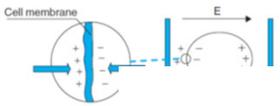


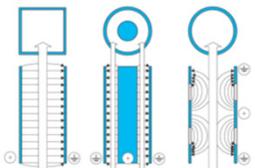
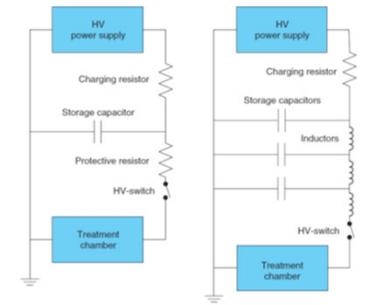
PROCESSAMENTO POR CAMPO ELÉTRICO PULSADO

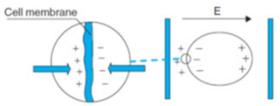
Profa. Dra. Cynthia Ditchfield



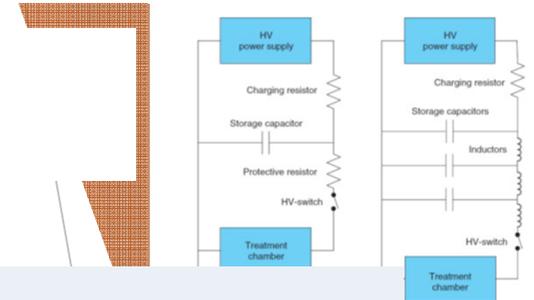
Processamento por Campo Elétrico Pulsado

- Conceitos
- Equipamentos
- Aplicações

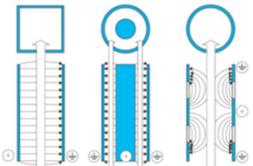


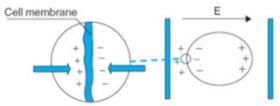


Processamento por Campo Elétrico Pulsado

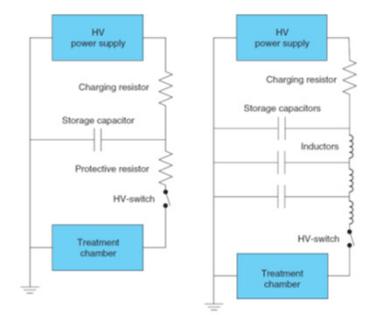


- Aplicação de um campo elétrico externo por alguns microssegundos (*PEF* ou campo elétrico pulsado)
- Induz mudanças estruturais locais e rompimento da membrana celular
- Formação de poros pela diferença de potencial

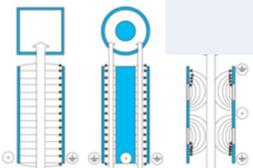


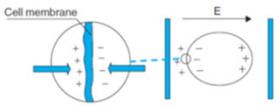


Processamento por Campo Elétrico Pulsado

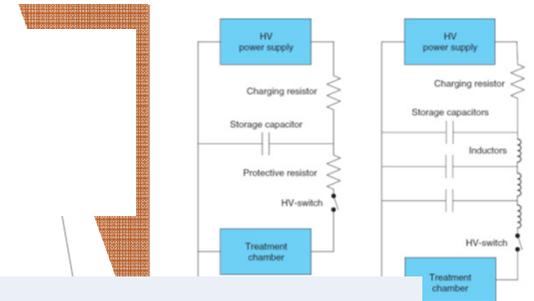


- Descargas elétricas pulsadas em alta voltagem entre dois eletrodos
- Pulsos curtos e homogêneos sem a formação de arcos voltaicos
- Minimização de reações eletroquímicas (ondas de choque, luz UV formando radicais livres) e do aumento de temperatura (efeito não térmico)

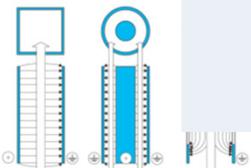


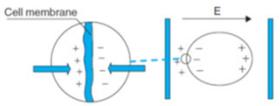


Processamento por Campo Elétrico Pulsado

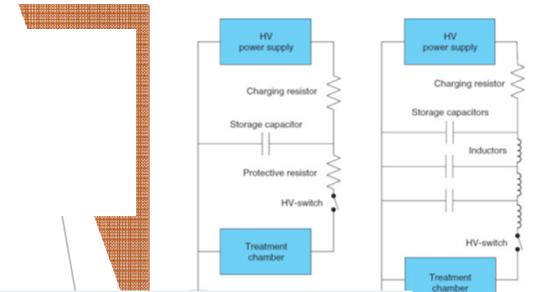


- Efeito na membrana celular e ruptura de organelas intracelulares
- Permeabilização da membrana celular:
 - ✓ i) formação do poro induzida pelo campo elétrico aplicado
 - ✓ ii) estabilização do poro formado para que haja interação e troca de material intra e extracelular

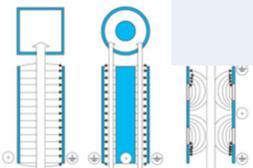


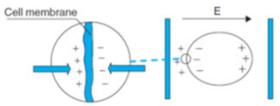


Processamento por Campo Elétrico Pulsado

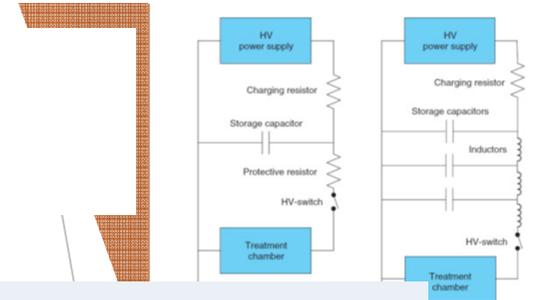


- Membrana celular é um capacitor preenchido com material dielétrico de baixa condutividade
- Cargas elétricas opostas dos dois lados da membrana formando um potencial transmembrana (10 mV)
- Exposição a um campo elétrico externo aumenta o potencial causando a deformação viscoelática da membrana

