

Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica – PPGEE

Análise Computacional de um Sistema de Aplicação de Pulsos de Alta Tensão para Esterilização de Líquidos

por

Eduardo Jose de Araújo

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Elétrica da Escola de
Engenharia da Universidade Federal de
Minas Gerais como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em
Engenharia Elétrica

Orientador: Prof. Dr. Ivan José da Silva Lopes

Belo Horizonte - MG

Julho, 2012

Dedico este trabalho em especial ao meu pai (*in memoriam*), que no curso do mesmo nos deixou, a minha mãe, minha esposa Juliana, minha filha Isabella e ao meu enteado Pedro.

Agradecimentos

Agradeço inicialmente a Deus, por ter me dado perseverança durante o curso deste trabalho, tendo em vista as barreiras encontradas pelo caminho.

Ao Professor Ivan, orientador desta dissertação, pela atenção, dedicação, disponibilidade e ensinamentos. Ressalto sua excelente metodologia de trabalho e senso de organização.

À minha esposa Juliana e minha filha Isabella, pela paciência e compreensão durante os finais de semana e noites de estudo.

Ao meu pai, minha referência e fonte de inspiração. À minha mãe e meus irmãos pelo incentivo.

À Labtest, pelo apoio e confiança.

Ao CNPq pelo suporte financeiro ao trabalho.

Resumo

A aplicação de pulsos de alta tensão para esterilização de líquidos é uma tecnologia emergente e promissora com potencial de aplicação na indústria de sucos, leites e outras bebidas. A redução do consumo energético e a minimização dos efeitos do calor no líquido em tratamento são os principais atrativos desta tecnologia em relação aos processos térmicos convencionais.

Alguns modelos de predição da taxa de sobrevivência de microorganismos têm sido propostos na literatura. O modelo de predição proposto por Peleg correlaciona a taxa de sobrevivência de microorganismos com a intensidade do campo elétrico aplicado e outros parâmetros que refletem a resistência do microorganismo ao tratamento. Neste trabalho, o modelo de Peleg combinado com uma análise da distribuição de campo elétrico, gerada a partir do Método dos Elementos Finitos, é aplicado para investigar estatisticamente a eficiência do sistema. Diferentes arranjos de eletrodos são avaliados. A tensão aplicada é especificada em função do máximo valor de campo elétrico permitido no líquido, já que campos elétricos muito elevados podem causar descargas elétricas e alterar suas propriedades químicas.

Os resultados globais do estudo indicam uma boa eficiência do sistema para tratamento do fungo *S. cerevisiae* para um arranjo de eletrodos cilíndricos, porém o sistema com o mesmo arranjo não é adequado para tratar bactérias do tipo *E. coli*, devido à maior resistência deste microorganismo ao tratamento. O consumo energético e a temperatura no interior da câmara de tratamento são também analisados.

Adicionalmente, o modelo de predição de Peleg é comparado com o modelo de Hulsheger & Niemann para diferentes microorganismos e número de pulsos aplicados. Os resultados mostram uma boa concordância entre os dois modelos.

Abstract

The application of high voltage pulses for liquid food sterilization is an emergent and promising technology potentially applicable in the industrial sterilization of fruit juices, milk and other beverages. The reduction of energy consumption and the minimization of the heat effects on the liquid treated are the main attractive of this technology in relation to the conventional thermal process.

Some prediction models for survival rate of microorganisms have been proposed in the literature. The model proposed by Peleg correlates the survival rate of microorganism with the intensity of electrical field applied and others parameters related to microorganism resistance to the treatment. The Peleg's model combined with the analysis of a electric field modeling, generated from Finite Element Method, are applied in this study in order to investigate statistically the system efficiency. Different electrode arrangements are considered. The voltage applied is specified in function of the maximum electrical field allowed in the liquid, considering that high electrical field could cause electrical discharges inside the liquid and change its chemical properties.

The overall results of the study show a good efficiency of the system for liquid treatment with yeast *S. cerevisiae* for a cylindrical electrodes arrangement, but the system with a same arrangement is not appropriate for the liquid treatment with bacteria *E. coli*, because of its higher resistance to treatment. The energy consumption and the temperature inside the liquid are also analyzed.

Additionally, the prediction model proposed by Peleg is compared with the Hulsheger & Niemann model for different microorganisms and number of pulses applied. The results show a good agreement between these models.

Sumário

Resumo	3
Abstract.....	4
Sumário	5
Lista de Tabelas.....	8
Lista de Figuras	9
1- Introdução.....	12
1.1 Motivação.....	12
1.2 Objetivos	13
1.3 Organização do Trabalho	13
2- Revisão Bibliográfica	15
2.1 Histórico da Tecnologia.....	15
2.2 Mecanismos de Ruptura Celular	18
2.3 Modelos de Predição.....	21
2.4 Fatores Críticos.....	25
2.4.1 Parâmetros da Fonte de Alta Tensão	26
2.4.2 Fatores Biológicos	32
2.4.3 Fatores do Meio Líquido	35
2.5 Estado da Arte	38
2.6 Considerações Finais	40
3- Método dos Elementos Finitos Aplicado ao Cálculo de Campo Elétrico no Interior da Câmara de Tratamento	41
3.1 Introdução.....	41
3.2 Caracterização do Meio quanto à Condução de Corrente Elétrica.....	41
3.3 Modelagem Estática.....	42
3.4 Etapas do Método dos Elementos Finitos.....	42
3.4.1 Pré-processamento	42
3.4.2 Processamento	43
3.4.3 Pós-processamento.....	43
3.5 Formas de Resolução	43

3.6	Método dos Resíduos Ponderados	44
3.7	Condições de Contorno	46
3.7.1	Condição de Contorno de Dirichlet	46
3.7.2	Condição de Contorno de Neumann	47
3.8	Aproximação por Elementos Finitos	47
3.8.1	Caso Unidimensional	47
3.8.2	Caso Bidimensional	50
3.8.3	Caso Tridimensional	52
3.9	Considerações Finais	55
4-	Modelagem Computacional	56
4.1	Introdução	56
4.2	Visão Geral do Modelo Computacional	56
4.3	Experimentos Base para as Simulações	58
4.4	Geração dos Parâmetros dos Modelos	60
4.4.1	Parâmetros do Modelo de Peleg	60
4.4.2	Parâmetros do Modelo de Hülshager & Niemann	62
4.5	Arranjos de Eletrodos	65
4.6	Cálculo de Campo Elétrico	67
4.7	Especificação da Magnitude da Fonte	68
4.8	Eficiência da Esterilização	72
4.9	Considerações Finais	73
5-	Estudos de Caso	74
5.1	Introdução	74
5.2	Estudo de caso 1: Análise da Eficiência Global de um Sistema de Esterilização	74
5.2.1	Desempenho do Sistema	75
5.2.2	Densidade de energia	81
5.2.3	Análise Térmica do Sistema	83
5.3	Estudo de caso 2: Comparativo de Arranjos de Eletrodos	86
5.3.1	Comparativo dos Arranjos de Eletrodos Originais (sem isoladores)	86
5.3.2	Ajustes nos Arranjos de Eletrodos	89
5.4	Estudo de caso 3: Eficiência de um Sistema para Tratamento com Diferentes Microorganismos	92
5.5	Comparativo entre Modelos de Predição	94
5.6	Considerações Finais	96

6-Conclusões e Trabalhos Futuros	98
6.1 Conclusões.....	98
6.2 Propostas de Continuidade de Estudo	100
Referências Bibliográficas	101

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Valores de k_d , t_d e E_d do modelo de Hülshager & Niemann para diferentes microorganismos	21
Tabela 2.2: Valores de E_c e k do modelo de Peleg para diferentes microorganismos	24
Tabela 3.1: Coordenadas (xyz), (rst) e valores das funções de interpolação em cada nó.....	54
Tabela 4.1: Especificações do sistema do experimento base para as simulações.....	58
Tabela 4.2: Dados experimentais utilizando <i>S. cerevisiae</i>	59
Tabela 4.3: Dados experimentais utilizando <i>E. coli</i>	59
Tabela 4.4: Parâmetros E_c e k gerados pela regressão não linear aplicada aos dados experimentais para microorganismo <i>S. cerevisiae</i> – Modelo de Peleg.....	62
Tabela 4.5: Parâmetros E_c e k gerados pela regressão não linear aplicada aos dados experimentais para microorganismo <i>E. coli</i> – Modelo de Peleg.....	62
Tabela 4.6: Parâmetros E_d , k_d e t_d gerados pela regressão não linear aplicada aos dados experimentais para microorganismo <i>S. cerevisiae</i> - Modelo de Hülshager & Niemann.....	64
Tabela 4.7: Parâmetros E_d , k_d e t_d gerados pela regressão não linear aplicada aos dados experimentais para bactéria <i>E. coli</i> - Modelo de Hülshager & Niemann.....	65
Tabela 4.8: Dados originais do sistema com eletrodos cilíndricos tipo “needle”	66
Tabela 4.9: Dados originais do sistema com eletrodos planos paralelos	66
Tabela 5.1: Resultados de volume de líquido ($S < 1\%$) em função do número de pulsos	75
Tabela 5.2: Parâmetros E_{c0} e k_1 gerados pela regressão não linear dos dados de E_c – <i>S. cerevisiae</i> . 77	77
Tabela 5.3: Parâmetros k_0 e k_2 gerados pela regressão não linear dos dados de k – <i>S. cerevisiae</i>	77
Tabela 5.4: Valores de E_c e k resultantes de interpolação e extrapolação de E_c e k	77
Tabela 5.5: Resultados de volume de líquido ($S < 1\%$) em função do número de pulsos para valores experimentais de n , $n=350$ (interpolação) e $n=550$ e 600 (extrapolação)	78

Lista de Figuras

Figura 2.1: Doevenspeck e o gerador de pulsos instalado na fábrica da Krupp Maschinentechnik nos anos 80.....	16
Figura 2.2: Sistema ELSTERIL® instalado na universidade de tecnologia de Berlim.....	17
Figura 2.3: Publicações de trabalhos científicos sobre o tema PEF no período de 1982 a jul/2012 ...	18
Figura 2.4: Eletroporação da membrana da célula quanto exposta a pulsos de alta tensão	19
Figura 2.5: Equivalente elétrico de uma célula biológica	20
Figura 2.6: Circuito elétrico equivalente de uma célula inserida num meio líquido	21
Figura 2.7: Gráficos tridimensionais (S x n x E) extraídos dos estudos de Peleg para o microorganismo <i>C. albicans</i>	24
Figura 2.8: Configuração básica de um sistema de esterilização com aplicação de pulsos de alta tensão.....	26
Figura 2.9: Esquema básico de fonte com pulsos de alta tensão utilizando chave thyatron	27
Figura 2.10: Esquema de fonte de alta tensão com dispositivos de estado sólido	28
Figura 2.11: Comparativos de eficiência para diferentes formas de onda	29
Figura 2.12: Formas de onda de corrente e tensão registradas em estudos experimentais	30
Figura 2.13: Estruturas de membranas das bactérias tipo Gram-Positivo e Gram-Negativo.....	32
Figura 2.14: Geometrias típicas dos microorganismos <i>E. coli</i> , <i>S. Aureus</i> e <i>S. cerevisiae</i>	33
Figura 2.15: Visão microscópica da bactéria <i>E. coli</i>	34
Figura 2.16: Visão microscópica do fungo <i>S. cerevisiae</i>	35
Figura 2.17: Efeito da condutividade do líquido sobre o campo elétrico e o tempo de descida do pulso retangular	36
Figura 2.18: Taxa de sobrevivência para <i>B. subtilis</i> (Gram-positiva) x pH do meio	37
Figura 2.19: Taxa de sobrevivência para <i>E. coli</i> (Gram-negativa) x pH do meio	37
Figura 3.1: Potenciais elétricos dos eletrodos na câmara de tratamento	46
Figura 3.2: Discretização unidimensional em elementos lineares	48
Figura 3.3: Elemento triangular da malha de elementos finitos em duas dimensões	50
Figura 3.4: Malha hipotética com três elementos triangulares	51
Figura 3.5: Elemento tetraedro da malha de elementos finitos em três dimensões.....	53
Figura 4.1: Diagrama esquemático do modelo computacional utilizado	57

Figura 4.2: Curvas dos ajustes por regressão não linear aplicada aos dados experimentais para o fungo <i>S. cerevisiae</i>	61
Figura 4.3: Curvas dos ajustes por regressão não linear aplicada aos dados experimentais para a bactéria <i>E. coli</i>	61
Figura 4.4: Curvas dos ajustes por regressão não linear aplicada aos dados experimentais para <i>S. cerevisiae</i> através do modelo de Hülsheger & Niemann	63
Figura 4.5: Curvas dos ajustes por regressão não linear aplicada aos dados experimentais para <i>E. coli</i> através do modelo de Hülsheger & Niemann	64
Figura 4.6: Câmara de tratamento cilíndrica com eletrodos cilíndricos tipo “needle”	65
Figura 4.7: Câmara de tratamento cilíndrica com eletrodos retangulares planos paralelos.....	66
Figura 4.8: Distribuição de campo elétrico por eixo (x, y e z) para tensão aplicada de 26 kV com geometria de eletrodos cilíndricos com equalizadores	69
Figura 4.9: Fixação dos eletrodos cilíndricos tipo “needle” em furações abertas na câmara de tratamento	69
Figura 4.10: Distribuição de campo elétrico por eixo (x, y e z) para tensão aplicada de 26 kV com geometria de eletrodos cilíndricos sem isoladores de borracha.....	70
Figura 4.11: Distribuição de campo elétrico para arranjo de eletrodos cilíndricos	71
Figura 5.1: Parâmetro E_c em função do número de pulsos para <i>S. cerevisiae</i>	76
Figura 5.2: Parâmetro k em função do número de pulsos para <i>S. cerevisiae</i>	76
Figura 5.3: Volume percentual de líquido ($S < 1\%$) x Número de pulsos	79
Figura 5.4: Comparativo de distribuição probabilística para $n=20$ e $n=600$ pulsos (vista superior da câmara de tratamento)	80
Figura 5.5: Histograma do volume de líquido por faixa de $S(\%)$ para eletrodos cilíndricos ($n=20$ e 600 pulsos).....	80
Figura 5.6: Densidade de energia em função do número de pulsos	82
Figura 5.7: Densidade de energia e tensão aplicada em função do número de pulsos para um volume de líquido ($S < 1\%$) de 90%	83
Figura 5.8: Comportamento da temperatura final do líquido em função da constante de decaimento k do sistema para diferentes números de pulsos aplicados	85
Figura 5.9: Comportamento da temperatura final do líquido em função da constante de decaimento k para diferentes frequências.....	85
Figura 5.10: Comparativo de arranjos de eletrodos quanto ao volume de líquido esterilizado ($S < 1\%$).....	87
Figura 5.11: Visão superior da distribuição de probabilidades dentro da câmara de tratamento para eletrodos cilíndricos e planos paralelos	88

Figura 5.12: Histograma do volume de líquido por faixa de S(%) para eletrodos cilíndricos e planos paralelos	89
Figura 5.13: Volume de líquido (S<1%) x Tensão aplicada para diferentes valores de gap dos eletrodos planos paralelos	90
Figura 5.14: Visão superior da distribuição de probabilidades dentro da câmara de tratamento para eletrodos planos paralelos com gap de 1,85cm.....	90
Figura 5.15: Volume de líquido (S<1%) x Tensão aplicada para diferentes valores de gap dos eletrodos cilíndricos.....	91
Figura 5.16: Volume de líquido (S<1%) x Tensão aplicada para diferentes valores de raios dos eletrodos cilíndricos.....	91
Figura 5.17: Comparativo de distribuição de campo elétrico com relação ao eixo x para diferentes valores de raio de eletrodo cilíndrico	92
Figura 5.18: Parâmetro E_c em função do número de pulsos para <i>E. coli</i>	93
Figura 5.19: Parâmetro k em função do número de pulsos para <i>E. coli</i>	93
Figura 5.20: Comparativo do % de volume de líquido (S<1%) para diferentes tipos de microorganismos em função do número de pulsos	94
Figura 5.21: Comparativo entre modelos de predição para fungo <i>S. cerevisiae</i> e n=100 pulsos	95
Figura 5.22: Comparativo entre modelos de predição para fungo <i>S. cerevisiae</i> e n= 200 pulsos	95
Figura 5.23: Comparativo entre modelos de predição para bactéria <i>E. coli</i> e n=100 pulsos	96
Figura 5.24: Comparativo entre modelos de predição para bactéria <i>E. coli</i> e n=200 pulsos	96

1.1 Motivação

A busca por produtos alimentícios líquidos com maior vida útil, processos energeticamente mais eficientes e com minimização dos efeitos causados pelos processos térmicos convencionais alavancaram, nas últimas décadas, pesquisas de tecnologias alternativas para aplicação em indústrias de alimentos para fins de esterilização. Dentre estas tecnologias, os sistemas baseados na aplicação de alta tensão têm se destacado, devido principalmente ao seu potencial de eliminação de microorganismos sem alteração de propriedades nutricionais e do sabor dos alimentos [1].

Apesar do considerável número de trabalhos publicados sobre o tema, as pesquisas envolvendo simulações numéricas têm sido restritas a alguns grupos de trabalho [2]. Estudos envolvendo simulações computacionais com aplicação do Método dos Elementos Finitos - MEF - e técnicas de otimização de geometria de eletrodos em função da distribuição de campo elétrico foram apresentados em [3,4]. Em [5], uma metodologia aplicada a estudos de câncer com enfoque estatístico para geração de distribuição de células mortas em tecidos prostáticos foi introduzida, possibilitando a visualização de regiões com probabilidades intermediárias de mortalidade de células, sendo uma vantagem em relação aos modelos determinísticos. A análise estatística foi baseada no cálculo de campo elétrico associado aplicado ao modelo de predição de esterilização de Peleg.

Diante deste cenário, este trabalho relaciona um problema que envolve o cálculo de campo elétrico dentro de uma câmara de esterilização, com a solução obtida através do Método dos Elementos Finitos, com parâmetros de modelos de predição relacionados com a resistência de microorganismos ao tratamento, para dadas condições do meio líquido, para análise de tendências da eficiência do sistema. Dentro da análise da eficiência do sistema em relação ao volume de líquido esterilizado, parâmetros importantes de um sistema típico de esterilização são

abordados nos estudos de caso realizados, tais como a densidade de energia, temperatura final do líquido em tratamento, diferentes arranjos de eletrodos e diferentes microorganismos. As análises destes parâmetros são importantes no projeto de um sistema de esterilização.

O ajuste de parâmetros da fonte de alta tensão, tais como o número de pulsos e a magnitude, são determinantes para a eficiência global do mesmo. Um elevado valor de tensão é requerido para a eliminação dos microorganismos, porém isto pode elevar à intensificação de campo elétrico em determinadas regiões do líquido e ocasionar descargas elétricas indesejáveis, já que podem alterar a composição química do líquido. Com relação ao número de pulsos aplicado, um aumento deste parâmetro leva a uma melhor eficiência do sistema, porém a densidade de energia e a temperatura no líquido podem se elevar a um nível crítico, com impacto direto no custo operacional do sistema e na qualidade do produto em tratamento, respectivamente. A análise destes parâmetros ao nível de simulação computacional é de interesse para as pesquisas acadêmicas da tecnologia e para a indústria de esterilização de produtos líquidos, sendo complementares à base de dados experimentais existentes na literatura.

1.2 Objetivos

Os principais objetivos deste trabalho são:

- Apresentar a tecnologia de aplicação de pulsos de alta tensão para fins de esterilização e as variáveis impactantes na eficiência de um sistema;
- Analisar a eficiência global do sistema em função do número de pulsos aplicados;
- Comparar a eficiência de diferentes geometrias de eletrodos;
- Avaliar a adequação do sistema para tratar microorganismos de diferentes resistências ao campo elétrico aplicado;
- Comparar modelos de predição de esterilização de líquidos.

1.3 Organização do Trabalho

O Capítulo 2 apresenta a revisão bibliográfica sobre a tecnologia de aplicação de pulsos de campo elétrico para esterilização, com apresentação do histórico e

evolução das pesquisas, das teorias propostas para explicar o fenômeno da ruptura celular, os modelos matemáticos de predição de esterilização, os impactos dos fatores mais críticos no desempenho de um sistema e o estado da arte sobre o tema.

O Capítulo 3 aborda a teoria de Método dos Elementos Finitos para aplicações em meios condutivos, com base no Método de Galerkin. Este método é utilizado nos estudos para geração da distribuição de campo elétrico na região de tratamento.

O Capítulo 4 trata da modelagem matemática e da metodologia aplicada aos estudos de caso. São apresentados os dados experimentais extraídos da literatura para obtenção de parâmetros dos modelos de predição, os arranjos dos eletrodos e as faixas de trabalho da fonte de alta tensão, considerando-se a restrição de campo elétrico máximo no líquido.

O Capítulo 5 apresenta três estudos de caso de simulações computacionais. No primeiro estudo, o foco é a análise da eficiência do sistema em função do número de pulsos da fonte e a abordagem de outros aspectos impactantes na eficiência global do sistema, tais como: densidade de energia e temperatura no líquido. Nos demais estudos de caso, são realizados comparativos de eficiência para diferentes microorganismos e diferentes arranjos de eletrodos. Dois modelos de predição de esterilização são comparados, relacionando a eficiência do sistema com a tensão aplicada, para diferentes tipos de microorganismos.

No Capítulo 6 é apresentada uma síntese das conclusões obtidas e propostas de continuidade de estudos.

2.1 Histórico da Tecnologia

Os efeitos bacteriológicos produzidos pela corrente elétrica começaram a ser investigados no final do século XIX, em experimentos conduzidos por Prochownik [8, 63]. Os efeitos letais resultantes da aplicação de corrente alternada em baixas frequências são provenientes de processos térmicos ou eletroquímicos [6]. Na década de 20, um processo denominado 'Electropure' foi introduzido na Europa e USA, sendo uma das primeiras tentativas de uso de eletricidade para esterilização de leite, através da aplicação de tensão alternada entre 220 e 420 V em uma câmara de tratamento com eletrodos de carbono. O método era essencialmente térmico, através do aproveitamento do calor gerado por efeito joule [7]. A técnica foi aceita como um método de pasteurização seguro, porém devido ao aumento dos custos energéticos e entrada de novas tecnologias de esterilização, tais como UHT (Ultra High Temperatura), as unidades instaladas foram posteriormente desativadas [8].

A aplicação de pulsos de alta tensão para fins de esterilização foi introduzida a partir de 1950, através de um tratamento eletrohidráulico, no qual ondas de pressão de até 250 MPa e luz ultravioleta eram geradas por arcos elétricos provenientes de aplicação de pulsos de alta tensão, resultando em mais de 95% de eliminação de microorganismos para as espécies investigadas, tais como *E. coli* e *S. faecalis* [9]. A desintegração de partículas presentes no líquido e eletrodos, causando contaminação do líquido em tratamento, inibiu aplicações industriais deste processo, com exceção de aplicações em tratamento de resíduos [10].

O engenheiro alemão Heinz Doevenspeck foi pioneiro na realização de experimentos de aplicação de pulsos de alta tensão para ruptura de células na década de 60, tendo seu trabalho resultado em uma patente [11]. Em conjunto com

outros pesquisadores, Doevenspeck desenvolveu o ELCRACK[®], primeiro equipamento industrial instalado no final da década de 80 [12,63]. O engenheiro Doevenspeck e o gerador de pulsos utilizado na fábrica da Krupp nos anos 80 são mostrados na Figura 2.1.

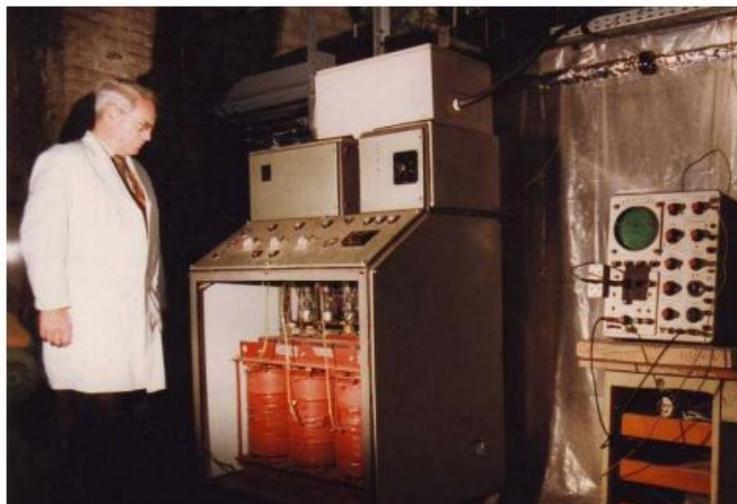


Figura 2.1: Doevenspeck e o gerador de pulsos instalado na fábrica da Krupp Maschinenteknik nos anos 80 (Retirado de [12])

Baseado nos experimentos realizados na Empresa Krupp, uma unidade industrial do sistema ELCRACK[®] com capacidade de 200 Kg/h foi desenvolvida no final dos anos 80. Após desempenho promissor em testes funcionais, o equipamento foi instalado em uma fábrica de produtos derivados de peixe em Normay/USA. Poucos meses após a instalação do equipamento, falhas relacionadas com a estabilidade dos eletrodos foram detectadas e o equipamento retornou para as instalações da Krupp [12].

Um sistema denominado ELSTERIL[®] (Figura 2.2) foi desenvolvido a partir de 1986 pelo mesmo grupo, consistindo de uma fonte de alta tensão de 15 kV e frequência de 22 Hz, eletrodos planos paralelos de carbono de 50 cm², gap de 0,5 a 1,2 cm, com vazão do líquido em tratamento de 165 l/h. Nenhum efeito indesejável foi encontrado em testes com sucos de laranja e leite [13]. Porém, após falhas na primeira unidade industrial instalada, o investimento da empresa Krupp foi reduzido substancialmente [12].



Figura 2.2: Sistema ELSTERIL® instalado na universidade de tecnologia de Berlim (Retirado de [12])

Mesmo diante deste cenário de retirada de investimentos, a tecnologia despertou interesse de outros grupos e um novo sistema foi desenvolvido nos USA em 1993 com base no projeto do ELSTERIL®.

No campo científico, na década de 60, Sales e Hamilton conduziram estudos para investigar os efeitos dos pulsos elétricos de alta tensão e os mecanismos para eliminação de bactérias. Evidenciaram, através de experimentos, que a intensidade de campo elétrico e o tempo de tratamento são os principais fatores que influenciam no desempenho do sistema, além de que a mortalidade de microorganismos está relacionada a fatores não térmicos [15]. No início dos anos 80, um grupo de cientistas liderado por Hülshager desenvolveu modelos matemáticos para descrever a sobrevivência de microorganismos à aplicação de pulsos de alta tensão [16,17,18]. Em 1995, um novo modelo foi proposto por Peleg, o qual correlacionou a taxa de sobrevivência de microorganismos submetidos ao tratamento por PEF (Pulsed Electric Field) com o campo elétrico aplicado e parâmetros dependentes do número de pulsos aplicados [19]. Os modelos matemáticos são discutidos na Seção 2.3.

Em 1995, a Pulse Technologies, empresa subsidiária da Maxwell Laboratories, desenvolveu um sistema de tratamento para fluxo contínuo denominado CoolPure®, para vazões de até 2000 l/h. A Empresa recebeu neste mesmo ano liberação do FDA (Food and Drug Administration-USA) para utilizar a tecnologia para fins de esterilização de alimentos [20]. Este foi um dos fatores que

impulsionaram as pesquisas na década de 90, o que pode ser evidenciado pelo crescente número de publicações relevantes sobre o tema, conforme mostrado na Figura 2.3.

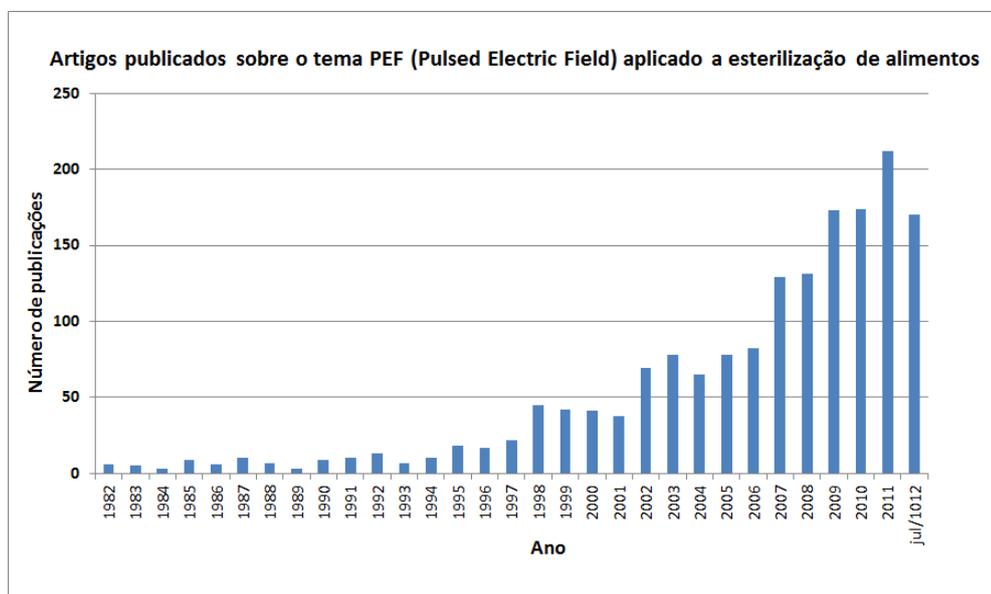


Figura 2.3: Publicações de trabalhos científicos sobre o tema PEF no período de 1982 a jul/2012 (Fonte: Science Direct)

2.2 Mecanismos de Ruptura Celular

A eletroporação é um fenômeno físico no qual a membrana celular torna-se permeável ao aplicar um determinado valor de campo elétrico, podendo ser um evento reversível ou irreversível, dependendo da intensidade e duração do campo elétrico aplicado. Se a tensão sobre a membrana devido ao campo elétrico aplicado não é muito maior que o valor crítico de potencial da membrana, e a duração do pulso é relativamente pequena, o fenômeno pode ser reversível e a célula sobrevive [22]. O efeito pode ser irreversível caso a duração do pulso e/ou campo elétrico aplicado sejam suficientes para aumentar a permeabilidade da célula para um nível que conduza à ruptura da mesma.

Sales e Hamilton, em 1967, foram os pioneiros na investigação da eliminação de microorganismos por aplicação de pulsos de alta tensão sem associar os efeitos a fatores térmicos, concluindo que as células expostas a um campo elétrico de alta intensidade perdem as propriedades de membrana, podendo resultar na sua destruição [15].

