UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ROMY UEKI

**Ação do campo magnético pulsado sobre as propriedades do caldo de cana
ao longo do armazenamento**

Pirassununga

2013

ROMY UEKI

**Ação do campo magnético pulsado sobre as propriedades do caldo de cana
ao longo do armazenamento**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como parte
dos requisitos para a obtenção do Título
de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da
Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Mariza Pires de
Melo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

U22a Ueki, Romy
Ação do campo magnético pulsado sobre as
propriedades do caldo de cana ao longo do armazenamento
/ Romy Ueki. -- Pirassununga, 2013.
76 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Ciências Básicas.
Área de Concentração: Ciências da Engenharia de
Alimentos.
Orientadora: Profa. Dra. Mariza Pires de Melo.

1. Antioxidante 2. Cana-de-açúcar 3. Enzima
4. Físico-química 5. Micro-organismo 6. Preservação.
I. Título.

AGRADECIMENTOS

Á minha orientadora, Profa Dra. Mariza Pires de Melo, por sua dedicação na execução e elaboração desta pesquisa, pelo conhecimento transmitido e pela confiança e conselhos que me foram dados e pelos quais sou muito grata.

Á Pós Graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade de realizar o curso.

À CAPES pelo auxílio financeiro concedido para realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ernane Xavier da Costa por fazer parte da idealização deste projeto e pelo fornecimento do equipamento utilizado e pela colaboração e conhecimento transmitido.

Ao Prof. Rodrigo Rodrigues Petrus por compartilhar a matéria prima utilizada em seu projeto.

Aos professores da pós-graduação pelos conhecimentos transmitidos.

Aos estagiários Nilce Rika Murahara e Thiago Menezes pela colaboração e dedicação na condução dos experimentos.

Ao pessoal do Laboratório de Física Aplicada e Computacional (LAFAC) pelas contribuições ao longo do trabalho.

Ao colega Thiago José Duarte Silveira pela montagem do equipamento utilizado e por fazer parte da idealização do projeto.

Ao pessoal do Laboratório de Química Biológica, Patricia, Eliane, Alessandra, Luciane, Andreia e Pamela pelo convívio e amizade e, em especial à Silvana, pela transmissão de conhecimento e amizade.

Ao meu namorado e amigos, pela paciência e apoio dado durante este período e compreensão nos momentos de ausência.

Aos colegas de pós graduação pela amizade e troca de experiências, em especial a Mariana, pela enorme ajuda para obter a matéria prima.

A minha família, pelo apoio e incentivo dado, em especial aos meus pais Eduardo e Sueli, meus irmãos Cindy e Craig e meu cunhado Renato.

A todos que de alguma forma participaram e contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho, o meu agradecimento.

Obrigada.

RESUMO

UEKI, R. **Ação do campo magnético pulsado sobre as propriedades do caldo de cana ao longo do armazenamento.** 2013. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a ação do campo magnético pulsado sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do caldo de cana armazenado sob refrigeração. As amostras de caldo de cana foram expostas ao campo magnético pulsado nas frequências de 40 Hz e 60 Hz por 30 e 210 minutos, e na frequência de 50 Hz por 2 horas. Amostras controles não foram expostas ao campo magnético. As amostras foram armazenadas por até 6 dias a 4°C e analisadas no tempo de armazenamento de 6, 12, 24, 48, 96 e 144 horas por meio de análises físico-químicas para todas as amostras, e microbiológicas para as amostras tratadas com campo magnético de 50 e 60 Hz. O campo magnético de 40 Hz aumentou os parâmetros de cor L^* e a^* e diminuiu o parâmetro b^* , efeito contrário ao campo de 60 Hz. O tratamento a 50 Hz aumentou o parâmetro de cor L^* e diminuiu os parâmetros a^* e b^* . A exposição ao campo magnético de 50 Hz e 60 Hz reduziu o crescimento de bactérias totais, sendo maior a redução nas amostras tratadas a 50 Hz, e para as amostras de 60 Hz, quanto maior o tempo de tratamento, maior a inibição do crescimento microbiano. O tratamento por campo magnético de 60 Hz por 30 minutos reduziu a atividade antioxidante e a concentração de compostos fenólicos, enquanto que o tratamento a 40 Hz por 30 minutos reduziu somente o primeiro índice e a 60 Hz por 210 minutos reduziu o segundo. Os demais parâmetros físico-químicos não sofreram alteração significativa com relação ao controle durante o armazenamento. Conclui-se que, apesar de serem necessários mais estudos para entendimento do mecanismo de ação do campo magnético em alimentos, o campo magnético pulsado de baixa intensidade (ordem de mili Tesla) possui potencial para ser utilizado como tecnologia inovadora no tratamento de alimentos para controle microbiológico.

Palavras-chave: cana-de-açúcar; enzima; físico-química; micro-organismo; preservação

ABSTRACT

UEKI, R. **Action of pulsed magnetic field on the properties of sugarcane juice during storage.** 2013. 76 f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

This study aimed to evaluate the action of pulsed magnetic field in the physicochemical and microbiological properties of sugar cane juice during refrigerated storage. Sugar cane juice samples were exposed to pulsed magnetic field at frequencies of 40 and 60 Hz for 30 and 210 minutes and at frequency of 50 Hz for 120 minutes. Control samples were not exposed to magnetic field. Samples were stored at 4°C for up to 6 days, and evaluated at times of storage of 6, 12, 24, 48, 96 e 144 hours through physicochemical analysis for all samples and through microbiological analysis for samples treated with 50 and 60 Hz magnetic field. Exposure to 40 Hz magnetic field raised the color parameters L^* and a^* , and decreased the b^* parameter, while de 60 Hz magnetic field had the opposite effect. The treatment with 50 Hz magnetic field raised the color parameter L^* and decreased a^* and b^* parameters. Exposure to 50 and 60 Hz magnetic field reduced the growth of total bacteria, where the frequency of 50 Hz was more effective. The treatment with 60 Hz magnetic field for 30 minutes reduced the antioxidant activity and the total phenolic compound, while the 40 Hz treatment for 30 minutes reduces only the first analysis and at 60 Hz for 210 minutes reduced only the second. The other physicochemical properties did not changed significantly during storage compared with the controls. We concluded that, although more studies is needed for better understand the action mechanism of magnetic field in foods, the low intensity pulsed magnetic field (order of mili tesla) has the potential to be used as innovative technology in food treatment for microbiological control.

Keywords: sugar cane; enzymes; physicochemical; microorganism; preservation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Os dois tipos de ácido fenólico (Figura e tabela adaptada de Viuda-Martos; Pérez-Álvarez; Fernández-López, 2013).....	22
Figura 2 - Estrutura do coumains e flavonoides. (Figura e tabela adaptada de Eskin; Przybylski, 2001).	23
Figura 3 - Cromatografica HPLC faz frações fenólicas do caldo de cana-de-açúcar: 1 ácidos hidroxicinâmicos, 2 ácido sinápico, 3 derivados de apigenina, 4 ácido cafeico, 5 derivados de luteolina e 6 derivados de tricina. Fonte: DUARTE-ALMEIDA, 2006.....	24
Figura 4 - Linhas de Campo Magnético passando no centro do Indutor. Fonte: SOARES,2009.	26
Figura 5 - Curva do crescimento microbiano.....	28
Figura 6 - Cana de açúcar cortada, raspada e em higienização por imersão em solução de hipoclorito de sódio.	35
Figura 7 - Visualização da moenda elétrica sem a capa de proteção.	36
Figura 8 - Equipamento Magneto-freezer utilizado para tratamento com campo magnético pulsado das amostras de caldo de cana.....	37
Figura 9 - Bobina do Magneto-freezer com sistema de refrigeração.....	38
Figura 10 - Perfil do campo magnético pulsado com frequência de 10 Hz do equipamento Magneto-freezer. (Lins, 2011)	38
Figura 11 - Valores absolutos de acidez titulável do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).....	46
Figura 12- Valores absolutos de acidez titulável do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao	

campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).48

Figura 13 - Valores absolutos do parâmetro L* do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).50