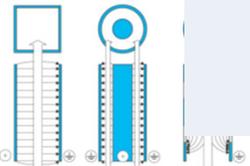




Processamento por Campo Elétrico Pulsado

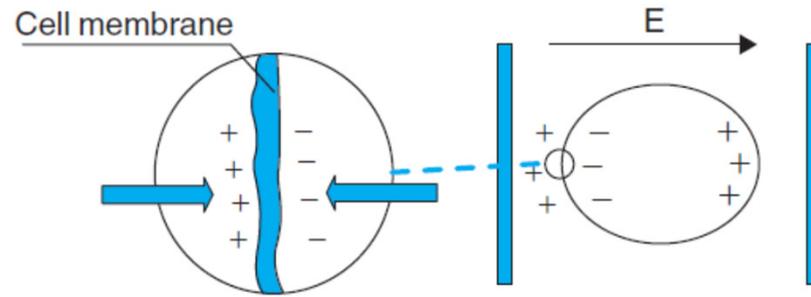


- Valor crítico de potencial a partir do qual ocorre a ruptura da membrana (≈ 1 V)
- Pode ser reversível se o número de poros for pequeno em relação à área total da membrana
- Campo elétrico mais forte ou aumento do número de pulsos ou da largura do pulso resultam em ruptura irreversível provocando a morte celular

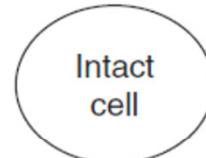




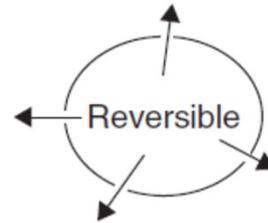
Processamento por Campo Elétrico Pulsado



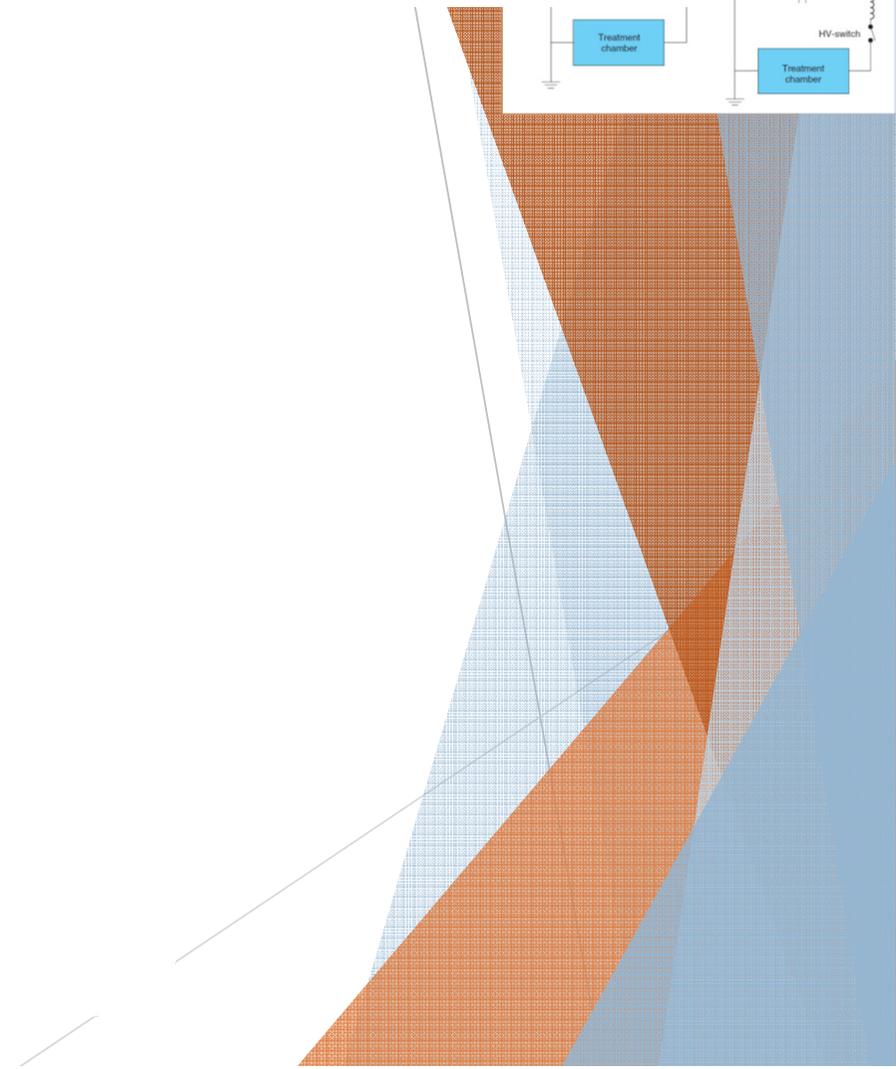
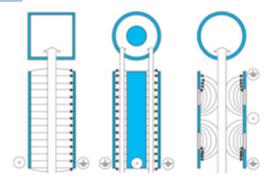
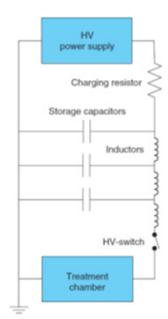
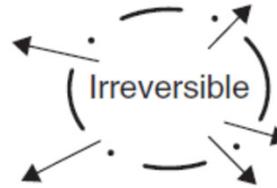
$$E < E_{crit}$$



$$E > E_{crit}$$



$$E \gg E_{crit}$$



Processamento por Campo Elétrico Pulsado

- Força do campo elétrico entre dois eletrodos é dada por:

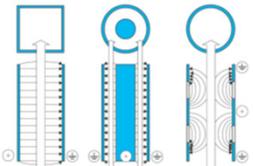
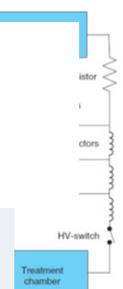
- ✓ $E = \frac{U}{d}$

- Geração de pulsos de decaimento exponencial ou quadrados

- ✓ Pulso de decaimento exponencial: longa cauda de baixo campo elétrico
 - ✓ Pulso quadrado: alta voltagem durante toda a duração do pulso (economia de energia)