Diversas teorias têm sido propostas para explicar o mecanismo de ruptura irreversível das membranas, sendo que uma das mais aceitas é a “Teoria da Instabilidade Eletromecânica” [23]. Esta teoria considera que a membrana da célula pode ser considerada um capacitor com baixa constante dielétrica em comparação com o citoplasma e o líquido em tratamento. Em razão desta diferença de constantes dielétricas, cargas livres se deslocam para a membrana, resultando em uma diferença de potencial de aproximadamente 10 mV sobre a mesma. Ao aplicar um campo elétrico, este potencial é aumentado em razão do aumento do deslocamento das cargas livres em direção ao campo elétrico, ocorrendo um aumento da concentração de cargas elétricas nas superfícies interna e externa da membrana. A força de atração das cargas de polaridade opostas na membrana resulta numa compressão e conseqüentemente na redução da espessura da mesma. Por outro lado, forças viscoelásticas da membrana opõem à compressão da mesma. Porém, quando o potencial da membrana atinge aproximadamente 1 V, as forças de compressão excedem as propriedades viscoelásticas da membrana e ocorre a ruptura da mesma. A Figura 2.4 ilustra o mecanismo de ruptura:

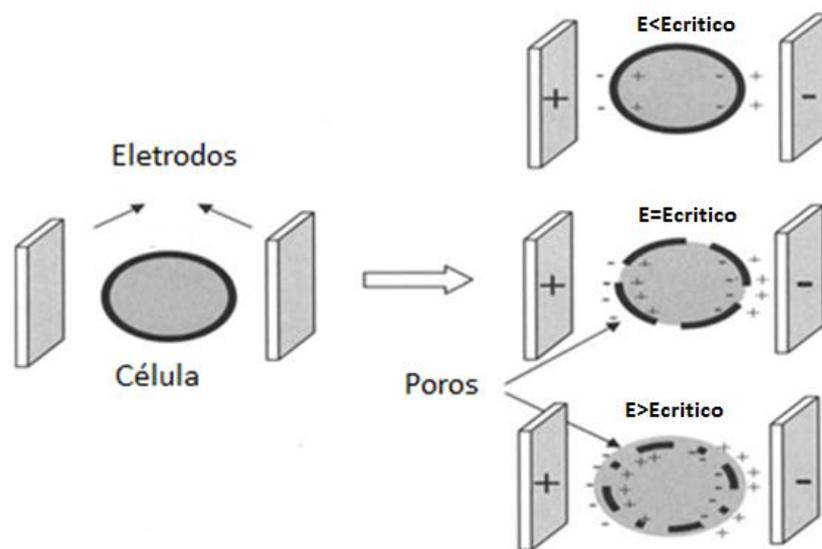


Figura 2.4: Eletroporação da membrana da célula quando exposta a pulsos de alta tensão. E: campo elétrico aplicado; E_c : campo elétrico crítico (Adaptado de [23])

O número e tamanho dos poros criados na membrana celular dependem da intensidade e duração do campo elétrico. A intensidade de campo elétrico na qual ocorre a ruptura da membrana é denominada “Campo Elétrico Crítico”.

A Equação que relaciona o potencial da membrana V_c com o campo elétrico aplicado e variáveis dimensionais da célula, é dada por [22,25]:

$$V_c = -1,5Ea \cos \Phi \quad (2.1)$$

onde: E é a amplitude do campo elétrico aplicado (V/cm), a é o raio da célula (cm) e Φ é o ângulo (em radianos) entre a reta definida por um ponto na superfície da célula em relação ao centro da célula.

A Figura 2.5 ilustra o equivalente elétrico de uma célula modelada com membrana dielétrica e citoplasma condutor, inserida num meio líquido, sob ação de um campo elétrico.

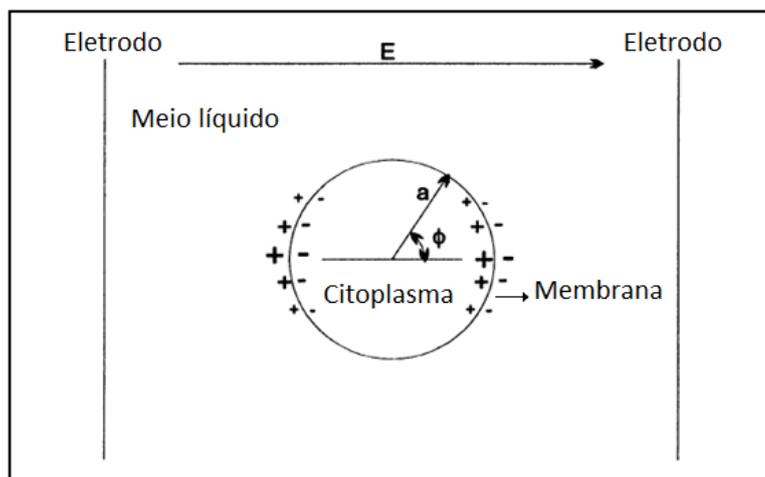


Figura 2.5: Equivalente elétrico de uma célula biológica (Adaptado de [25])

De acordo com a Equação 2.1, o potencial sobre a membrana é maior para células maiores, ou seja, é mais difícil romper membranas de células menores.

O circuito elétrico equivalente de uma célula inserida num meio líquido é mostrado na Figura 2.6, onde R_m e C_m representam a resistência e capacitância da membrana (dielétrica), respectivamente. A resistência R_c representa o citoplasma (condutor), o meio líquido é representado por R_s e C_s é a capacitância parasita em torno da célula. A tensão do pulso aplicada na célula inserida no meio líquido é modelada por $U(t)$ e pela resistência interna R_g . Em [65], a resposta em frequência deste modelo foi analisada utilizando valores típicos dos componentes para o microorganismo *S. aureus* e a tensão sobre a membrana manteve-se praticamente constante para a faixa de 0 a 1MHz.

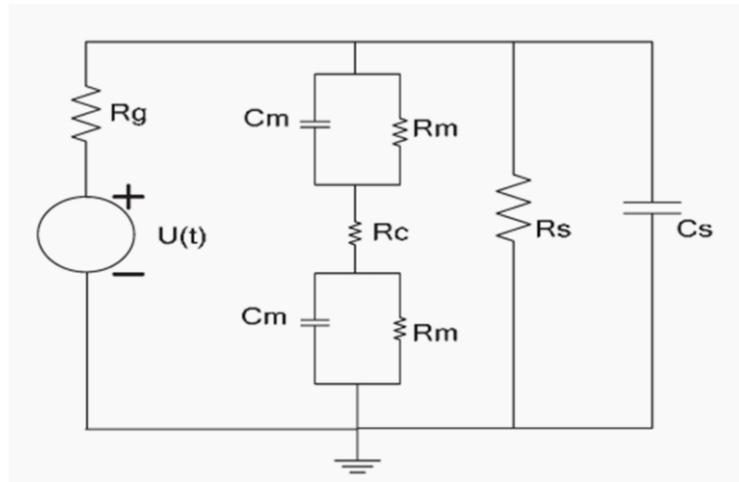


Figura 2.6: Circuito elétrico equivalente de uma célula inserida num meio líquido (Retirado de [65])

2.3 Modelos de Predição

Hülshager & Niemann, em 1980, foram os primeiros a propor um modelo matemático empírico para eliminação de microorganismos com aplicação de pulsos elétricos de alta tensão. O modelo baseia-se na dependência da taxa de sobrevivência de microorganismos S (razão de células vivas depois e antes da aplicação do tratamento) em relação ao campo elétrico aplicado, de acordo com a seguinte expressão [16]:

$$\ln(S) = -b_e (E - E_d), \quad (2.2)$$

onde: b_e : coeficiente que representa a inclinação da curva de $\ln(S)$ em função do campo elétrico aplicado, tendo valor específico para cada microorganismo/meio; E : campo elétrico aplicado, E_d : campo elétrico crítico obtido pelo valor de E extrapolado para $S=100\%$ na curva $S \times E$.

O campo elétrico crítico E_d é função das dimensões da célula (com valor menor para células maiores) e largura do pulso. Quanto maior a largura do pulso, menor o valor do campo elétrico crítico. Em 1981, Hülshager & Niemann em conjunto com outros pesquisadores, propuseram um modelo que relaciona o tempo de tratamento t com S , conforme Equação 2.3 [17]:

$$\ln(S) = -b_t \ln \left(\frac{t}{t_d} \right), \quad (2.3)$$

onde: b_i : coeficiente que representa a inclinação da curva de $\ln(S)$ x $\ln(t)$, tendo valor específico para cada microorganismo/meio; t : tempo de tratamento (número de pulsos x duração do pulso), t_d : tempo crítico de tratamento obtido através da extrapolação de t para 100% de S na curva S x t .

A expressão completa que representa o modelo de predição proposto por Hülshager & Niemann, obtida através das Equações 2.2 e 2.3 é a seguinte:

$$S = \left(\frac{t}{t_d}\right)^{\frac{-(E-E_d)}{k_d}}, \quad (2.4)$$

onde: t : tempo de tratamento, t_d : tempo crítico, E_d : campo elétrico crítico, k_d : constante para cada tipo de microorganismo/meio; sendo que um alto valor de k_d indica uma menor resistência ao tratamento.

A Tabela 2.1 mostra os valores de k_d , t_d e E_d obtidos através de dados experimentais em [9] em um meio com solução de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{KH}_2\text{PO}_4$ e pH igual a 7, além dos coeficientes de regressão r^2 dos ajustes por regressão dos dados experimentais de S x E à equação do modelo de Hülshager & Niemann em cada estudo. Valores mais elevados de t_d e E_d indicam uma menor sensibilidade do microorganismo à aplicação de pulsos de alta tensão.

Tabela 2.1: Valores de k_d , t_d e E_d do modelo de Hülshager & Niemann para diferentes microorganismos (Adaptado de [50])

Microorganismo	E_d (kV/cm)	t_d (μs)	k_d (kV/cm)	r^2
<i>E. coli</i>	8,3	18	6,3	0,976
<i>K. pneumonia</i>	7,2	29	6,6	0,957
<i>P. auriginosa</i>	6	35	6,3	0,984
<i>S. aureus</i>	13	58	2,6	0,977
<i>L. monocytogenes I</i>	13	58	2,6	0,972
<i>L. monocytogenes II</i>	8,7	36	6,4	0,985
<i>C. albicans</i>	8,4	110	2,2	0,966

Em [19], é proposta uma modelagem matemática com base na Equação probabilística de Fermi, empregada fundamentalmente em estatística quântica, a qual tem a seguinte expressão geral:

$$f(E) = \frac{1}{1+e^{(E-E_f)/kT}} , \quad (2.5)$$

onde: $f(E)$: probabilidade que uma determinada partícula terá energia E ; E_f : energia de Fermi; T : temperatura absoluta; k : constante de Boltzmann

No modelo proposto por Peleg a partir da Equação geral de Fermi, há uma relação probabilística entre a razão de microorganismos vivos pós e antes do tratamento (S), o campo elétrico aplicado (E) e o número de pulsos (n), conforme Equação 2.6:

$$S = \frac{1}{1+e^{\frac{E-E_c(n)}{k(n)}}} , \quad (2.6)$$

onde: $E_c(n)$: nível crítico de E , no qual 50% dos microorganismos são eliminados, em função do número de pulsos; $k(n)$: parâmetro que indica o declínio da curva $S \times E$ em torno de E_c , em função do número de pulsos.

Considerando que 90% dos microorganismos são eliminados dentro da faixa de $E_c \pm 3k$, um valor baixo de k indica um declínio acentuado na curva de S em função do campo elétrico aplicado e uma maior sensibilidade do microorganismo ao tratamento.

As curvas de E_c e k em função do número de pulsos têm um decaimento exponencial e são expressas por:

$$E_c(n) = E_{c0}e^{-k_1 n} , \quad (2.7)$$

$$k(n) = k_0e^{-k_2 n} , \quad (2.8)$$

onde: E_{c0} e k_0 são os valores das funções $E_c(n)$ e $k(n)$ respectivamente, extrapolados para $n=0$, em unidades de kV/cm. k_1 e k_2 são constantes adimensionais, sendo dependentes do tipo de célula e tipo de pulso aplicado.

Para validar este modelo, Peleg coletou resultados de experimentos com vários microorganismos. Os dados de cada experimento foram ajustados através da Equação 2.6 utilizando técnicas de regressão não linear para obtenção de E_c e k . Para os experimentos em que os dados originais continham variação do número de

pulsos, os gráficos de $E_c \times n$ e $k \times n$ foram ajustados a partir das Equações 2.7 e 2.8, respectivamente, com geração dos parâmetros E_{c0} , k_0 , k_1 , k_2 . Isto possibilitou a obtenção de E_c e k para outros valores de n e a geração de gráficos tridimensionais de $S(\%)$ em função do número de pulsos e do campo aplicado, conforme Figura 2.7 para a bactéria *C. albicans*. Nesta figura, observa-se que o aumento de n e/ou aumento do campo elétrico aplicado levam a um menor valor de $S(\%)$, aumentando a taxa de eliminação do microorganismo.

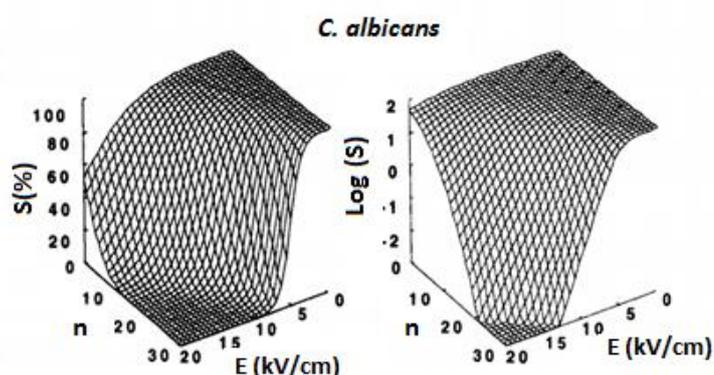


Figura 2.7: Gráficos tridimensionais ($S \times n \times E$) extraídos dos estudos de Peleg para o microorganismo *C. albicans* (Adaptado de [19])

A Tabela 2.2 mostra os valores de E_c , k e do coeficiente de regressão r^2 obtidos ao interpolar dados da razão de microorganismos vivos (S) em função do campo aplicado, extraídos de estudos publicados na literatura [19]:

Tabela 2.2: Valores de E_c e k do modelo de Peleg para diferentes microorganismos (Adaptado de [19])

Microorganismo	Número de pulsos	E_c (kV/cm)	k (kV/cm)	r^2	Fonte dos dados
<i>L. brevis</i>	-	11,4	1,6	0,973	Sitzman (1990)
<i>S. cerevisiae</i>	-	13,2	2,3	0,994	Jacobe e outros (1981)
<i>S. aureous</i>	-	14,1	2	0,991	Hamilton e Sale (1967)
<i>C. albicans</i>	2	21,2	3,1	0,999	Hulsheger e outros (1983/1985)
	4	15,3	3,1	0,993	
	10	10,1	1,3	0,997	
	30	7,5	1,2	0,999	
<i>L. monocytogenes I</i>	2	14,9	2,8	0,981	Hulsheger e outros (1983/1985)
	4	12,7	2	0,994	
	10	10,3	2,4	0,992	
	30	8,5	2	0,999	
<i>P. aeruginosa</i>	2	12,9	2,6	0,982	Hulsheger e outros (1983/1985)
	4	10,6	2,4	0,994	
	10	8,3	2,1	0,993	
	30	6,7	1,8	0,999	

Os coeficientes de r^2 na faixa de 0,973 a 0,999, gerados por ajustes de dados experimentais de $S \times E$ para cada caso da tabela 2.2, denotam um bom ajuste dos dados experimentais à Equação 2.6. Nota-se ainda que quanto maior o número de pulsos, menor o valor de E_c , indicando que é necessário um campo elétrico menor na medida em que um número maior de pulsos é aplicado. Além disso, o declínio da curva $S \times E$ é mais acentuado, já que k decresce com o aumento do número de pulsos.

Outro modelo proposto utiliza distribuição de probabilidades de Weibull para estimar a razão de microorganismos vivos (S) em função do tempo de tratamento (t) e dos parâmetros δ e p , conforme expressão abaixo [62]:

$$\log_{10}S(t) = -\left(\frac{t}{\delta}\right)^p \quad (2.9)$$

O parâmetro δ representa o tempo de tratamento necessário para reduzir em 90% a população inicial de microorganismos e o valor de p está relacionado com a forma da curva $\log_{10}S(t) \times t$. Se $p < 1$, a concavidade da curva está voltada para cima, enquanto se $p > 1$ a concavidade está voltada para baixo e $p=1$ descreve comportamento linear [28]. Os parâmetros δ e p dependem do tipo de microorganismo, do meio líquido e do campo elétrico aplicado.

No presente trabalho é aplicada a metodologia estatística baseada no modelo proposto por Peleg, além de um comparativo do mesmo com o modelo de Hulsheger & Niemann. Estes modelos incorporam diretamente o campo elétrico aplicado nas equações, o que não ocorre no modelo de Weibull.

2.4 Fatores Críticos

Em [60], é apresentada a configuração básica de um sistema de esterilização de líquidos por pulsos de alta tensão (Figura 2.8), consistindo de uma fonte de alta tensão (1), câmara de tratamento (2), a qual contém os eletrodos conectados à fonte de alta tensão e o líquido a ser tratado, sistema de bombeamento do líquido para a câmara de tratamento (3), sistema de medição de temperatura (4), tanque de líquido para tratamento (5) e tanque de líquido tratado (6).

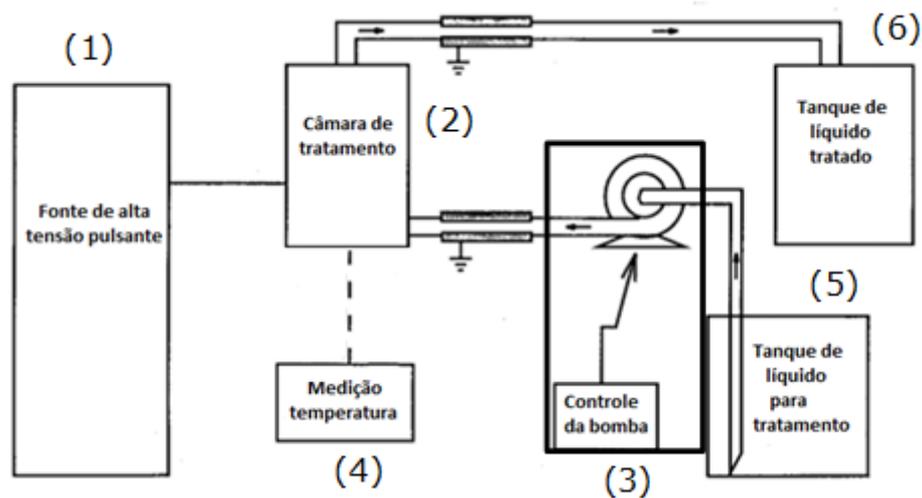


Figura 2.8: Configuração básica de um sistema de esterilização com aplicação de pulsos de alta tensão (Adaptado de [60])

É possível dividir os fatores impactantes no sistema de aplicação de pulsos de alta tensão em três grupos [1]:

- Parâmetros da fonte de alta tensão: forma de onda, magnitude, tempo de tratamento (duração x número de pulsos aplicados) e frequência;
- Fatores biológicos: tipos de microorganismos, tamanho, fase de crescimento e temperatura de incubação;
- Fatores do meio líquido: condutividade, pH e temperatura.

2.4.1 Parâmetros da Fonte de Alta Tensão

A especificação da fonte de alta tensão para um sistema de esterilização depende da eficiência requerida, das características do líquido, dos microorganismos e de outros aspectos inerentes ao projeto.

Um esquema básico de fonte de alta tensão com pulsos repetitivos utilizando chave thyatron é mostrado na figura 2.9. O thyatron é um tipo de tubo preenchido com determinado tipo de gás (hidrogênio, deuterium, xenon, dentre outros), utilizado como chave controlada. A conversão da tensão alternada em 60 Hz é feita através de um circuito retificador com diodos. A energia armazenada no capacitor C_1 em baixa tensão é transferida para o capacitor C_2 no lado de alta tensão através de um transformador de pulsos de alta tensão. Disparando a chave thyatron com um determinado atraso, ocorre a descarga do capacitor C_2 sobre a carga (líquido em

tratamento). As chaves do tipo thyatron são capazes de operar com tensões de até 250 kV e possuem chaveamento rápido, capazes de gerar pulsos com tempo de subida da ordem de 30-50ns [14]. O tempo de descida depende da constante RC da carga e da energia armazenada no capacitor (C_2).

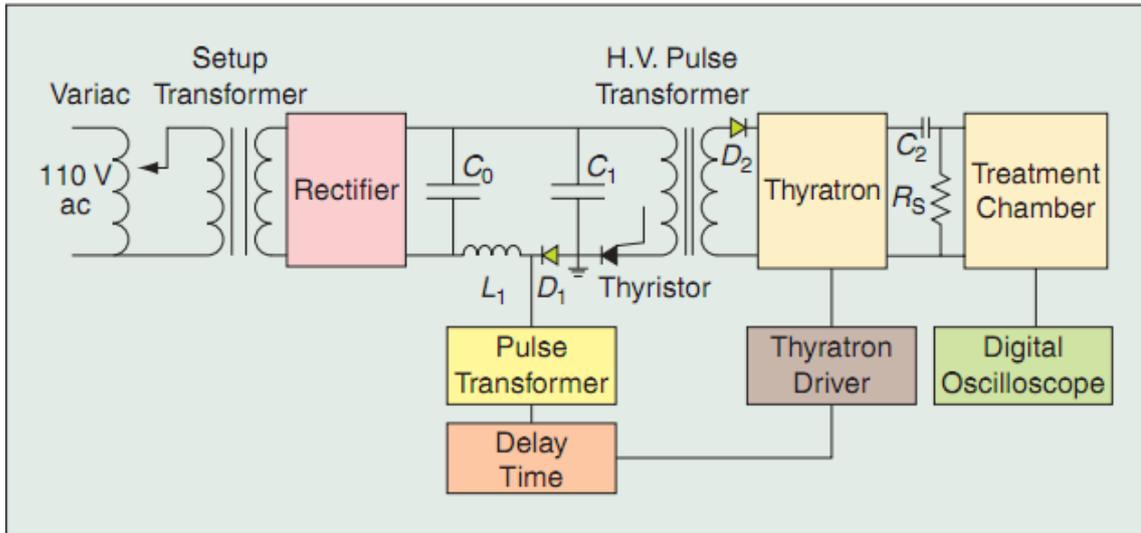


Figura 2.9: Esquema básico de fonte com pulsos de alta tensão utilizando chave thyatron (Retirado de [14])

Os dispositivos de estado sólido, tais como tiristores, GTOs, BJP e IGBTs, operam em uma faixa de tensão e potência mais baixas em relação às chaves de alta tensão com preenchimento a gás. Normalmente, são montados em configurações série/paralelo para obter a tensão e potência requeridas pelo sistema. Apesar disso, possuem algumas vantagens em relação aos dispositivos a gás, tais como: custo mais baixo, melhor estabilidade e confiabilidade [14]. A figura 2.10 mostra um esquema básico de fonte de alta tensão com dispositivo de estado sólido BIMOSFET de alto ganho IXBH16N170, com conexão em série de dois geradores para alimentação da carga ($V_{out1} + V_{out2}$).

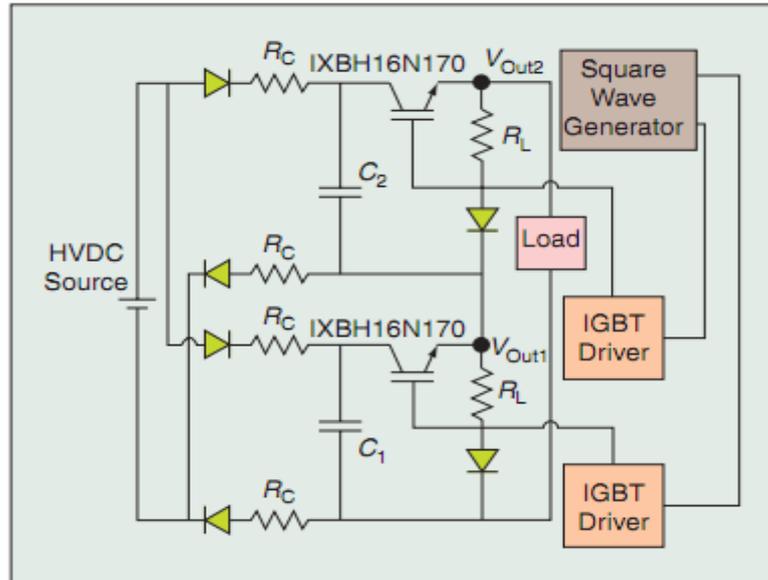


Figura 2.10: Esquema de fonte de alta tensão com dispositivos de estado sólido (Retirado de [14])

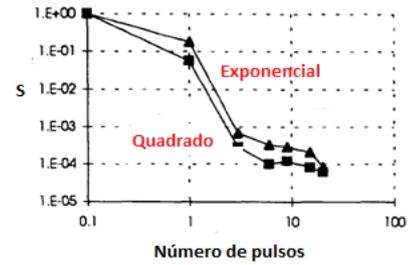
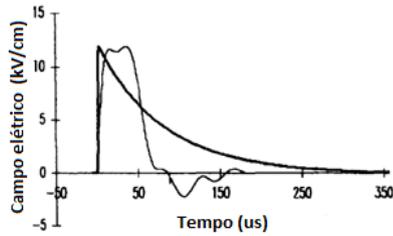
A seguir são abordados os parâmetros da fonte que impactam na resposta de um sistema de esterilização.

2.4.1.1 Forma de Onda do Pulso

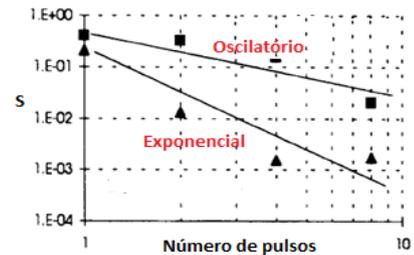
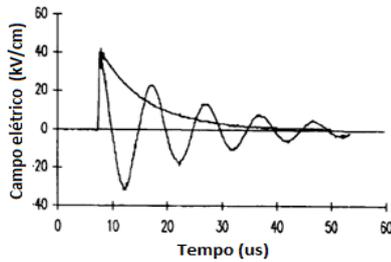
Em [29] é abordada a influência da forma de onda de pulsos de alta tensão no desempenho de um sistema de esterilização para três diferentes tipos de bactérias. Um sistema foi montado consistindo de eletrodos de aço inoxidável em forma de disco plano paralelo, fonte de alta tensão de 12 a 40 kV, com largura de pulso de 20 a 180 μ s e instrumentação dedicada para medição de sinais de corrente e tensão. Neste estudo, foi comparada a eficiência do sistema em relação à taxa de sobrevivência de microorganismos S , variando a forma de onda aplicada para os seguintes casos: pulso quadrado x pulso exponencial; pulso exponencial x pulso oscilatório; pulso monopolar x pulso bipolar. Os resultados são apresentados nos gráficos da Figura 2.11.

Os pulsos com onda quadrada resultaram num desempenho de esterilização superior aos pulsos exponenciais. Isto pode ser explicado pelo maior tempo de exposição das células a um nível de campo elétrico de maior intensidade, quando submetido à forma de onda quadrada. Os pulsos exponenciais implicaram num desempenho superior a pulsos com decaimento oscilatório, já que o tempo de exposição ao campo elétrico na aplicação do pulso exponencial é maior do que para

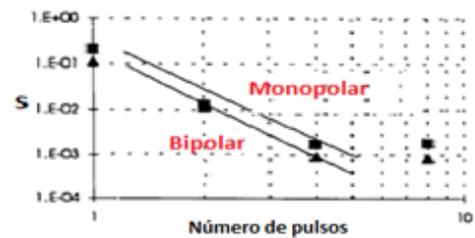
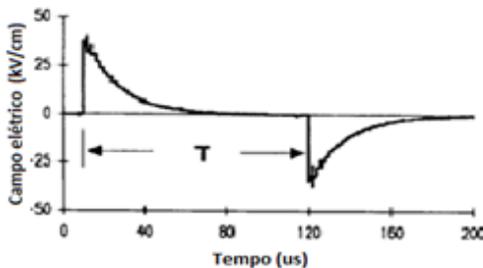
pulsos oscilatórios. Os pulsos bipolares resultam em uma maior eficiência do sistema quando comparados aos pulsos monopolares em razão da reversão instantânea de polarização, o que causa um *stress* na membrana da célula. Além disso, a aplicação de pulsos bipolares minimiza a formação de eletrólise no líquido e conseqüentemente degradação dos eletrodos, contudo o consumo energético é em torno de duas vezes o valor do consumo para pulsos monopolares.



(a) Pulso quadrado x pulso exponencial



(b) Pulso decaimento oscilatório x pulso exponencial



(c) Pulso monopolar x pulso bipolar

Figura 2.11: Comparativos de eficiência para diferentes formas de onda

Embora pulsos quadrados sejam mais eficientes em processos de esterilização por aplicação de alta tensão, os mesmos requerem circuitos de

geração mais complexos em relação aos geradores de pulsos exponenciais e oscilatórios. Nas simulações computacionais dos Capítulos 4 e 5, assume-se a aplicação de pulsos de alta tensão com forma de onda quadrada.

Formas de onda típicas de corrente e tensão, extraídas dos estudos apresentados em [59], são apresentadas na figura 2.12. A corrente foi medida através de um TC de 100 A/V. O pico de corrente registrado foi de aproximadamente 1 kA e o pico de tensão foi de 5,28 kV com tempo de subida de 638 ns e de descida de 448 ns. Quanto maior os tempos de subida e descida, menor a exposição das células a campos elétricos de maior intensidade, reduzindo a eficiência da esterilização.

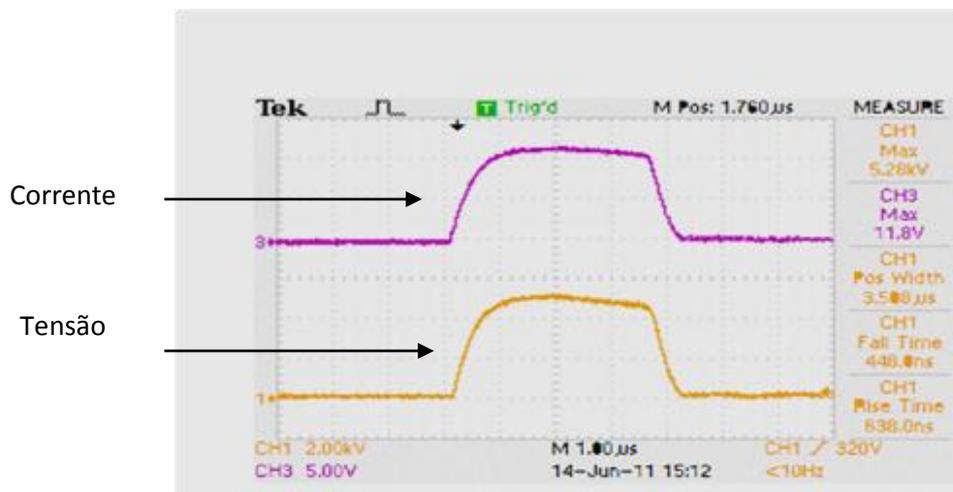


Figura 2.12: Formas de onda de corrente e tensão registradas em estudos experimentais (Retirado de [59])

No equivalente elétrico de uma célula biológica, a membrana pode ser modelada por um capacitor, já que a superfície da mesma possui camada dielétrica, com citoplasma condutivo, inserida num meio líquido condutivo. A duração do pulso mínima requerida para a membrana alcançar o valor crítico de tensão para início do processo de formação de poros é dada pela constante de carga da membrana, conforme Equação 2.10 [22]:

$$\tau = \left(\frac{\rho_1}{2} + \rho_2 \right) Ca \quad (2.10)$$

onde: ρ_1 é resistividade do meio líquido, ρ_2 é a resistividade do citoplasma celular, C é a capacitância da membrana por unidade de área e a é raio da célula.