Figura 14 - Valores absolutos do parâmetro a* do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).52

Figura 15 – Valores absolutos do parâmetro b* do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).54

Figura 16 – Contagem padrão de micro-organismos bactérias totais do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 50 Hz por 210 min (T3) e (B) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).56

Figura 17 - Curva padrão do Trolox58

Figura 18 – Valores absolutos da atividade antioxidante pelo método de inibição do ABTS do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).59

Figura 19 - Curva padrão do ácido gálico por Folin-Ciocalteu.....61

Figura 20 - – Valores absolutos da concentração de compostos fenólicos totais do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5). Resultados apresentados como média e desvio padrão para 3 experimentos realizados em triplicata.63

Figura 21 - Valores absolutos da atividade do polifenol oxidase do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição

(controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).....65

Figura 22 – Valores absolutos da atividade da enzima peroxidase do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).....68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Os dez maiores produtores de cana-de-açúcar no mundo (2011)	15
Tabela 2 - Concentração dos principais compostos fenólicos do caldo de cana-de-açúcar em mmol por L.....	25
Tabela 3 - Efeito do campo magnético em microrganismos.....	30
Tabela 4 - Efeito do campo magnético na atividade enzimática in Vitro	32
Tabela 5- Valores percentuais relativos de pH avaliados no caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).	45
Tabela 6 - Valores percentuais relativos de acidez titulável no caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).....	47
Tabela 7 - Valores percentuais relativos do parâmetro de cor luminosidade L* do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).....	49
Tabela 8 - Valores percentuais relativos do parâmetro de cor a*, referente a variação da cor verde ao vermelho, do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).	51
Tabela 9 – Valores percentuais relativos do parâmetro de cor b*, referente a variação da cor azul ao amarelo, do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e	

30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4)
e 60Hz e 210min (T5).....53

Tabela 10 - Diferenças da contagem microbiológicas de bactérias totais expresso em Log₁₀/mL do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).....57

Tabela 11 – Diferenças da atividade antioxidante pelo método de inibição do ABTS do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).....60

Tabela 12 – Diferenças da concentração de compostos fenólicos totais do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).....62

Tabela 13 – Diferenças atividade de polifenol oxidase no caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).....66

Tabela 14 – Diferenças da atividade da enzima peroxidase do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).....67

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Cana-de-açúcar.....	15
2.2 Enzimas Oxidativas.....	17
2.2.1 Peroxidase	17
2.2.2 Polifenol oxidase	19
2.3 Atividade antioxidante	21
2.4 Compostos fenólicos	21
2.5 Tratamento de alimentos por aplicação de campo magnético	26
2.5.1 Campo Magnético	26
2.5.2 Aplicação de campo magnético em microrganismos	27
2.5.3 Efeito do campo magnético na atividade antioxidante	31
2.5.4 Aplicação do campo magnético em enzimas	31
3. OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivo específicos	34
4. METODOLOGIA.....	35
4.1 Obtenção e preparo de amostras.....	35
4.2 Campo magnético pulsado.....	36
4.3 Tratamento com campo de magnético	39
4.4 Análises físico-químicas e bioquímicas.....	39
4.4.1 pH.....	40

4.4.2 Acidez titulável	40
4.4.3 Cor.....	40
4.4.4 ABTS	41
4.4.5 Folin Ciocalteu.....	41
4.5 Análise Bioquímica	42
4.6 Microbiologia	43
4.7 Análise estatística	44
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	45
5.1 Ação do campo magnético sobre os valores de pH e acidez titulável de caldo de cana	45
5.2 Ação do campo magnético sobre os parâmetros de cor de caldo de cana	49
5.3 Ação do campo magnético sobre o crescimento de bactérias totais.....	55
5.4 Ação do campo magnético sobre a atividade antioxidante	57
5.5 Ação do campo magnético sobre os compostos fenólicos totais	60
5.6 Ação do campo magnético sobre a atividade enzimática.....	64
6. CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS	70

1. INTRODUÇÃO

O caldo de cana, também popularmente conhecido como garapa, é bastante consumido por pessoas de todas as classes sociais, e geralmente deve ser consumido de imediato antes que ocorra o escurecimento ou apodrecimento do produto devido à inexistência de tratamento de branqueamento, pasteurização, adição de conservadores ou processos equivalentes mas maioria dos caldos comercializados.

Os consumidores na atualidade estão cada vez mais exigentes quanto à qualidade dos alimentos que consomem e demandam produtos mais seguros e sem alterações sensoriais. Portanto a conservação do caldo de cana é um tema bastante desafiador, pois esta matéria prima é muito susceptível ao escurecimento enzimático e à contaminação microbiológica. Esta demanda de consumidores tem levado ao estudo de tecnologias de conservação do caldo de cana sem alteração sensorial e efetiva conservação do alimento. Um estudo alinhado com a demanda atual é a utilização de campo magnético para inativação microbiológica e enzimática do caldo de cana, visto que este processo vem sendo estudado há alguns anos na inativação *in vitro* de microrganismos e na atividade enzimática.

Visto os resultados obtidos por estudos de aplicação de campo magnético em microrganismos e sistemas biológicos, o presente estudo foi realizado propondo a utilização de campo magnético pulsado de baixa intensidade na inativação enzimática e microbiológica no caldo de cana.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana de açúcar pertence à família das gramíneas e ao gênero *Sacchaum*. A cana-de-açúcar atualmente cultivada é resultado de seleções e cruzamentos de cinco espécies, a *Saccharum robustum*; *Saccharum sinense*; *Saccharum barberi*; *Saccharum officinarum*, as chamadas cana “nobres”, e a *Saccharum spontaneum*, uma espécie selvagem utilizada como fonte da característica de resistência a doenças (LINGLE; TEW, 2008; WANG et al., 2008). A cana “nobre” foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI, sendo que apenas no século XVIII que cultivares de *S. officinarum* foi introduzida (FAGERIA; BALIGAR; JONES, 2011).

A cana de açúcar é uma das principais culturas da agricultura brasileira. O Brasil é o maior produtor de cana, e também de açúcar e etanol proveniente da cana no cenário mundial (Tabela 1). O País deve colher 47,34 milhões de toneladas de cana até 2018/19, o que significaria um crescimento de 14,6 milhões de toneladas em comparação ao período 2007/2008. O Brasil não importa açúcar e etanol e é dono de 61,8% das exportações de açúcar de cana no mundo (CONAB, 2013).

Tabela 1 - Os dez maiores produtores de cana-de-açúcar no mundo (2011)

País	Produção (Ton)
Brasil	734.006.000,00
Índia	342.382.000,00
Colômbia	227.727.800,00
China	115.123.560,00
Tailândia	95.950.400,00
Paquistão	55.308.500,00
México	49.735.300,00
Filipinas	34.000.000,00
Estados Unidos da América	26.655.800,00
Austrália	25.181.800,00
Mundo	1.794.359.190,00

Fonte: FAOSTAT, 2013.

A área cultivada com cana de açúcar destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2012/2013 até estimada em 8.520,5 mil hectares, sendo 51,87 % produção de São Paulo, 8,52% de Goiás, 8,47% de Minas Gerais, 7,17% do Paraná, 6,37 % do Mato Grosso do Sul, 5,23% de Alagoas, 3,84% de Pernambuco e os demais estados produtores com representações abaixo de 3% (CONAB, 2013).