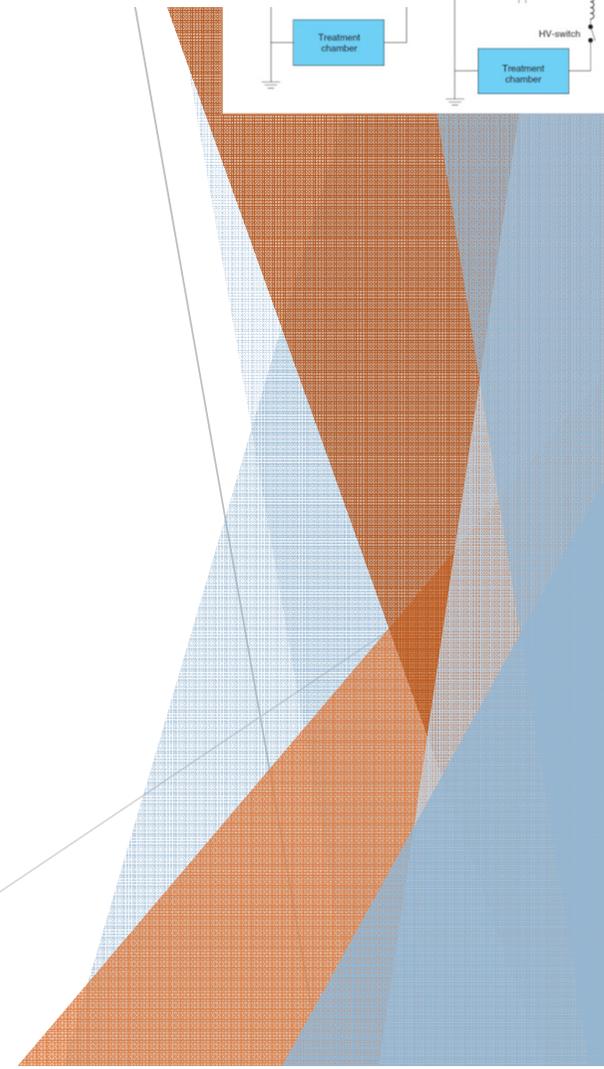
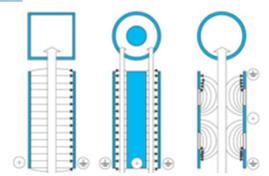
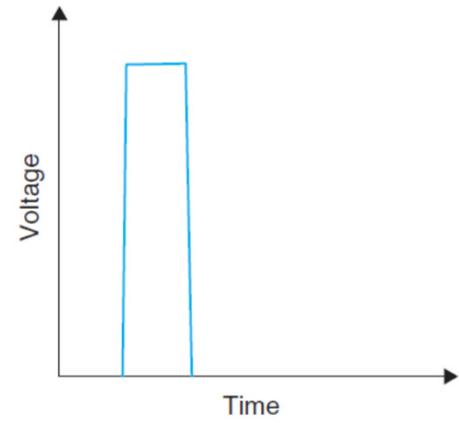
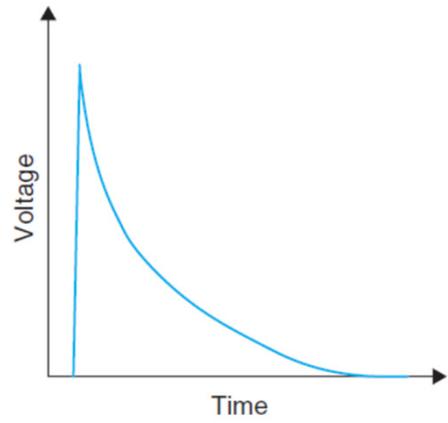
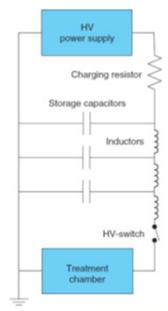
Cell membrane

E





Processamento por Campo Elétrico Pulsado



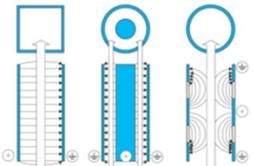
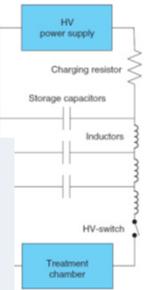


Processamento por Campo Elétrico Pulsado

➤ Parâmetros de processo:

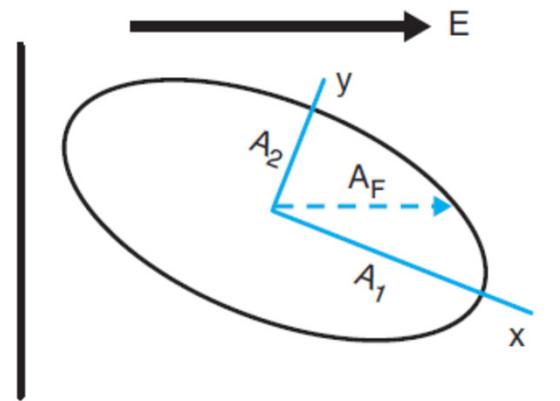
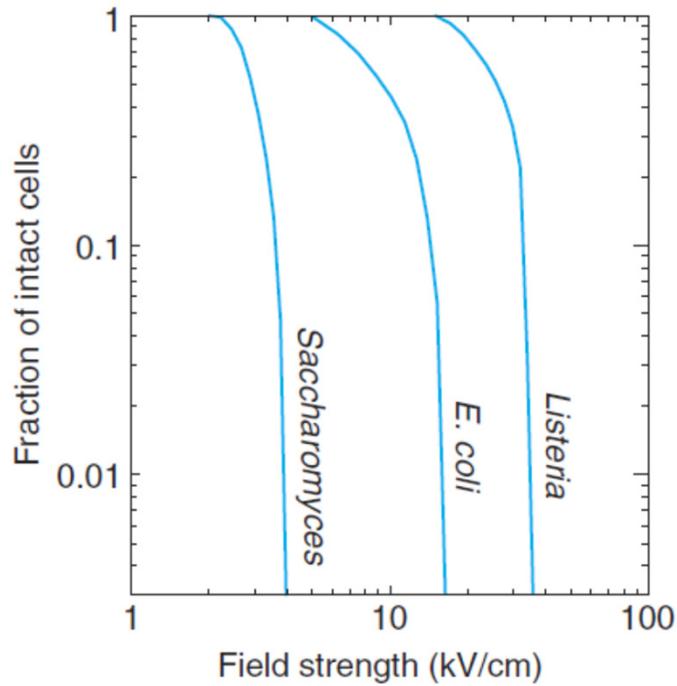
✓ Força do campo elétrico

- Garantir que exceda o valor crítico para a formação de poros com danos irreversíveis às células dos microrganismos de interesse
- O valor crítico depende do tamanho das células e de sua orientação em relação ao campo