Para bactérias com diâmetro de 1 μm , um valor típico de constante de carga é de 15ns [22].

2.4.1.2 Intensidade do Campo Elétrico Aplicado

A intensidade do campo elétrico aplicado no meio líquido em tratamento é um dos principais fatores que influenciam na eliminação de microorganismos [18]. A taxa de sobrevivência de microorganismos S diminui à medida que o campo elétrico aumenta, acima do potencial crítico da membrana. Alguns modelos matemáticos propostos na literatura descrevem a relação entre a intensidade do campo elétrico aplicado e a taxa de sobrevivência de microorganismos, conforme discutido na Seção 2.3.

2.4.1.3 Tempo de Tratamento

O tempo de tratamento é definido como o produto do número de pulsos pela duração de cada pulso. Um incremento em uma destas variáveis aumenta a taxa de eliminação de microorganismos [30], contudo um aumento do tempo de tratamento pode aumentar o consumo energético e a temperatura do meio líquido. O modelo matemático de Hülshager & Niemann relaciona diretamente o tempo de tratamento com a taxa de sobrevivência de microorganismos, enquanto no modelo proposto por Peleg, os parâmetros do modelo variam de acordo com o número de pulsos aplicado para uma dada duração de pulso.

2.4.1.4 Frequência

A faixa de frequência típica de um sistema por aplicação de pulsos de alta tensão para fins de esterilização é de 1 a 500 Hz [51]. Nos estudos experimentais extraídos da literatura para aplicação nas simulações computacionais, foi utilizada frequência de 1 Hz. O valor deste parâmetro foi mantido no modelo computacional proposto neste trabalho.

Em geral, a eficiência do sistema é independente da frequência para um mesmo número de pulsos aplicados, contudo a temperatura tende a aumentar à medida que a frequência aumenta, já que há uma redução do tempo de resfriamento do líquido, o que pode alterar as propriedades nutricionais do líquido em tratamento [51].

Em [53], é abordada a influência da frequência dos pulsos no potencial da membrana para uma ampla faixa de frequências. Para $f < 10^6$ Hz, o potencial diminui gradualmente de 0,95V para 0,92V. Na faixa de $10^6 < f < 10^8$ Hz, o potencial decresce abruptamente de 0,92V para 0,06V. Contudo, nota-se que a faixa de frequência a partir da qual este parâmetro tem influência no potencial da membrana é relativamente alta em comparação com a faixa de frequência utilizada para a aplicação da tecnologia abordada neste estudo.

2.4.2 Fatores Biológicos

2.4.2.1 Tipos de Microorganismos

As bactérias do tipo Gram-Positivo são mais resistentes à elevação do campo elétrico do que as bactérias do tipo Gram-Negativo, enquanto os fungos são mais sensíveis ao tratamento por aplicação de pulsos de alta tensão que as bactérias [15]. A Figura 2.13 mostra estruturas típicas de membranas de bactérias Gram-Positivo e Gram-Negativo. Nas bactérias do tipo Gram-Positivo, há uma parede com espessura maior contendo camadas de peptídeos e ácidos tecóicos, a qual é responsável por garantir maior resistência e rigidez a este tipo de bactéria. Nas bactérias do tipo Gram-Negativo, a parede de peptídeos tem uma espessura menor, sendo envolvida por camadas externas, separadas da parede central por uma estrutura com diferente composição química.

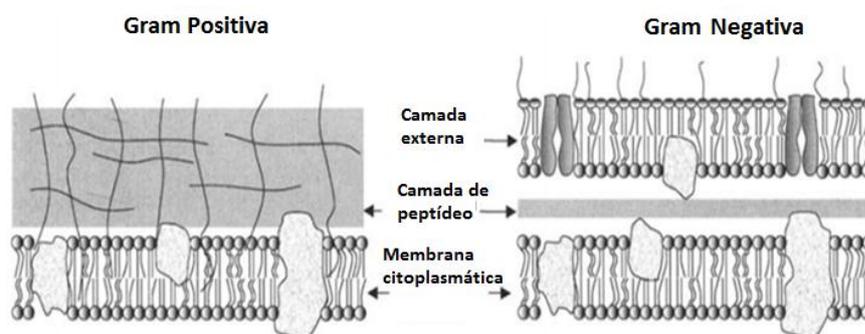


Figura 2.13: Estruturas de membranas das bactérias tipo Gram-Positivo e Gram-Negativo

(Adaptado de [23])

2.4.2.2 Tamanho e Fase de Crescimento

Para dadas condições de tratamento, a tensão induzida na célula é proporcional à geometria da mesma, conforme abordado na Seção 2.2. A figura 2.14

mostra um comparativo de tamanho entre três células: *E. coli*, *S. cerevisiae* e *S. aureus*, sendo as duas primeiras abordadas neste trabalho. O microorganismo *S. cerevisiae* é a maior entre as três células e apresenta a maior tensão induzida ao aplicar um determinado valor de campo elétrico. Por outro lado, o microorganismo *S. aureus* é menor que *E. coli* e conseqüentemente a tensão induzida sobre o mesmo é menor, resultando numa maior resistência ao tratamento.

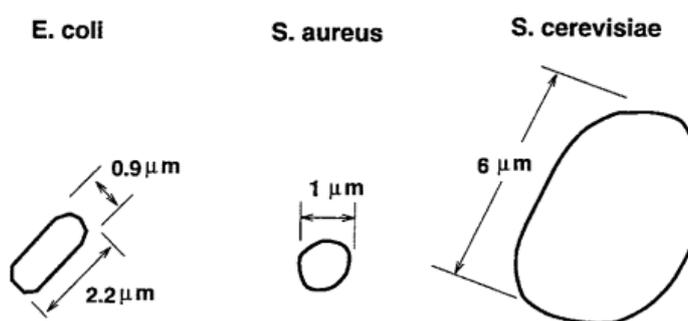


Figura 2.14: Geometrias típicas dos microorganismos *E. coli*, *S. Aureus* e *S. cerevisiae* (Retirado de [60])

Alguns estudos têm investigado a influência da fase de crescimento dos microorganismos na resistência ao tratamento por aplicação de pulsos de alta tensão. A influência no tratamento de pulsos de alta tensão em relação a células em diferentes fases de crescimento não foi observada por Sales e Hamilton [15]. Outros estudos indicaram que os microorganismos na fase de crescimento exponencial possuem maior sensibilidade ao tratamento do que os microorganismos na fase estacionária [17,31].

2.4.2.3 Temperatura de Incubação

Maior sensibilidade ao tratamento de células em cultura com temperaturas mais baixas foi reportada em [32]. As células incubadas a temperaturas de 4°C se mostraram mais sensíveis ao tratamento do que as células incubadas a 35°C, independente da fase de crescimento. As variações nas composições lipídicas das membranas celulares induzidas por crescimentos da temperatura podem ser a causa de diferentes sensibilidades ao tratamento.

2.4.2.4 Microorganismos *E. coli* e *S. cerevisiae*

O microorganismo *E. coli* é uma bactéria bastante comum. O seu habitat natural é o intestino dos seres humanos e de outros animais de sangue quente. Possui múltiplos flagelos dispostos em volta da célula. O tipo de *E. coli* O157:H7, de acordo com o “National Center for Disease Control and Prevention”, é a ameaça para os alimentos mais inquietante, relacionada com a saúde pública. Diferentemente de outros patógenos causadores de doenças veiculadas por alimentos (DVA), este tipo de *E. coli* é bastante crítica do ponto de vista de contaminação, já que uma quantidade microscópica pode causar enfermidade séria ou levar à morte [45].

O microorganismo *S. cerevisiae* é um tipo de fungo largamente utilizado em estudos de bioquímica, genética e biologia celular, de fácil manutenção e com conhecimento biológico bem desenvolvido. Este fungo possui aplicações benéficas em fermentação de bebidas, álcool e vinho. Porém, está relacionado também com alterações indesejáveis em alimentos, quando presente em alta concentração. Os microorganismos *E. coli* e *S. cerevisiae* são os dois microorganismos mais estudados na área de esterilização por aplicação de pulsos de alta tensão [47]. A bactéria *E. coli* (tipo Gram-Negativa) oferece uma maior resistência ao tratamento por aplicação de pulsos de alta tensão do que os fungos, tais como *S. cerevisiae*. As Figuras 2.15 e 2.16 apresentam ilustrações destes microorganismos.

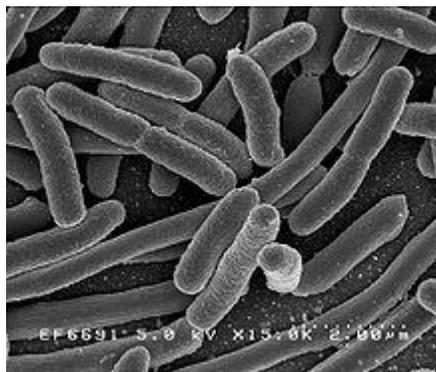


Figura 2.15: Visão microscópica da bactéria *E. coli* (Retirado de [48])

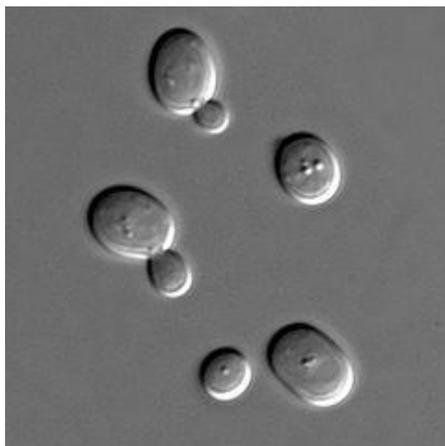


Figura 2.16: Visão microscópica do fungo *S. cerevisiae* (Retirado de [49])

2.4.3 Fatores do Meio Líquido

2.4.3.1 Condutividade Elétrica

O aumento da condutividade do meio diminui a magnitude do pulso e o tempo de descida do pulso aplicado aos eletrodos, devido à redução da constante RC do circuito elétrico equivalente formado pelo líquido e parâmetros da fonte de tensão e do aumento da queda de tensão sobre os componentes do circuito equivalente de conexão da fonte aos eletrodos. A redução do campo elétrico no líquido em tratamento, devido à redução da magnitude do pulso (aumento de condutividade), leva a uma redução da eficiência do sistema. A descida mais rápida do pulso também afeta de forma negativa a eficiência do sistema, já que leva a uma redução na duração do pulso. Em [33], um incremento na condutividade de 5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$, representou uma redução do campo elétrico em torno de 50% do valor original, conforme mostrado na Figura 2.17a, e uma redução em torno de 90% do tempo de descida do pulso, conforme Figura 2.17b. Neste estudo, houve um aumento de 10^{-5} para 10^{-2} na razão entre a concentração final e inicial de bactérias *E. coli*, ao aumentar a condutividade da água de 5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

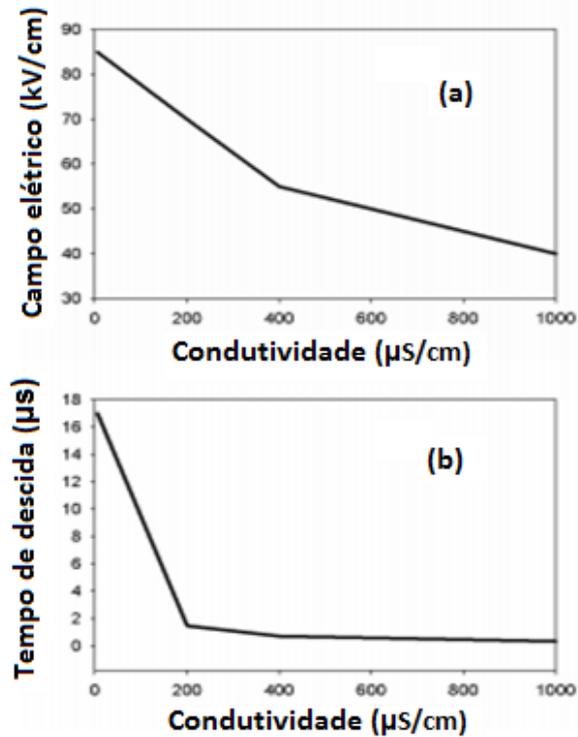


Figura 2.17: Efeito da condutividade do líquido sobre o campo elétrico e o tempo de descida do pulso retangular (Adaptado de [33])

Em [34], a razão entre a concentração final e inicial do microorganismo *L. Brevis*, após tratamento com 200 pulsos com campo elétrico aplicado de 25 kV/cm, aumentou de 10^{-5} para 10^{-4} ao aumentar a condutividade de 1620 μS para 2230 μS , através de alterações da concentração de cloreto de sódio.

2.4.3.2 pH do Meio Líquido

A influência do pH do meio líquido na taxa de sobrevivência de microorganismos tratados por aplicação de pulsos de alta tensão é um dos fatores que mais tem gerado controvérsia. Alguns autores têm observado que microorganismos são mais sensíveis ao tratamento em meios ácidos, enquanto outros estudos indicam que a influência o pH do meio não é significativa para alguns microorganismos.

Em [32] a influência do pH do meio foi correlacionado com o tipo de microorganismo. As Figuras 2.18 e 2.19 mostram os resultados da taxa de sobrevivência das bactérias *Bacillus subtilis* (Gram-positiva) e *E. coli* (Gram-negativa) dos estudos realizados em [32] para diferentes condições do meio líquido

(o - meio não seletivo: permite a recuperação do microorganismo; seletivo: ● - não permite a recuperação do microorganismo). Para meio seletivo, a taxa de sobrevivência de bactérias foi praticamente independente do pH do meio. Para meio não seletivo, a bactéria *Bacillus subtilis* (Gram-positiva) apresentou maior resistência à medida que o pH do meio foi aumentado, enquanto que a bactéria *E. coli* (Gram-negativa) apresentou maior resistência para pH mais baixos (meio ácido). A diferença de sensibilidade entre os tipos de bactérias Gram-negativo e Gram-positivo para diferentes valores de pH pode ser explicada por diferentes alterações químicas nas composições das membranas em função do pH do meio.

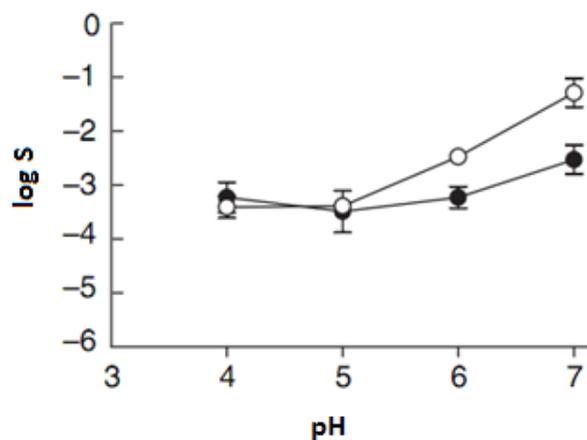


Figura 2.18: Taxa de sobrevivência para *B. subtilis* (Gram-positiva) x pH do meio (Adaptado de [32])

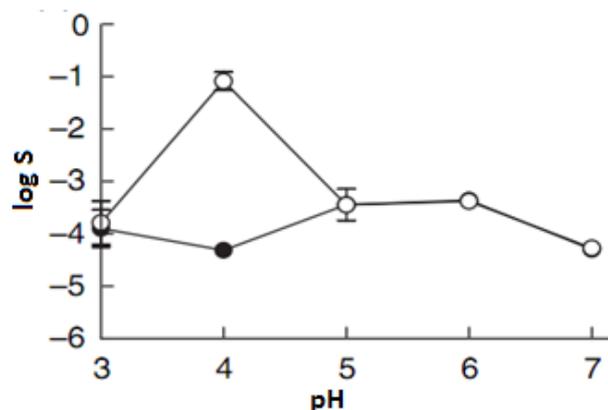


Figura 2.19: Taxa de sobrevivência para *E. coli* (Gram-negativa) x pH do meio (Adaptado de [32])

Em [33], após tratamento com campo elétrico aplicado de 25 kV/cm e tempo de tratamento de 800 μ s, a taxa de sobrevivência (relação percentual entre a

concentração final e concentração inicial) da bactéria *L. Innocua* (Gram-positiva), reduziu de $3,3 \cdot 10^{-2}$ para $8,1 \cdot 10^{-6}$ ao reduzir o pH do meio de 6.6 para 3.8. Porém, neste mesmo estudo a redução de pH não teve influência na concentração final de bactérias do tipo *E. coli* (Gram-negativa).

2.4.3.1 Temperatura do Meio

A filosofia do tratamento por aplicação de pulsos de alta tensão está relacionada à eliminação de microorganismos em temperaturas não letais aos microorganismos, com a finalidade de evitar a alteração de propriedades do líquido em tratamento. Contudo, efeitos letais para os microorganismos tratados por aplicação de alta tensão aumentam com o aumento da temperatura [37]. O aumento da taxa de eliminação de microorganismos com a temperatura pode estar relacionado com a redução do campo elétrico crítico com o aumento da temperatura. Em [38], foi observada uma redução do campo elétrico crítico teórico da bactéria *E. coli* de 8 kV/cm para 5 kV/cm, ao realizar o experimento com temperatura do líquido de 42°C. Em [28], a resistência ao tratamento da bactéria *E. coli* foi avaliada para a faixa de temperatura de 10 a 42 graus. As bactérias submetidas a um tempo de tratamento de 50µs tiveram uma maior sensibilidade ao tratamento com temperatura de 42°C em comparação com temperaturas de 10°C, 20°C, 30°C e 37°C. Contudo, quando submetidas ao tratamento em 100µs, as sensibilidades foram similares, com exceção da resposta para temperatura em 10°C (sensibilidade mais baixa).

Apesar de existir uma sinergia entre o efeito térmico e o tratamento por pulsos de alta tensão em relação à eficiência de esterilização, alterações nas propriedades do líquido devido ao efeito térmico afetam a qualidade do tratamento.

2.5 Estado da Arte

O crescimento da indústria de sucos, leites e seus derivados nos últimos anos aumentou o interesse dos fabricantes no projeto de equipamentos industriais na tecnologia de aplicação de pulsos de alta tensão, devido aos seus atrativos no que se refere ao menor consumo energético e menor influência na qualidade dos produtos em relação ao tratamento térmico convencional. Porém, ainda há alguns

limitantes que dificultam a implementação destes sistemas em um nível comercial, conforme relacionado abaixo:

- A tecnologia é restrita a aplicações em líquidos de baixas condutividades, já que o campo elétrico diminui à medida que a condutividade aumenta, reduzindo a eficiência do sistema [1];

- Alguns tipos de bactérias, tais como “bactérias spores”, são mais resistentes ao tratamento do que outras. A causa da maior tolerância destas bactérias a campos elétricos de alta intensidade ainda está sendo explorada [1,64];

- Efeitos eletroquímicos devido a reações dos materiais metálicos dos eletrodos com o líquido ou reações eletroquímicas induzidas podem contaminar o produto em tratamento. Pulsos de alta tensão de menor duração minimizam a degradação dos eletrodos, já que neste caso o intervalo de tempo não é suficiente para que o nível de potencial na região entre o metal e o líquido alcance o valor limite para dar início à reação [1];

- Diferentes metodologias, padronizações e diversidade de condições utilizadas nos experimentos, dificultam a formação de uma base de dados científica consistente;

- Alto investimento inicial é necessário para aquisição de equipamentos em relação aos sistemas convencionais, apesar de que há um ganho em relação ao custo operacional [1];

- A eficiência é mais baixa para produtos não ácidos [64].

O uso combinado do tratamento com aplicação de pulsos elétricos de alta tensão com outras tecnologias tem se mostrado uma tendência. A utilização em conjunto com outros tratamentos emergentes não térmicos (alta pressão hidrostática, radiação ultravioleta e outros) ou compostos químicos antimicrobianos, pode potencializar a eliminação de microorganismos. Além disso, a utilização simultânea com o tratamento térmico convencional permite a redução da necessidade de calor aplicado, minimizando seus efeitos indesejáveis [39, 64].

Na Europa há várias Empresas atuando em pesquisas e em adequações da tecnologia para aplicações industriais, tais como: DIL, Scandi-Nova, OMVE, DTI e KEA-TEC [64].

2.6 Considerações Finais

Este capítulo apresentou uma visão geral da tecnologia de pulsos de alta tensão para esterilização de líquidos sob vários aspectos. Este trabalho associa alguns fatores abordados neste capítulo para as análises de eficiência de um sistema de esterilização, tais como: os modelos de predição, número de pulsos e distribuição do campo elétrico. O próximo capítulo aborda os conceitos do Método dos Elementos Finitos aplicados no cálculo da solução aproximada da distribuição de campo elétrico dentro da câmara de tratamento.

Método dos Elementos Finitos Aplicado ao Cálculo de Campo Elétrico no Interior da Câmara de Tratamento

3.1 Introdução

A resposta de um sistema de tratamento de líquidos por aplicação de pulsos de alta tensão está relacionada ao problema de cálculo de campo elétrico no interior da câmara de tratamento, já que a distribuição do mesmo, em conjunto com as propriedades intrínsecas do meio e do microorganismo em tratamento, definem a eficiência do sistema. Através do Método dos Elementos Finitos é possível calcular a distribuição de campo elétrico com boa precisão, através de uma modelagem adequada da câmara de tratamento.

O Método dos Elementos Finitos consiste em diferentes métodos numéricos que aproximam a solução de problemas de valor de fronteira descritos tanto por equações diferenciais ordinárias quanto por equações diferenciais parciais através da subdivisão da geometria do problema em elementos menores, chamados elementos finitos, nos quais a aproximação da solução exata pode ser obtida por interpolação de uma solução aproximada [57].

Este Capítulo apresenta os fundamentos do Método dos Elementos Finitos, baseado na aplicação do Método de Galerkin. Os conceitos explorados foram aplicados na implementação do código em Matlab[®] para a determinação da distribuição de campo elétrico em 3D nas geometrias de eletrodos propostas para o tratamento por aplicação de pulsos de alta tensão deste estudo.

3.2 Caracterização do Meio quanto à Condução de Corrente Elétrica

A menor ou maior capacidade de um meio permitir o movimento de cargas elétricas é medida pela mobilidade das cargas elétricas em comparação com a duração do campo eletromagnético aplicado. Diante disso, define-se [61]:

$$\frac{\sigma}{\omega\varepsilon} \geq 100 \text{ (meio condutor)}$$

$$\frac{\sigma}{\omega\varepsilon} \leq 100 \text{ (meio dielétrico)}$$

$$\frac{1}{100} < \frac{\sigma}{\omega\varepsilon} < 100 \text{ (meio quase condutor)} \quad (3.1)$$

onde: $\omega=2\pi f$ é a frequência angular (rad/s); σ : condutividade; ε : permissividade.

Nas diferentes simulações do presente estudo, o meio foi considerado condutor.

3.3 Modelagem Estática

Nas simulações do presente estudo, os pulsos de alta tensão repetitivos aplicados aos eletrodos contêm as seguintes especificações:

- Forma de onda quadrada (ideal)
- Duração do pulso: $2\mu\text{s}$
- Frequência do trem de pulsos: 1Hz

A amplitude do pulso é limitada em função do campo máximo no interior do líquido, conforme será abordado no Capítulo 4. Como não há variação temporal da tensão aplicada e conseqüentemente do campo elétrico durante a aplicação do pulso de $2\mu\text{s}$, o cálculo de campo elétrico pelo Método dos Elementos Finitos é realizado sob o regime estático durante o tempo de aplicação do pulso.

3.4 Etapas do Método dos Elementos Finitos

3.4.1 Pré-processamento

A etapa de pré-processamento do Método dos Elementos Finitos compreende as seguintes sub-etapas: definição do problema, geometria, características dos materiais, condições de contorno e domínio; discretização e divisão do domínio em elementos, podendo ser de uma, duas ou três dimensões. Os pontos de interseção das linhas que descrevem os lados dos elementos são denominados nós e os lados são chamados de linhas ou planos nodais.

O programa NETGEN[®] foi utilizado para gerar a malha 3D dos sólidos neste estudo. Este software é um gerador de malhas 2D e 3D de código aberto. Em 3D, os dados para construção do sólido são introduzidos no formato de arquivo STL (Standard Tessellation Language).

3.4.2 Processamento

A etapa de processamento do método dos elementos finitos consiste em: escolhas e ajustes das funções de aproximação para solução das equações dos elementos por algum método variacional, tal como o Método de Galerkin, aplicado a este estudo; montagem da matriz global **K** a partir das contribuições individuais das matrizes dos elementos que compõe o domínio; inserção das condições iniciais e de contorno nas matrizes **K** e **F** (vetor de fontes); solução da equação matricial **KU=F**, onde **U** é o vetor de incógnitas (potenciais nos nós, no caso deste estudo) e cálculo do campo elétrico em cada elemento a partir dos potenciais dos nós.

3.4.3 Pós-processamento

Na etapa de pós-processamento os resultados são visualizados e variáveis secundárias pertinentes ao problema são calculadas. No presente estudo, os cálculos de eficiência de esterilização, densidade de energia e temperatura são realizados nesta etapa, em função do campo elétrico em cada elemento, determinado na etapa de processamento, e de parâmetros dos modelos de predição aplicados ao estudo.

3.5 Formas de Resolução

No Método dos Elementos Finitos, existem duas formas de resolução dos problemas descritos por equações diferenciais ordinárias e equações diferenciais parciais: “forma forte” e “forma fraca”.

A “forma forte” se baseia na resolução direta das equações e suas condições de contorno. As funções que definem as variáveis do problema devem ser diferenciáveis pelo menos até a ordem da equação diferencial que define o problema. No caso de problemas de segunda ordem, a solução pela “forma forte” irá

requerer derivadas de segunda ordem. A solução exata pela forma forte é, em geral, difícil e limitada a casos especiais.

A “forma fraca” é obtida a partir da “forma forte” através da aplicação de algum método para transformação, tal como o método dos resíduos ponderados, descrito adiante. A “forma fraca” não requer derivada contínua para problemas de segunda ordem, citado acima como restrição para soluções obtidas diretamente pela “forma forte”.

3.6 Método dos Resíduos Ponderados

A intensidade de campo elétrico está relacionada com o potencial escalar V através da Equação 3.2:

$$\mathbf{E} = -\nabla V \quad (3.2)$$

onde: ∇ é o operador nabla, definido por $\left(\frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z}\right)$

A densidade de corrente \mathbf{J} está relacionada com o campo elétrico \mathbf{E} através da Equação 3.3:

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E} \quad (3.3)$$

onde: σ representa a condutividade elétrica do meio

A Equação 3.3, a qual expressa a Lei de Ohm na forma diferencial, será desenvolvida para obtenção da forma forte:

$$\nabla \mathbf{J} = \frac{-\partial \rho}{\partial t} \quad (3.4)$$

onde: $\frac{-\partial \rho}{\partial t}$ é a variação temporal da densidade de carga volumétrica no domínio.

Substituindo as Equações 3.2 e 3.3 na Equação 3.4, tem-se que:

$$\nabla(\sigma \nabla V) = \frac{\partial \rho}{\partial t} \quad (3.5)$$

A Equação 3.5 (forma forte) é denominada Equação de Poisson para meios condutivos. O Método dos Resíduos Ponderados consiste na solução não

exata da equação que representa a forma forte, a partir do cálculo de um resíduo mínimo, conforme segue:

$$\nabla(\sigma \nabla V) - \left(\frac{\partial \rho}{\partial t}\right) = R \quad (3.6)$$

onde: R representa o resíduo gerado pela solução não exata da Equação.

Quanto mais o resíduo se aproxima de zero, mais a solução pelo Método dos Elementos Finitos se aproxima da solução analítica. Para que o resíduo se aproxime de zero, é aplicada a função peso ω ao resíduo gerado sobre todos os elementos do domínio Ω , conforme Equação 3.7.

$$\int_{\Omega} \omega R d\Omega = 0 \quad (3.7)$$

Substituindo o resíduo R pela Equação 3.6, tem-se que:

$$\int_{\Omega} \omega [\nabla(\sigma \nabla V) - \frac{\partial \rho}{\partial t}] d\Omega = 0 \quad (3.8)$$

A partir da propriedade do divergente $\nabla(UA) = U\nabla A + \nabla UA$, tem-se que:

$$U\nabla A = \nabla(UA) - \nabla UA \quad (3.9)$$

$$\int_{\Omega} U\nabla A d\Omega = \int_{\Omega} \nabla(UA) d\Omega - \int_{\Omega} \nabla UA d\Omega \quad (3.10)$$

Aplicando o teorema da divergência no termo $\int_{\Omega} \nabla(UA) d\Omega$ da Equação 3.10:

$$\int_{\Omega} \nabla(UA) d\Omega = \int_{S(\Omega)} UA ds \quad (3.11)$$

Substituindo na Equação 3.10, tem-se que:

$$\int_{\Omega} U\nabla A d\Omega = \int_{S(\Omega)} UA ds - \int_{\Omega} \nabla UA d\Omega \quad (3.12)$$

onde: $S(\Omega)$ é a superfície que delimita o domínio Ω .

Fazendo $U = \omega$ e $A = \sigma \nabla V$ na Equação 3.8, a mesma pode ser escrita em função da Equação 3.12 da seguinte forma:

$$\int_{S(\Omega)} \omega \sigma \nabla V \cdot ds - \int_{\Omega} \sigma \nabla V \nabla \omega d\Omega - \int_{\Omega} \omega \frac{\partial \rho}{\partial t} d\Omega = 0 \quad (3.13)$$

A Equação 3.13 é a forma fraca do problema. A função peso ω se anula nos pontos em que as condições de contorno de Dirichlet são definidas, o que elimina o primeiro termo da Equação 3.13. Assumindo que não há acúmulo de cargas no interior da câmara de tratamento, temos que $\rho=0$ para qualquer t . A forma fraca do problema se resume a:

$$\int_{\Omega} \sigma \nabla V \nabla \omega d\Omega = 0 \quad (3.14)$$

3.7 Condições de Contorno

As condições de contorno estão relacionadas com a integral $\int_{S(\Omega)} \omega \sigma \nabla V \cdot ds$ na composição da Equação 3.13. Existem dois tipos fundamentais de condição de contorno: condição de contorno de Dirichlet e condição de contorno de Neumann.