A partir da cana se produz açúcar, edulcorantes, condimentos, álcool, bagaço para queima e produção de energia, fibra para utilização em criação de animais, entre outros produtos. O caldo extraído da cana utilizado na indústria açucareira e alcooleira é composto por 75 a 82 % de água e 18 a 25 % de sólidos solúveis, onde, 14,5 a 23,5 % são sacarose, 0,2 a 1,0 % são glicose e 1,0 a 2,5 % não açúcares (CASTRO; ANDRADE, 2007).

O caldo de cana também é consumido como uma bebida popularmente denominada garapa. Esta bebida não alcoólica popular no Brasil com alto valor nutricional é bastante consumida por pessoas de todas as classes sociais e, geralmente, é obtida através da moagem da cana, utilizando moendas elétricas ou manuais, coagem com peneira plástica ou de metal e adicionado de sucos e gelo. A maioria dos comerciantes desta bebida não possui equipamentos ou instrução adequada para atender as exigências de segurança alimentar, e mesmo que atendendo as exigências, a bebida deve ser consumida de imediato antes que ocorra o escurecimento ou apodrecimento do produto devido à inexistência de tratamento de branqueamento, pasteurização, adição de conservadores ou processos equivalentes (SOCCOL; SCHWAB; KATSOKA, 1990; PRATI; MORETTI, 2005; OLIVEIRA, et al., 2006).

O caldo de cana logo após sua extração tem alguns de seus componentes, como a clorofila e os compostos fenólicos, oxidados resultando no escurecimento do caldo (PRATI; MORETTI, 2010). Para evitar este processo de escurecimento o caldo deve ser clarificado e os métodos mais utilizados na indústria são a calagem na produção de açúcar bruto, que consiste na adição de cal hidratada e aquecimento para decantação de impurezas, e a sulfitação na produção de açúcar cristal branco, que consiste na adição de dióxido de enxofre gasoso formando precipitado que atua na adsorção de compostos coloridos (HAMERSKI, 2010). Para produção de caldo de cana para consumo, um dos tratamentos que apresentou melhores resultados de

cor, aparência e turbidez, teor mediano de polissacarídeos e aceitação pelos consumidores, foi a utilização de policloreto de alumínio, conhecido comercialmente como PAC, com pH 8,0, produto utilizado atualmente no tratamento de água para consumo humano (PRATI; MORETTI, 2010).

2.2 Enzimas Oxidativas

Enzimas oxidativas, como a peroxidase e a polifenol oxidase, são aquelas que podem incorporar até dois átomos de oxigênio molecular em substratos susceptíveis. Nos sites ativos destas enzimas podem ser encontrados metais de transição (ROBINSON, 2001).

Peroxidases e Polifenol oxidases são enzimas responsáveis pela oxidação, e assim, pelo escurecimento enzimático de várias frutas e vegetais, assim como do caldo de cana. No caso do caldo de cana o escurecimento enzimático é indesejado, tanto para o caldo de cana para consumo ou para a produção de açúcar, porém na produção de chás, café e cacau, a peroxidase e o polifenol oxidase são extensivamente desejados, pois são benéficamente envolvidos no processo para resultar no escurecimento do produto e intensificação do sabor e odor (ROBINSON, 2001).

2.2.1 Peroxidase

Peroxidases estão amplamente presentes em plantas, frutas, microorganismos e animais, incluindo humanos. Com base na homologia de sequencias, as peroxidases podem ser classificadas por famílias e superfamílias. A primeira superfamília são as peroxidases provenientes de plantas que possui três famílias, as peroxidases de origem procarióticas, de origem fúngicas e as

peroxidases de plantas clássicas, onde está a peroxidase da cana-de-açúcar. As outras duas superfamílias são as peroxidases de origem animal e as catalases (YUAN; JIAN, 2002).

A enzima peroxidase utiliza peróxido de hidrogênio, certos peróxidos orgânicos, ou ácido peroxil, que possuem a fórmula geral ROOH, como receptor de hidrogênio para catalisar a oxidação de vários doadores de hidrogênio orgânicos e inorgânicos, como fenóis, aminas aromática entre outros (eq. 1) (YUAN e JIAN, 2002).

O peróxido de hidrogênio geralmente é o oxidante que forma o composto I através da enzima peroxidase nativa, que por sua vez, oxida o substrato doador, AH, retirando um único elétron formando um radical livre e o composto II (eq.2) (ROBINSON, 2001).

condições menos favoráveis. Esta peroxidase é muito estável, sendo que o pó liofilizado pode ser estocado a 4°C por vários anos sem aparentemente perder a atividade, e a solução purificada HPR é estável por um ano a 4°C (YUAN; JIAN, 2002).

Em estudos da peroxidase da soja, foi necessário tratamento de 15 minutos em 80°C para a inativação da enzima (SESSA; ANDERSON, 1981). Esta enzima possui a habilidade de regenerar após a desnaturação por calor até certa temperatura, como a peroxidase da laranja, que após tratamento a 30°C teve 80% da sua atividade original restaurada (MCLELLAN, 1984).

2.2.2 Polifenol oxidase

O escurecimento de vegetais e frutas devido a injúrias ocorridas no processamento, além de ser causado por enzimas, muitas vezes também é causado pela reação de Maillard, principalmente quando o aumento da temperatura faz parte do processo. Apesar disto, os estudos geralmente pressupõe que o escurecimento de frutas frescas é causado pela ação enzimática *o*-difênol oxidoreductase. A polifenol oxidase originada da maçã é a principal enzima utilizada em estudos de escurecimento enzimático de frutas, utilizam-se a maçã no estado líquido, como purê ou até como pó seco. A polifenol oxidase da maçã possui o mecanismo de ligar sequencialmente primeiro o oxigênio e depois o fenol, como mostra o estudo de Janovitz-Klapp et al., (1990 a). O bisulfito é um forte inibidor da polifenol oxidase da maçã, seguido pelos inibidores cisteína e ácido ascórbico (ROBINSON, 2001; JANOVITZ-KLAPP et al., 1990 b). Em temperaturas de 10 a 15°C, pressões de 100 a 300 MPa aumentam a atividade enzimática da polifenol oxidase da maçã. Já em pressões acima de 300 MPa, a pressão e a temperatura trabalham com sinergia na inibição da enzima, mostrando a resistência desta e também a possibilidade de utilizar o processo de alta pressão na produção de suco de maçã (BUCKOW; WEISS; KNORR, 2009).

A oxidação de polifenóis catalisada pela polifenol oxidase pode ter reação de duas fases, iniciando com a monofenol, ou reação de uma fase, onde apenas uma dihidroxifenol é oxidada. Na primeira reação, a enzima pode ser chamada de monofenol oxidase, e na segunda, catecol oxidase. Um terceiro tipo de enzimas é a lacase, que utiliza como substrato a siringaldazine (ROBINSON, 2001; RAMIREZ; WHITAKER; VIRADOR, 2002).

Polifenol oxidases são enzimas que contem cobre em sua estrutura e a reação de oxidação envolve mudanças na valência do metal de transição que age como o portador do único elétron. O fornecimento de dois elétrons para formar o estado Cu (I) da enzima da reação (eq.4) é possivelmente ligado a redução do oxigênio para gerar hidroxilação na reação (eq.5) com a redução de um átomo de oxigênio para água, e também, as reações dependem da reciclagem de elétrons nas oxidações do metal de transição dos estados I e II (ROBINSON, 2001).