Processamento por Campo Elétrico Pulsado

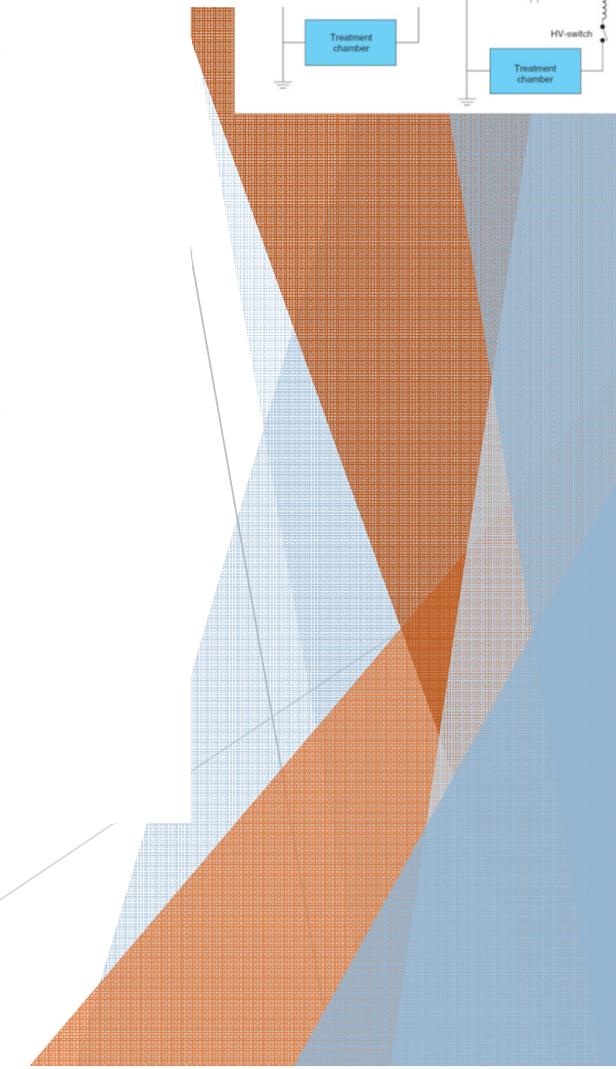
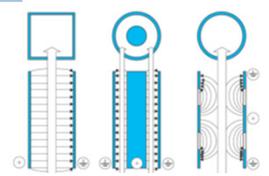
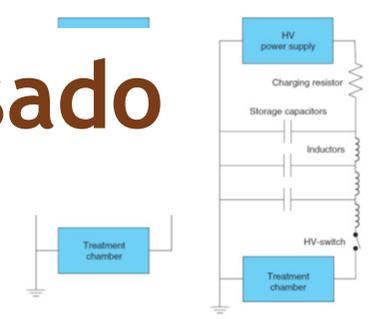


Characteristical dimensions (μm):

Saccharomyces cerevisiae
($A_1: 4$; $A_2: 3$; $A_3: 2$)

Escherichia coli
($A_1: 2.0$; $A_2: 0.7$; $A_3: 0.55$)

Listeria innocua
($A_1: 0.625$; $A_2: 0.255$; $A_3: 0.255$)



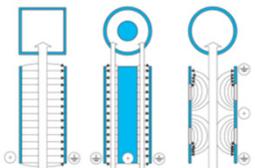
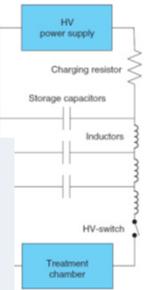


Processamento por Campo Elétrico Pulsado

➤ Parâmetros de processo:

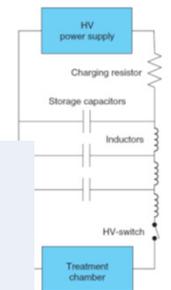
✓ Força do campo elétrico

- Quanto maior a força do campo elétrico maior a eficácia do processo
- Em alguns casos é necessário atingir 35 kV/cm
- Limite é dado pelas propriedades dielétricas do material





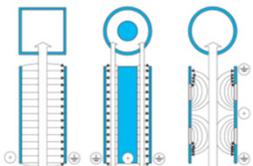
Processamento por Campo Elétrico Pulsado

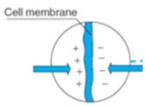


➤ Parâmetros de processo:

✓ Força do campo elétrico

- Se houver formação de arco a corrente provocará reações eletroquímicas, corrosão dos eletrodos e formação de bolhas
- Otimizar a distribuição do campo elétrico na câmara evitando a formação de pontos quentes e a presença de bolhas de ar



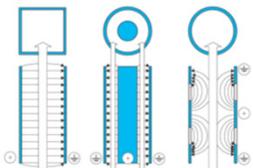
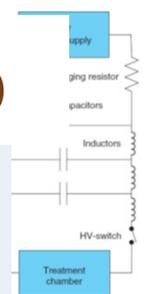


Processamento por Campo Elétrico Pulsado

➤ Parâmetros de processo:

✓ Tempo de tratamento, energia específica e geometria de pulso

- Intensidade do tratamento dada pelo produto da largura do pulso pelo número médio de pulsos
- Largura do pulso é o tempo de manutenção do pico para pulso quadrado ou do tempo de decaimento para 37% do pulso para os de decaimento exponencial que é determinada pela configuração do equipamento
- Maior número de pulsos aumenta o tempo de tratamento

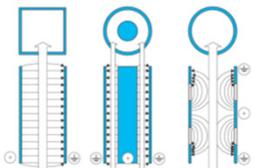
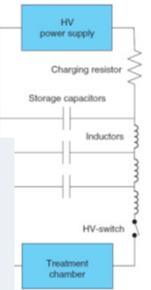




Processamento por Campo Elétrico Pulsado

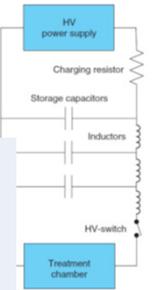
➤ Parâmetros de processo:

- ✓ Tempo de tratamento, energia específica e geometria de pulso
 - Aumento do tempo de tratamento causa maior inativação microbiana até certo ponto depois ocorre a saturação
 - Equipamento em batelada o número de pulsos é bem definido para equipamentos com escoamento é necessário calcular o número médio
 - Trabalhos que comparam os dois tipos de pulso não são conclusivos quanto à eficiência do tratamento em relação à geometria do pulso





Processamento por Campo Elétrico Pulsado



➤ Parâmetros de processo:

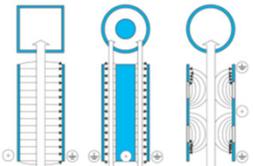
✓ Tempo de tratamento, energia específica e geometria de pulso

- A energia fornecida ao sistema pode ser utilizada como parâmetro para determinar a intensidade do processo

- $W_{pulso} = \int \frac{U(t)}{(t)} dt$

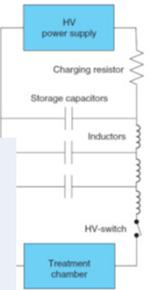
- $W_{específico} = \dot{m} \frac{1}{m} \int_0^{\infty} \sigma(T) E(t)^2 dt$

- Em que: \dot{m} é a vazão mássica, m é a taxa de repetição, $\sigma(T)$ é a condutividade elétrica do meio e E é a força do campo elétrico





