JANG *et al.*, 2006).
- Alta seletividade, com baixa reatividade com a matéria orgânica (ARENSTEIN, 2003). Desta forma, não deixa resíduos como os trihalometanos (THM), considerados carcinogênicos (ANDRADE, 2008).
- Não reage com a amônia e fenóis formando cloraminas e clorofenóis que geram odor e sabor desagradáveis (BOHNER & BRADLEY, 1991).
- Grande solubilidade em água, não sofre hidrólise, permanecendo como gás dissolvido sob condições de temperatura inferior a 25°C e em ambiente sem luz. Porém, se estas condições não forem obedecidas haverá aceleração na decomposição com formação de clorito e clorato (LAPOLI *et al.*, 2005);
- Não é corrosivo às superfícies nas concentrações normais de uso (BOHNER & BRADLEY, 1991); e
- Atuam em uma ampla faixa de pH (RIBEIRO *et al.*, 2000).

### 1.2 Sanitizantes tradicionais: Ácido Peracético, Hipoclorito de Sódio e Iodóforo

O ácido peracético é amplamente utilizado na indústria de alimentos, principalmente, em sistemas de higienização do tipo CIP (JOHNSON DIVERSEY, 2006; LELIEVELD *et al.*, 2003) e em pontos considerados críticos para a qualidade do processamento (HAYES, 1995; LELIEVELD *et al.*, 2003).

As principais características do ácido peracético são:

- Amplo espectro de atuação contra bactérias Gram-positivas e negativas, esporos, bolores e leveduras (HAYES, 1995; LELIEVELD *et al.*, 2003);
- Permanece ativo mesmo na presença de matéria orgânica (HAYES, 1995; LELIEVELD *et al.*, 2003);
- Custo elevado quando comparado aos outros sanitizantes (JOHNSON DIVERSEY, 2006; LELIEVELD *et al.*, 2003); e
- Possui forte odor e relativa corrosividade (JOHNSON DIVERSEY, 2006; LELIEVELD *et al.*, 2003).

Embora possua algumas desvantagens, o cloro é bastante utilizado, pois apresenta características muito atrativas para as indústrias de laticínios. Dentre as características dos compostos clorados, destacam-se:

- Amplo espectro de atuação contra microrganismos e alguma atividade contra esporos (ANDRADE, 2008);
- Fácil utilização e determinação da concentração na solução de uso (ANDRADE, 2008);
- Não são afetados pela dureza da água (ANDRADE, 2008);
- Baixa toxicidade nas concentrações normais de uso (ANDRADE, 2008);
- Baixo custo quando comparados aos outros tipos de sanitizantes, o que faz com que sejam empregados em larga escala (JOHNSON DIVERSEY, 2006);
- Fortemente afetados pela presença de matéria orgânica, sendo sua eficácia bastante dependente da etapa de limpeza (ANDRADE, 2008);
- Podem ser muito corrosivos ao aço-inoxidável, grande desvantagem para a indústria de laticínios (JOHNSON DIVERSEY, 2006); e
- São muito instáveis ao armazenamento e a altas temperaturas (ANDRADE, 2008).

O iodo, na forma de iodoformo também é muito utilizado pelas indústrias. Este composto segundo HAYES (1995), tem as seguintes características:

- Pouco corrosivo, porém, pode provocar manchas em determinadas superfícies;
- Não é irritante;
- É menos afetado pela matéria orgânica quando comparado ao cloro;
- Não é eficaz contra esporos e bacteriófago; e
- Possui características ácidas sendo, por este motivo, muito utilizado em sistemas CIP que trabalham com leite a alta temperatura, pois contribui para a remoção de incrustações minerais.

### 1.3 Técnica de ATP-Bioluminescência

As condições de higiene das superfícies e utensílios que entram em contato com leite e derivados devem ser periodicamente avaliadas para garantir que os procedimentos de higienização estão sendo realizados de forma correta e eficaz. Esta deve ser uma preocupação constante por parte daqueles envolvidos no setor alimentício, não somente para garantir a viabilidade econômica, mas, principalmente, para não afetar a Saúde Pública.

A amostragem das superfícies consiste na recuperação de microrganismos. Os métodos de

enxágüe, contagem em placas, *swab* e fita adesiva são alguns exemplos aplicáveis (HAYES, 2005). Os resultados das técnicas tradicionais demandam determinado tempo e, quase sempre, o processamento já ocorreu. Na prática, pouco é feito caso a avaliação não tenha sido satisfatória.