A Polifenol oxidase é considerada a principal enzima envolvida no escurecimento do caldo de cana. Em estudo, a polifenol oxidase do caldo de cana apresentou se como não ativa com p-difenois e inativada pelo ácido salicilhidroxâmico, sugerindo ser uma enzima do tipo catecol oxidase e não uma lacase (BUCHELI; ROBINSON, 1994)

A concentração da enzima polifenol oxidase em vegetais depende da etapa do ciclo de vida que a planta se encontra e a ativação desta enzima ocorre durante o rompimento celular, portanto, no caso do caldo de cana, ocorre no momento da moagem (ROBINSON, 2001).

2.3 Atividade antioxidante

Antioxidantes são substâncias que previnem ou retardam as reações oxidativas causadas pelos radicais livres, como o superóxido O_2 , hidroxil, peroxil e alcoxil, e não radicais como o peróxido de hidrogênio, ácido hipocloro (HOCl), entre outros. De acordo com Halliwell et al. (1995) antioxidantes são substâncias que, quando em baixa concentração comparado com a concentração dos substratos oxidáveis, retardam significativamente ou previnem a oxidação destes. Antioxidantes podem agir em de vários modos como sequestrar radicais livres, complexação dos íons metálicos, suprimir superóxidos e oxigênio singlete e reduzir ou decompor os peróxidos de hidrogênio. Também pode agir em diferentes etapas da sequência de oxidação dependendo do seu modo de ação (VIUDA-MARTOS; PÉREZ-ÁLVAREZ; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2013; ESKIN; PRZYBYLSKI, 2001).

Maiorias dos antioxidantes naturais, com exceção dos tocoferóis, são compostos fenólicos. O termo compostos fenólicos inclui um grande número de produtos secundários de plantas que diferem na estrutura química ou na reatividade, podendo ser de um simples composto até compostos extremamente polarizados (ESKIN; PRZYBYLSKI, 2001).

2.4 Compostos fenólicos

Compostos fenólicos possuem um anel aromático ligado a um ou mais substituintes hydrogenado, incluindo seus derivados funcionais. Existem em torno de 5000 compostos fenólicos identificados e classificados em 15 grupos. Os maiores grupos são os ácidos fenólicos, coumarins, e flavonoides como as antocianinas (ESKIN; PRZYBYLSKI, 2001).

Um dos compostos fenólicos com atividade antioxidante é o ácido fenólico. É encontrado em plantas e, em muitos casos, contribui em sua cor e sabor.

Quimicamente, ácidos fenólicos são definidos com substâncias que possuem um anel aromático ligado a um ou mais substituintes hydrogenado, incluindo seus derivados funcionais (VIUDA-MARTOS; PÉREZ-ÁLVAREZ; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2013). Ácidos fenólicos são classificados em duas famílias, a primeira é composta por derivados do ácido benzoico e a segunda do ácido cinâmico (Figura 1). Ambos são encontrados na forma conjugada ou esterificada. Os ácidos vanílico, *p*-hidroxibenzóico e sirínico são encontrado na lignina. Os ácidos cafeico e *p*-Coumarico são os ácidos mais comuns dos ácidos cinâmicos e a ligação dupla ao lado da cadeia faz com que estes ácidos e seus derivados existam na forma de isômero *cis* e *trans* (ESKIN; PRZYBYLSKI, 2001).

Ácido benzóico		
Composto	R ₁	R ₂
Ácido Vanílico	H	OCH ₃
Ácido Sirínico	OCH ₃	OCH ₃
Ácido Gálico	OH	OH
Ácido <i>p</i> -hidroxi benzóico	H	H
Ácido diidroxi benzóico	OH	H

Ácido cinâmico		
Composto	R ₁	R ₂
Ácido <i>p</i> -coumarico	H	H
Ácido ferrulico	H	OCH ₃
Ácido sinapico	OCH ₃	OCH ₃
Ácido cafeico	OH	H

Figura 1 - Os dois tipos de ácido fenólico (Figura e tabela adaptada de Viuda-Martos; Pérez-Álvarez; Fernández-López, 2013).

Os flavonoides são compostos baseados na estrutura C6-C3-C6 e inclui a maior diversidade de grupos fenólicos de plantas (Figura 2). Os maiores subgrupos são os flavonóis, flavones, isoflavones, cataquinas, proantocianidinas e antocianinas. Flavonóis ocorrem como glicosídeos e estão presentes em folhas se apresentando na cor amarela pálida. Os flavones se diferem de flavonóis pela falta do grupo 3-hidroxil no anel heterocíclico e estão presentes na angiosperma, como apigenina e luteolina, e presente na grama, como tricina. Antocianidinas possuem o

anel flavilina e normalmente está presente como antocianina em folhas, flores e frutas de plantas superiores (ESKIN; PRZYBYLSKI, 2001).

Coumárico		
Composto	R ₁	R ₂
Umbeliferone	OH	H
Aesculetina	OH	OH
Scopoletina	OH	OCH ₃

Flavonoides									
Composto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	
Caemferol	H	H	OH	H	OH	H	H	H	
Quercetina	OH	H	OH	H	OH	OH	OH	H	
Miricetina	H	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	
Apigenina	H	H	OH	H	OH	H	OH	H	
Luteolina	H	H	OH	H	OH	OH	OH	H	
Tricina	H	H	OH	H	OH	OCH ₃	H	OCH ₃	
Isovitexina	H	H	OH	glucose	OH	H	OH	H	

Figura 2 - Estrutura do coumains e flavonoides. (Figura e tabela adaptada de Eskin; Przybylski, 2001).

Compostos fenólicos funcionam como antioxidantes primários eliminando radicais livres. Estes compostos são ótimos doadores de oxigênio e hidrogênio e seu radical intermediário é relativamente estável. Enquanto fenóis sozinhos não são ativos como um antioxidantes, se substituir o hidrogênio nas posições *ortho* e *para* por um grupos alquil, aumentará sua reatividade com os radicais. A introdução de um segundo grupo hidroxil nas posições *ortho* ou *para* do fenoltambém aumenta a sua atividade antioxidante (ESKIN; PRZYBYLSKI, 2001).

O conteúdo total de compostos fenólicos encontrado no caldo de cana-de-açúcar, utilizando o método de Folin-Ciocalteau foi de 160 mg equivalente de ácido clorogênico/L, uma concentração relativamente alta comparada a bebidas base de extrato de soja. Os compostos fenólicos que foram identificados por HPLC-DAD foram os flavonoides, presentes como derivados de apigenina, luteolina e tricina

(Figura 3, Tabela 2). Também foram identificados ácidos fenólicos e principalmente ácido cafeico, sinápico e isômeros de clorogênicos (DUARTE-ALMEIDA, 2006).

Figura 3 - Cromatografia HPLC faz frações fenólicas do caldo de cana-de-açúcar: 1 ácidos hidroxicinâmicos, 2 ácido sinápico, 3 derivados de apigenina, 4 ácido cafeico, 5 derivados de luteolina e 6 derivados de tricina. Fonte: DUARTE-ALMEIDA, 2006.

Como pode se ver na Figura 3, o flavonoide presente com a maior concentração são os derivados de tricina, representando aproximadamente 10 % dos compostos fenólicos totais. A biatividade da tricina na presença de apigenina e luteolina no caldo de cana-de-açúcar pode se resultar em ação sinérgica ou aditiva. Devido a concentração e composição fenólica o caldo de cana-de-açúcar pode ser considerado uma potencial fonte de antioxidantes naturais. Entre os compostos fenólicos o ácido hidroxicinâmico foi o composto encontrado em maior concentração (DUARTE-ALMEIDA, 2006).

Tabela 2 - Concentração dos principais compostos fenólicos do caldo de cana-de-açúcar em mmol por L.