Processamento por Campo Elétrico Pulsado



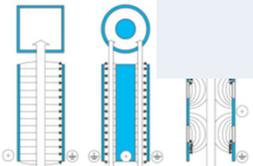
➤ Parâmetros de processo:

✓ Temperatura do tratamento

- Efeito sinérgico da temperatura pelo aumento da fluidez dos fosfolipídios da membrana celular

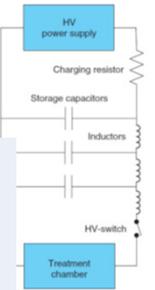
- $$\Delta T_v = \frac{(tE^2)}{(C_p - r)}$$

- Em que: ΔT_v é a diferença de temperatura volumétrica ($^{\circ}\text{C}/\text{m}^3$), t é o tempo de processo (s), E é a força do campo elétrico, C_p é o calor específico ($\text{J}/^{\circ}\text{C}$) e r é resistividade do meio ($\Omega\cdot\text{m}$)





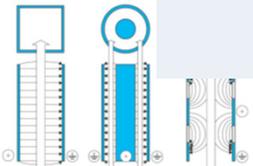
Processamento por Campo Elétrico Pulsado



➤ Parâmetros de processo:

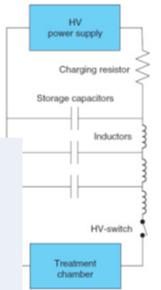
✓ Fatores referentes ao meio

- pH - redução favorece a inativação dos microrganismos
- Composição - força iônica (alta condutividade elétrica do meio) favorece a passagem da corrente mas gera um pico de força do campo. Presença de glóbulos de gordura podem dificultar o processamento.
- Atividade de água - baixa protege os microrganismos
- Presença de bolhas de ar e/ou outros gases





Processamento por Campo Elétrico Pulsado

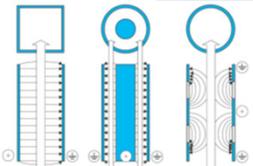


➤ Inativação microbiana

- ✓ Modelos empíricos para a determinação do número de sobreviventes

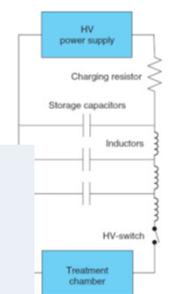
- $$S\% = \left[\frac{t}{t_{cr}} \right]^{-\frac{(E-E_{cr})}{k}}$$

- Em que: t é o tempo de processo (s), t_{cr} é o tempo crítico de processo (s), E é a força do campo elétrico (kV/cm), E_{cr} é a força crítica do campo elétrico (kV/cm) e k é uma constante (kV/cm)
- Os parâmetros t_{cr} , E_{cr} e k dependem do microrganismo



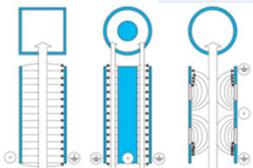


Processamento por Campo Elétrico Pulsado



➤ Inativação enzimática

- ✓ Redução da atividade enzimática
- ✓ Requer condições mais severas que a inativação microbiana
- ✓ Alteração da estrutura conformacional da enzima e desnaturação





Processamento por Campo Elétrico Pulsado

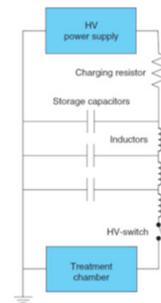
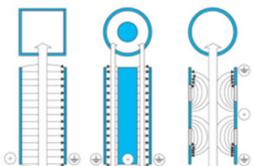


Table 5.1 Rates of microbial inactivation per pulse applied for selected trials (adapted from Hodgins and Mittal, 2003)

Source	Organism	Medium	E_f (kV/cm)	Q (J/ml)	N	D	D/n
Simpson et al. (1999)	<i>S. typhimurium</i>	Distilled water, model beef broth	15	Insufficient Information	0-10000	0-6	6E-4
Pothakamury et al. (1995)	<i>E. coli</i>	Simulated milk ultra filtrate	12	Up to 3024	20-60	2-3.5	0.04
Vega-Mercado et al. (1997a)	<i>E.coli</i> , <i>B. subtilis</i>	Pea soup	28	Up to 49	0-20	0-1	0.05
Martin-Belloso et al. (1997)	<i>E. coli</i>	Liquid egg	25.8	Up to 1025	0-100	0-6	0.06
Dunn and Pearlman (1987)	Natural microflora	Orange juice	35.7	Insufficient Information	0-35	0-5	0.14
Zhang et al. (1994b)	<i>S. cerevisiae</i>	Apple juice	12	Up to 222	1-20	1-4	0.16
Zhang et al. (1995b)	<i>E. coli</i>	Simulated milk ultra filtrate	36	Up to 2.4	1-10	0-2.5	0.28
Vega-Mercado et al. (1997b)	<i>E. coli</i>	Simulated milk ultra filtrate	55	Up to 121	0-8	0-3	0.38

E_f = electric field (kV/cm); Q = energy applied per ml (J/ml); n = number of pulses; D = log cycle reductions in colony counts; D/n = log cycle reductions per pulse applied.



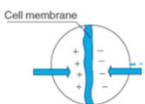
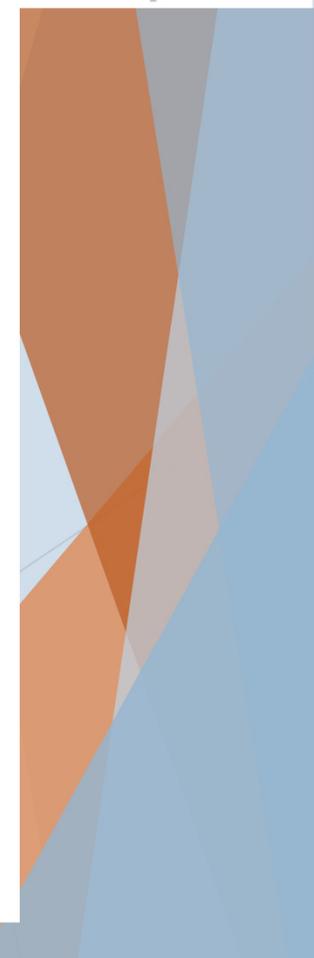
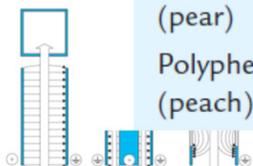
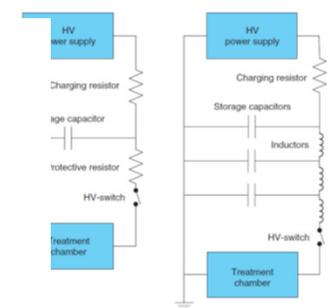
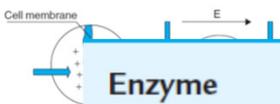