3.7.1 Condição de Contorno de Dirichlet

Esta condição especifica os valores da solução em determinadas regiões do domínio. Uma particularidade das condições de Dirichlet é que a função peso ω se anula nos pontos em que as mesmas estão definidas. No sistema abordado neste trabalho, as condições de Dirichlet são aplicadas nas regiões dos eletrodos energizado e aterrado. Conforme mostrado na figura 3.1, o potencial V_0 é aplicado ao eletrodo energizado e o outro eletrodo é aterrado. O potencial V_0 neste estudo é limitado pelo valor máximo de campo elétrico permitido no líquido em tratamento.

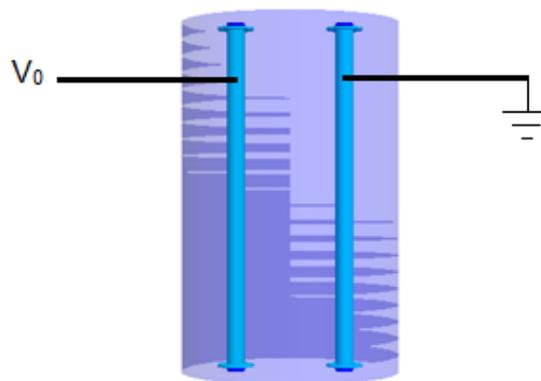


Figura 3.1: Potenciais elétricos dos eletrodos na câmara de tratamento

3.7.2 Condição de Contorno de Neumann

Diferentemente das condições de contorno de Dirichlet, as quais são impostas, nenhuma restrição matemática é imposta aos contornos associados às condições de Neumann, já que se trata de uma condição natural. Esta condição é expressa por:

$$\frac{\partial V}{\partial n} = 0 \quad (3.15)$$

onde: \mathbf{n} representa o vetor unitário normal à fronteira onde está definida a condição de Neumann e $\frac{\partial V}{\partial n}$ é a taxa de variação do potencial V ao longo da direção normal externa à fronteira.

3.8 Aproximação por Elementos Finitos

Para solução da Equação 3.14 (forma fraca), o domínio é discretizado em elementos, resultando em uma malha com n pontos nodais. São utilizadas aproximações do tipo:

$$V = \sum_{j=1}^n d_j N_j \quad (3.16)$$

$$\omega = \sum_{i=1}^n c_i \phi_i \quad (3.17)$$

onde: N_j e ϕ_i são funções de interpolação para V e ω , respectivamente; c_j são os coeficientes da equação da função peso e d_j são as incógnitas do problema, conforme será abordado adiante.

3.8.1 Caso Unidimensional

A Figura 3.2 apresenta a discretização do domínio em $(n-1)$ elementos lineares para o caso unidimensional:

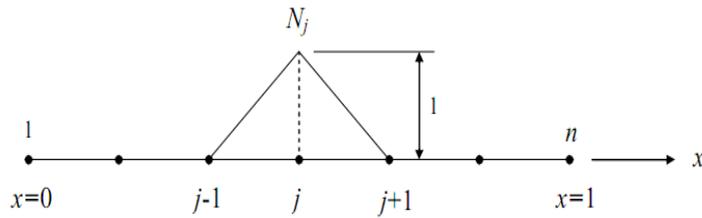


Figura 3.2: Discretização unidimensional em elementos lineares (Retirado de [40])

As funções de interpolação N_j , para o caso unidimensional, são definidas para cada nó j , de forma que:

$$N_j(x) = \begin{cases} 1, & \text{para } x = x_j \\ 0, & \text{para } x = x_i \text{ (} i \neq j \text{)} \end{cases} \quad (3.18)$$

$$N_j(x) = \begin{cases} -\frac{x-x_j}{(x_{j+1}-x_j)} + 1, & x_j \leq x \leq x_{j+1} \\ \frac{x-x_{j-1}}{(x_{j+1}-x_j)}, & x_{j-1} \leq x \leq x_j \end{cases} \quad (3.19)$$

No Método de Galerkin, caso particular do Método do Método dos Resíduos Ponderados, a função de interpolação ϕ_i (Equação 3.17) é igual à função N_i (Equação 3.16). Considerando $\phi_i = N_i$ e substituindo V e ω na forma “fraca” do problema (Equação 3.14), a mesma pode ser escrita na forma discretizada como:

$$\sum_{i=1}^n c_i \sum_{j=1}^n d_j \sigma \int_{x=x_i}^{x=x_f} \frac{\partial N_i}{\partial x} \frac{\partial N_j}{\partial x} dx = 0 \quad (3.20)$$

As constantes c_i são arbitrárias. Fazendo $c_i=1$ e $c_j=0$, para $j \neq i$ e $i=1 \dots n$, um sistema de n equações algébricas na forma discretizada é obtido, conforme segue:

$$\sum_{j=1}^n (\sigma \int_{x=x_i}^{x=x_f} \frac{\partial N_i}{\partial x} \frac{\partial N_j}{\partial x} dx) d_j = 0 \quad i = 1 \dots n \quad (3.21)$$

O sistema representado pela Equação 3.21 pode ser escrito da seguinte forma:

$$\sum_{i=1}^n K_{ij} d_j \quad i = 1 \dots n \quad (3.22)$$

onde: $K_{ij} = \sigma \int_{x=x_i}^{x=x_f} \frac{\partial N_i}{\partial x} \frac{\partial N_j}{\partial x} dx$

A matriz K^{el} de cada elemento para o caso unidimensional é dada por:

$$K^{el} = \begin{pmatrix} k_{11} & k_{12} \\ k_{21} & k_{22} \end{pmatrix} \quad (3.23)$$

Onde: el é o número do elemento

A Equação geral na forma matricial pode ser escrita como:

$$\mathbf{K}\mathbf{U}=\mathbf{F} \quad (3.24)$$

onde:

$$\mathbf{K} = \begin{pmatrix} K_{11} & \cdots & K_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ K_{n1} & \cdots & K_{nn} \end{pmatrix} \quad \mathbf{F} = \begin{bmatrix} f_1 \\ \vdots \\ f_n \end{bmatrix} \quad \mathbf{U} = \begin{bmatrix} d_1 \\ \vdots \\ d_n \end{bmatrix}$$

O vetor \mathbf{U} contém os valores nodais de tensão (incógnitas da equação matricial). A matriz \mathbf{K} é a matriz global do sistema (simétrica e esparsa) e \mathbf{F} é o vetor de fontes nodais. No caso do sistema em estudo, devido às condições de contorno, tem-se que $\mathbf{F}=\mathbf{0}$, já que não há outras fontes geradoras de campo elétrico no sistema, além dos potenciais impostos pelas condições de Dirichlet.

Para montagem da matriz global ($n \times n$), utilizando a metodologia clássica, cada componente de cada matriz de elementos é somado em uma posição específica na matriz global. Seja a matriz de um elemento arbitrário $el=2$ associado aos nós 2 e 3. Os componentes desta matriz de elementos \mathbf{K}^2 são referenciados aos componentes da matriz global conforme mostrado em 3.25. O componente k_{11}^2 da matriz de elementos é somado ao elemento K_{22} da matriz global, já que está referenciado duplamente ao nó 2 (linha e coluna). A mesma sistemática é aplicada aos demais elementos da matriz \mathbf{K}^2 .

$$\mathbf{K}^2 = \begin{pmatrix} \begin{matrix} 2 & 3 \end{matrix} \\ \begin{matrix} k_{11}^2 & k_{12}^2 \\ k_{21}^2 & k_{22}^2 \end{matrix} \\ \begin{matrix} 2 \\ 3 \end{matrix} \end{pmatrix} \quad (3.25)$$

Cada componente da matriz de elementos \mathbf{K}^2 é somado ao componente correspondente na matriz global, conforme mostrado em 3.26.

$$\begin{pmatrix}
 K_{11} & K_{12} & 0 & \dots & \dots & \dots & 0 \\
 K_{21} & K_{22} & K_{23} & 0 & \dots & \dots & 0 \\
 0 & K_{32} & K_{33} & K_{34} & 0 & \dots & 0 \\
 \vdots & 0 & K_{43} & \ddots & \dots & 0 & \vdots \\
 \vdots & \vdots & 0 & \dots & \ddots & \dots & 0 \\
 \vdots & \vdots & \vdots & 0 & \dots & \ddots & \dots \\
 0 & \dots & \dots & 0 & 0 & \dots & K_{nn}
 \end{pmatrix} + \mathbf{K}^2 = \begin{pmatrix} k_{11}^2 & k_{12}^2 \\ k_{21}^2 & k_{22}^2 \end{pmatrix} \quad (3.26)$$

3.8.2 Caso Bidimensional

Em duas dimensões, a aproximação por elementos finitos é, conceitualmente, similar ao caso unidimensional. São utilizados elementos triângulos ou quadriláteros para fracionar a geometria em elementos finitos. Um elemento triangular é mostrado na Figura 3.3. Os pontos 1 a 3 são os nós do elemento.

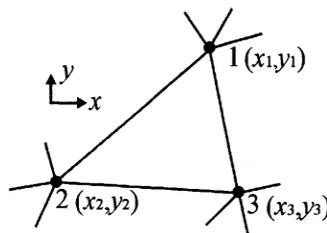


Figura 3.3: Elemento triangular da malha de elementos finitos em duas dimensões (Retirado de [41])

As funções de interpolação para a malha de elementos triangulares, determinadas a partir das coordenadas baricêntricas do triângulo, são:

$$\begin{aligned}
 N_1 &= \frac{A_1}{A_e} = \frac{1}{2A_e} [(x_2 y_3 - x_3 y_2) + (y_2 - y_3)x + (x_3 - x_2)y] \\
 N_2 &= \frac{A_2}{A_e} = \frac{1}{2A_e} [(x_3 y_1 - x_1 y_3) + (y_3 - y_1)x + (x_1 - x_3)y] \\
 N_3 &= \frac{A_3}{A_e} = \frac{1}{2A_e} [(x_1 y_2 - x_2 y_1) + (y_1 - y_2)x + (x_2 - x_1)y] \\
 A_e &= \frac{1}{2} [(x_2 y_3 - x_3 y_2) + (x_3 y_1 - x_1 y_3) + (x_1 y_2 - x_2 y_1)] \quad (3.27)
 \end{aligned}$$

onde: A_1 , A_2 e A_3 representam as áreas relativas a cada vértice definidas pelo baricentro do triângulo e A_e representa a área total do triângulo.

Em qualquer ponto do triângulo, é válida a seguinte relação:

$$\sum_{j=1}^3 N_j = 1 \quad (3.28)$$

A matriz 3x3 de cada elemento triangular da malha é dada por:

$$\begin{pmatrix} K_{11} & K_{12} & K_{13} \\ K_{21} & K_{22} & K_{23} \\ K_{31} & K_{32} & K_{33} \end{pmatrix} \quad (3.29)$$

onde: $K_{ij} = \int_{\Omega} \sigma \nabla N_i \nabla N_j d\Omega$

Seja um caso hipotético de malha com 3 elementos triangulares, conforme abaixo:

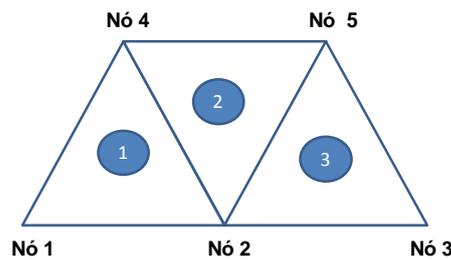


Figura 3.4: Malha hipotética com três elementos triangulares

Adotando o sentido anti-horário em cada elemento, visando uma orientação consistente para a malha, a matriz \mathbf{S} de conectividade dos nós pode ser escrita conforme Equação 3.27, onde cada linha i da matriz ($i=1,2,3$) representa o conjunto de nós de cada elemento:

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} 1 & 2 & 4 \\ 2 & 5 & 4 \\ 2 & 3 & 5 \end{pmatrix} \quad (3.30)$$

A matriz de elementos para $i=1$, composta pelos nós 1, 2 e 4, possui a composição mostrada em 3.29. Os subíndices dos componentes da matriz indicam a conectividade entre os nós do elemento e os sobreíndices representam o elemento a que se refere. Por exemplo, o componente $K_{13}^{(1)} = \int_{\Omega} \sigma \nabla N_1 \nabla N_3 d\Omega$, onde ∇N_1 e ∇N_3

representam o gradiente das funções de interpolação N_1 e N_3 nos pontos onde estão definidos o primeiro e terceiro nós do elemento 1 (nós 1 e 4, respectivamente), e Ω a área do triângulo.

$$\begin{pmatrix} K_{11}^{(1)} & K_{12}^{(1)} & K_{13}^{(1)} \\ K_{21}^{(1)} & K_{22}^{(1)} & K_{23}^{(1)} \\ K_{31}^{(1)} & K_{32}^{(1)} & K_{33}^{(1)} \end{pmatrix} \quad (3.31)$$

Adotando a mesma sistemática para os elementos **2** e **3**, tem-se que:

$$\begin{pmatrix} K_{11}^{(2)} & K_{12}^{(2)} & K_{13}^{(2)} \\ K_{21}^{(2)} & K_{22}^{(2)} & K_{23}^{(2)} \\ K_{31}^{(2)} & K_{32}^{(2)} & K_{33}^{(2)} \end{pmatrix} \quad (3.32)$$

$$\begin{pmatrix} K_{11}^{(3)} & K_{12}^{(3)} & K_{13}^{(3)} \\ K_{21}^{(3)} & K_{22}^{(3)} & K_{23}^{(3)} \\ K_{31}^{(3)} & K_{32}^{(3)} & K_{33}^{(3)} \end{pmatrix} \quad (3.33)$$

A matriz global 5×5 ($n \times n$, onde n representa o número de nós), é obtida a partir das contribuições individuais dos componentes das matrizes de elementos.

3.8.3 Caso Tridimensional

A modelagem por elementos finitos em 3D aplicada ao presente trabalho utiliza elementos volumétricos tetraedros para formação da malha. A opção pela

malha em 3D neste trabalho é devido à impossibilidade de obter simetria 2D em toda a câmara de tratamento. O elemento tetraedro generico é ilustrado na Figura 3.5.

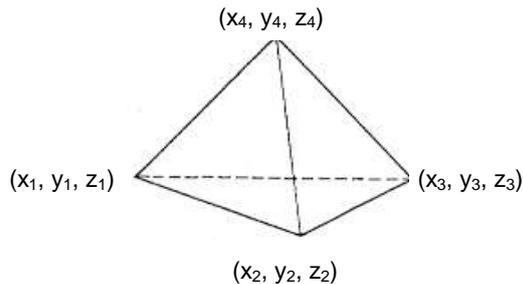


Figura 3.5: Elemento tetraedro da malha de elementos finitos em três dimensões

As funções de interpolação para 3D são obtidas a partir das coordenadas baricentricas do tetraedro, conforme segue:

$$N_1 = \frac{V_1}{V}; N_2 = \frac{V_2}{V}; N_3 = \frac{V_3}{V}; N_4 = \frac{V_4}{V} \quad (3.34)$$

onde: V_1, V_2, V_3, V_4 representam os volumes relativos a cada vértice definidos pelo baricentro do tetraedro e V é o volume total do tetraedro.

De forma análoga ao caso bidimensional, em 3D a seguinte propriedade é válida em qualquer ponto do elemento volumétrico:

$$\sum_{j=1}^4 N_j = 1 \quad (3.35)$$

A transformação de coordenadas de um sistema de coordenadas cartesianas xyz , denominado sistema global de referência, para o sistema de coordenadas rst , denominado sistema local, é utilizada na implementação do código de elementos finitos. A vantagem em utilizar um sistema local está relacionada com a mudança dos limites de integração nas expressões para cálculo de k_{ij} das matrizes de elementos, reduzindo a complexidade de cálculo das integrais e levando a um ganho computacional considerável. A transformação de coordenadas que mapeia um elemento tridimensional em um domínio regular de coordenadas naturais pode ser traduzida pelas seguintes relações:

$$\begin{cases} x = f_1(r, s, t) \\ y = f_2(r, s, t) \\ z = f_3(r, s, t) \end{cases} \leftrightarrow \begin{cases} r = g_1(x, y, z) \\ s = g_2(x, y, z) \\ t = g_3(x, y, z) \end{cases} \quad (3.36)$$

A Tabela 3.1 relaciona os valores genéricos em cada nó no sistema xyz com os respectivos valores no sistema rst , além dos valores das funções de interpolação para cada nó:

Tabela 3.1: Coordenadas (xyz), (rst) e valores das funções de interpolação em cada nó

Nó	Sistemaxyz	Sistema rst	(N_1, N_2, N_3, N_4)
1	(x_1, y_1, z_1)	(0,0,0)	(1,0,0,0)
2	(x_2, y_2, z_2)	(1,0,0)	(0,1,0,0)
3	(x_3, y_3, z_3)	(0,1,0)	(0,0,1,0)
4	(x_4, y_4, z_4)	(0,0,1)	(0,0,0,1)

As funções de interpolação que atendem os valores de N_1, N_2, N_3, N_4 da Tabela 3.1 no sistema de coordenadas rst, são dadas por:

$$\begin{aligned}
 N_1 &= 1 - r - s - t \\
 N_2 &= r \\
 N_3 &= s \\
 N_4 &= t
 \end{aligned} \tag{3.37}$$

As coordenadas (x, y, z) de um ponto arbitrário dentro do volume tetraedro são escritas em função de (r, s, t) como:

$$\begin{aligned}
 x &= x_1(1 - r - s - t) + x_2r + x_3s + x_4t \\
 y &= y_1(1 - r - s - t) + y_2r + y_3s + y_4t \\
 z &= z_1(1 - r - s - t) + z_2r + z_3s + z_4t
 \end{aligned} \tag{3.38}$$

Desenvolvimento a Equação 3.38, tem-se que:

$$\begin{aligned}
 x &= (x_2 - x_1)r + (x_3 - x_1)s + (x_4 - x_1)t + x_1 \\
 y &= (y_2 - y_1)r + (y_3 - y_1)s + (y_4 - y_1)t + y_1 \\
 z &= (z_2 - z_1)r + (z_3 - z_1)s + (z_4 - z_1)t + z_1
 \end{aligned} \tag{3.39}$$

A matriz formada pelos coeficientes das equações de x, y e z em 3.39, é denominada de matriz Jacobiana (**J**):

$$\mathbf{J} = \begin{pmatrix} (x_2 - x_1) & (x_3 - x_1) & (x_4 - x_1) \\ (y_2 - y_1) & (y_3 - y_1) & (y_4 - y_1) \\ (z_2 - z_1) & (z_3 - z_1) & (z_4 - z_1) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\partial x}{\partial r} & \frac{\partial x}{\partial s} & \frac{\partial x}{\partial t} \\ \frac{\partial y}{\partial r} & \frac{\partial y}{\partial s} & \frac{\partial y}{\partial t} \\ \frac{\partial z}{\partial r} & \frac{\partial z}{\partial s} & \frac{\partial z}{\partial t} \end{pmatrix} \quad (3.40)$$

Para o problema de cálculo de campo elétrico em meio condutivo em 3D, a matriz dos elementos pode ser expressa em termos do Jacobiano, através da seguinte relação:

$$K_{ij}^{(e)} = \sigma \mathbf{B} \mathbf{B}^T \left(\frac{1}{6} \right) \det(\mathbf{J}) \quad (3.41)$$

onde: $\mathbf{B} = \mathbf{J}^{-1} \nabla N_i$

$$\nabla N_i = \begin{pmatrix} \frac{\partial N_1}{\partial r} & \frac{\partial N_2}{\partial r} & \frac{\partial N_3}{\partial r} & \frac{\partial N_4}{\partial r} \\ \frac{\partial N_1}{\partial s} & \frac{\partial N_2}{\partial s} & \frac{\partial N_3}{\partial s} & \frac{\partial N_4}{\partial s} \\ \frac{\partial N_1}{\partial t} & \frac{\partial N_2}{\partial t} & \frac{\partial N_3}{\partial t} & \frac{\partial N_4}{\partial t} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -1 & 1 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & 1 & 0 \\ -1 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (3.42)$$

De maneira análoga aos casos unidimensional e bidimensional, a matriz global é montada a partir das contribuições individuais dos componentes das matrizes de elementos.

O vetor campo elétrico em cada elemento tetraedro é dado pela relação:

$$\mathbf{E} = -\mathbf{B} \mathbf{D} \quad (3.43)$$

onde: \mathbf{D} é o vetor solução com os potenciais elétricos dos nós de cada tetraedro.

3.9 Considerações Finais

A distribuição de campo elétrico gerada, com base nos conceitos explorados neste capítulo, é aplicada nos modelos de predição para análise da eficiência do sistema de esterilização. O próximo capítulo aborda o modelo computacional e a metodologia aplicada para estimativa desta eficiência.

Modelagem Computacional

4.1 Introdução

O projeto de sistemas de aplicação de pulsos de alta tensão para fins de esterilização requer o desenvolvimento de modelos matemáticos que possibilitem prever a eliminação de bactérias e outros microorganismos. Estes modelos são essenciais para análise e controle de pontos críticos de um sistema, principalmente em sua fase de projeto [42].

Neste Capítulo, é introduzida a modelagem computacional e a metodologia utilizada para cálculo de campo elétrico e estimativas da eficiência do sistema, a partir de dados experimentais da literatura e da aplicação dos modelos de predição abordados.

4.2 Visão Geral do Modelo Computacional

O sistema de esterilização composto por um par de eletrodos, recipiente, meio líquido, microorganismo e fonte de alta tensão, foi modelado visando o cálculo de campo elétrico e a estimativa do nível de resistência do microorganismo contido no líquido, conforme segue:

- Distribuição de campo elétrico (regime estático): obtida através da modelagem computacional por elementos finitos, a partir das condutividades das regiões da câmara de tratamento, dos parâmetros geométricos da malha 3D e da magnitude da fonte de alta tensão, especificada com base na restrição de campo elétrico máximo aplicado;

- Resistência do microorganismo: representada pelos parâmetros dos modelos de predição, gerados a partir das regressões não lineares de dados experimentais, em função do número de pulsos da fonte de alta tensão, para dadas condições do meio.

Foi assumida distribuição homogênea do microorganismo dentro do líquido. Assume-se também que o líquido possui as mesmas características físico-químicas do líquido utilizado nos experimentos base para as simulações (pH, condutividade, temperatura inicial, etc). A fonte de alta tensão possui a mesma frequência e duração do pulso de alta tensão dos experimentos extraídos da literatura.

De posse da distribuição de campo elétrico e dos parâmetros que refletem o nível de resistência dos microorganismos para dadas condições do meio, a eficiência do sistema do ponto de vista de sobrevivência de microorganismos pós-tratamento, para cada elemento da malha, foi determinada com base nos modelos de predição aplicados a este estudo. A análise probabilística final foi realizada a partir das contribuições individuais de S (razão entre a concentração final e a concentração inicial de microorganismos), calculada para cada elemento. O parâmetro que define a eficiência estimada do sistema é dado pelo percentual do volume de líquido coberto com as probabilidades individuais especificadas nos elementos da malha de elementos finitos ($S < 1\%$ nos elementos), em relação ao volume total de líquido.

A Figura 4.1 ilustra o modelo computacional utilizado neste estudo:

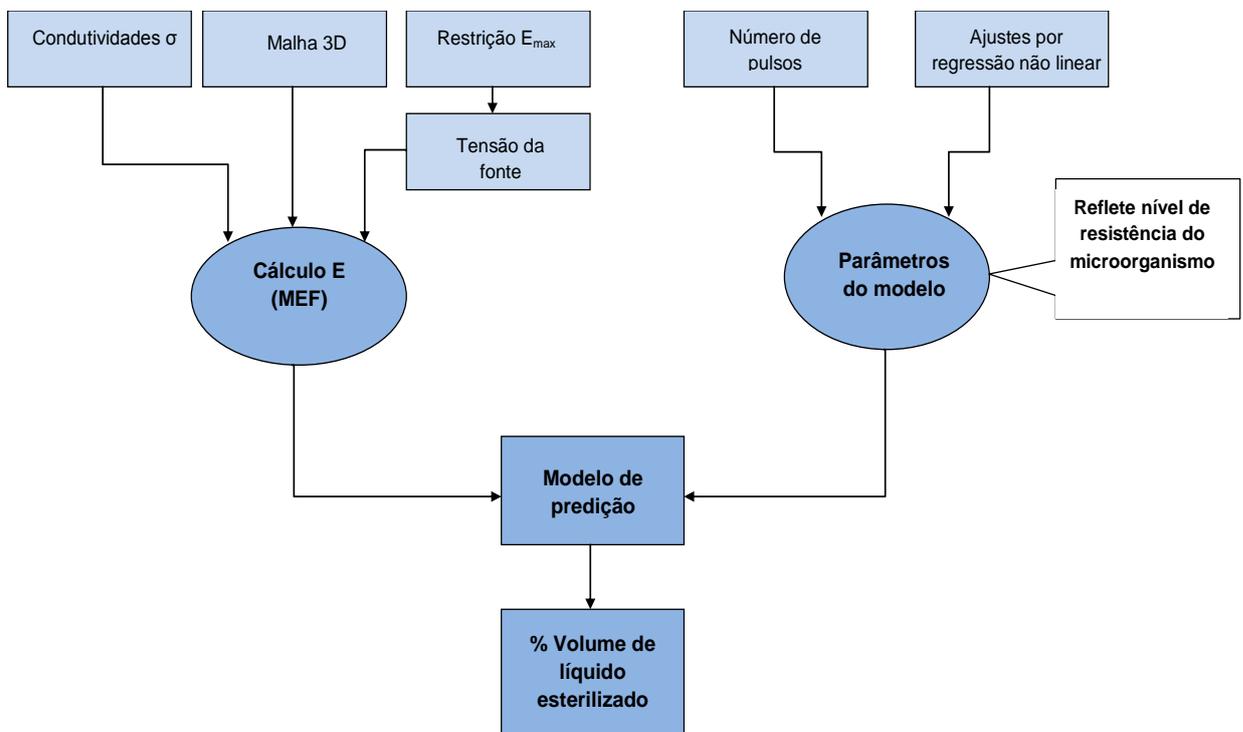


Figura 4.1: Diagrama esquemático do modelo computacional utilizado

4.3 Experimentos Base para as Simulações

Os dados experimentais com as bactérias *E. coli* e *S. cerevisiae* foram extraídos de estudos experimentais apresentados em [42 e 43], os quais foram realizados em sistema contendo as especificações contidas na Tabela 4.1. Ressalta-se que as concentrações iniciais de microorganismos utilizadas nos experimentos (10^9 UFC/ml) são elevadas em relação às concentrações típicas de líquidos não tratados.

Tabela 4.1: Especificações do sistema do experimento base para as simulações [42]

Parâmetros elétricos	
Campo elétrico	2,5 kV/cm a 28 kV/cm
Duração do pulso	2 μ s
Forma de onda do pulso	quadrada
Frequência	1 Hz
Parâmetros do meio	
Solução	Citrato de Fostato
Condutividade	2 mS/cm
Temperatura inicial	24 °C
Temperatura final	35 °C
pH da solução	7.0
Eletrodos	
Tipo	Planos paralelos
Área dos eletrodos	2,01 cm ²
Gap	0,25 cm
Microorganismos	
Tipos	<i>E. coli</i> e <i>S. cerevisiae</i>
Concentração inicial	10^9 UFC/ml, onde UFC: unidade de formação de colônias

Estes estudos geraram resultados de *S* (%) em função do tempo de tratamento (número de pulsos aplicados x duração do pulso), para diferentes valores de campo elétricos aplicados. As Tabelas 4.2 e 4.3 apresentam os resultados dos experimentos realizados com o fungo *S. cerevisiae* e com a bactéria *E. coli* respectivamente, para diferentes valores de número de pulsos e campo elétrico aplicado.

Tabela 4.2: Dados experimentais utilizando *S. cerevisiae* (Adaptado de [43])

Caso	Número de pulsos	Campo elétrico (kV/cm)	S x 100	log S
1	20	2,5	37,9	-0,421
	20	5,5	12	-0,903
	20	9	6,5	-0,973
	20	12	2,2	-1,624
2	100	2,5	31,6	-0,500
	100	5,5	9,37	-1,028
	100	9	0,75	-2,124
	100	12	0,11	-2,925
3	200	2,5	22	-0,657
	200	5,5	3,6	-1,443
	200	9	0,13	-2,886
	200	12	0,04	-3,397
4	500	2,5	13,5	-0,869
	500	5,5	1,3	-1,886
	500	9	0,04	-3,397
	500	12	0,01	-4,000

Tabela 4.3: Dados experimentais utilizando *E. coli* (Adaptado de [42])

Caso	Número de pulsos	Campo elétrico (kV/cm)	S x 100	log S
1	20	15	51,3	-0,289
	20	19	42,7	-0,369
	20	22	22	-0,657
	20	25	12	-0,921
	20	28	19,1	-0,718
2	100	15	23,3	-0,632
	100	19	8,1	-1,091
	100	22	0,9	-2,045
	100	25	0,1	-3,000
	100	28	0,07	-3,150
3	200	15	10,1	-0,995
	200	19	0,92	-2,034
	200	22	0,05	-3,298
	200	25	0,01	-3,948
	200	28	0,002	-4,735
4	400	15	2,67	-1,573
	400	19	0,038	-3,418
	400	22	0,0014	-4,844
	400	25	0,0008	-5,103
	400	28	0,00008	-6,100

Os parâmetros que traduzem a resistência do microorganismo para dadas condições do meio líquido, em função do número de pulsos, aplicados aos modelos de Peleg e Hulsheger&Niemman, foram obtidos através de regressões não lineares destes dados experimentais, conforme abordado na Seção 4.4.

4.4 Geração dos Parâmetros dos Modelos

4.4.1 Parâmetros do Modelo de Peleg

Os dados experimentais ($\log S \times E$) foram ajustados por regressão não linear utilizando algoritmo implementado no Matlab[®], no modelo matemático proposto por Peleg (Equação 4.1), com geração dos parâmetros E_c e k em função do número de pulsos aplicados.

$$S = \frac{1}{1 + e^{\frac{E - E_c(n)}{k(n)}}}, \quad (4.1)$$

onde: S : razão entre a concentração final e a concentração inicial de microorganismos; E : campo elétrico aplicado; $E_c(n)$: parâmetro que representa o campo elétrico aplicado para $S=50\%$, em função do número de pulsos; $k(n)$: parâmetro que representa o declínio da curva $S \times E$, em torno de E_c . Em $E_c \pm 3k$, 90% dos microorganismos são eliminados.

Para os ajustes de regressão não linear, foram utilizados os valores de $\log(S)$ ao invés de S , já que possibilitam um melhor ajuste das curvas aos dados experimentais. Como os dados experimentais não incluem pontos próximos à região de $\log S=0$ ($S=1$), o valor de $\log S=0$ foi adicionado, correspondendo ao ponto de campo elétrico nulo.

As curvas dos ajustes por regressão não linear aplicados nos dados experimentais para $\log(S) \times E$, utilizando a Equação 4.1, são apresentadas nas Figuras 4.2 e 4.3, para *S. cerevisiae* e *E. coli*, respectivamente.