Composto	Concentração (mmol/L)
Apigenina	27,8 ± 0,8
Luteolina	9,2 ± 0,8
Tricina	35,7 ± 1,1
Ácido Cafeico	4,1 ± 0,1
Ácidos Hidroxicinamico	85,8 ± 1,3
Ácido Sinápico	25,4 ± 0,2

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=3). Fonte: DUARTE-ALMEIDA, 2006.

A atividade antioxidante do caldo de cana encontrado em estudo pelo método de determinação da atividade sequestrante de radical livre foi de 38,4 % de redução de DPPH, maior que a atividade do Trolox 80 µM. Pelo método da inibição da descoloração de β-caroteno causado por radicais livres formados durante a peroxidação do ácido linoleico, a atividade antioxidante encontrada no caldo de cana-de-açúcar cru foi de 77,3 %, sem diferença significativa comparada a atividade antioxidante do Trolox (DUARTE-ALMEIDA, J. A., 2011)

2.5 Tratamento de alimentos por aplicação de campo magnético

2.5.1 Campo Magnético

Magnetismo é o fenômeno em que um material exerce uma força atrativa ou repulsiva em outro material. A origem do magnetismo está nos movimentos giratórios e orbitais dos elétrons, e como os elétrons se interagem entre si. O campo magnético é definido como o espaço em que um corpo magnético é capaz de magnetizar os corpos em sua volta e é criado pelo movimento de partículas carregadas (AHMED et al, 2007).

Uma das formas mais simples para se criar um campo magnético é passando corrente elétrica através de um fio de cobre, e se o fio estiver na forma de um solenóide as linhas de campo se orientam perpendicularmente ao mesmo, se concentrando no centro do solenóide, como pode ser observado na Figura 4 (AHMED et al, 2007).

Figura 4 - Linhas de Campo Magnético passando no centro do Indutor. Fonte:

SOARES,2009.

O campo magnético pode ser estático ou oscilatório, e ambos podem ser homogêneos ou heterogêneos. Em um campo homogêneo as linhas de campo são uniformes na área envolvida pelo solenóide, enquanto que no heterogêneo as linhas não são uniformes e a intensidade decresce quanto maior a distância da linha até o centro do solenóide (FDA - Food and Drug Administration, 2000).

A aplicação de campo magnético em alimentos é uma das tecnologias não-termicas para preservação de alimentos que pode resultar em alimentos com aparência fresca retendo nutrientes termosensíveis, inativar enzimas e inibir ou estimular o crescimento microbiano, sendo este último vantajoso para utilizar em reatores biológico (AHMED et al, 2007; BARBOSA-CÁNOVAS et al, 2005).

Atualmente dificilmente será encontrado um equipamento de processamento de alimentos que utiliza o campo magnético. Os equipamentos existentes são projetados para laboratórios para fins de pesquisas. Esta tecnologia ainda não é aplicada na indústria, porém, nos últimos anos, muitas pesquisas sobre o efeito do campo magnético em alimentos estão sendo realizadas mostrando ser uma tecnologia promissora.

2.5.2 Aplicação de campo magnético em microrganismos

Microrganismos podem atingir uma taxa de crescimento rápido ou exponencial, porém para isto este precisa de um tempo para se ajustar ao meio. Neste período a taxa de crescimento é pequena. Após este período, o microrganismo entra em uma fase de rápido crescimento, chamado fase exponencial, que é seguido pela fase estacionária, quando os microrganismos vão consumindo os nutrientes do meio para sua reprodução. Após grande parte dos nutrientes são consumidos e o meio encontra-se superpopulado entra-se na fase de declínio. (Figura 5) Durante o processamento de alimentos, os microrganismos encontram-se na fase lag onde precisam de tempo para se ajustar as mudanças de acidez, temperatura, nível de oxigênio, de nutrientes ou de umidade, muitas vezes modificada propositalmente para inibir o crescimento microbiológico. A aplicação de

campo magnético pode um processo para modificar o meio para inibir o crescimento microbiológico. (EIFERT et al.,2005)

Figura 5 - Curva do crescimento microbiano.

De acordo com a FDA (2000) o efeito do campo magnético no crescimento microbiano varia de acordo com o microorganismo, do tipo de meio, do tipo de campo magnético, da intensidade do campo e da frequência utilizada no caso de campo magnético pulsado. Quando foi aplicado campo magnético de 0,8 a 2,5 mT de intensidade e frequência de 800 Hz a 1 kHz na cultura da cepa mutante *Bacillus subtilis* ocorreu aumento do crescimento microbiológico, como mostrou o estudo de RAMON, MARTIN e POWELL (1987), enquanto que no estudo de Okuno et al. (1992), a aplicação de campo magnético de 11,7 T na bactéria *E. coli* inoculada no meio sintético resultou na redução significativa do crescimento desta, porém quando se adicionou aminoácidos ao meio, o crescimento microbiológico foi estimulado.

Diversos estudos foram realizados para analisar o efeito do campo magnético em microrganismo. Hofmann (1985) relatou a inativação de microrganismos com a aplicação de campo magnético oscilatório no leite, iogurte, suco de laranja e massa de pão. E de acordo com o mesmo apenas um pulso de campo magnético

oscilatório foi suficiente para reduzir a população bacteriana entre 10^2 e 10^3 cfu/g. Para isso foi necessário campo magnético de 2 a 50 T com frequências de 5 a 50 kHz. Também foi relatado que o campo magnético de 236,5 Gauss pulsado a 1 Hertz reduziu a carga de mesófilos inicial do leite de cabra cru refrigerado em 33%. Após submetido ao campo magnético durante duas horas, a carga microbiana sofreu uma redução de 74% em relação ao leite não tratado (SILVEIRA et al, 2008).

Pothakamury et. al (1993) reportou duas teorias para explicar o mecanismo de inativação de células submetidas ao campo magnético estático ou oscilatório. A primeira teoria defende que um campo magnético oscilatório fraco pode desfazer ligações entre íons e proteínas. Muitas proteínas vitais para o metabolismo das células contêm íons. A segunda teoria considera o efeito do campo magnético nas ligações de íons cálcio em proteínas que se ligam ao cálcio, como a calmodulina. Os íons cálcio vibram constantemente sobre uma posição de equilíbrio no sítio de ligação da calmodulina. Expondo a calmodulina ao campo magnético estável causa a rotação do plano de vibração, ou o avanço na direção do campo magnético a uma frequência que é exatamente igual a frequência do ciclotron da ligação de cálcio. Adicionando um campo magnético "vibrante" na frequência do ciclotron a exatidão sofre distúrbio de tal forma que quebra a ligação entre o íon cálcio e calmodulina (BINHI & SAVIN, 2003; POTHAKAMURY et. al 1993). De acordo com Barbosa-Cánovas et al (1998) o campo magnético aumenta a síntese de DNA e muda a orientação de biomoléculas e biomenbranas para direção paralela ou perpendicular ao campo magnético aplicado, influenciando o crescimento microbiano.

Os estudos citados na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** mostram que os efeitos da aplicação do campo magnético variam. Em alguns casos o campo magnético estimula ou inibi o crescimento microbiano e em outros não tem efeito. Os efeito do campo magnético sobre a população microbiana de alimentos pode depender da intensidade do campo magnético, número de pulsos, frequência e propriedade do alimento, como resistividade, condutividade elétrica e grossura do alimento (FDA - Food and Drug Administration, 2000).