Sistemas de *Hygiene Monitoring Systems* (HMS) que utilizam técnicas de bioluminescência baseadas na determinação do ATP têm-se mostrado muito eficazes (MURPHY *et al*, 1998) como indicador de boas condições de higienização e também da possibilidade de adesão microbiana e formação de biofilmes (COSTA, 2001). A principal vantagem desta técnica é o fato de fornecer resposta durante o processamento, assim, é possível avaliar e corrigir eventuais falhas no sistema de higienização, evitando grandes perdas na produção (GRIFFITHS, 1993; MURPHY *et al*, 1998; MARQUES, 2007), além de prejuízos para o consumidor.

É importante observar que essa técnica é altamente afetada pelas condições de processamento e pelo tipo de sanitizante utilizado. Desta forma, é necessário conhecer o seu comportamento quando o sanitizante utilizado é o  $\text{ClO}_2$  (GRIFFITHS, 1993; MURPHY *et al*, 1998; MARQUES, 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a eficácia das soluções estabilizada de dióxido de cloro e de sanitizantes tradicionalmente utilizados pelas indústrias, como ácido peracético, hipoclorito de sódio e iodoformo em circuitos de processamento de leite que utilizam o sistema CIP de higienização, em condições reais de operação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Núcleo Industrial do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT), da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), situada em Juiz de Fora – MG.

### 2.1 Preparo e aplicação das soluções sanitizantes

Visando manter as condições reais de processamento de uma indústria de laticínios, o procedimento de higienização foi aplicado a um equipamento homogeneizador da marca GAULIN, com capacidade de 500 Litros por hora, utilizado diariamente na planta industrial. Este equipamento foi escolhido devido ao fato de ser utilizado o sistema CIP para sua limpeza e sanitização.

Após utilização, fez-se o enxágüe por meio de circulação de água a 40°C. Em seguida, foi utilizada solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1% a 80°C por 10 minutos. Novo enxágüe foi realizado com água a 40°C e, posteriormente, realizou-se circulação com ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) 0,5% a 60°C por 10 minutos, seguido de enxágüe com água a 40°C, finalizando a

etapa de limpeza. As condições de aplicação das soluções de limpeza foram realizadas de acordo com JOHNSENDIVERSEY (2006).

Após o procedimento de limpeza, iniciou-se o processo de sanitização, imediatamente antes do início da utilização do equipamento. Os sanitizantes utilizados e suas respectivas concentrações foram: dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa na concentração de 100 mg/L, hipoclorito de sódio a 200 mg/L, Iodóforo a 15 mg/L e ácido peracético a 500mg/L. O tempo de circulação das soluções foi de 15 minutos a temperatura de 30°C. A concentração empregada para o ClO<sub>2</sub> seguiu recomendações do fabricante, enquanto que para os demais sanitizantes, adotou-se concentrações recomendada por JOHNSENDIVERSEY (2006).

Posteriormente aos procedimentos de higienização, foram escolhidas, de forma aleatória, superfícies internas do equipamento homogeneizador para avaliação por meio do luminômetro.

## 2.2 Método de Bioluminescência

Empregou-se para avaliação dos processos de sanitização, um luminômetro modelo AccuPoint Hygiene Monitor 9600, marca Neogen Corporation® e swabs compatíveis com o equipamento. Adotou-se a recomendação do fabricante na avaliação do processo de sanitização. O swab apropriado foi aplicado em superfícies internas do equipamento, tentando-se cobrir em cada avaliação uma área equivalente à 100cm<sup>2</sup>.

O luminômetro fornece em sua escala de leitura valores de Unidades Relativas de Luz (URL) e classifica os resultados obtidos em 3 faixas: aceitável, marginal e inaceitável. Após ensaios com o luminômetro foram

**Tabela 1** – Valores para a escala de avaliação de processo de sanitização.

Escore	Leitura	Avaliação
1	Até 150 URL	Aceitável
2	De 150 a 300 URL	Faixa marginal*
3	Acima de 301 URL	Inaceitável

\* O processo de sanitização pode não estar adequado

**Tabela 2** – Tratamentos adotados nos procedimentos de higienização.

Tratamento	Avaliação de procedimento de sanitização*
T <sub>1</sub>	Sanitização com emprego de dióxido de cloro
T <sub>2</sub>	Sanitização com emprego de hipoclorito de sódio
T <sub>3</sub>	Sanitização com emprego de iodóforo
T <sub>4</sub>	Sanitização com emprego de ácido peracético

\* Todas as avaliações foram realizadas imediatamente antes do início da utilização do equipamento, ou seja, logo após a aplicação e enxágüe dos sanitizantes.

definidos os valores para a escala de avaliação de processo de sanitização apresentados na tabela 1.