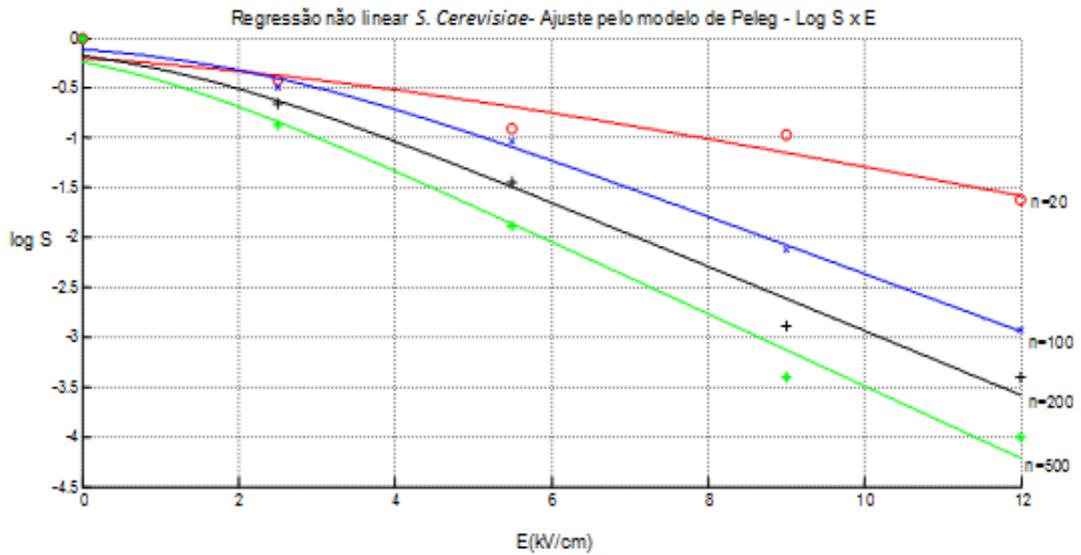


Figura 4.2: Curvas dos ajustes por regressão não linear aplicada aos dados experimentais para o fungo *S. cerevisiae*

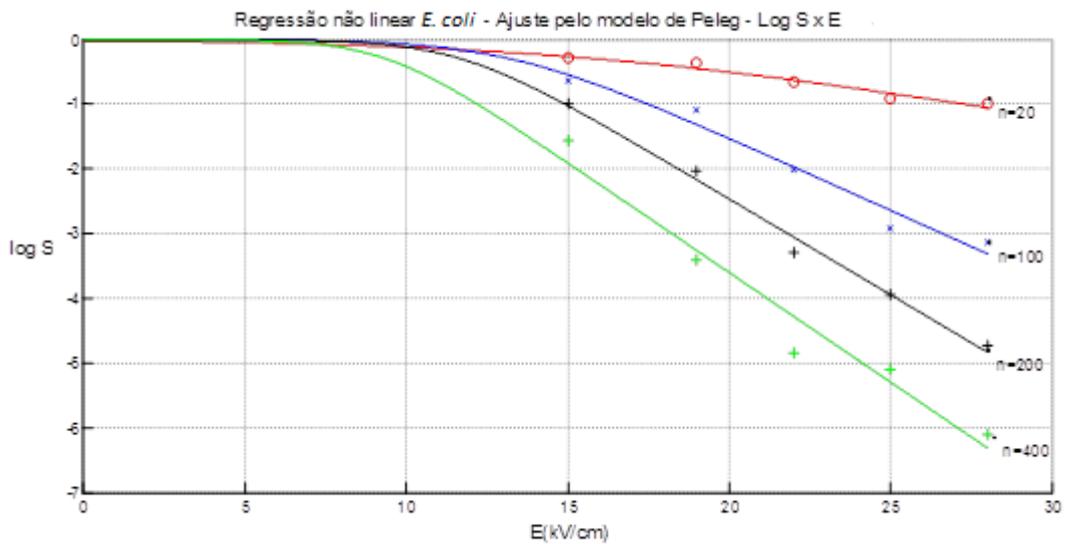


Figura 4.3: Curvas dos ajustes por regressão não linear aplicada aos dados experimentais para a bactéria *E. coli*

Os parâmetros E_c e k gerados pelas regressões não lineares e os respectivos valores dos coeficientes de regressão para cada valor de n (número de pulsos) são apresentados nas Tabelas 4.4 e 4.5. Ao aumentar o número de pulsos, é esperada uma redução dos valores de E_c e k , devido ao aumento do tempo de tratamento e consequentemente maior tempo de exposição da célula ao campo elétrico aplicado. O parâmetro E_c para o caso 1 da Tabela 4.4, apresenta um desvio em relação à

tendência. É possível observar ainda que a bactéria *E. coli* realmente oferece uma maior resistência ao tratamento do que o microorganismo *S. cerevisiae*, já que possui valores de E_c e k mais elevados, para um mesmo número de pulsos

Tabela 4.4: Parâmetros E_c e k gerados pela regressão não linear aplicada aos dados experimentais para microorganismo *S. cerevisiae* – Modelo de Peleg

Caso	Número pulsos	E_c (kV/cm)	k (kV/cm)	r^2
1	20	1,59	2,87	0,955
2	100	1,85	1,49	0,995
3	200	0,92	1,34	0,983
4	500	0,37	1,19	0,984

Tabela 4.5: Parâmetros E_c e k gerados pela regressão não linear aplicada aos dados experimentais para microorganismo *E. coli* – Modelo de Peleg

Caso	Número pulsos	E_c (kV/cm)	k (kV/cm)	r^2
1	20	15,89	5,18	0,974
2	100	13,22	1,93	0,978
3	200	11,7	1,48	0,994
4	400	9,39	1,28	0,984

As faixas do coeficiente de regressão não linear r^2 obtidos estão entre 0,955 a 0,995 para *S. cerevisiae* e 0,974 a 0,994 para *E. coli*. Estes valores de r^2 próximos da unidade indicam que existe uma boa correlação entre os dados utilizados e as curvas obtidas com a regressão.

4.4.2 Parâmetros do Modelo de Hülshager & Niemann

Os parâmetros críticos que refletem o nível de resistência do microorganismo ao tratamento para o modelo de Hülshager&Niemann são: tempo crítico de tratamento t_d , campo elétrico crítico E_d e a constante cinética k_d . Para obtenção destes parâmetros, foi aplicada regressão não linear aos dados experimentais das Tabelas 4.2 e 4.3, através da Equação 4.2, a qual representa o modelo:

$$S = \frac{t}{t_d} \frac{(E-E_d)}{k_d}, \quad (4.2)$$

onde: t : tempo de tratamento; t_d : tempo crítico de tratamento, a partir do qual $S < 100\%$; E_d : campo elétrico crítico, a partir do qual $S < 100\%$; k_d : constante cinética.

O tempo de tratamento t para cada caso é equivalente ao número de pulsos n multiplicado pela duração do pulso de $2\mu\text{s}$ (duração dos pulsos dos experimentos base para as simulações).

As Figuras 4.4 e 4.5 mostram as curvas dos ajustes por regressão não linear para os microorganismos *S. cerevisiae* e *E. coli*, respectivamente. Nota-se uma relação linear entre o campo elétrico e $\log S$, o que pode ser obtido a partir do desenvolvimento da Equação 4.2, a qual descreve o modelo de Hülshager & Niemann, aplicando \log em ambos os lados, conforme Equação 4.3:

$$\log S = -\frac{(E-E_d)}{k_d} \log\left(\frac{t}{t_d}\right) \quad (4.3)$$

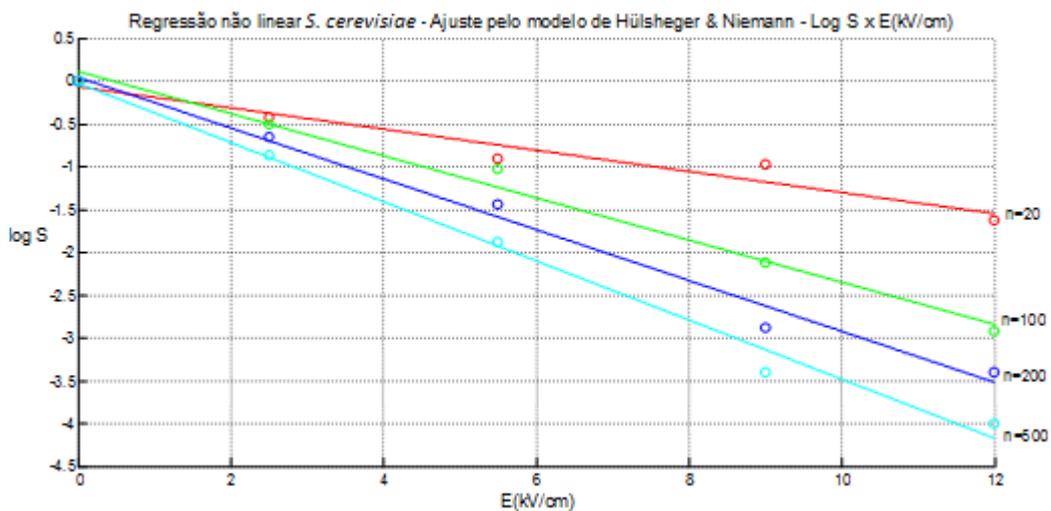


Figura 4.4: Curvas dos ajustes por regressão não linear aplicada aos dados experimentais para *S. cerevisiae* através do modelo de Hülshager & Niemann

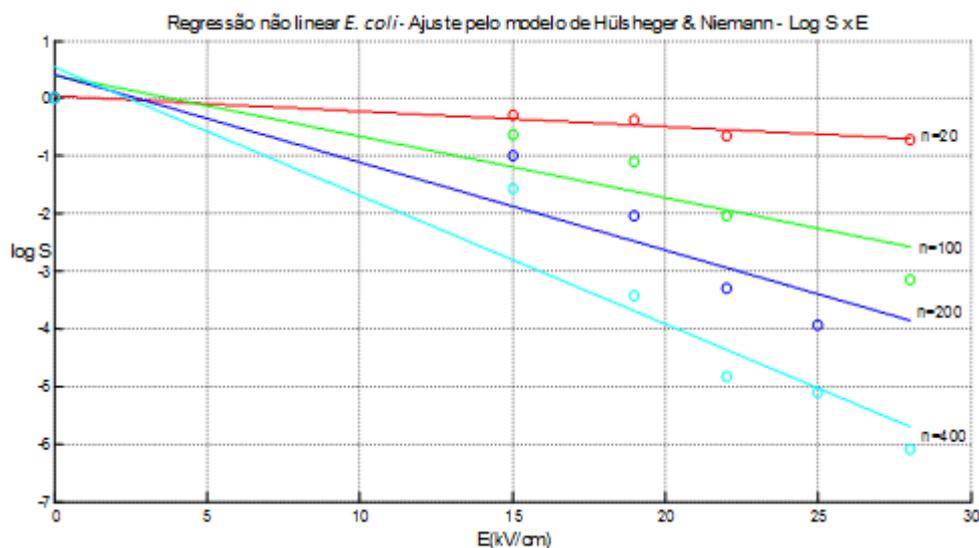


Figura 4.5: Curvas dos ajustes por regressão não linear aplicada aos dados experimentais para *E. coli* através do modelo de Hülshager & Niemann

A Tabela 4.6 apresenta os resultados dos parâmetros do modelo gerados pelos ajustes das curvas. Para os casos 1 e 4, os valores negativos para E_d são desprezados, já que o campo elétrico crítico deve ser positivo.

Tabela 4.6: Parâmetros E_d , k_d e t_d gerados pela regressão não linear aplicada aos dados experimentais para microorganismo *S. cerevisiae* - Modelo de Hülshager & Niemann

Caso	Número pulsos	E_d (kV/cm)	k_d (kV/cm)	t_d (μ s)	r^2
1	20	-0,55	3,67	14,08	0,947
2	100	0,46	3,33	30,24	0,988
3	200	0,15	3,29	42,03	0,987
4	500	-0,07	3,37	68,16	0,991

A Tabela 4.7 mostra os parâmetros do modelo de Hülshager & Niemann gerados a partir das curvas de regressão para a bactéria *E. coli*. À medida que ocorre um aumento no número de pulsos, espera-se uma redução de E_d , já que o acréscimo do número de pulsos leva a uma redução do campo elétrico crítico e um aumento em t_d , em consequência da elevação do tempo de tratamento, já que o tempo crítico t_d representa uma extrapolação do tempo de tratamento para obtenção de 100% de eliminação do microorganismo (com o aumento de n , o tempo de tratamento é incrementado). O comportamento dos parâmetros t_d e k_d na Tabela 4.7 está dentro do esperado, porém o parâmetro E_d para o caso 1 apresenta um desvio em relação à tendência. Neste caso, os coeficientes de regressão r^2 para os ajustes relacionados com a bactéria *E. coli* estão entre 0,82 e 0,92. A correlação entre uma

determinada curva obtida por regressão e os dados utilizados é mais próxima à medida que o índice se aproxima da unidade.

Tabela 4.7: Parâmetros E_d , k_d e t_d gerados pela regressão não linear aplicada aos dados experimentais para bactéria *E. coli* - Modelo de Hülshager & Niemann

Caso	Número pulsos	E_d (kV/cm)	k_d (kV/cm)	t_d (μ s)	r^2
1	20	1,47	7,39	25,47	0,92
2	100	3,81	5,11	57,09	0,82
3	200	2,72	4,71	76,57	0,85
4	400	2,45	4,17	93,57	0,92

4.5 Arranjos de Eletrodos

Duas diferentes geometrias de eletrodos, propostas em [44], foram utilizadas nas simulações computacionais, conforme segue:

- Câmara de tratamento cilíndrica com geometria de eletrodos cilíndricos tipo “needle”:

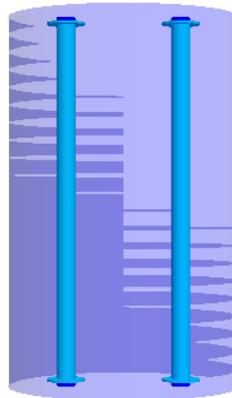


Figura 4.6: Câmara de tratamento cilíndrica com eletrodos cilíndricos tipo “needle”

- Câmara de tratamento cilíndrica com geometria de eletrodos planos paralelos:

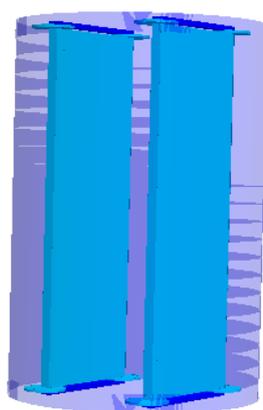


Figura 4.7: Câmara de tratamento cilíndrica com eletrodos retangulares planos paralelos

Nas Tabelas 4.8 e 4.9 são apresentados os dados originais dos sistemas com eletrodos cilíndricos e planos paralelos, respectivamente:

Tabela 4.8: Dados originais do sistema com eletrodos cilíndricos tipo "needle" (Adaptado de [44])

Eletrodos	
Formato	Cilíndricos tipo "needle" (*)
Material	Aço inoxidável
Raio	0,1cm
Altura	3,8cm
Gap entre eletrodos	1,2 cm
Espaçadores	
Quantidade	4
Formato	Cilíndrico
Material	Borracha
Raio	0,1cm
Altura	0,05cm
Câmara de tratamento	
Formato	Cilíndrico
Material	Acrílico
Raio	1,2cm
Altura	3,9cm

* com equalizadores nas extremidades

Tabela 4.9: Dados originais do sistema com eletrodos planos paralelos (Adaptado de [44])

Eletrodos	
Formato	Retangulares (*)
Material	Aço inoxidável
Largura	0,1cm
Profundidade	1,2cm
Altura	3,8cm
Gap entre eletrodos	1,2 cm
Espaçadores	
Quantidade	4
Formato	retangulares
Material	Borracha
Largura	0,1cm
Profundidade	1,2cm
Altura	0,05cm
Câmara de tratamento	
Formato	Cilíndrico
Material	Acrílico
Raio	1,2cm
Altura	3,9cm

* com equalizadores nas extremidades

Cada câmara de tratamento é modelada com aproximadamente 8000 elementos sólidos tetraedro, gerados através do programa NETGEN[®]. Os dados geométricos deste programa gerador de malhas (coordenadas dos nós, elementos volumétricos e superficiais) são introduzidos no algoritmo de elementos finitos para cálculo de campo elétrico.

4.6 Cálculo de Campo Elétrico

A distribuição de campo elétrico dentro da câmara de tratamento foi obtida através da solução da Equação de Laplace aplicada a meios condutivos, conforme Equação 4.4:

$$\nabla(\sigma\nabla V) = 0 \quad (4.4)$$

onde: σ : condutividade de cada região da câmara de tratamento; V : potencial local em cada nó da malha de elementos finitos.

A Equação 4.4 foi solucionada através da aplicação do método de elementos finitos com as seguintes condições de contorno:

$$V(L_1) = V_0 \quad (4.5)$$

$$V(L_2) = 0, \quad (4.6)$$

onde: L_1 e L_2 representam as regiões dos eletrodos energizado e aterrado, respectivamente; V_0 é o potencial aplicado ao eletrodo energizado.

4.7 Especificação da Magnitude da Fonte

A ocorrência de níveis elevados de campo elétrico no líquido em tratamento acima do valor de rigidez dielétrica do mesmo para uma duração do pulso da ordem de μs pode gerar descargas elétricas, provocando alterações de propriedades nutricionais dos líquidos e aumento do consumo de energia, dependendo da condição do líquido, com ou sem presença de impurezas e bolhas de ar. A tecnologia de aplicação de pulsos de tensão consiste na aplicação de pulsos de curta duração (1 a $100\mu\text{s}$) na faixa de campo elétrico entre 10 a 50 kV/cm [28]. Em [56], é citado que a tecnologia envolve a aplicação de pulsos com campo elétrico entre 15 a 80 kV/cm. Neste estudo, limitou-se o campo máximo no interior da solução de citrato de fostato (mesma solução dos experimentos base) em 50 kV/cm.

Nas simulações realizadas com o arranjo original de eletrodos do tipo “needle”, foram observadas regiões de intensificação de campo elétrico entre os eletrodos de aço inoxidável e os isoladores de borracha, devido à diferença de permissividades entre os materiais. Para reduzir a intensidade do campo elétrico na região entre as extremidades dos eletrodos e os isoladores de borracha devido ao efeito das pontas, no qual há um acúmulo de cargas elétricas nas pontas, foram inseridos equalizadores entre eletrodos e os isoladores. Porém, níveis de campo elétricos da ordem de 700 kV/cm ainda foram observados, conforme mostrado nos gráficos da Figura 4.8, nos quais a distribuição de campo elétrico foi plotada para cada coordenada do sistema xyz, para uma tensão aplicada de 26 kV.

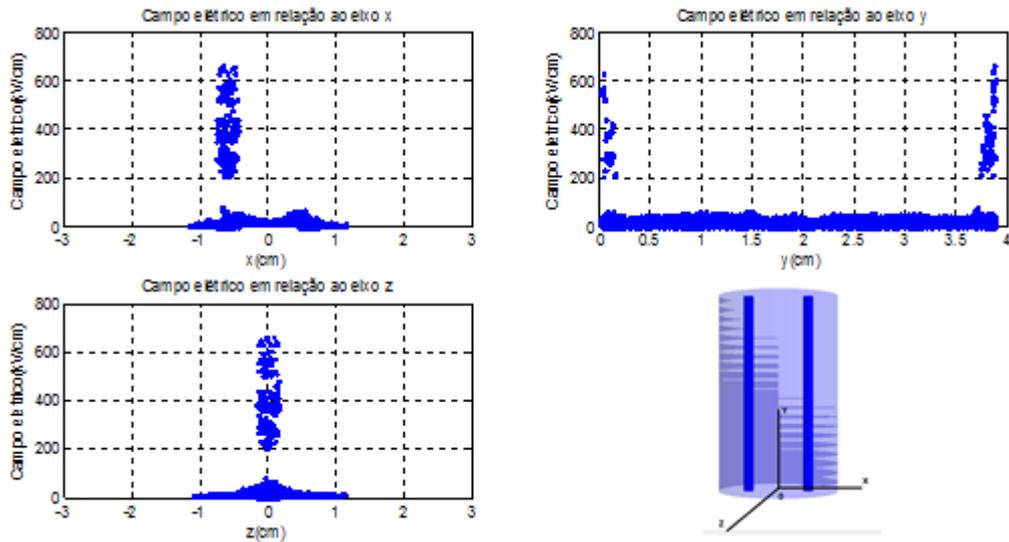


Figura 4.8: Distribuição de campo elétrico por eixo (x, y e z) para tensão aplicada de 26 kV com geometria de eletrodos cilíndricos com equalizadores

Diante disso, pode-se inferir que a geometria de eletrodos cilíndrica proposta em [56] possui restrições com relação a valores de tensão aplicada, com geração de campos elétricos intensos nas regiões entre as extremidades do eletrodo energizado e respectivos isoladores. Para evitar a ocorrência de campos elétricos elevados, foram removidos os isoladores de borracha, sendo proposta uma alteração da fixação mecânica dos eletrodos, de forma que os mesmos sejam introduzidos em furações abertas nas superfícies inferior e superior da câmara de tratamento, com conexões devidamente seladas e com extremidades dos eletrodos aparentes para conexão à fonte, conforme Figura 4.9.

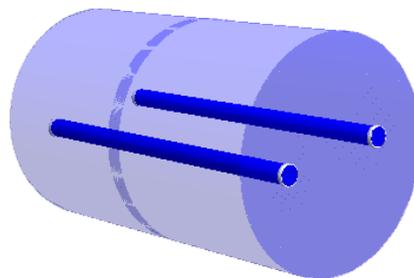


Figura 4.9: Fixação dos eletrodos cilíndricos tipo “needle” em furações abertas na câmara de tratamento

Para a configuração de eletrodos cilíndricos do tipo “needle”, considerando a alteração proposta de fixação aparente dos eletrodos, o maior valor de tensão aplicada permitido é de 26 kV para atender ao requisito de campo elétrico máximo de 50 kV/cm no interior do líquido. A distribuição de campo elétrico sem os isoladores para tensão aplicada de 26 kV é apresentada na Figura 4.10.

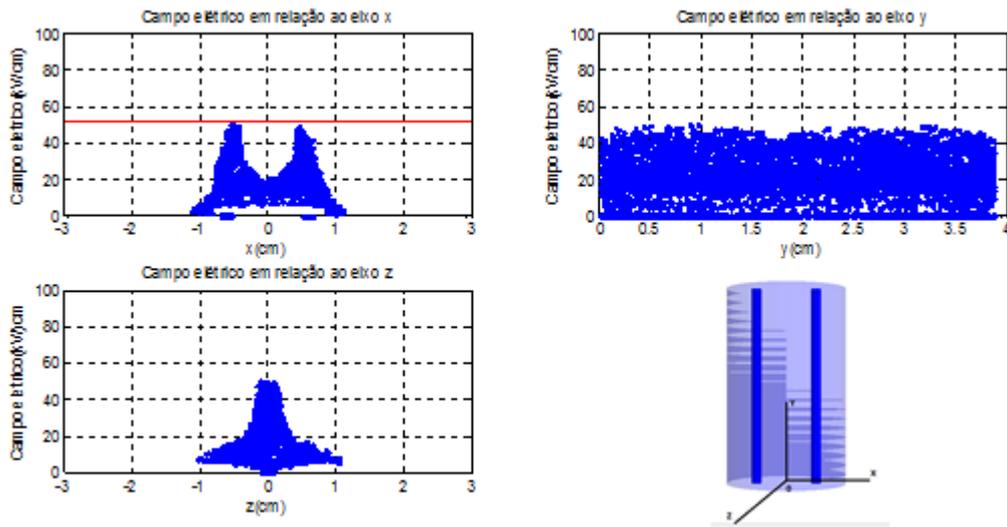


Figura 4.10: Distribuição de campo elétrico por eixo (x, y e z) para tensão aplicada de 26 kV com geometria de eletrodos cilíndricos sem isoladores de borracha

A Figura 4.11 mostra a distribuição de campo elétrico dentro da câmara com eletrodos cilíndricos. Observa-se uma distribuição de campo elétrico de maior intensidade entre os eletrodos em relação à distribuição fora desta região, com níveis mais altos de campo elétrico próximo aos mesmos.

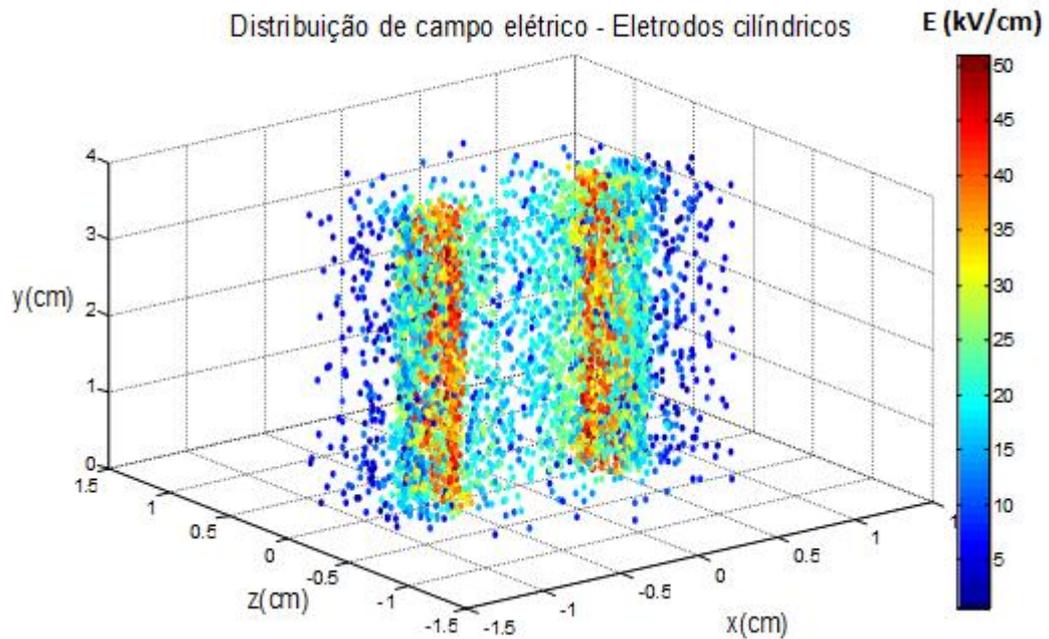


Figura 4.11: Distribuição de campo elétrico para arranjo de eletrodos cilíndricos

Para os eletrodos planos paralelos, também sem os isoladores de borracha da configuração original, o limite para a tensão aplicada é de 32,8 kV. A partir deste valor, há geração de campos elétricos maiores que 50 kV/cm. A distribuição de campo elétrico para um valor de tensão aplicada de 32,8 kV é apresentada na Figura 4.12.

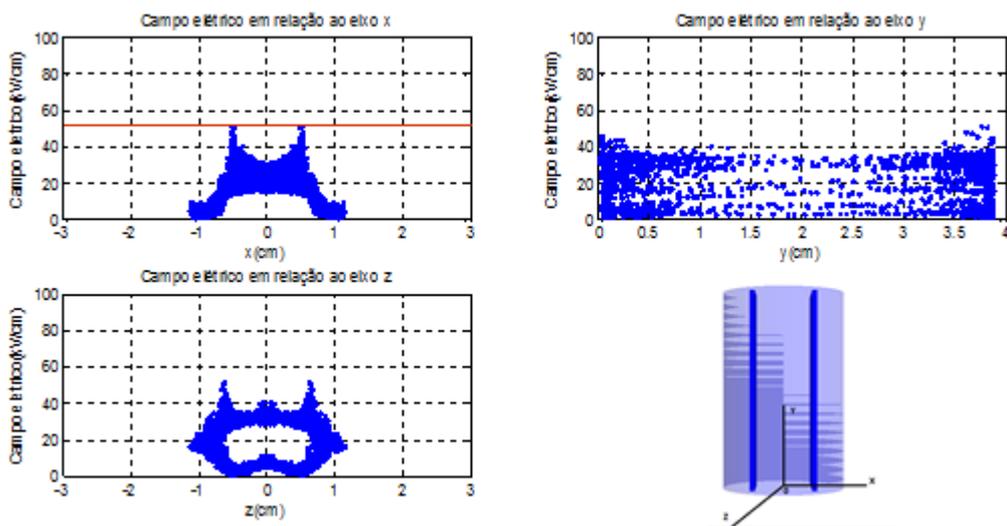


Figura 4.12: Distribuição de campo elétrico por eixo (x, y e z) para tensão aplicada de 32,8 kV com geometria de eletrodos planos paralelos sem isoladores de borracha

A Figura 4.13 apresenta a distribuição de campo elétrico na câmara com arranjo de eletrodos planos paralelos, onde nota-se uma maior região efetiva com campo elétrico entre eletrodos em comparação com o arranjo de eletrodos cilíndricos. O campo elétrico descrece fora da região entre eletrodos.

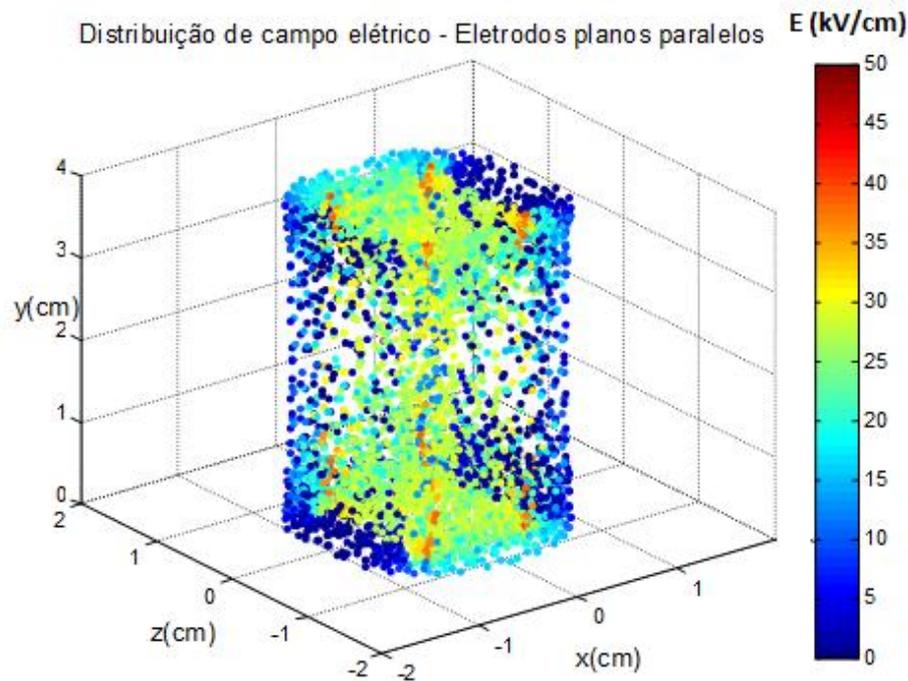


Figura 4.13: Distribuição de campo elétrico para arranjo de eletrodos planos paralelos

4.8 Eficiência da Esterilização

De posse dos valores de $E_c(n)$, $k(n)$, determinados pelos ajustes de regressão não linear e da distribuição de campo elétrico gerada pelo método dos elementos finitos, os cálculos de eficiência da esterilização são realizados na etapa de pós-processamento.