Tabela 3 - Efeito do campo magnético em microrganismos

Microrganismo	Tipo de campo magnético	Intensidade do campo (T)	Frequência do pulso (Hz)	Efeito	Referência
Staphylococcus aureus	Heterogêneo e estático	1.5	0	Taxa de crescimento aumenta entre 3 e 6 h; então diminui entre 6 e 7 h; população celular em 7 h é o mesmo que o controle	Gerenscer et.al (1962)
Saccharomyces cerevisiae	Heterogêneo e estático	0.465	0	Taxa de crescimento reduzido, incubado por 24, 48 ou 72 h	Van Nostrand et.al (1967)
Escherichia coli	Estático	0.3	0	Crescimento estimulado	Moore (1979)
Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans	Oscilatório	0.015 0.03 0.06	0.1-0.3	Crescimento estimulado; estimulação aumenta com o aumento da frequência	Moore (1979)
E. coli	Oscilatório	0.15	0.05	Inativação celular quando a concentração inicial de células é de 100 células/mL	Moore (1979)
Streptococcus thermophilus no leite	Oscilatório	12.0	6,000 (1 pulso)	População celular reduzido de 25,000 células/mL para 970	Moore (1979)
Saccharomyces no iogurte	Oscilatório	40.0	416,000 (10 pulsos)	População celular reduzido de 3,500 células/mL para 25	Hofmann (1985)
Saccharomyces no suco de laranja	Oscilatório	40.0	416,000 (1 pulso)	População celular reduzido de 25,000 células/mL para 6	Hofmann (1985)
Esporos de mofo	Oscilatório	7.5	8,500 (1 pulso)	População reduzido de 3,000 esporos/mL para 1	Hofmann (1985)

Fonte: FDA - Food and Drug Administration, 2000

2.5.3 Efeito do campo magnético na atividade antioxidante

O efeito do campo magnético na atividade antioxidante de enzimas e compostos é algo ainda em estudo sem uma definição sólida. Algumas teorias acreditam que o campo magnético estimula atividade antioxidante enquanto que alguns estudos mostram o contrário. A teoria de Grissom (1995) defende que o campo magnético influencia na taxa de recombinação de pares de radicais e na taxa de cruzamento intersistemas, e assim reduzindo a concentração de radicais propagadores. Mesmo que a redução seja mínima, o efeito seria grande, pois cada radical pode causar múltiplas oxidações em cadeia. Batcioglu (2002) propôs que a redução da atividade antioxidante da catalase quando aplicado o campo magnético, como encontrado em seu estudo, ocorre pois o campo magnético faz com que o átomo de Fe^{2+} fique mais oxidável, e a catalase possui a ação de converter Fe^{3+} para Fe^{5+} . O mesmo resultado foi encontrado por SAHEBJAMEI, ABDOLMALEKI & GHANATI (2007), porém estes propuseram que o campo magnético concentrou H_2O e outras espécies reativas de oxigênio levando o meio a uma explosão oxidativas e a morte de células.

2.5.4 Aplicação do campo magnético em enzimas

Assim como em microrganismos, o efeito do campo magnético em enzimas também depende do meio em que se situam. Para eliminar os efeitos do meio, muitos estudos utilizam o método de análise *in Vitro*. Na Tabela 4 estão alguns resultados obtidos em estudos utilizando este método.

Tabela 4 - Efeito do campo magnético na atividade enzimática in Vitro

Enzima	Reação catalizada	Intensidade do campo magnético (T)	Efeito na taxa da reação (%)
Peroxidase	Oxidação de δ-dianidizina com peróxido de hidrogênio	8,5; 17,0	0
Tirosinase	Oxidação de L-tirosina pelo oxigênio molecular	17,0	0
Glutamato dehidrogenase	Oxidação de 2-oxoglutarato	6,0	-5 a -10
Catalase	Degradação de H ₂ O ₂	6,0	+5 a +9
Catalase	Degradação de H ₂ O ₂	1,05	0
Catalase	Liberação de O ₂ durante a degradação de H ₂ O ₂	0,65	+20
Peroxidase de raiz-forte	Guaiacol; oxidação pela H ₂ O ₂	0 – 0,25	0

Fonte: GRISSOM, C. B, 1995

A teoria de Grissom (1995) sobre a influência do campo magnética na combinação de pares de radicais também é válida para analisar o efeito do campo magnético na atividade de enzimas. Para que esta atividade seja influenciada, a combinação entre a enzima e o substrato precisa ter a predisposição de ser influenciada pelo campo. Atualmente se tem apenas teoria sobre este mecanismo, mas futuramente é importante a realização de estudos para afirmar, encontrando a frequência e intensidade ótima de influência, ou negar esta teoria.

Podemos utilizar a teoria de Batcioglu (2002), de que o campo magnético faz com que o átomo de Fe²⁺ fique mais oxidável, para dizer que o campo magnético possivelmente estimula a atividade de certas enzimas que utilizam metais de transição, como a peroxidase, por aumentar as chances de oxidação deste metal.

Em estudo sobre a influencia do campo magnético pulsado sobre a atividade enzimática na banana, Nunes et al (2008) relatou redução do escurecimento na

banana, resultante da atividade da polifenol oxidase, quando aplicado campo magnético pulsado de 206,4 Gauss e frequência de 1 Hz.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente estudo teve como objetivo avaliar a ação do campo magnético pulsado sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do caldo de cana armazenado sob refrigeração a 4°C.

3.2 Objetivo específicos

O objetivo específico do presente estudo foi avaliar o efeito da exposição ao campo magnético pulsado com frequências de 40 Hz e 60 Hz por 30 e 210 minutos, e frequência de 50 Hz por 120 minutos sobre o caldo de cana-de-açúcar não pasteurizado, durante o armazenamento a 4°C, por meio de análises:

- Microbiológica: bactérias aeróbias totais

- Físico-químicas: pH, acidez titulável, Cor Lab*, atividade antioxidante, concentração de fenólicos totais e atividade enzimática de polifenol oxidase e peroxidase.

4. METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Química Biológica do Departamento de Ciências Básicas (ZAB) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo (USP) da cidade de Pirassununga/SP.

4.1 Obtenção e preparo de amostras

O caldo foi obtido da cana de açúcar (*Saccharum officinarum*), do cultivar SP 3250, fornecida pelo projeto da mestrandia Mariana Tomie Kunitake da FZEA-USP, que obteve a matéria prima de produtor situado em Santa Cruz das Palmeiras/SP. A cana de açúcar foi cortada, raspada e higienizada pelo método de imersão por 20 minutos a temperatura ambiente em solução de hipoclorito de sódio (NaClO), na concentração de 30 mg/L de cloro residual livre (Figura 6).

Figura 6 - Cana de açúcar cortada, raspada e em higienização por imersão em solução de hipoclorito de sódio.

A extração foi realizada em moenda elétrica de cilindros (Figura 7). O processamento foi feito no campus da USP de Pirassununga.

Figura 7 - Visualização da moenda elétrica sem a capa de proteção.

O caldo foi dividido e embalado em garrafas plásticas de 250 mL com tampa e transportado até o Laboratório de Química Biológica em isopor contendo gelo. No laboratório as garrafas contendo o caldo foram armazenadas a $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$.

4.2 Campo magnético pulsado

O tratamento com campo magnético pulsado foi realizado utilizando-se o equipamento *Magneto-freezer*, desenvolvido pelo Laboratório de Física Aplicada e Computacional (LAFAC) do Departamento de Ciências Básicas da FZEA/USP em Pirassununga/SP. Este equipamento consiste em um refrigerador de inox de dimensões 0,45 m x 0,50 m x 1,3 m com temperatura interior controlada por um termômetro digital com display externo (Figura 8).

Figura 8 - Equipamento Magneto-freezer utilizado para tratamento com campo magnético pulsado das amostras de caldo de cana.