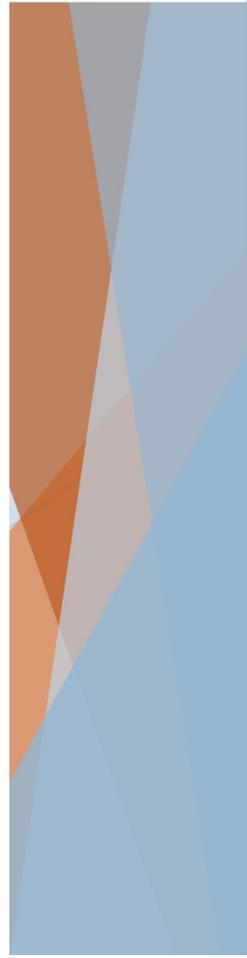
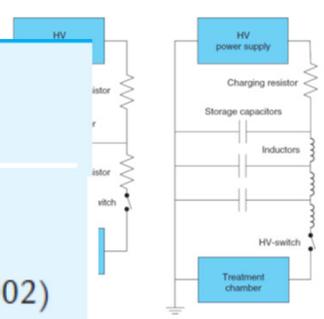
Table 7.1 Effects of pulsed electric fields on enzymes

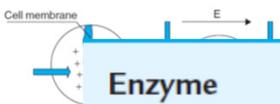
Enzyme	Media	Treatment conditions*	Inactivation (%)	Reference
Pectin methyl esterase (tomato)	NaCl solution (8.8%)	^a 24 kV/cm, 8000 μ s, 15°C	93.8	Giner et al. (2000)
	Distilled water	^a 30 kV/cm, 40000 μ s	<10	Van Loey et al. (2002)
Pectin methyl esterase	Orange juice	^b 35 kV/cm, 59 μ s, 60.1°C	88	Yeom et al. (2000b)
	Orange juice	^b 25 kV/cm, 250000 μ s, 65°C	90	Yeom et al. (2002)
	Orange juice	^b 35 kV/cm, 1500 μ s, 45°C	80	Elez-Martínez et al. (2003a)
	Blended orange-carrot juice	^b 25 kV/cm, 340 μ s, 63°C	79	Rodrigo et al. (2001)
Pectin methyl esterase (orange peel)	Orange juice	^a 35 kV/cm, 1000 μ s	<10	Van Loey et al. (2002)
	Distilled water and Mcllvaine buffer (pH = 3.7)	^a 30 kV/cm, 40000 μ s	<10	Van Loey et al. (2002)
Polygalacturonase	Commercial enzyme formulation	^a 10.3 kV/cm, 32400 μ s, 25°C	98	Giner et al. (2003)
Polyphenoloxidase (mushroom)	Buffer (pH = 6.5)	^a 80 kV/cm, 60 μ s, 20°C	40	Ho et al. (1997)
	50 mM K-phosphate Distilled water	^a 30 kV/cm, 40000 μ s	<10	Van Loey et al. (2002)
Polyphenoloxidase (apple)	Mcllvaine buffer (pH = 6.5) + 1 M NaCl + 5% PVPP	^a 24.6 kV/cm, 6000 μ s, 15°C	96.85	Giner et al. (2001)
	Mcllvaine buffer (pH = 3.8)	^a 31 kV/cm, 1000 μ s	<10	Van Loey et al. (2002)
Polyphenoloxidase	Apple juice	^a 31 kV/cm, 1000 μ s	<10	Van Loey et al. (2002)
Polyphenoloxidase (pear)	Mcllvaine buffer (pH = 6.5) + 1 M NaCl + 5% PVPP	^a 22.3 kV/cm, 6000 μ s, 15°C	62	Giner et al. (2001)
Polyphenoloxidase (peach)	Mcllvaine buffer (pH = 4.5) + 1 M NaCl + 5% PVPP	^a 24.3 kV/cm, 5000 μ s, 25°C	70	Giner et al. (2002)



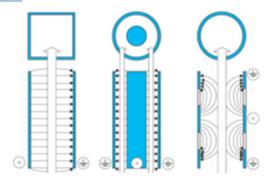
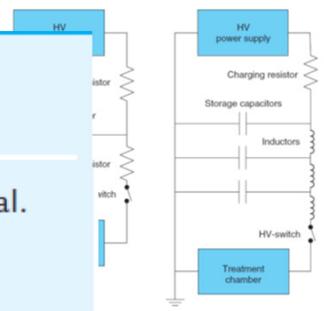


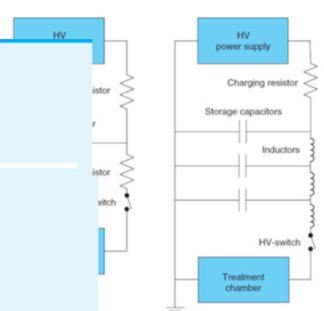
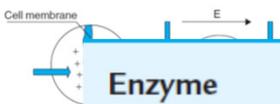
Enzyme	Media	Treatment conditions*	Inactivation (%)	Reference
Peroxidase (soybean)	Buffer (pH = 6.0) 100 mM K-phosphate	^a 75 kV/cm, 60 μs, 20°C	30	Ho et al. (1997)
Peroxidase (horseradish)	Distilled water and phosphate buffer (pH = 7)	^a 30 kV/cm, 40000 μs	<10	Van Loey et al. (2002)
Peroxidase	Milk	^a 21.5 kV/cm, 20 pulses	25	Grahl and Märkl (1996)
	Milk	^a 19 kV/cm, 500 μs	0	
	Orange juice	^b 35 kV/cm, 1500 μs, 35°C	100	Van Loey et al. (2002) Elez-Martínez et al. (2003b)
Lipoxygenase (soybean)	Distilled water	^a 30 kV/cm, 40000 μs	<10	Van Loey et al. (2002)
Lipoxygenase (green peas)	Green pea juice	^a 20 kV/cm, 400 μs	0	Van Loey et al. (2002)
Lipoxygenase	Tomato juice	^b 35 kV/cm, 50 μs, 30°C	80	Min et al. (2003b)
Alkaline phosphatase (milk)	SMUF ^c	^a 22 kV/cm, 51800 μs	65	Castro et al. (2001b)
	Skim milk	^a 18.8 kV/cm, 28000 μs	59	
	2% fat milk	^a 21.5 kV/cm, 780 μs	<10	Grahl and Märkl (1996)
	Whole milk			
	Milk 1.5% fat			
	Milk 3.5% fat			
Raw milk	^a 20 kV/cm, 400 μs	0	Van Loey et al. (2002)	
Alkaline phosphatase (bovine intestinal mucosa)	Buffer (pH = 9.8)	^a 80 kV/cm, 60 μs, 20°C	5	Ho et al. (1997)