Devido ao crescimento exponencial de bactérias e de outros microorganismos, processos de esterilização em geral requerem probabilidades baixas de existência de microorganismos vivos pós-tratamento, contudo isto depende do nível de esterilização demandado por cada processo. Nas simulações do presente estudo, foi aplicado como critério o percentual do volume de líquido

coberto com probabilidades individuais nos elementos de $S < 1\%$. A razão entre este volume de líquido e o volume total de líquido na câmara estima a eficiência do sistema do ponto de vista de esterilização. O volume total de líquido na câmara de tratamento é de $17,39 \text{ cm}^3$ para o arranjo com eletrodos cilíndricos e de $16,70 \text{ cm}^3$ para o arranjo com eletrodos planos paralelos.

4.9 Considerações Finais

Este Capítulo apresentou a modelagem e metodologia para estimativa da eficiência de um sistema de esterilização por aplicação de pulsos de alta tensão, utilizada nos estudos de caso discutidos no Capítulo 5. As especificações máximas da magnitude da fonte de alta tensão para os dois arranjos de eletrodos deste estudo, obtidas com base no valor máximo de campo elétrico permitido de 50 kV/cm , serão aplicadas como restrições para os estudos de caso do próximo Capítulo.

5.1 Introdução

Neste Capítulo são abordados três estudos de caso de simulações computacionais, utilizando a modelagem computacional apresentada no Capítulo 4 combinada com o modelo de predição de Peleg, para fins de análise da esterilização de uma solução de citrato de foscato (mesma solução do experimento base para as simulações), envolvendo diferentes arranjos de eletrodos e diferentes microorganismos.

A análise é realizada do ponto de vista probabilístico, com foco nos principais parâmetros que definem a eficiência global de um sistema de esterilização. Um estudo comparativo entre os modelos de predição de esterilização de Peleg e de Hulsheger&Niemann é realizado para diferentes microorganismos.

5.2 Estudo de caso 1: Análise da Eficiência Global de um Sistema de Esterilização

Neste estudo de caso, foi utilizado o arranjo de eletrodos cilíndricos para tratamento da solução de citrato de foscato contendo o fungo *S. cerevisiae* para investigação da eficiência global de um sistema do sistema de esterilização sob três aspectos relevantes: o desempenho do mesmo no que tange à esterilização do líquido, a densidade de energia por volume de líquido tratado, a qual está relacionada diretamente com o custo operacional do mesmo, e uma análise térmica do líquido devido ao aquecimento por Efeito Joule. Foi utilizada fonte de tensão no valor de 26 kV, atendendo a restrição de campo elétrico máximo de 50 kV/cm, com duração de pulso de 2 μ s e frequência de 1 Hz. Para as simulações computacionais, foi assumido pulso quadrado ideal. A condutividade elétrica do meio líquido de 2 mS/cm foi mantida do experimento base. Os dados da geometria da câmara de

tratamento e eletrodos são referidos à tabela 4.8, considerando os mesmos montados sem isoladores de borracha.

5.2.1 Desempenho do Sistema

O desempenho do sistema em relação ao volume de líquido coberto com probabilidades individuais nos elementos $S < 1\%$, em função do número de pulsos, foi obtido com base na modelagem computacional apresentada na Figura 4.1 do Capítulo 4, através da distribuição de campo elétrico e dos parâmetros relacionados à resistência do microorganismo ao tratamento, ambos aplicados à equação do modelo de Peleg. Os resultados são apresentados na tabela 5.1. À medida que ocorre um aumento do número de pulsos, a probabilidade de eliminação de microorganismos e conseqüentemente o volume de líquido com $S < 1\%$ nos elementos aumenta. Isto ocorre devido ao maior tempo de exposição do microorganismo ao campo elétrico aplicado, à medida que o número de pulsos aumenta.

Tabela 5.1: Resultados de volume de líquido ($S < 1\%$) em função do número de pulsos

Caso	Número pulsos	%Vol ($S < 1\%$)
1	20	24,38
2	100	59,02
3	200	74,78
4	500	90,28

Com objetivo de obter maior percentual de volume de líquido coberto com a probabilidade $S(\%)$ especificada nos elementos, além de verificar a probabilidade para um número intermediário de pulsos entre $n=200$ e $n=500$ pulsos, já que o delta de n é relativamente elevado entre estes dois valores, os valores dos parâmetros do modelo de Peleg-Fermi E_c e k foram extrapolados para $n=550$ e 600 pulsos e interpolados para $n=350$ pulsos. As Figuras 5.1 e 5.2 apresentam as curvas geradas pela regressão não linear dos dados de E_c e k , obtidos pelos ajustes de dados experimentais (seção 4.4.1), em relação ao número de pulsos. As Equações 5.1 e 5.2 expressam o comportamento exponencial de E_c e k em função do número de pulsos e foram aplicadas aos ajustes. Melhores ajustes de curvas foram obtidos considerando os valores de $n=20$, 200 e 500 pulsos.

$$E_c = E_{c0}e^{-k_1n} \quad (5.1)$$

$$k = k_0e^{-k_2n} \quad (5.2)$$

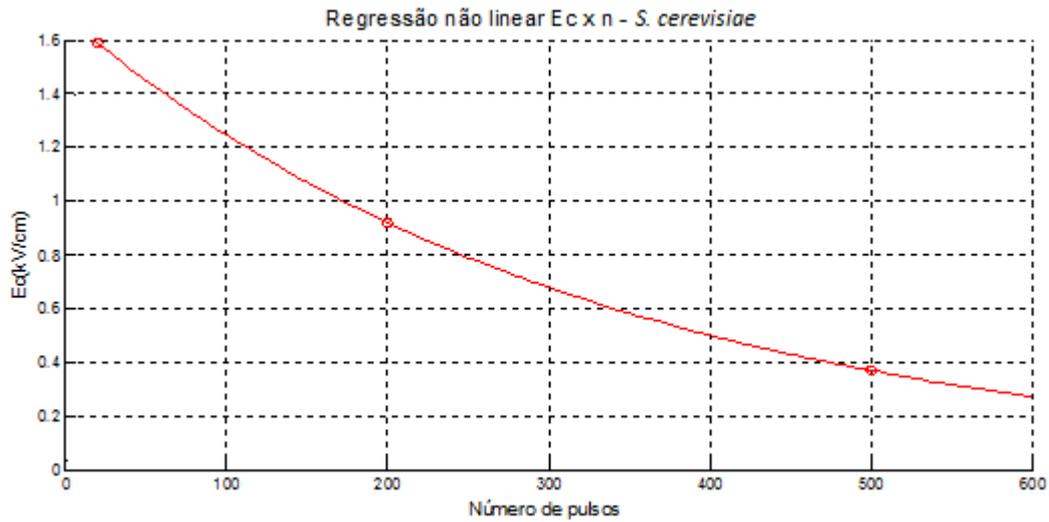


Figura 5.1: Parâmetro E_c em função do número de pulsos para *S. cerevisiae*

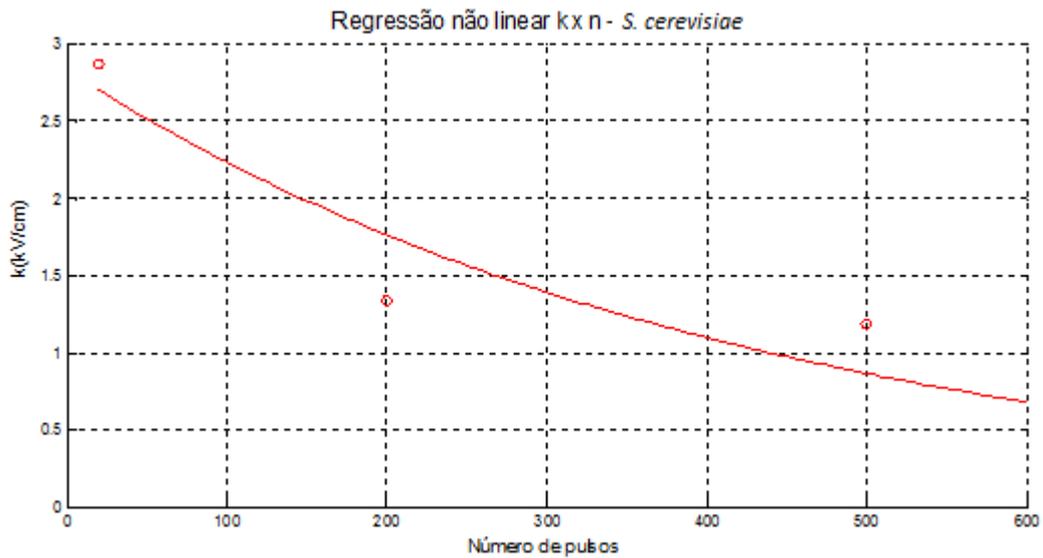


Figura 5.2: Parâmetro k em função do número de pulsos para *S. cerevisiae*

A Tabela 5.2 mostra os parâmetros E_{c0} e k_1 gerados pela regressão não linear com aplicação da Equação 5.1. O coeficiente de regressão r^2 obtido neste ajuste foi de 0,99.

Tabela 5.2: Parâmetros E_{c0} e k_1 gerados pela regressão não linear dos dados de E_c – *S. cerevisiae*

Parâmetro	E_{c0} (kV/cm)	k_1	r^2
E_c	1,689	0,003	0,99

A Tabela 5.3 mostra os parâmetros k_0 e k_2 gerados pela regressão não linear com aplicação da Equação 5.2. O coeficiente de regressão obtido foi de $r^2=0.88$.

Tabela 5.3: Parâmetros k_0 e k_2 gerados pela regressão não linear dos dados de k – *S. cerevisiae*

Parâmetro	k_0 (kV/cm)	k_2	r^2
k	2,820	0,0024	0,88

Os parâmetros E_{c0} , k_0 , k_1 e k_2 gerados a partir dos ajustes por regressão não linear foram inseridos nas Equações de E_c e k , conforme segue:

$$E_c = 1,689e^{-0,003n} \quad (5.3)$$

$$k = 2,820e^{-0,0024n} \quad (5.4)$$

As extrapolações para valores de n distantes de $n=500$ levam a valores de E_c e k muito baixos, o que traz uma incerteza com relação ao cálculo de eficiência de esterilização, já que isto significa uma resistência muito baixa ao tratamento. Diante disso, foi definido valor máximo de número de pulsos igual a 600. Os valores de $n=350$, 550 e 600 foram aplicados às equações 5.3 e 5.4 para interpolação ($n=350$) e extrapolação ($n=550$ e 600). Os valores resultantes de E_c e k estão apresentados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4: Valores de E_c e k resultantes de interpolação e extrapolação de E_c e k

Caso	Número pulsos	E_c (kV/cm)	k (kV/cm)
5	350	0,59	1,21
6	550	0,33	0,75
7	600	0,28	0,66

A tabela 5.5 apresenta os resultados de volume de líquido esterilizado para valores de n aplicados aos experimentos, valores interpolados e extrapolados. Para

os valores de $n=550$ e 600 , os resultados indicam um nível de cobertura de volume de líquido maior em relação aos valores de n utilizados nos experimentos, contudo um aumento no número de pulsos significa também um aumento do consumo energético e acréscimo da temperatura do líquido, ou seja, não é recomendável aumentar o número de pulsos para atingir o desempenho requerido sem o devido monitoramento dos parâmetros citados, sob risco de comprometer a eficiência energética do sistema e a qualidade da esterilização. Para $n=350$, valores intermediários entre $n=200$ e $n=500$ foram obtidos, validando o processo de ajuste de E_c e k , já que isto não levou a resultados fora das tendências obtidas na tabela 5.1 para esta faixa. O volume de líquido esterilizado ($S<1\%$) é de $96,81\%$ para $n=600$ pulsos.

Tabela 5.5: Resultados de volume de líquido ($S<1\%$) em função do número de pulsos para valores experimentais de n , $n=350$ (interpolação) e $n=550$ e 600 (extrapolação)

Caso	Número pulsos	%Vol ($S<1\%$)
1	20	24,38
2	100	59,02
3	200	74,78
4	500	90,28
5	350	86,18
6	550	95,79
7	600	96,81

A Figura 5.3 mostra o comportamento do percentual de volume de líquido em relação ao número de pulsos. Os resultados do volume ($S<1\%$) em função do número de pulsos da tabela 5.5 foram ajustados utilizando comando *fit* do Matlab[®].

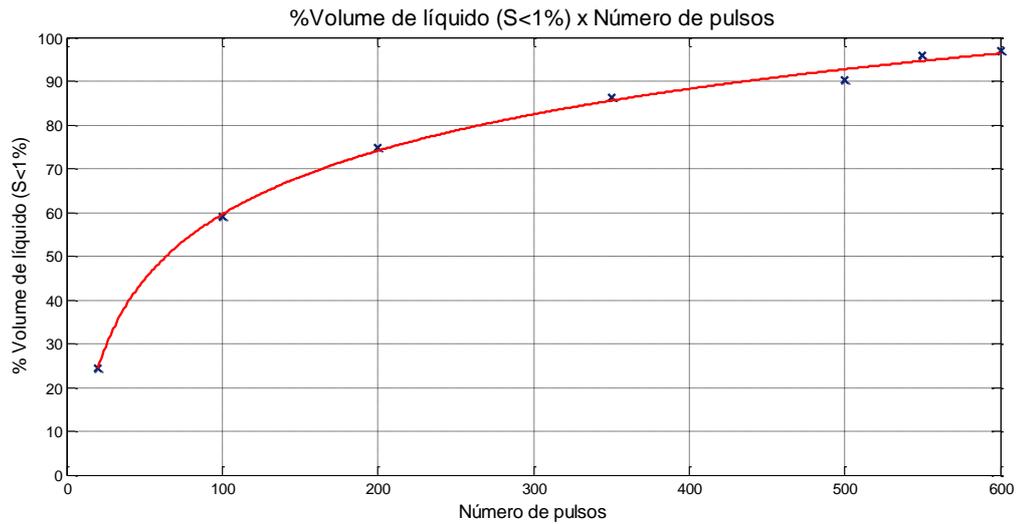
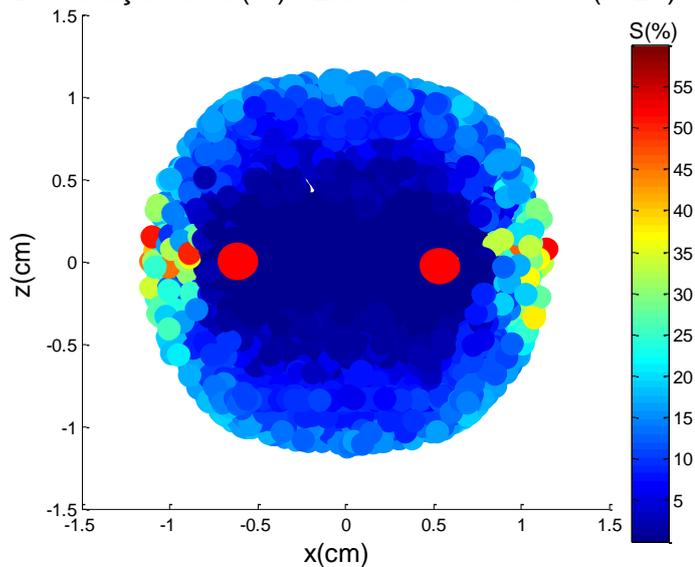


Figura 5.3: Volume percentual de líquido (S<1%) x Número de pulsos

A Figura 5.4 mostra a visualização da distribuição de S (vista superior da câmara de tratamento) para n=20 e 600 pulsos (extremos da faixa de número de pulsos), com tensão aplicada de 26 kV. Para n=20 pulsos, há uma região em torno dos eletrodos com probabilidades maiores de S(%), evidenciando maior resistência ao tratamento do microorganismo *S. cerevisiae*. Para n=600 pulsos, as probabilidades S(%) nestas regiões são significativamente reduzidas, em virtude da redução dos parâmetros E_c e k , devido ao aumento do número de pulsos.

Distribuição de S(%) - Eletrodos cilíndricos (n=20)



Distribuição de S(%) - Eletrodos cilíndricos (n=600)

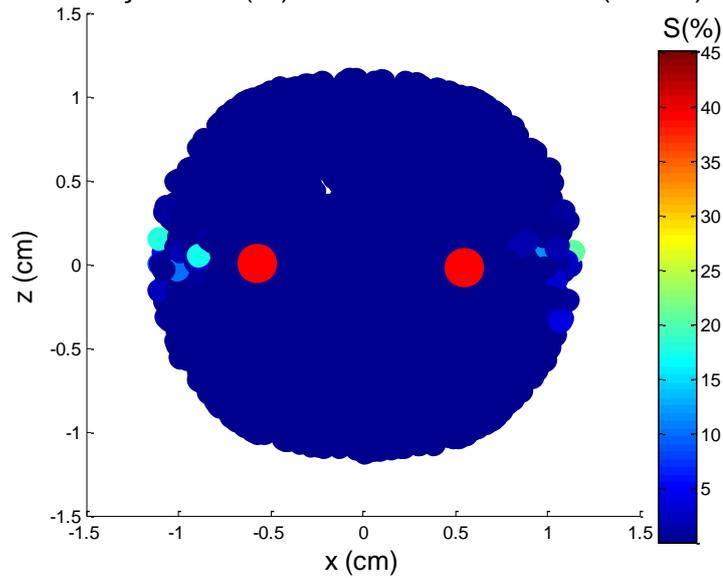


Figura 5.4: Comparativo de distribuição probabilística para n=20 e n=600 pulsos (vista superior da câmara de tratamento)

A figura 5.5 mostra o volume percentual de líquido para cada faixa de probabilidades S(%) para n=20 e n=600 pulsos. A concentração dos valores de S(%) para n=600 na faixa probabilística de $0 \leq S \leq 1\%$, caracteriza a menor resistência do sistema ao aplicar este número de pulsos.

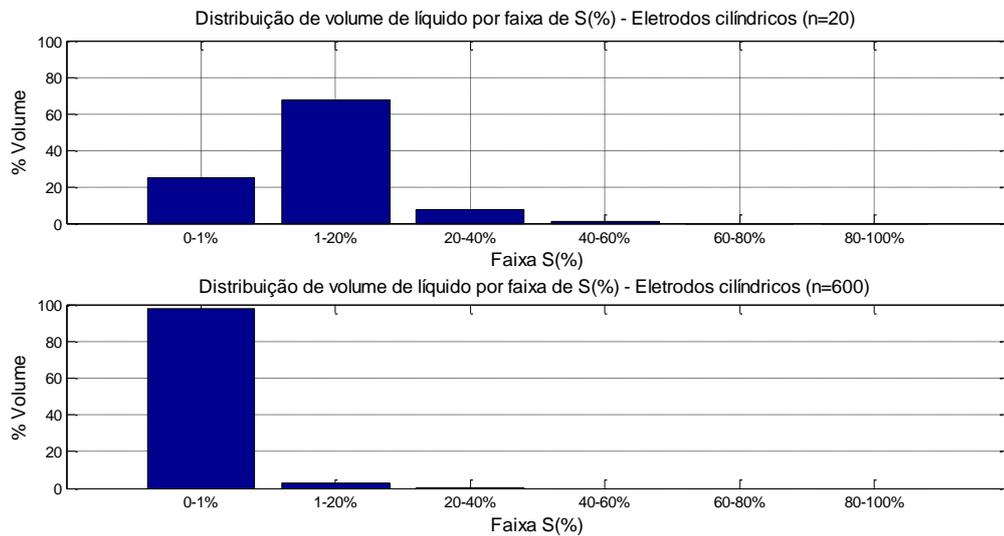


Figura 5.5: Histograma do volume de líquido por faixa de S(%) para eletrodos cilíndricos (n=20 e 600 pulsos)

5.2.2 Densidade de energia

A energia foi calculada para cada elemento da malha de elementos finitos, através da Equação 5.7.

$$dE_n = \sigma E^2 \Delta V \Delta t, \quad (5.7)$$

onde: dE_n : energia em cada elemento tetraedro; σ : condutividade do líquido em tratamento; ΔV : volume de cada tetraedro da malha de elementos finitos; Δt : tempo de tratamento.

A energia total E_t consumida no líquido contido na câmara de tratamento é dada pelo somatório das energias nos elementos, conforme Equação 5.8:

$$E_t = \sum_{i=1}^{nel} dE_i, \quad (5.8)$$

onde: nel é o número de elementos.

A densidade de energia é dada pela razão entre a energia total e o volume de líquido no interior da câmara de tratamento (V_L), conforme Equação 5.9:

$$densE = \frac{E_t}{V_L} \quad (5.9)$$

A densidade de energia máxima de um sistema de esterilização convencional é de 280 Wh/L [59]. Neste estudo de caso, foi especificado um valor máximo de 140 Wh/L para este parâmetro, correspondendo a 50% do valor máximo, já que o fungo *S. cerevisiae* não é um microorganismo de elevada resistência ao tratamento. A densidade de energia em função do número de pulsos é mostrada na Figura 5.6. Como a distribuição de campo elétrico não varia para cada caso (magnitude da tensão aplicada constante), a densidade de energia varia linearmente em função do número de pulsos. Para a faixa de $n=20$ a 600 pulsos, a densidade de energia não ultrapassa o limite estabelecido.

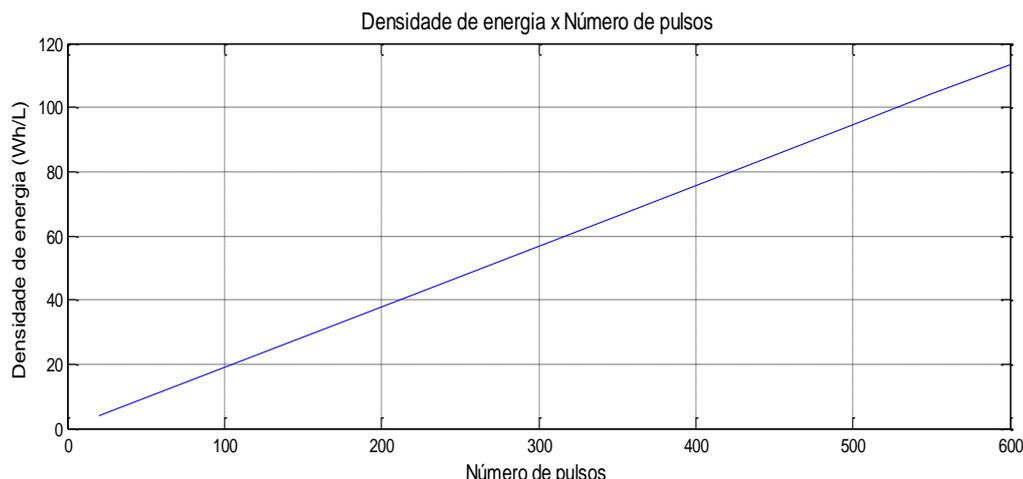


Figura 5.6: Densidade de energia em função do número de pulsos

Conforme Equação 5.7, a densidade de energia varia proporcionalmente com o quadrado do campo elétrico, o qual depende diretamente da tensão aplicada, e com o tempo de tratamento, que por sua vez varia proporcionalmente com o número de pulsos, para uma duração do pulso fixa em 2 μ s. Mantendo constante o volume esterilizado ($S < 1\%$), é possível avaliar a influência da tensão aplicada associada com a variação do número de pulsos na densidade de energia. Para esta análise, fixou-se o percentual de volume esterilizado ($S < 1\%$) em 90%.

Conforme mostrado na Figura 5.7, observa-se que há uma tendência de aumento da densidade de energia à medida que há um aumento do número de pulsos de $n=20$ a $n \approx 450$ pulsos e redução da densidade de energia a partir deste valor de n . Isto se justifica pela não linearidade do quadrado do campo elétrico (função da tensão aplicada) em relação ao tempo de tratamento (função de n), refletindo na composição de cálculo da densidade de energia (Equação 5.7). Valores de tensão abaixo de 26 kV são obtidos para próximo de 600 pulsos.

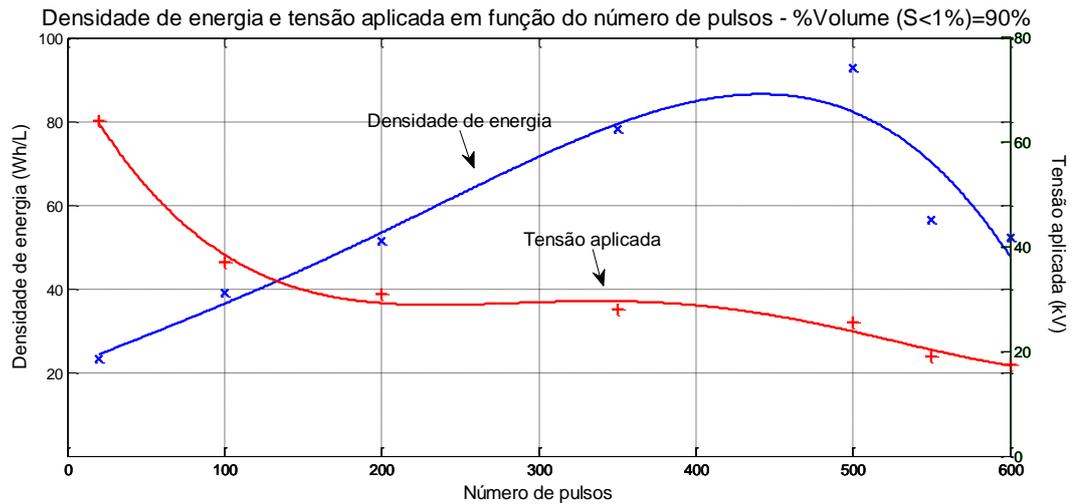


Figura 5.7: Densidade de energia e tensão aplicada em função do número de pulsos para um volume de líquido ($S < 1\%$) de 90%

5.2.3 Análise Térmica do Sistema

A tecnologia de aplicação de pulsos de alta tensão aplicada ao tratamento de líquidos tem potencial para esterilizar a maior parte dos alimentos na faixa de temperatura abaixo de 30-40°C, sem impacto significativo do componente térmico na eficiência do sistema [1]. O acréscimo de temperatura ΔT_{AQ} devido às perdas por Efeito Joule durante o tempo Δt de duração de cada pulso em função da densidade de corrente J no líquido pode ser estimado por [55,58]:

$$\Delta T_{AQ} = \frac{J^2 \Delta t}{\sigma \eta Q} \quad (5.10)$$

onde: Δt : duração do pulso; σ : condutividade elétrica do líquido; η : densidade do líquido; Q : calor específico do líquido

As propriedades térmicas da solução de citrato de fosfato do experimento base para as simulações foram aproximadas às propriedades da água. Sendo assim, aplicaram-se os valores de $\eta = 0,997 \text{ g/cm}^3$ (a 25°C) e $Q = 4,186 \text{ J/g} \cdot ^\circ\text{C}$ na Equação 5.10. Nesta análise, foi assumida condutividade elétrica do líquido constante com a temperatura.

Na Equação 5.10, J foi obtido pela média dos módulos das densidades de corrente ($|J| = \sigma |E|$) na região central da câmara (corte horizontal). Para uma tensão aplicada de 26 kV, foi obtido valor de $J = 31,81 \text{ A/cm}^2$ e $\Delta T_{AQ} = 0,242 \text{ } ^\circ\text{C}$.

O resfriamento do líquido ocorre no período entre pulsos. Como o tempo de aquecimento é de $\Delta t = 2 \mu s$ e o período do pulso é de 1 s, tem-se que o tempo de resfriamento $t \gg \Delta t$ ($t \approx 1$ s). A queda de temperatura devido ao resfriamento ΔT_R foi estimada, em função da constante térmica do sistema, seguindo a lei de Resfriamento de Newton, conforme Equação 5.11 [58]:

$$\Delta T_R = (T_0 - T_{amb.})(1 - e^{-kt}) \quad (5.11)$$

onde: T_0 é a temperatura inicial de resfriamento (após aplicação de cada pulso); T_{amb} é a temperatura do ambiente; k é a constante de decaimento da temperatura; t é o tempo de resfriamento.

A constante k depende de vários parâmetros térmicos do sistema, tais como: condutividade térmica do líquido e recipiente de acrílico da câmara de tratamento, da área de contato do recipiente com o ambiente e da capacidade térmica do líquido e do recipiente. A temperatura ambiente T_{amb} considerada foi a mesma temperatura inicial do líquido do experimento base (24 °C). Considerando a temperatura de aquecimento calculada $\Delta T_{AQ} = 0,242$ °C e Equação 5.11 da temperatura de resfriamento ΔT_R , o comportamento da temperatura final foi estimado em função de k para cada número de pulsos, conforme figura 5.8. A temperatura final T_f é dada por:

$$T_f = T_{amb.} + n(\Delta T_{AQ} - \Delta T_R) \quad (5.12)$$

As temperaturas finais são maiores à medida que a constante de decaimento é menor, já que, quanto menor a constante de decaimento do sistema, mais lento é o processo de resfriamento após aplicação do pulso. Há uma convergência de valores de temperatura a partir de $k = 0,1 \text{ s}^{-1}$. Temperatura máxima em torno de 48 °C foi obtida nas simulações deste estudo para um número de pulsos na faixa de 350 a 600 pulsos e $k = 0,01 \text{ s}^{-1}$. Este comportamento mostra que, apesar do aquecimento do líquido em geral não ser um fator crítico desta tecnologia, este parâmetro deve ser monitorado para valores mais elevados de tempo de tratamento. Há uma faixa de temperatura na qual pode ocorrer uma sinergia entre os efeitos térmicos e do tratamento por aplicação de pulsos de alta tensão na eficiência de esterilização, porém acima desta faixa a predominância do fator térmico pode alterar as propriedades do líquido em tratamento.