Na parte inferior do *Magneto-freezer* existe uma bobina cilíndrica de fio de cobre formando um solenoide, de diâmetro interno de 20 cm, com sistema de refrigeração para controle de temperatura (Figura 9). Ao ligar o equipamento, uma corrente elétrica controlada por um gerador com função liga/desliga com frequência determinada é conduzida pela bobina e gera um campo magnético pulsado no interior da bobina.

Figura 9 - Bobina do Magneto-freezer com sistema de refrigeração

Para os tratamentos foram utilizados campos magnéticos com frequências de 40, 50 e 60 Hz. Nas frequências acima de 10 Hz o campo magnético gerado pelo solenoide do *Magneto-freezer* possui comportamento de acordo com a Figura 10, em que a intensidade é representada por ondas com intensidade máxima de 18 mT conforme medição realizada com Sonda Hall (Lins, 2011).

Figura 10 - Perfil do campo magnético pulsado com frequência de 10 Hz do equipamento Magneto-freezer. (Lins, 2011)

As amostras de caldo de cana embaladas em garrafas plásticas de 250 mL foram colocadas no interior da bobina sob a temperatura de $(4\pm 1)^{\circ}\text{C}$, com diferentes tempos de tratamento e frequências de campo magnético. Para cada combinação de frequência do campo magnético x tempo de tratamento, manteve-se uma garrafa com caldo de cana de açúcar armazenada dentro do *Magneto-freezer* sem influência do campo magnético, ou seja, o controle.

4.3 Tratamento com campo de magnético

As amostras de caldo de cana de açúcar foram tratadas com o campo magnético nas seguintes condições:

- Exposto no campo magnético nas frequências de 40 e 60 Hz, sendo em cada frequência aplicada nos tempos de tratamentos de 30 minutos, 120 minutos e 210 minutos;
- Exposto no campo magnético na frequência de 50 Hz por 120 minutos.

4.4 Análises físico-químicas e bioquímicas

As análises de pH, acidez titulável, cor instrumental, atividade antioxidante e atividade enzimáticas foram realizadas logo após a extração do caldo da cana, antes dos tratamentos, e nos tempos de armazenamentos a $(4\pm 1)^{\circ}\text{C}$ de 12, 24, 48, 96 e 144 horas.

4.4.1 pH

Para determinação do pH foi utilizado um medido digital de pH. Foram utilizadas soluções tampão de pH 4,0 e 7,0 para a calibração do equipamento.

4.4.2 Acidez titulável

A acidez total titulável expressa em % de ácido cítrico foi determinada utilizando-se NaOH 0,01 M e fenolftaleína, sendo o ponto de viragem quando a coloração rosada persistisse por mais de 30 segundos.

4.4.3 Cor

As determinações de cor instrumental foram realizadas com o colorímetro portátil da HunterLab. Os valores foram obtidos na escala CIELAB com os parâmetros L*, para luminosidade, a*, correspondente a variação da cor verde ao vermelho e b*, correspondente a variação da cor azul ao amarelo.

O caldo de cana foi colocado no frasco transparente, e então, coberto por um frasco escuro para a realização das leituras, sendo realizado em triplicata.

4.4.4 ABTS

A atividade antioxidante foi analisada através do método ABTS proposto por Re et al. (1999). Este método consiste na prévia oxidação do ABTS com persulfato de potássio formando o radical ABTS e a análise da redução do radical na presença de antioxidantes doadores de hidrogênio. Esta redução resulta na descolorização da solução com o radical ABTS sendo assim possível analisar a atividade antioxidante pela leitura do espectrofotômetro.

Para a preparação do radical ABTS, diluiu-se 0,0384 g de ABTS em 3 mL de água Milli Q, diluiu-se 0,056 g de persulfato de amônio em 3 mL de água Milli Q, misturou-se as duas soluções e completou-se com água Milli Q até 10 mL. Manteve-se a solução em agitação por 16 horas no escuro.

Para determinar a curva Trolox diluiu-se 0,0032 g de Trolox em 25 mL de solução etanol 1 %. Adicionou-se a solução de Trolox em diferentes concentrações na solução de radical ABTS e após 6 min realizou-se as leituras no espectrofotômetro a 750 nm.

As amostras e controles foram diluídos em etanol 1%, mesmo solvente utilizado por Kuskoski et al. (2005) na análise de polpa de frutos, e adicionados na solução de radical ABTS previamente preparado. Após 6 minutos armazenados no escuro a temperatura ambiente, realizou-se as leituras no espectrofotômetro a 750 nm. Os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox.

4.4.5 Folin Ciocalteu

Utilizou-se o método de Folin Ciocalteu para a determinação de compostos fenólicos totais (George et al., 2005). Este método utiliza como reagente uma mistura de ácidos fosfórico, tungstato e molibdato em meio básico, que se reduzem ao oxidar os compostos fenólicos, originando óxidos azuis de tungstênio e molibdeno. Esta cor azul formada é lida a 760 nm pelo espectrofotômetro.

Para determinar a curva padrão de ácido gálico diluiu-se 10 mg de ácido gálico em 100 mL de solução etanol 1 %, adicionou-se em diferentes concentrações no reagente de Folin-Ciocalteu, aguardou-se 2 minutos, adicionou-se solução de carbonato de cálcio 7,5% e realizou-se as leituras no espectrofotômetro a 760 nm.

As amostras foram diluídas em solução de etanol 1%, adicionadas no reagente de Folin-Ciocalteu, aguardou-se 2 minutos, adicionou-se solução de carbonato de cálcio 7,5% e realizou-se as leituras no espectrofotômetro a 760 nm. Os resultados foram expressos em equivalente de mg de ácido gálico por 100 mL de amostra.

4.5 Análise Bioquímica

Para preparação das amostras para as análises bioquímicas foi acrescentado polivinilpirrolidona 1% p.v⁻¹ para inibição de compostos fenólicos, como realizado por Freitas et al. (2008), a amostra foi centrifugada a 4000 g por 20 minutos e filtrada para retirar resíduos precipitados.

4.5.1 Atividade de polifenol oxidase

O método do catecol para análise da atividade da enzima polifenol oxidase consiste na oxidação do catecol, com a participação da enzima polifenol oxidase, formando composto escuro. A quantidade de cor formada pode ser medida pela absorbância a 395 nm no espectrofotômetro.

As amostras e os controles foram diluídos, adicionados tampão fosfato de sódio 0,05 M e catecol 0,1 M. Foram homogeneizados e incubados a 30°C por 30 minutos. Após a incubação, foram resfriados imediatamente, adicionados ácido

perclórico 1,4%, homogeneizados e deixados em repouso por 10 minutos para então realizar a leitura da absorbância a 395 nm. Para solução do branco foi adicionado na amostra ou controle apenas água milli-Q, incubado a 30°C por 30 minutos, adicionado ácido perclórico 1,4%, homogeneizados e deixados em repouso por 10 minutos para então realizar a leitura da absorbância a 395 nm.

4.5.2 Atividade da peroxidase

Para a análise da atividade da enzima peroxidase foi utilizado o método do guaiacol, que consiste na formação de compostos coloridos na oxidação do guaiacol devido a ação da peroxidase. A quantificação destes compostos coloridos é realizada através da absorbância a 450 nm medido pelo espectrofotômetro.

Para esta análise as amostras e os controles foram diluídos, adicionados tampão fosfato-citrato pH 5,0 e guaiacol 0,5%. Foram homogeneizados, adicionado peróxido de hidrogênio 3% e incubados a 30°C por 15 minutos. Logo após a incubação, a solução foi resfriada, adicionada metabissulfito de sódio 2%, homogeneizada e deixada em repouso por 10 minutos para então realizar a leitura da absorbância a 450 nm. Para solução do branco foi realizado o mesmo procedimento sem a adição de guaiacol e peróxido de hidrogênio.