Enzyme	Media	Treatment conditions*	Inactivation (%)	Reference
Protease (<i>P. fluorescens</i>)	Casein solution Skimmed milk	^b 14–15 kV/cm, 196 μs	0	Vega-Mercado et al. (2001a)
		^b 23.3–31.6 kV/cm, 64 μs	0	
		^b 14–15 kV/cm, 196 μs	60	
		^b 25 kV/cm, 32 μs	Activation	
Protease (<i>B. subtilis</i>)	Skimmed milk	^b 35.5 kV/cm, 866 μs, 46°C	81.1	Bendicho et al. (2003a)
	Whole milk	^b 35.5 kV/cm, 866 μs, 46°C	57.1	Bendicho et al. (2003b)
	SMUF ^c	^b 35.5 kV/cm, 866 μs, 40°C	62.7	
	SMUF ^c	^a 16.4–27.4 kV/cm, 320 μs	0	Bendicho et al. (2001d)
	Skimmed milk (SM)	^b 26.1–37.3 kV/cm, 143 μs	SM: 0 SM: activation- inactivation ^d	
Lipase	Milk	^a 21.5 kV/cm, 20 pulses	60	Grahl and Märkl (1996)
Lipase (<i>P. fluorescens</i>)	SMUF ^c	^a 27.4 kV/cm, 314.5 μs, 34°C	62.1	Bendicho et al. (2002c)
		^b 37.3 kV/cm, 136 μs, 35°C	13	
Lipase (wheat germ)	Deionized water	^a 87 kV/cm, 60 μs, 20°C	85	Ho et al. (1997)





Enzyme	Media	Treatment conditions*	Inactivation (%)	Reference
α -amylase (<i>B. licheniformis</i>)	Deionized water	^a 80 kV/cm, 60 μ s, 20°C	90	Ho et al. (1997)
Glucose oxydase (<i>A. niger</i>)	Buffer (pH = 5.1) 50 mM Na-acetate	^a 63 kV/cm, 60 μ s, 20°C	75	Ho et al. (1997)
Papain (papaya)	1 mM EDTA	^b 50 kV/cm, 2000 μ s, 35°C	90 ^e	Yeom et al. (1999)
Lysozyme (egg white)	Buffer (pH = 6.2) 66 mM K-phosphate	^a 13 kV/cm, 60 μ s, 20°C	60	Ho et al. (1997)
Lactate dehydrogenase (beef heart)	Buffer (pH = 7.2) 20 mM K-phosphate	^a 31.6 kV/cm, 192 μ s, 30°C	0	Barsotti et al. (2002)
Pectic enzymes	Commercial enzyme formulation	^b 35 kV/cm, 1000 μ s	98.4	Espachs-Barroso et al. (2002)
Pepsin (porcine stomach mucose)	Buffer (pH = 2.0) 10 mM HCl	^a 40 kV/cm, 60 μ s, 20°C	Activation (250%)	Ho et al. (1997)

*Electric field strength, treatment time, treatment temperature.

^aBatch mode PEF treatment.

^bContinuous PEF treatment.

^cSMUF: simulated milk ultrafiltrate.

^dDepending on the frequency of the treatment.

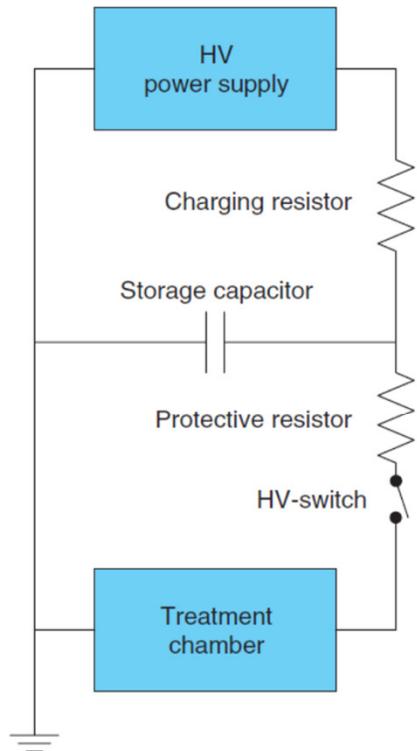
^eAfter 24 h storage at 4°C.



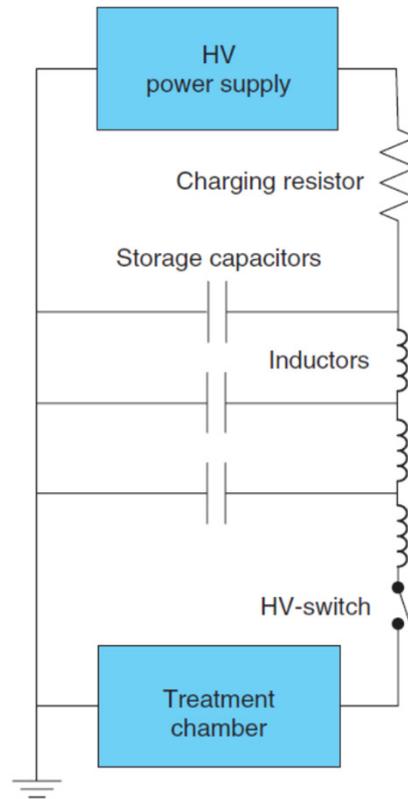


Processamento por Campo Elétrico Pulsado

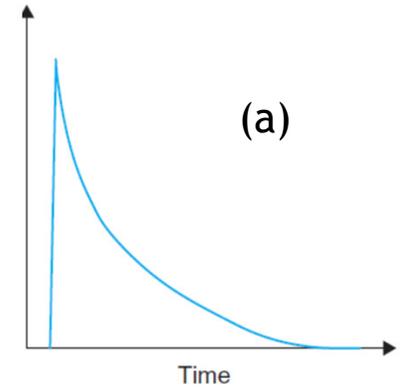
Equipamentos de Processo



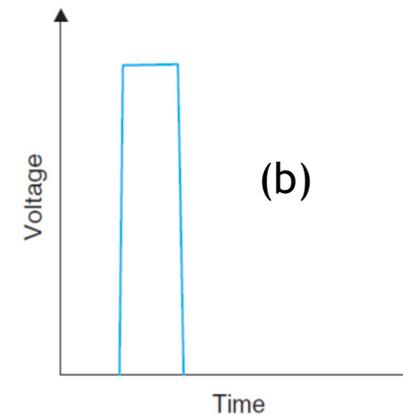
(a)