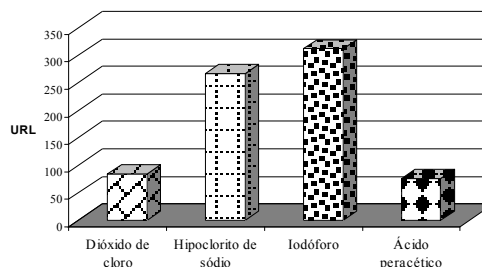
## 2.3 Delineamento estatístico

Utilizou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com 4 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos avaliados são os descritos na Tabela 2.

Para condução da análise estatística do experimento, os dados fornecidos pelo display do luminômetro foram transformados de URL para Escores (1, 2 e 3) conforme resultados correspondentes na escala definida, para então conduzi-los à análise de variância por meio de programa específico SISVAR (FERREIRA, 1999).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios obtidos em URL para cada sanitizante estão representados na Figura 1.



**Figura 1** – Médias de URL de cada tratamento avaliado no processo de sanitização do equipamento homogeneizador.

Os sanitizantes dióxido de cloro em solução estabilizada e ácido peracético apresentaram leituras médias de 84 e 76 URL, respectivamente, recebendo o escore 1 ou aceitável. O hipoclorito de sódio apresentou leitura média de 266, ou seja, escore 2. Este resultado o coloca na faixa considerada marginal pela técnica utilizada. Isto quer dizer que a eficácia deste sanitizante é duvidosa nestas condições de uso. O emprego do iodóforo foi o que apresentou pior resultado, obtendo média de 311 URL, escore 3 ou inaceitável.

Na análise estatística dos resultados convertidos em escore, a análise de variância indicou diferença significativa entre os quatro tratamentos ( $p < 0,05$ ). Utilizando-se o teste Tukey, não houve diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos  $T_1$  e  $T_4$  e entre os tratamentos  $T_2$  e  $T_3$ . Isto significa que a utilização do dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa e do ácido peracético apresentaram a mesma eficácia.

Resultado semelhante foi encontrado para o hipoclorito de sódio e o iodóforo, ou seja, ambos apresentaram o mesmo desempenho, porém, com baixa eficácia. No entanto, houve diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos  $T_1$  e  $T_2$ ,  $T_1$  e  $T_3$ ,  $T_4$  e  $T_2$ ,  $T_4$  e  $T_3$ , demonstrando que a aplicação dos sanitizantes dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa e ácido peracético apresentaram eficácia superior ao hipoclorito de sódio e ao iodóforo (Tabela 3).

Na realização deste trabalho, observou-se grande dependência dos resultados fornecido pelo luminômetro da técnica de recuperação de ATP, sendo que a forma como se aplica o swab na superfície é determinante, pois o valor de URL lido depende fundamentalmente do tamanho da área amostrada.

#### 4 CONCLUSÃO

Considerando as condições de aplicação dos sanitizantes e a técnica de ATP-bioluminescência utilizada para avaliação de sua eficácia, os resultados alcançados neste trabalho e estritamente nessas condições, permitem concluir que:

- A utilização do sanitizante dióxido de

cloro estabilizado em solução aquosa e do ácido peracético apresentam a mesma eficácia quando utilizados em sistemas de higienização do tipo CIP;

- A utilização dos sanitizantes hipoclorito de sódio e iodóforo apresentam eficácia semelhante e insuficiente, ou seja, não são adequados para sanitização de sistemas do tipo CIP;
- A técnica do ATP-bioluminescência mostrou-se adequada para avaliação das condições higiênico-sanitárias de superfícies de processamento quando os sanitizantes dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa, hipoclorito de sódio, iodóforo e ácido peracético são empregados, uma vez que, os resultados encontrados neste trabalho são condizentes com outros trabalhos citados na literatura.
- Os resultados fornecidos pelo luminômetro dependem fundamentalmente da técnica empregada na recuperação do ATP, principalmente em termos do tamanho da área amostrada.

#### SUMMARY

The ATP- bioluminescence method was used for evaluation of hygienic procedures cleaning CIP of homogenizator, with different sanitizer in an industry of dairy products of Juiz de Fora – MG. The efficacy of the process was compared based on the use of Chlorine Dioxide stabilized in aqueous solution, sodium hypochlorite, peracetic acid and Iodophor. The results obtained allowed to conclude that the chlorine dioxide and the peracetic acid possess the same efficacy. The same happens with the sodium hypochlorite and the iodophor, however, these were not efficacies in the analyzed conditions.