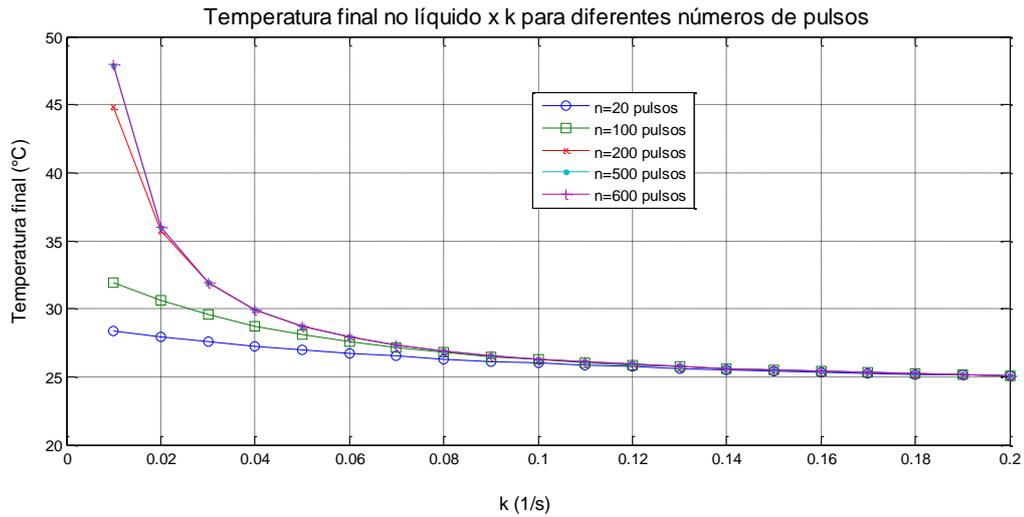


Figura 5.8: Comportamento da temperatura final do líquido em função da constante de decaimento k do sistema para diferentes números de pulsos aplicados

A frequência dos pulsos é um parâmetro que impacta diretamente no resfriamento do líquido, já que à medida que a frequência aumenta, o tempo para resfriamento do sistema torna-se mais baixo, considerando um mesmo tempo de tratamento (duração dos pulsos \times número de pulsos). A figura 5.9 mostra o impacto da frequência na temperatura final do líquido para uma duração do pulso de $2\mu\text{s}$ e $n=200$ pulsos. Ao aumentar a frequência de 1Hz para 2Hz, a temperatura aumentou aproximadamente 10°C para o menor valor de k considerado.

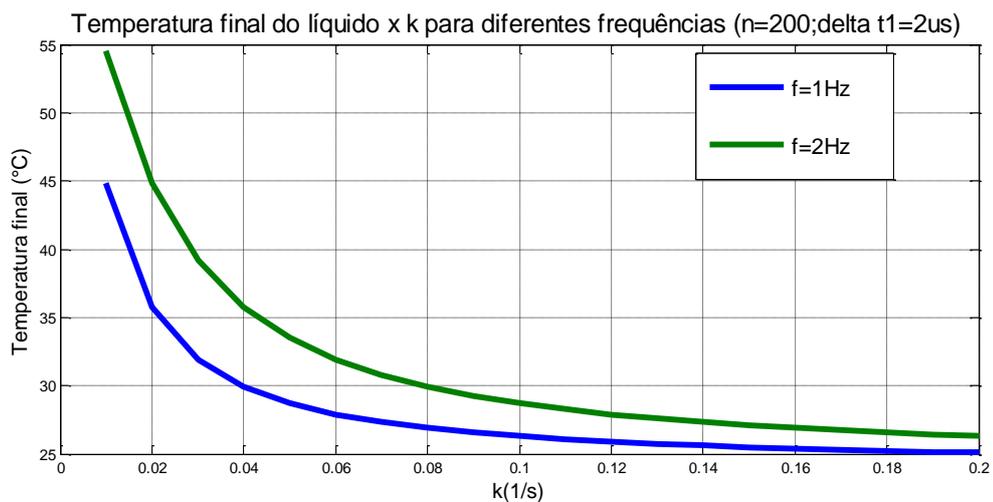


Figura 5.9: Comportamento da temperatura final do líquido em função da constante de decaimento k para diferentes frequências

Este estudo de caso mostrou que a eficiência da esterilização, para uma dada tensão aplicada, aumenta à medida que o número de pulsos aumenta. Contudo, a densidade de energia e a temperatura no líquido aumentam proporcionalmente com o número de pulsos. No sistema em estudo, a densidade de energia não atingiu o valor máximo proposto. Para um dado volume de líquido esterilizado, estabelecendo a tensão aplicada como variável, o comportamento da densidade de energia não é linear em função do número de pulsos aplicados, conforme mostrado na Figura 5.7.

A temperatura no líquido foi plotada para diferentes constantes de decaimento k , sendo dependente de parâmetros térmicos intrínsecos do sistema, além do número de pulsos aplicados e da frequência. A temperatura pode atingir níveis críticos para número de pulsos elevados associado a uma constante de decaimento k baixa.

5.3 Estudo de caso 2: Comparativo de Arranjos de Eletrodos

5.3.1 Comparativo dos Arranjos de Eletrodos Originais (sem isoladores)

Os arranjos de eletrodos plano-paralelos e cilíndricos tipo “needle” apresentados no Capítulo 4, sem os isoladores de borracha, para eliminação de campos elétricos com potencial para formação de descargas, foram comparados em termos de volume de líquido esterilizado para a faixa de número de pulsos de 20 a 600, para uma distribuição homogênea do fungo *S. cerevisiae*. O comparativo foi realizado considerando a restrição de campo máximo de 50 kV/cm no líquido. Conforme mostrado na Figura 5.10, para valores menores de número de pulsos, o arranjo com eletrodos planos paralelos se mostra mais eficiente. Isto é justificado pela maior área efetiva de distribuição de campo elétrico entre os eletrodos, com intensidade suficiente para eliminação de microorganismos nesta região. Porém, para valores de n mais altos, o arranjo de eletrodos cilíndricos é superior no que se refere ao volume de líquido esterilizado. A menor eficiência do arranjo de eletrodos planos paralelos, para valores de n mais altos, é devido à região de baixa

intensidade de campo elétrico na região atrás das placas paralelas. Mesmo com a redução dos parâmetros E_c e k para valores de n mais altos, o campo elétrico nesta região não é suficiente para garantir a eliminação de colônias de microorganismos presentes na região. O arranjo de eletrodos cilíndricos possui um enfraquecimento de campo também nesta região, porém com níveis de campo elétrico superiores ao arranjo com eletrodos planos paralelos.

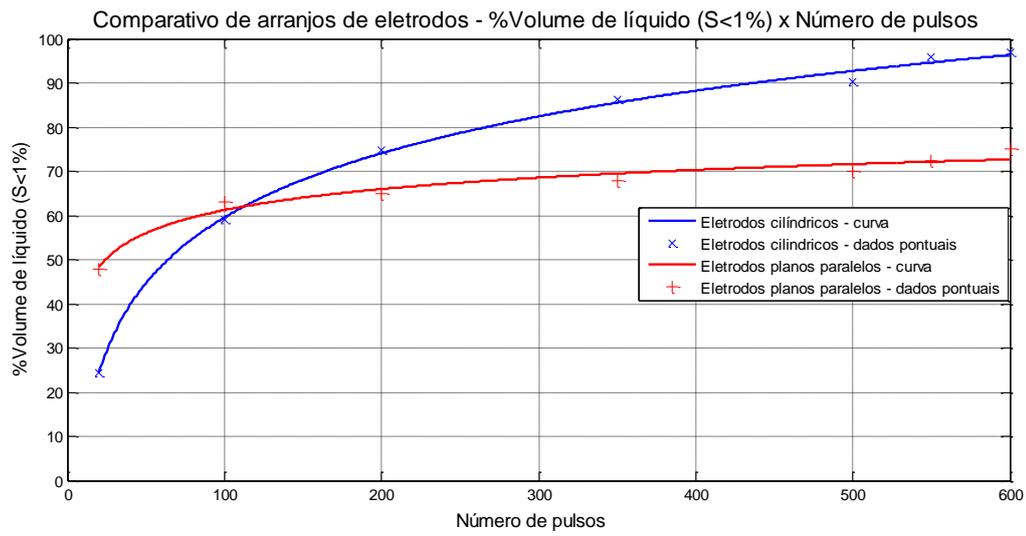
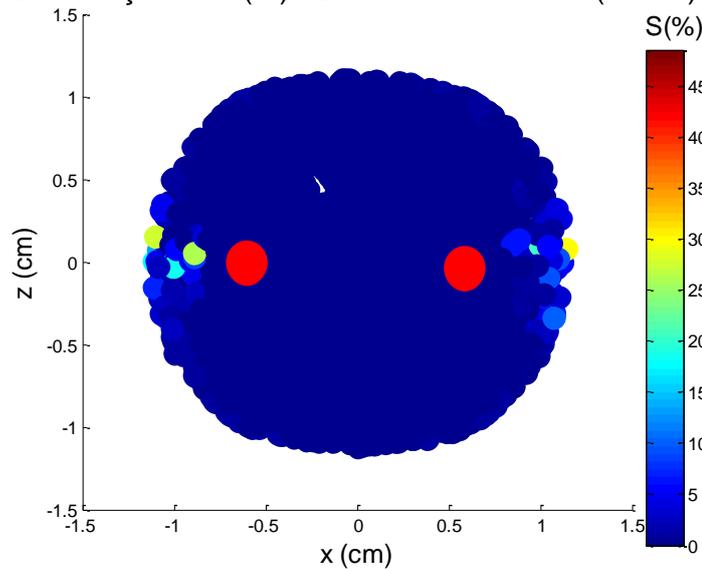


Figura 5.10: Comparativo de arranjos de eletrodos quanto ao volume de líquido esterilizado ($S < 1\%$)

A figura 5.11 mostra uma visão superior da distribuição de probabilidades dentro da câmara de tratamento para os arranjos com eletrodos planos paralelos e cilíndricos, para um mesmo número de pulsos igual a 500 e uma mesma tensão aplicada de 26 kV. Devido à menor intensidade de campo elétrico na região atrás das placas paralelas, as probabilidades de $S(\%)$ nas mesmas são maiores, impactando negativamente na eficiência da esterilização.

Distribuição de S(%) - Eletrodos cilíndricos (n=500)



Distribuição de S(%) - Eletrodos planos paralelos (n=500)

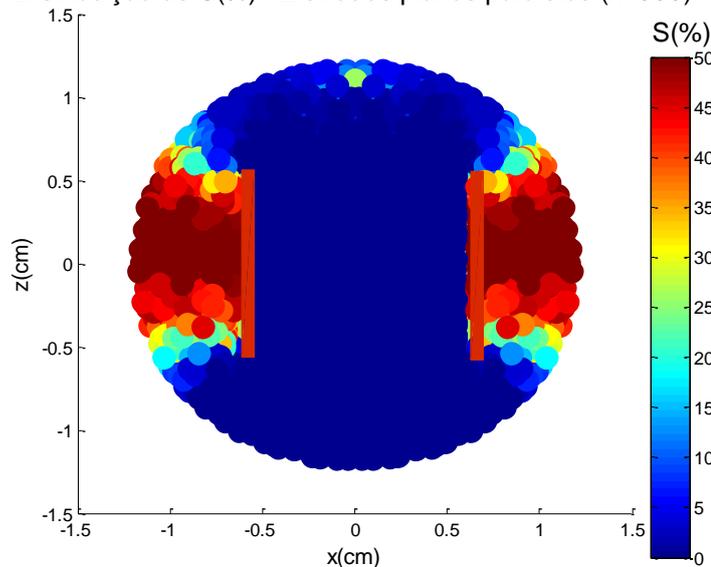


Figura 5.11: Visão superior da distribuição de probabilidades dentro da câmara de tratamento para eletrodos cilíndricos e planos paralelos

Na Figura 5.12, é mostrada a distribuição de S(%) por faixas percentuais para as simulações com eletrodos cilíndricos e planos paralelos. Nota-se que para os eletrodos paralelos, o volume de líquido coberto com probabilidades na faixa de $0 \leq S \leq 1\%$ é próximo de 90%, enquanto que para os eletrodos planos paralelos é próximo de 60%. Isto ocorre em função da “zona morta” com probabilidades individuais nos elementos S(%) mais elevadas nas regiões atrás das placas.

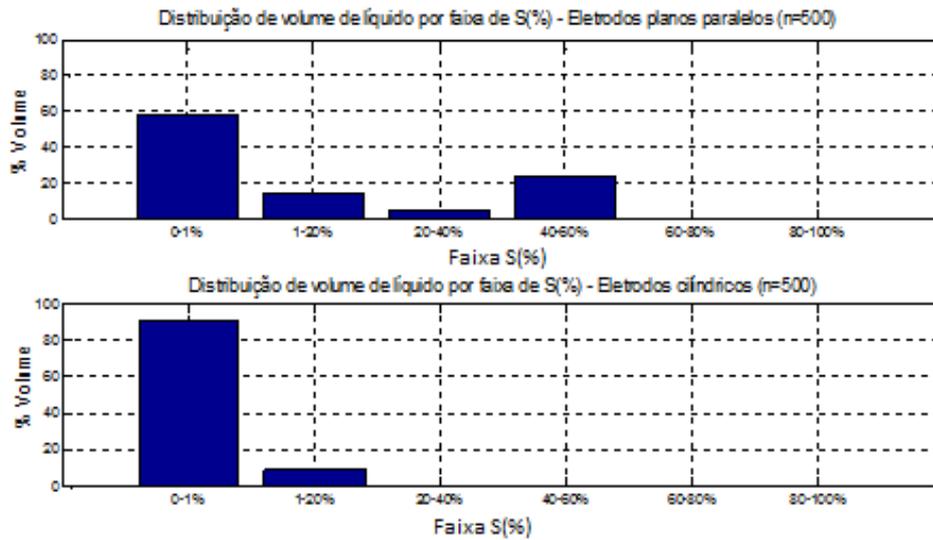


Figura 5.12: Histograma do volume de líquido por faixa de S(%) para eletrodos cilíndricos e planos paralelos

5.3.2 Ajustes nos Arranjos de Eletrodos

Diante da baixa eficiência de esterilização apresentada para o arranjo de eletrodos planos paralelos, simulações adicionais foram realizadas alterando o gap entre os mesmos. A figura 5.13 apresenta os resultados das simulações. Um ganho de eficiência ocorre ao aumentar o gap entre os eletrodos, já que há uma redução da região de campo elétrico baixo atrás das placas paralelas. Um volume de líquido com $S < 1\%$ de 86,5% foi obtido com gap de 1,85 cm, ou seja, aproximadamente 16% maior que o volume obtido com a configuração original. Nota-se que os valores de % de volume de líquido esterilizado ($S < 1\%$) praticamente não se altera a partir de $n=100$ pulsos.

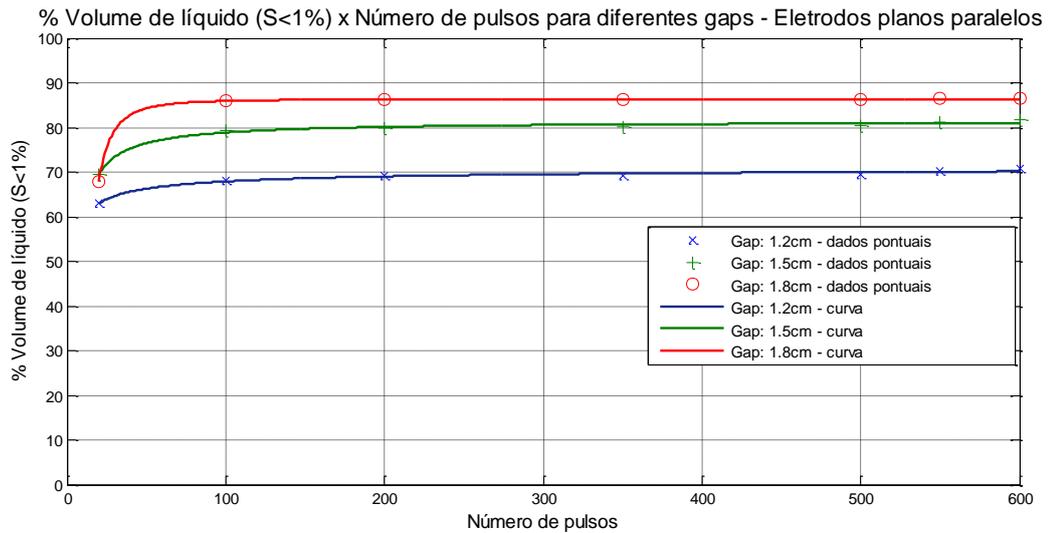


Figura 5.13: Volume de líquido (S<1%) x Número de pulsos para diferentes valores de gap dos eletrodos planos paralelos

A figura 5.14 apresenta a vista superior da distribuição de S% para gap de 1,85 cm e n=600, na qual pode se observar a redução da “zona morta” atrás das placas.

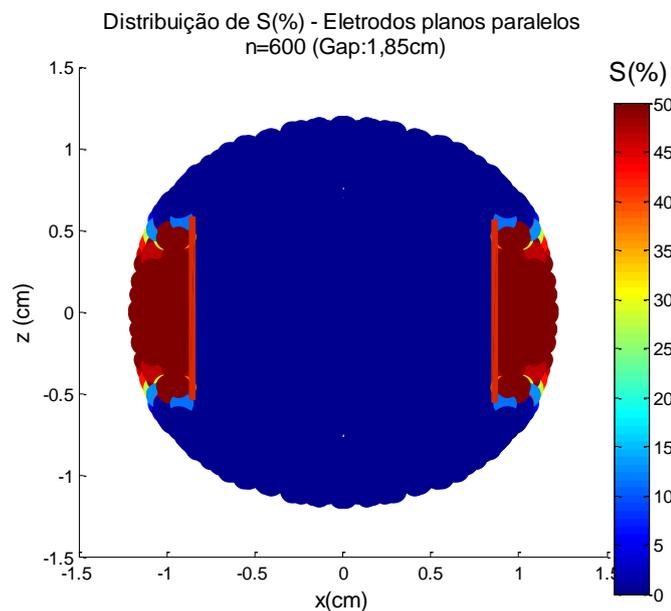


Figura 5.14: Visão superior da distribuição de probabilidades dentro da câmara de tratamento para eletrodos planos paralelos com gap de 1,85cm

A figura 5.15 apresenta resultados de eficiência de esterilização para eletrodos cilíndricos com diferentes valores de gap. Ao reduzir o valor do gap, apesar de aumentar a intensidade de campo elétrico entre eletrodos, há um aumento da região de campo elétrico de baixa intensidade atrás dos eletrodos, o

que é predominante no cálculo total da eficiência do sistema. Desta forma, há uma redução no volume percentual de líquido com $S < 1\%$. Valores muito próximos de 100% foram obtidos para gap de 1,8 cm com n entre 500 e 600 pulsos.

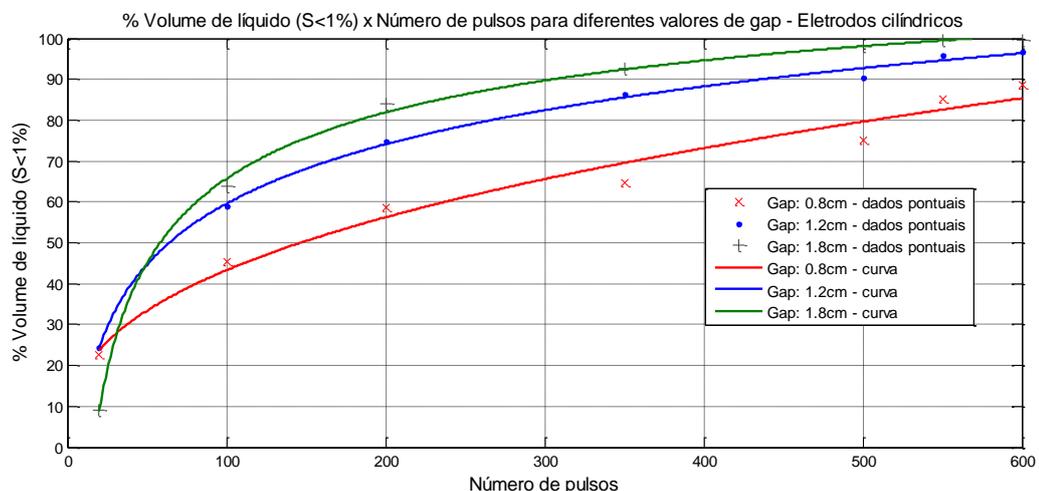


Figura 5.15: Volume de líquido ($S < 1\%$) x Número de pulsos para diferentes valores de gap dos eletrodos cilíndricos

A figura 5.16 mostra o volume de líquido ($S < 1\%$) para diferentes valores de raio de eletrodos. Em geral, observa-se que quanto menor o raio do eletrodo, menor a eficiência de esterilização do sistema. Isto ocorre em razão da diferença entre as distribuições de campo elétrico entre eletrodos em função do raio, conforme será abordado adiante.

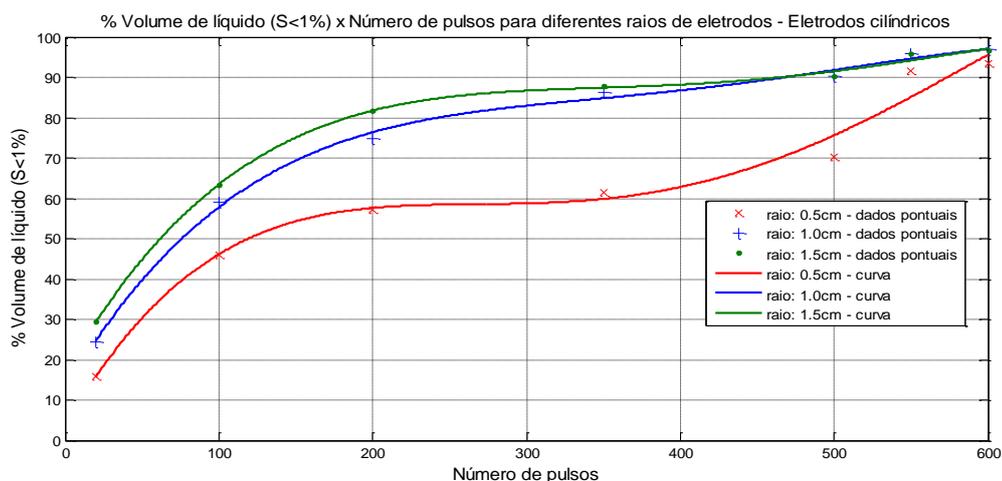


Figura 5.16: Volume de líquido ($S < 1\%$) x Número de pulsos para diferentes valores de raios dos eletrodos cilíndricos

Na figura 5.17 é mostrado um comparativo da distribuição de campo elétrico com relação ao eixo x para os raios de eletrodos de 0,5 cm e 1,5 cm. Apesar da intensidade de campo elétrico ser maior próximo aos eletrodos com raio de 0,5 cm, a taxa de decaimento do mesmo com relação ao eixo x é maior, resultando em uma eficiência de esterilização mais baixa. Além disso, o valor de campo elétrico ultrapassa o limite superior proposto neste estudo (50 kV/cm) para raio de 0,5 cm.

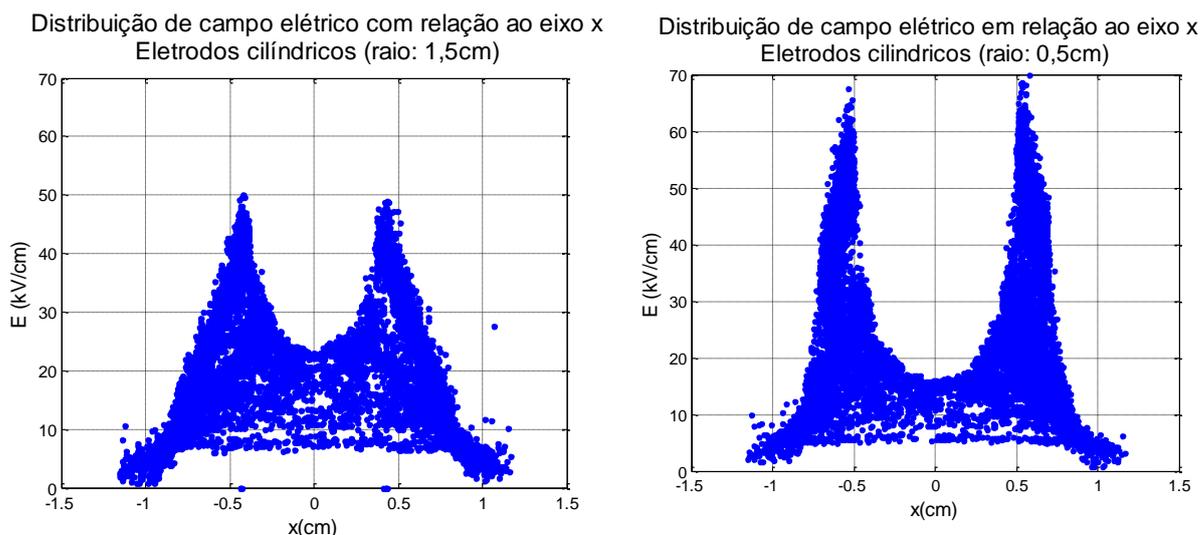


Figura 5.17: Comparativo de distribuição de campo elétrico com relação ao eixo x para diferentes valores de raio de eletrodo cilíndrico

Este estudo de caso mostrou que o sistema possui uma melhor eficiência com arranjos de eletrodos cilíndricos tipo “needle” em comparação com eletrodos planos paralelos. É possível aumentar a eficiência do sistema com eletrodos planos paralelos, reduzindo as regiões com baixa intensidade de campo elétrico atrás das placas com o aumento do gap entre eletrodos. Além disso, é possível aumentar a eficiência do sistema com eletrodos cilíndricos, aumentando o gap e/ou aumentando o raio dos eletrodos.

5.4 Estudo de caso 3: Eficiência de um Sistema para Tratamento com Diferentes Microorganismos

Neste estudo de caso, é realizada uma análise da adequação do sistema com eletrodos cilíndricos originais (sem isoladores de borracha) para tratamento da bactéria *E. coli*, a qual possui reconhecidamente maior resistência ao tratamento do que o fungo *S. cerevisiae*. Inicialmente, os dados de E_c e k para o microorganismo

E. coli foram extrapolados através de regressão não linear, para um número de pulsos maior do que 400 (número de pulsos máximo utilizado nos experimentos base). Os ajustes para E_c e k são mostrados nas Figuras 5.18 e 5.19, respectivamente. Para um melhor ajuste de k , o valor deste parâmetro para $n=20$ foi desconsiderado. Foram utilizados os valores extrapolados para $n=500$ e $n=600$ pulsos, para equivalência da faixa aplicada para *E. coli* (n entre 20 e 600 pulsos).

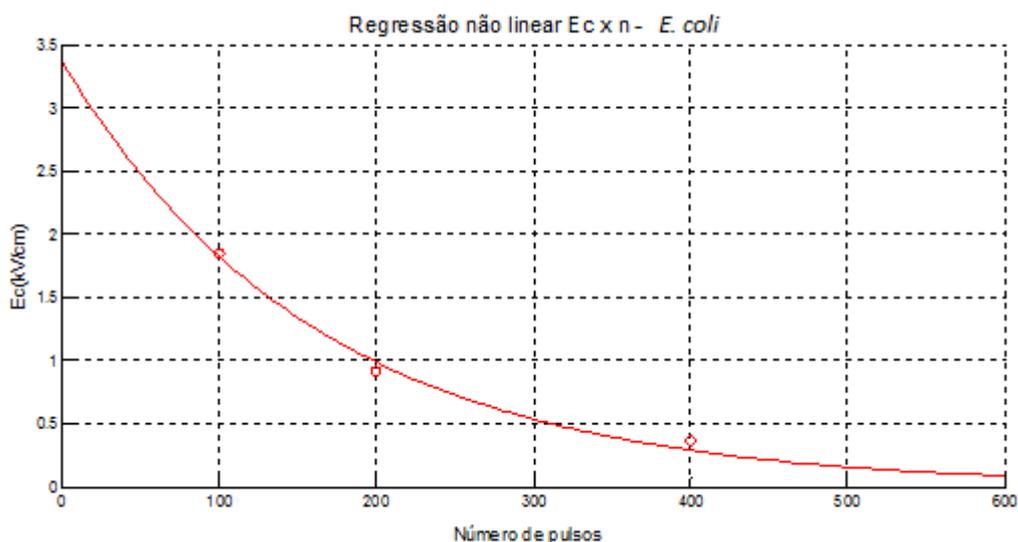


Figura 5.18: Parâmetro E_c em função do número de pulsos para *E. coli*

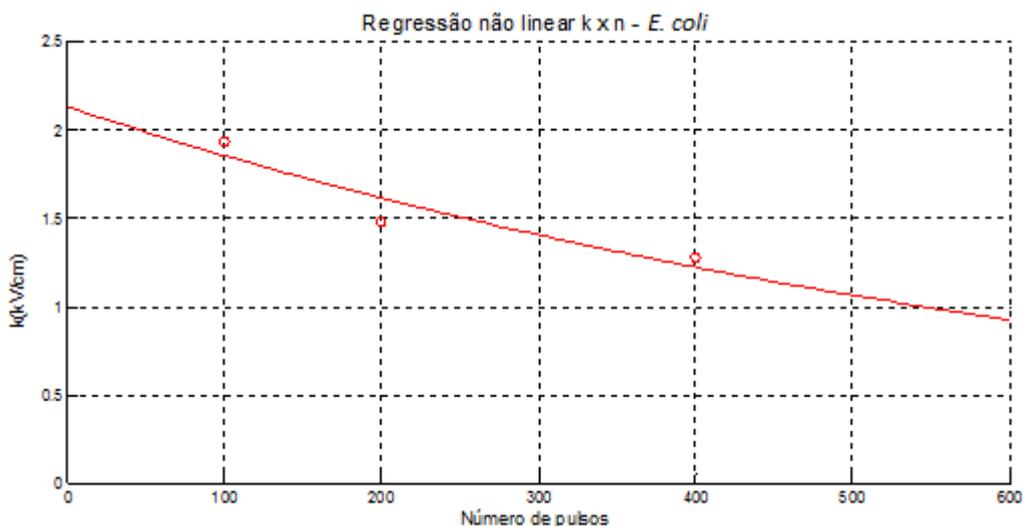


Figura 5.19: Parâmetro k em função do número de pulsos para *E. coli*

Conforme apresentado na Figura 5.20, referente ao comparativo do percentual de volume de líquido esterilizado ($S < 1\%$), enquanto para o fungo *S.*

cerevisiae foi obtido valor de 96,81% de volume de líquido para n=600 pulsos, para a bactéria *E. coli* o valor obtido foi de 41,17%. Desta forma, o sistema com eletrodos cilíndricos não seria adequado para o tratamento da bactéria *E. coli*, já que do ponto de vista probabilístico os valores obtidos não indicam uma boa eficiência para tratamento deste microorganismo. A aplicação de um maior número de pulsos em conjunto com alterações no gap e raio dos eletrodos pode aumentar a eficiência do sistema para tratamento deste tipo de bactéria.