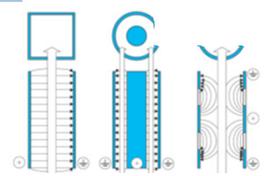
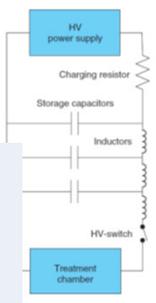
(b)



(a)

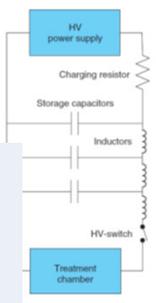


(b)





Processamento por Campo Elétrico Pulsado



➤ Projeto da câmara de processo

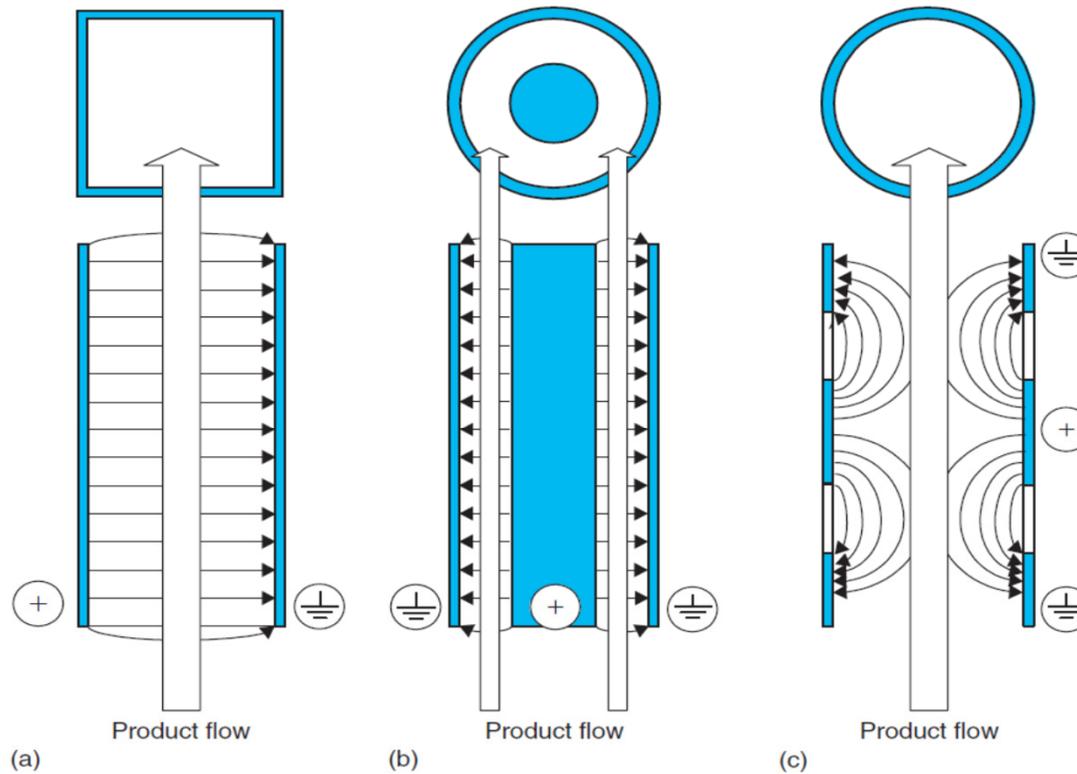
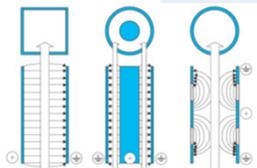


Figure 4.3 Configurations of treatment chambers for continuous PEF treatment: (a) parallel plate, (b) coaxial and (c) co-linear configuration.

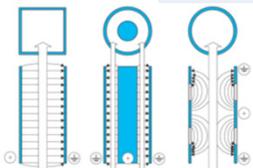
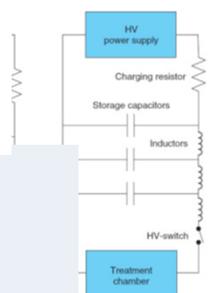




Processamento por Campo Elétrico Pulsado

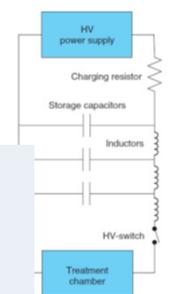
➤ Aplicações

- ✓ Indução de estresse em microrganismos para recuperação de produtos intracelulares
- ✓ Desintegração de material biológico
- ✓ Permeabilização da membrana para alteração genética
- ✓ Pasteurização de alimentos líquidos (Leite, Ovo líquido, Sucos: maçã, laranja, tomate, uva, manga, cranberry, cerveja, vinho de arroz)



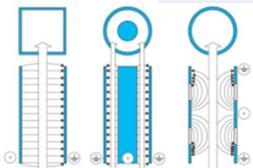


Processamento por Campo Elétrico Pulsado



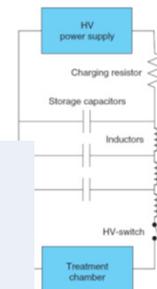
➤ Aplicações

- ✓ Alimentos sólidos: alterações de textura e microestrutura, como pré-tratamento para extração e secagem
- ✓ Combinação de tratamentos (alta pressão, calor)
- ✓ Relação custo x benefício





Processamento por Campo Elétrico Pulsado



- Vida de prateleira de produtos tratados por pulso elétrico

Table 8.3 Shelf-life of food products processed by pulsed electric fields (Qin et al., 1995a)

Food	Apple juice from concentrate	Fresh apple juice	Raw skimmed milk	Beaten eggs	Green pea
Peak electric field (kV/cm)	50	50	40	35	35
Pulse duration (μ s)	2	2	2	2	2
Pulse number	10	16	20	10	32
Initial temperature ($^{\circ}$ C)	8.5 ± 1.5	8.5 ± 1.5	10.0 ± 1.5	8.5 ± 1.5	22.0 ± 2.0
Maximum treatment temperature ($^{\circ}$ C)	45 ± 5	45 ± 5	50 ± 4	45 ± 5	53 ± 2
Storage temperature ($^{\circ}$ C)	22-25	4-6	4-6	4-6	4-6
Shelf-life (days)	28	21	14	28	10