**Index terms:** dairy, sanitization, chlorine dioxide, bioluminescence, ATP.

**Tabela 3** – Teste de Tukey para comparação estatística das médias dos tratamentos empregados no processo de avaliação da sanitização de equipamento homogeneizador

Tratamentos	Médias*
Dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa	1.000a
Hipoclorito de sódio	2.400b
Iodóforo	2.600b
Ácido peracético	0.800a

\* médias seguidas de mesma letra são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

**AGRADECIMENTOS**

A equipe agradece à FAPEMIG pelo apoio financeiro para realização deste trabalho, bolsas de incentivo à pesquisa de pesquisadores do ILCT EPAMIG e BIC.

**5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ANDRADE, N. J. **Higienização na Indústria de Alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Ed. Varela, 2008. 400p

ARENSTEIN, I. R. Dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa: coadjuvante tecnológico em alimentos. In: XX CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 24, 2003, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: EPAMIG/CEPE/ILCT, 2003. p. 254-256.

BOHNER, H. F.; BRADLEY, L. Corrosivity of Chlorine Dioxide Used as Sanitizer in Ultrafiltration Systems. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3348-3352. 1991.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RDC n. 14 de 28/02/2007, **Regulamento Técnico para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana**: âmbito do MERCOSUL através da Resolução GMC nº 50/06, que consta em anexo à presente Resolução. Diário Oficial da União – 05/03/2007.

COSTA, P. D. Avaliação da técnica de ATP-bioluminescência no controle de procedimento de higienização na indústria de laticínios. 2001. 79 f. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)** – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2001.

FERREIRA, D. F. **Sisvar – Sistema de Análise de Variância**. Lavras: UFLA, 1999.

FRYER, P. J.; CHRISTIAN, G. K.; LIU, W. How hygiene happens: physics and chemistry of cleaning. **International Journal of Dairy Technology**, Oxford, v. 59 n. 2, p. 76–84. 2006.

GRIFFITHS, M. W. Applications of bioluminescence in the dairy industry. **Journal Dairy Science**. Champaign. V.76, p. 3118-3125, 1993.

HAYES, P. R. **Food microbiology and hygiene**. London, Chapman & Hall, 2 ed., 1995. 516p.

JANG, A.; SZABO, J.; HOSNI, A., A. Measurement of chlorine dioxide penetration in dairy process pipe biofilms during disinfection. **Applied Microbiol and Biotechnol**. Berlin, n. 72, p. 368-376, 2006.

JOHNSON DIVERSEY. **Higienização na Indústria de Laticínios**. São Paulo: [s. n.], 2006. 76p.

LAPOLI, F. R.; HASSEMER, M. E. N.; DAMÁSIO, D. L.; LOBO-RÉCIO, M. A. Desinfecção de efluentes sanitários através de dióxido de cloro. Rio de Janeiro, **Engenharia sanitária e ambiental**, vol.10, n.3, jul-set, p. 200-208, 2005.

LELIEVELD, H. L. M. ; MOSTER, M. A.; HOLAH, J.; WHITE, B. **Hygiene in food processing: principles and practice**. Cambridge – England: Woodhead, 2003. 379p.

MARQUES, S. C.; VALERIANO, C.; EVANGELISTA, S. R.; ABREU, L. R. Tanques de resfriamento de leite: processo de higienização. In: XXIV CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2007, Juiz de Fora, EPAMIG/CEPE/ILCT, 2007. p. 496-501.

MURPHY, S. C. *et al.* Evaluation of Adenosine Triphosphate-Bioluminescence Hygiene Monitoring for Trouble-Shooting Fluid Milk Shelf-Life Problems. **Journal of Dairy Science**, Champaign. V.81, n. 3, p. 817-820. 1998.

PINHEIRO, A. J. R.; MOSQUIM, M. C. A. V. **Processamento de leite de consumo**. Viçosa, MG: UFV; Impr. Univ., 1991. 430p.

RIBEIRO, L. F.; LAPOLLI, F. R.; FASANARO, R.; SHROEDER, R. A. Dióxido de Cloro: Suas Características e Aplicação na Desinfecção de Águas Residuárias.. In: **XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria Y Ambiental**, 2000, Porto Alegre - RS. Las Américas y la Accion por el Medio Ambiente en El Milenio, 2000.

RIBEIRO, L. Aplicação de dióxido de cloro como alternativa para desinfecção de esgotos sanitários tratados através de lagoas de estabilização. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental)** – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2001.

SCHRODER, M. A eficiência da central CIP no processo de higienização. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 59, set/out. 2005.