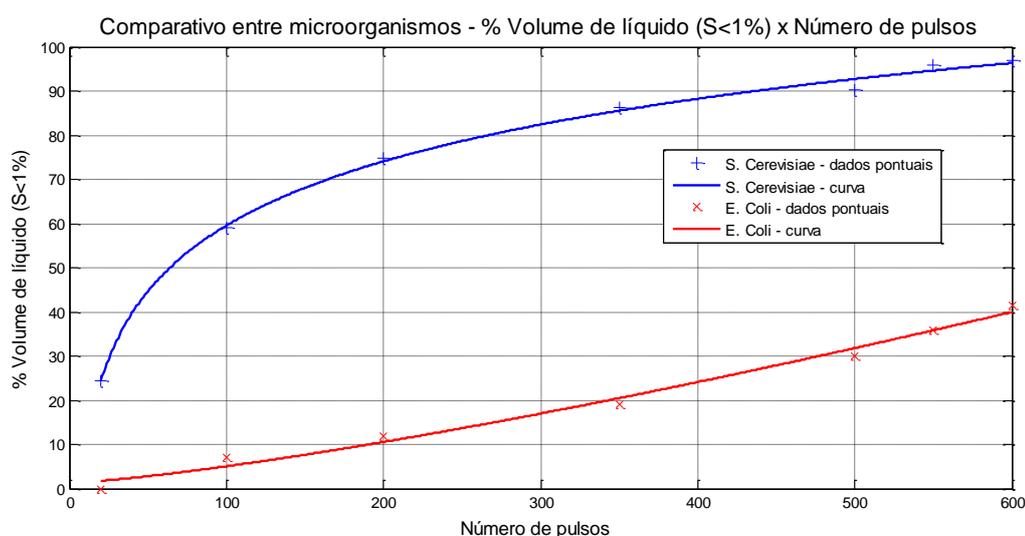


Figura 5.20: Comparativo do % de volume de líquido (S<1%) para diferentes tipos de microorganismos em função do número de pulsos

5.5 Comparativo entre Modelos de Predição

Os modelos de predição de esterilização de microorganismos de Peleg e de Hulsheger&Niemman foram comparados em termos do volume de líquido esterilizado para probabilidades individuais nos elementos de S<1%. O comparativo foi realizado para os valores de n igual a 100 e 200 pulsos, variando a tensão aplicada na faixa de 0 a 26 kV, utilizando o arranjo de eletrodos cilíndricos tipo “needle”. O modelo de Peleg não incorpora diretamente o tempo de tratamento na equação, sendo que os parâmetros deste modelo variam em função do número de pulsos aplicados para uma dada duração de pulso, no caso deste estudo este valor é de 2 µs (dado extraído do experimento base). No modelo de Hulsheger&Niemman, o tempo de tratamento (número de pulsos x duração do pulso) é incorporado diretamente na equação.

O comparativo foi realizado para dois tipos de microorganismos abordados neste trabalho: *E. coli* e *S. cerevisiae*. As Figuras 5.21 e 5.22 apresentam as curvas para o microorganismo *S. cerevisiae* e as Figuras 5.23 e 5.24 para *E. coli*. Em todos os comparativos houve uma aproximação muito boa entre as respostas dos modelos de predição, principalmente para o microorganismo *S. cerevisiae*. O máximo desvio encontrado entre as respostas dos modelos foi de 7,96% para a bactéria *E. coli* e número de pulsos 200 (Figura 5.24).

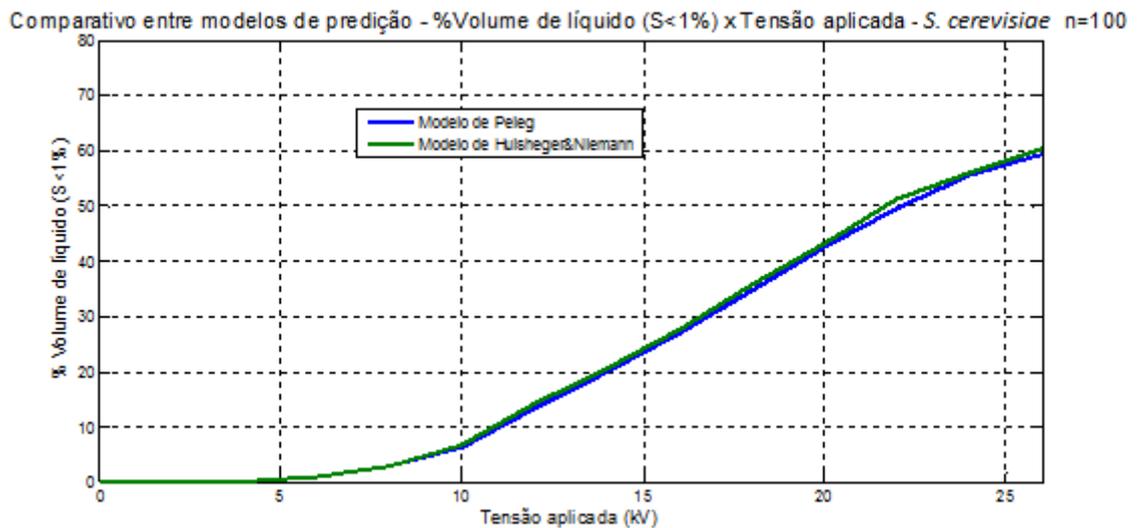


Figura 5.21: Comparativo entre modelos de predição para fungo *S. cerevisiae* e n=100 pulsos

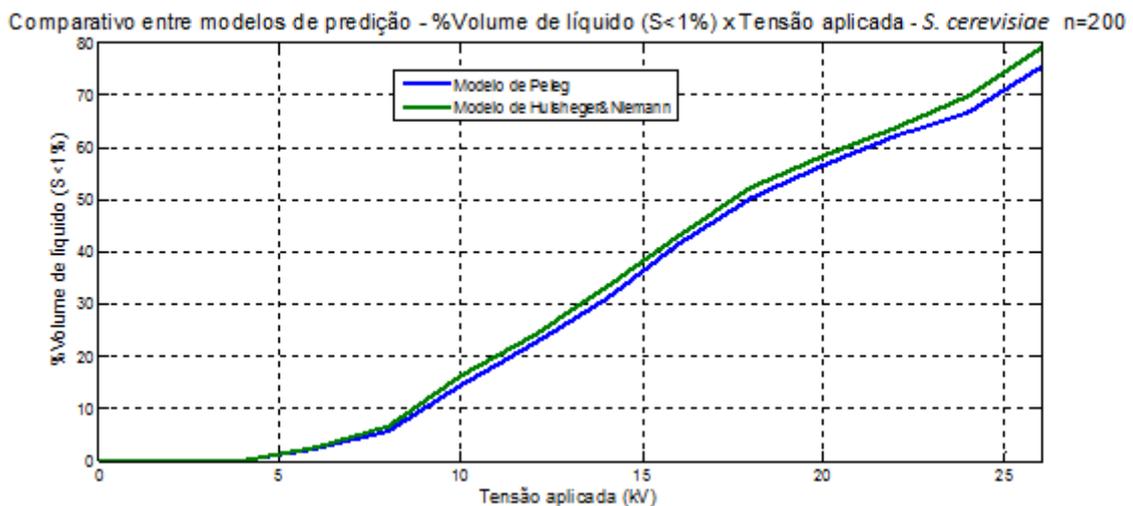


Figura 5.22: Comparativo entre modelos de predição para fungo *S. cerevisiae* e n= 200 pulsos

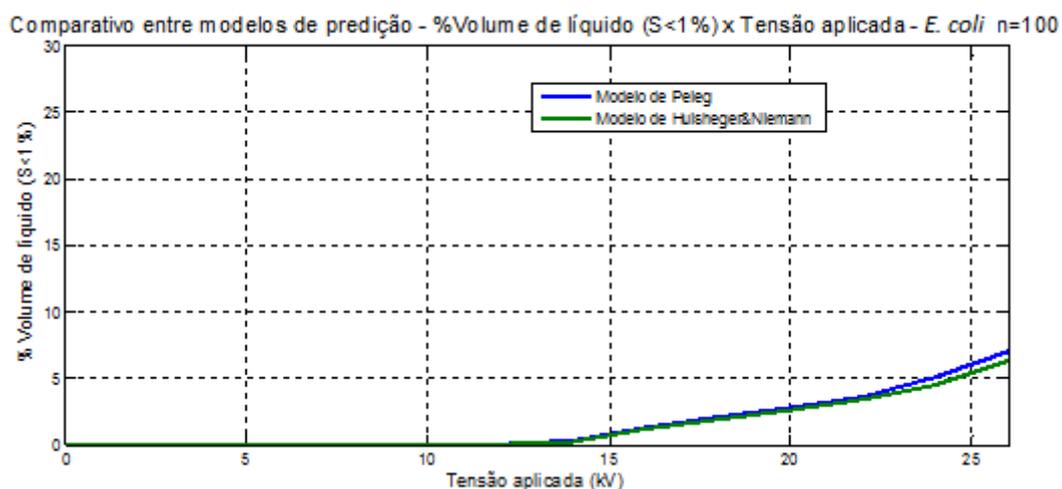


Figura 5.23: Comparativo entre modelos de predição para bactéria *E. coli* e n=100 pulsos

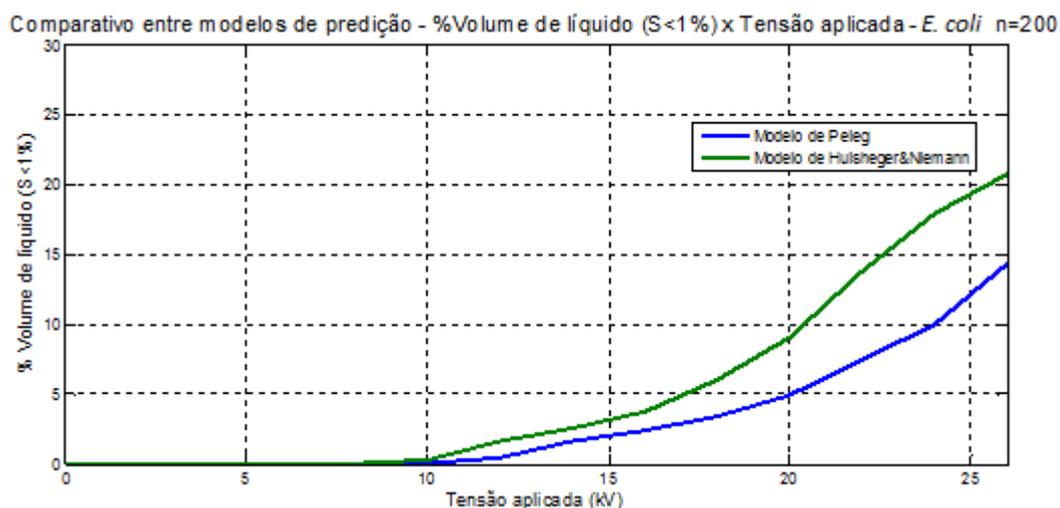


Figura 5.24: Comparativo entre modelos de predição para bactéria *E. coli* e n=200 pulsos

5.6 Considerações Finais

De maneira geral, as simulações computacionais, partindo de dados obtidos de experimentos da literatura, mostraram probabilidades indicativas de boa eficiência para tratamento do fungo *S. cerevisiae* com um arranjo de eletrodos cilíndricos tipo “needle” originais (sem isoladores de borracha). Porém, para a bactéria *E. coli*, reconhecidamente de maior resistência ao tratamento, o sistema original não seria adequado.

Os parâmetros de densidade de energia e temperatura máxima no interior do líquido podem se tornar críticos à medida que o número de pulsos aumenta, comprometendo a eficiência global do sistema.

Para tratamento utilizando o arranjo de eletrodos planos paralelos, as regiões de com baixa intensidade de campo elétrico, fora da região entre eletrodos, reduz a eficiência do sistema. O aumento do gap entre eletrodos é uma alternativa para aumento do volume de líquido esterilizado. Um aumento do raio dos eletrodos cilíndricos e do gap entre os mesmos, resultou em aumento de eficiência de esterilização.

Os dois modelos de predição abordados apresentaram resultados próximos com relação ao volume de líquido esterilizado, variando a tensão aplicada na faixa de 0 a 26 kV.

Conclusões e Trabalhos Futuros

6.1 Conclusões

No presente estudo, foi possível correlacionar probabilidades do percentual de líquido esterilizado em função do número de pulsos da fonte de alta tensão, restringindo o campo máximo no interior do líquido e monitorando a densidade de energia e temperatura do mesmo, além de analisar a eficiência de um sistema com diferentes arranjos de eletrodos e diferentes microorganismos.

Conforme resultados das simulações para o primeiro estudo de caso, o volume de líquido esterilizado cresce à medida que aumenta o número de pulsos, Porém, um aumento no número de pulsos eleva a densidade de energia e a temperatura no líquido. Para o fungo *S. cerevisiae* foi obtido valor de 96,81% do volume total de líquido coberto com probabilidades $S < 1\%$ nos elementos, para um valor de n igual a 600 pulsos. Este valor pode ser indicativo de bom nível de esterilização, dependendo da eficiência requerida para o sistema, contudo experimentos complementares a este trabalho, o qual tem um caráter probabilístico, devem ser realizados para verificação destas tendências.

Para um mesmo valor de tensão aplicada, a densidade de energia é diretamente proporcional ao número de pulsos. Para o critério estabelecido neste estudo com relação ao valor máximo da densidade de energia (140 Wh/L), a densidade de energia não ultrapassou o limite máximo. As curvas de densidade de energia plotadas em função de n , variando a tensão aplicada para obtenção de uma mesma eficiência (sem neste caso restringir o campo elétrico máximo no líquido para finalidade desta análise), estimam um ponto de máximo de densidade entre $n=400$ a 500 pulsos. O comportamento da densidade de energia em função de n pode ser explicado pela não linearidade da tensão aplicada, e conseqüentemente do quadrado do campo elétrico, em relação ao número de pulsos.

Do ponto de vista térmico, as simulações mostraram que um número elevado de pulsos associado com baixas constantes de decaimento de temperatura k do sistema, pode elevar a temperatura final a níveis que afetam a qualidade do líquido tratado.

Apesar do arranjo com eletrodos planos paralelos gerar uma maior região efetiva em termos de probabilidade de eliminação de bactérias entre os eletrodos quando comparada à configuração com eletrodos cilíndricos, as regiões atrás das placas possuem probabilidades de $S(\%)$ elevadas, o que pode comprometer a eficiência da esterilização. Enquanto o percentual de volume de líquido esterilizado ($S < 1\%$ nos elementos) alcançou 96,81% com 600 pulsos para o arranjo com eletrodos cilíndricos, para o arranjo com eletrodos planos paralelos foi de 76%, considerando a restrição de campo máximo de 50 kV/cm no interior do líquido. Ajustes nos valores de gap (eletrodos planos paralelos e cilíndricos) e raio dos eletrodos (cilíndricos) podem resultar em aumento de eficiência de esterilização do sistema.

Os resultados das simulações com dois diferentes tipos de microorganismos mostraram que o sistema aplicado ao estudo de caso, com arranjo de eletrodos cilíndricos, a princípio não seria adequado para tratamento da bactéria *E. coli* para 600 pulsos. Uma alternativa para aumentar a eficiência do sistema para tratamento da bactéria *E. coli*, mantendo o valor da tensão aplicada, seria o aumento do número de pulsos. Porém, para o modelo de predição aplicado neste estudo, não é recomendável extrapolar o número de pulsos para valores muito superiores ao valor de n máximo do experimento base (500 pulsos).

Os resultados do comparativo entre os modelos de predição de Peleg e de Hulsheger & Niemann, para a faixa de tensão aplicada às simulações (0 a 26 kV), mostraram uma boa correspondência entre os mesmos, principalmente para o microorganismo *S. cerevisiae*.

De forma geral, este estudo mostrou que a análise probabilística da taxa de sobrevivência de microorganismos em sistema com aplicação de pulsos de alta tensão pode fornecer importantes estimativas de parâmetros do sistema,

constituindo numa importante ferramenta de análise, sendo complementares a estudos experimentais com aplicação desta tecnologia.

6.2 Propostas de Continuidade de Estudo

Tendo em vista os parâmetros da fonte de tensão que impactam diretamente na eficiência de um sistema com aplicação de pulsos de alta tensão para esterilização, tais como número de pulsos e tensão aplicada, além de outros parâmetros discutidos neste trabalho, tais como: consumo energético, campo elétrico máximo no interior do líquido e temperatura, estudos envolvendo técnicas de otimização podem contribuir para a busca de um ponto ótimo do sistema com relação às variáveis citadas e a eficiência em relação à taxa de esterilização. Um dos focos das pesquisas acadêmicas sobre a tecnologia é o desenvolvimento de arranjos de eletrodos que permitam a geração de uma distribuição de campo elétrico com intensidade e uniformidade suficiente para alcançar uma determinada eficiência, com a mínima magnitude de tensão aplicada e tempo de tratamento, de forma a minimizar o consumo energético. Um algoritmo de otimização combinado com o cálculo de campo elétrico pelo Método de Elementos Finitos, aplicado a um dado arranjo de eletrodos, pode definir de forma sistemática o formato do eletrodo, em função da eficiência requerida.

Estudos experimentais de caráter multidisciplinar envolvendo engenharia de alta tensão e ciências biológicas, complementares às simulações computacionais, com monitoramento da eficiência do sistema do ponto de vista de sobrevivência de microorganismos e de eficiência energética, são indicados para verificação do nível de assertividade dos resultados obtidos e ajustes do modelo computacional proposto, bem como da análise comparativa entre os modelos de predição utilizados neste estudo.

Referências Bibliográficas

- [1] Dunn, J., "*Pulsed electric field processing: an overview, Em: "Pulsed electric fields technology for the food industry, Fundamental Aspects and Applications"*", Food engineering series, Editora Springer, páginas 2-26, 2006.
- [2] Gerlach, D., Alleborn, N., Baars, A., Delgado, A., Moritz, J., Knorr, D., "*Numerical simulations of pulsed electric fields for food preservation: a review*", Innovation Food Science & Emerging Technologies., vol. 9(4), páginas: 408–17, 2008.
- [3] Zhao Dong-yang; Li Cheng-xiang; Mi Yan; Yao Chen-guo., "*The optimal design of electrode array using electroporation based on the finite element*", ICHVE-International Conference of High Voltage Engineering and Application. Publicação da conferência, páginas 773-776, 2008.
- [4] Bai-Lin Qin; Barbosa-Canovas, G.V.; Swanson, B.G.; Pedrow, P.D.; Olsen, R.G, "*Pulsed electric field treatment chamber design for liquid food pasteurization using a finite element method*". ASABE – American Society of Agricultural and Biological Engineers, vol. 38, páginas: 557-565, 1995.
- [5] Golberg, A., Rubinsky, B., "*A statistical model for multidimensional irreversible electroporation cell death in tissue*", Biomed Engineering Online (artigo disponível para acesso livre em www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PM2839970), 2010.
- [6] Toepfl, S., Heinz, V., Knorr, D., "*Overview of pulsed electric field processing of foods. Em: "Emerging Technologies for Food Processing"*", páginas: 67-97, Editora Elsevier, 2005.
- [7] Beattie, J. M. e Lewis, F. C., "*A bacteriological agent in the sterilization of milk and other fluids*", Journal Hygiene, vol. 24, páginas 123-137, 1925.
- [8] Reitler, W., "*Conductive heating of foods*", Tese de Doutorado, Technical University of Germany, 1990.

- [9] Gilliland, S. E., Speck, M. L., “*Inactivation of microorganisms by eletrohydraulic shock*”, Applied Microbiology, vol. 15(5), páginas 1031-1037, 1967.
- [10] Jeyamkondan, S., Jayas, D. S., Holley, R. A., “*Pulsed electric field processing of foods: a review*”, Jornal Food Protection, vol. 62(9), páginas 1088-1096, 1999.
- [11] Doevenspeck, H. “*Influencing cells and cell walls by electrostatic impulses*”, Fleischwirtschaft, vol. 13, páginas 968-987, 1961.
- [12] Von, V., “*Pulsed Electric Field (PEF) for permeabilization of cell membranes in food – and bioprocessing – applications, process and equipment design and cost analysis*”, Department of Food Processing Engineering and Food Biotechnology, Tese de Doutorado, Faculdade de Berlim, 2006.
- [13] Barbosa Cánovas, G. V., Góngora-Nieto, M. M., Pothakamury, U .R., Swanson, B. G., “*Preservation of foods with pulsed electric fields*”, Food Science Technology – International series, Editora: Academic Press , 1° edição, USA, 1999, 195p.
- [14] Jayaram, S. H., “*Pulsed power applied to process industry*”, IEEE Industry applications magazine, vol. 16(4), páginas 34-40, 2010.
- [15] Sales, A. J. H., Hamilton, W. A., “*Effects of high electric fields on microorganisms*”, Biochemica et Biophysica Acta. (BBA) – General subjects, vol. 148(3), páginas 781-788, 1967.
- [16] Hülshегuer, H., Niemman, E. G., “*Lethal effects of high voltage pulses on E. coliK 12*”, Radiation and Environmental Biophysics, vol. 18(4), páginas 281-288, 1980.
- [17] Hülshегuer, H., Potel, J., Niemman, E. G., “*Killing of bacteria with electric pulses of high voltage strength*”, Radiation and Environmental Biophysics, vol. 20(1), páginas 53-65, 1981.

- [18] Hülshueger, H., Potel, J., Niemman, E. G., “*Electric field effects on bacteria and yeast cells*”, Radiation and Environmental Biophysics, vol. 22(2), páginas 149-162, 1983.
- [19] Peleg, M., “*A model of microbial survival after exposure to pulse electric fields*”, Journal of the Science and Agriculture, vol. 67(1), páginas 93-99, 1995.
- [20] Relatório “*Improving the Environment*”, Ballistic Missile Defense Organization (BMDO) Technologies, Washington/USA, 1998. Disponível em: www.mdatechnology.net/pdf/1998_Improving_Environment.pdf. Acesso em 02/09/2011.
- [21] Food Science Technology Abstracts (FSTA), Base de dados: 1987-2005.
- [22] Schoenbach, K.H., Stark, R.H., Deng, J., Aly, R. El., “*Biological/medical pulsed electric field treatment*”. Publicação do XXIV International Power Modulator Symposium, 2000.
- [23] Pagán, R., Mañas, P., “*Fundamental aspects of microbial membrane electroporation*”. Em: “*Pulsed electric fields technology for the food industry*”, Food engineering series, Editora Springer, páginas 74-76, 2006.
- [24] Zimmermann, U., “*Electric breakdown, electropermeabilization and electrofusion*”, Phys. Biochemistry and Pharmacology, vol. 105(6), páginas 196-256, 1986.
- [25] Johnstone, P.T., Bodger, P.S., “*Applications of high voltage power supplies in the purification of water*”, AUPEC Conference in Electrical Power Engineering, artigo 27, 478-482, 2001.
- [26] Tsong, T. Y., “*Electroporation of cell membranes*”, Biophys Journal, vol. 60, páginas 271-295, 1991.
- [27] Castro, A. J., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G., “*Inactivation of foods by pulsed electric field*”, Journal Food Proc. Preserv., vol. 17, páginas 47-73, 1993.

- [28] Cebrián, G., Sagarzazu, N., Pagán, R., Condón, S., Mañas, P., "*Resistance of Escherichia coli grown at different temperatures to various environmental stresses*", Journal of Applied Microbiology, vol. 105(1), páginas 271-278, 2008.
- [29] Qin, B. L., Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G. V., "*Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields of different voltage waveforms*", IEEE Trans. Dielectric and Electrical Insulation., vol. 1(6), páginas 1047-1057, 1994.
- [30] Johnstone, P.T., Bodger. P.S., "*High Voltage Disinfection of Liquids*", IPENZ (Institute of Professional Engineers New Zealand) transactions, vol. 24, páginas 30-35, 1997.
- [31] Jacob, H. E., Förster, W., Berg, H., "*Microbiological implications of electric field effects*", Microbiology and Radiation, vol. 21, páginas 225-233, 1981.
- [32] Álvarez, I., Págan, R., Raso, J., Cónon, S., "*Environmental factors influencing the inactivation of Listeria monocytogenes by pulsed electric fields*", Appl. Microbiology, vol. 35(6), páginas 489-493, 2003.
- [33] Espino-Cortes, F., El-Hag, A. H., Adedayo, O., Jayaran, S., Anderson, W., "*Water processing by high intensity pulsed electric fields*", Electrical Insulation and Dielectric Phenomena, IEEE Conference, páginas 684-687, 2006.
- [34] Jayaram, S., Castle, G. S. P., Margaritis, A., "*The effects of high Field DC pulse and liquid medium conductivity on survivability of Lactobacillus brevis*", Applied Microbiology and. Biotechnology, vol. 40(1), 117–122, 1993.
- [35] García, D., Gómez, N., Manãs, P., Condón, S., Raso, J., Págan, R., "*Ocurrence of sublethal injury after pulsed electric fields depending on the microorganism, the treatment medium and the intensity of the treatment investigated*", Journal Applied Microbiology, vol. 99(1), páginas 94-104, 2005.
- [36] Geveke, D. J., Kozempel, M. F., "*Pulsed electric field effects on bacteria and yeast cells*", Journal of Food Processing and Preservation, vol. 27(1), páginas 65-72, 2003.
- [37] Álvarez, I., Condón, S., Raso, J., "*Microbial inactivation by pulsed electric fields*". Em: "*Pulsed electric fields technology for the food industry, Fundamental Aspects*

and Applications”, Food engineering series, Editora Springer, páginas 97-124, 2006, Editora Elsevier, 2005.

[38] Heinz, V., Álvarez, I., Angersbach, A., Knorr, D., “*Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields – basics concepts for process design*”, Food Science and Technology, vol. 12(3), páginas 103-111, 2001.

[39] Olga, M. B. O., Sobrino-López, A., “*Combination of pulsed electric fields with other preservation techniques*”, Food Bioprocess Technology, vol. 4(6), páginas 954-968, 2011.

[40] Bastos, J. P. A., Sadoswski, N., “*Electromagnetic modeling by finite element methods*”, Nova York, USA, Editora Marcel Deeker, 2003. 497 p.

[41] Ribeiro, F.L.B., “*Introdução ao método dos elementos finitos*”, Programa de Engenharia Civil – COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2004.
www.coc.ufrj.br/~fernando/downloads/Curso_MEF1.pdf. Acesso em 01/02/2012.

[42] Álvarez, I., Condón, S., Raso, J., “*Comparing predicting models for the Escherichia coli inactivation by pulsed electric fields*”, Innovative Food Science and Emerging Technologies, Vol.4(2), páginas 195-202, 2003.

[43] Álvarez, I., Raso, J., Condón S., “*Microbial inactivation by pulsed electric field*”, Em: “*Pulsed electric fields technology for the food industry, Fundamental Aspects and Applications*”, Food engineering series, Editora Springer, páginas 117-118, 2001.

[44] Yang, Z., Xion W.g, L., Ye, X., Long, B., Xi, Z., He, “*High voltage pulse generator based on Marx circuit and its application for sterilization*”, 3rd Biomedical Engineering and Informatic Conference (BMEI). Publicação da conferência, vol.3, páginas 1310-1314, 2010.

[45] Figueiredo, R. M, “*Guia prático para evitar doenças veiculadas por alimentos (DVA)*”, 2002. Disponível em: www.higienedosalimentos.com.br/livro_guiapratico.asp. Acesso em 12/11/2011.

[46] Barbosa-Canovas, G. V., Altunakar, B., “*Pulsed electric field processing of foods: an overview*”. Em: “*Pulsed electric fields technology for the food industry, Fundamental Aspects and Applications*”, Food engineering series, Editora Springer, página 16, 2006.

[48] *E. coli* . Em: Wikipedia. Flórida: Wikimedia Foundation, 2012. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Escherichia_coli&oldid=28892908. Acesso em: 29/02/2012.

[49] *S. cerevisiae*. Em: Wikipedia. Flórida: Wikimedia Foundation, 2012. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Escherichia_coli&oldid=28892908. Acesso em: 29/02/2012.

[50] “*Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies Pulsed Electric Fields*”. Disponível em: <http://www.fda.gov/food/scienceresearch/researchareas/safepracticesforfoodprocesses/ucm101662.htm>. Acesso em: 01/12/2011.

[51] Alvarez, I., Condón, S., Raso, J., “*Microbial inactivation by pulsed electric field*” Em: “*Pulsed electric fields technology for the food industry, Fundamental Aspects and Applications*”, Food engineering series, Editora Springer, página 102, 2006.

[52] Notas de aula da disciplina Elementos Finitos, ministrada no programa de Mestrado em Engenharia Elétrica da UFMG, Semestre 1/2011, ministrada pelo Professor Elson José da Silva.

[53] Wang, Y., Jiahui, L.I., Xinlao, W.E.I, Xiangfeng, X.U., “*Dependence of transmembrane voltage on pulsed electric field frequency*”. Apresentado na 9th International conference on properties and applications of dielectric materials. Publicação da conferência, páginas 1177-1180, 2009.

[54] Loeffler, M. J., “*Pulsed electric field processing: an overview*”, em: “*Pulsed Electric Fields in Food Processing, Fundamental Aspects and Applications*”, Food engineering series, Editora Springer, página 33, 2006.

- [55] Vorobiev, E., Lebovka, N. I., "Extraction of intercellular components by pulsed electric field", em: "Pulsed Electric Fields in Food Processing, Fundamental Aspects and Applications", Food engineering series, Editora Springer, página 157, 2006.
- [56] Gaouda, A. M., El-Hag, A. H., Jayaram, S.H., "Detection of discharge activities during pulsed electric field food processing", IEEE Transactions on industry applications, vol. 46(1), páginas 16-22, 2011.
- [57] Material didático da disciplina de Método Numéricos Aplicados do Curso de Graduação de Engenharia de Materiais da USP. Disponível em: http://www.demar.eel.usp.br/metodos/mat_didatico/Metodo_dos_Elementos_Finitos.pdf. Acesso em 15/04/2012.
- [58] Dickman, A. G., Dickman, R., "A lei de resfriamento de Newton: Condução e Radiação". Apresentado no XVII Simpósio Nacional de Ensino de Física, Maranhão, 2007.
- [59] Moonesan, M. S., Jayaram, S. H., "Effect of pulse width on pulse electric field food treatment". Apresentado na 46th IEEE Industrial Applications Society Annual Meeting. Publicação da conferência, páginas 1-5, 2011.
- [60] Qin, B. L., Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G. V., Pedrow, P.D., Olsen, R. G., "Inactivation microorganisms using a pulsed electric field continuous treatment system", IEEE transactions on industry applications, vol. 34(1), páginas 43-50, 1998.
- [61] Material da disciplina de Propagação de sinais, Curso de Engenharia Elétrica Univer. Presbiteriana Mackenzie, 2004, Professor Marcio Eisencraft, disponível em: <http://professor.ufabc.edu.br/marcio.eisencraft/Artigos/PropagacaodeSinais.pdf>. Acesso em 01/03/2012.
- [62] Cebrián, G., Sagargazu, N., Pagán, R., Condón, S., Mañas, P., "Resistance of *E. coligrown* at different temperatures to various environmental stresses", Journal of Applied Microbiology, vol. 105(1), páginas 1364-5072, 2008.

[63] Soza, J. A. G., “*Plataforma experimental para la esterilización industrial de agua mediante electroporación*”, Tese de Doutorado, Departamento de Engenharia Eletrônica, Universidade Politécnica de Catalunya, 2011.

[64] Roodenburg, B., “*Pulsed electric field treatment of packaged food*”, Tese de Doutorado, Universidade Técnica de Delft, Holanda, 2011.

[65] Chen, J., Zhang, R., Xiao, J., L., Jing, W. Liming, “*Influence of pulse rise time on the inactivation of S. aureus by pulsed electric fields*”, IEEE Transactions on Plasma Science, Vol. 38(8), páginas 1935 – 1941, 2000.