4.6 Microbiologia

A análise de contagem de bactérias aeróbias totais foi realizada com a utilização do meio de cultura pronto, a 3M Petrifilm. As amostras e os controles foram coletados e diluídos em água peptonada, inoculados nas placas prontas 3M Petrifilm e incubados a 35°C por 48 horas.

4.7 Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados pelo software Minitab 16 pelo método de Tukey ao nível de significância de 5% para verificação se as médias se diferem entre si.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Ação do campo magnético sobre os valores de pH e acidez titulável de caldo de cana

A Tabela 5 apresenta os valores percentuais relativos de pH do caldo de cana, exposto e não exposto ao campo magnético, armazenado por até 144 horas. Estes valores foram obtidos com base nos resultados de pH do caldo de cana controle e exposto ao campo magnético (Figura 11). Os resultados mostram que o campo magnético não altera o valor de pH em nenhuma das condições estudadas, pois não apresentaram diferença significativa para Tukey 5%.

Tabela 5- Valores percentuais relativos de pH avaliados no caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T1 40Hz-30min	T2 40Hz-210min	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
12	-0,12%	0,00%	-0,11%	0,00%	-0,06%
24	-0,25%	-0,62%	-0,39%	-0,18%	-0,18%
48	0,06%	-0,43%	0,09%	0,25%	0,37%
96	-0,38%	-0,13%	0,21%	0,12%	0,31%
144	-0,19%	0,00%	-0,13%	0,19%	0,06%

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

Figura 11 - Valores absolutos de acidez titulável do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).

Resultados apresentados como média e desvio padrão para 3 experimentos realizados em triplicata.

Semelhantemente aos resultados de pH, a acidez titulável do caldo de cana não foi alterada pela exposição ao campo magnético nas condições estudadas. Resultados apresentados na forma de valores percentuais relativos (Tabela 6) e valores absolutos (Figura 12).

Tabela 6 - Valores percentuais relativos de acidez titulável no caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado	T1	T2	T3	T4	T5
(h)	40Hz-30min	40Hz-210min	50Hz-120min	60Hz-30min	60Hz-210min
0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
12	-1,02%	6,12%	0,00%	10,00%	17,50%
24	2,00%	-2,00%	-7,77%	-3,41%	0,00%
48	0,00%	2,73%	-5,71%	4,35%	-2,17%
96	-3,51%	-1,75%	-5,79%	-1,96%	2,94%
144	-4,65%	-2,33%	0,00%	0,00%	0,85%

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

Figura 12- Valores absolutos de acidez titulável do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).

Resultados apresentados como média e desvio padrão para 3 experimentos realizados em triplicata

5.2 Ação do campo magnético sobre os parâmetros de cor de caldo de cana

As amostras de todas as frequências de campo magnéticos utilizadas neste estudo apresentaram diferença significativa para Tukey 5% nos parâmetros de cor Lab* em pelo menos um momento do armazenamento, quando comparadas ao controle. Porém, apenas a frequência de 40 Hz mostrou ter influência no parâmetro de luminosidade L* durante todo o tempo de armazenamento (Tabela 7, Figura 13).

O parâmetro L* foi o mais influenciado pelo campo magnético como mostra a Tabela 1. As amostras tratadas com o campo magnético de 40 Hz e 50 Hz apresentaram maior luminosidade em relação ao controle, enquanto que as amostras tratadas com campo magnético de 60 Hz apresentaram o inverso, ou seja, menor luminosidade.

Tabela 7 - Valores percentuais relativos do parâmetro de cor luminosidade L* do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T1 40Hz-30min	T2 40Hz-210min	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0%	0%	0%	0%	0%
6	7%	21% *	67%	2%	2% *
12	20% *	7% *	-3%	7% *	5% *
24	9% *	9% *	7% *	8% *	14% *
48	3% *	15% *	10% *	-3%	-10% *
96	22% *	15% *	11%	-3% *	-5% *
144	27% *	40% *	24% *	-7% *	0%

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

(*) Houve diferença significativa por teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Figura 13 - Valores absolutos do parâmetro L^* do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).

Resultados apresentados como média e desvio padrão para 1 experimentos realizados em triplicata.

O parâmetro a^* , referente a variação da cor verde (-) à cor vermelha, foi pouco influenciada pela aplicação de campo magnético pulsado. Na frequência de 40 Hz por 30 minutos, o parâmetro a^* foi maior na amostra tratada somente 6 horas após a extração, sendo que após este tempo, não houve diferença significativa a 5%. Resultados de a^* para amostras expostas a 50 Hz por 120 minutos e a 60 Hz por 30 e 210 minutos apresentaram diferença negativa após 144 horas de armazenamento, apenas este último apresentando diferença negativa com 6 horas de armazenamento (Tabela 8, Figura 14).

Tabela 8 - Valores percentuais relativos do parâmetro de cor a^* , referente a variação da cor verde ao vermelho, do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T1 40Hz-30min	T2 40Hz-210min	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0%	10%	2%	0%	0%
6	100%*	53%	168%	-182%*	-180%
12	-103%	-237%	95%	4%	111%
24	-25%	-14%	-18%	-5%	-19%
48	50%	33%	-5%	0%	95%
96	260%	-210%	50%	0%	85%
144	80%	42%	-55%*	-120%*	-125%*

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

(*) Houve diferença significativa por teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Figura 14 - Valores absolutos do parâmetro a^* do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).

Resultados apresentados como média e desvio padrão para 1 experimentos realizados em triplicata.

O tratamento influenciou significativamente o parâmetro b^* referente a variação da cor de azul (-) ao amarelo (+). Como mostra a Tabela 9 e a Figura 15, as amostras expostas ao campo magnético de 40 Hz e 50 Hz apresentaram o mesmo comportamento, apresentando diferença positiva no início do armazenamento e depois diferenças negativas. No tratamento de 40 Hz por 30 minutos, de 40 Hz por 210 minutos e de 50 Hz por 120 minutos apresentaram diferença positiva com 6, 24 e 6 horas de armazenagem e diferença negativa após 48, 48 e 144 horas respectivamente, sendo que os dois últimos tratamentos ainda apresentaram diferença negativa significativa após 144h, portanto mostrando ser persistente. O comportamento foi o inverso para as amostras tratadas com 60 Hz apresentou primeiro a diferença negativa e depois diferença positiva. Após 24h não houve diferença significativa.

Todos os tratamentos e controle tiveram valores b^* positivos devido à cor amarela característica do caldo de cana.

Tabela 9 – Valores percentuais relativos do parâmetro de cor b^* , referente a variação da cor azul ao amarelo, do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T1 40Hz-30min	T2 40Hz-210min	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0%	0%	-1%	0%	0%
6	144% *	96%	206% *	-70% *	-77% *
12	100%	56%	197% *	147% *	94% *
24	69% *	62% *	40%	1%	-29%
48	-33% *	-31% *	-27%	0%	-20%
96	-14%	-30%	-14%	-17%	-32%
144	13%	-54% *	-64% *	-41%	-32%

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

(*) Houve diferença significativa por teste de Tukey com nível de significância de 5%.

(A)

(B)

(C)

Figura 15 – Valores absolutos do parâmetro b^* do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).

Resultados apresentados como média e desvio padrão para 1 experimentos realizados em triplicata.

5.3 Ação do campo magnético sobre o crescimento de bactérias totais

As amostras submetidas ao campo magnético e controles foram analisadas quanto ao crescimento microbiano. A contagem microbiológica de bactérias totais inicial média foi de 4,6 Log₁₀ UFC/mL, alinhado com o estudo de Kunitake (2012) que apresentou contagem de $1,0 \times 10^3$ a $5,8 \times 10^4$ UFC/mL no caldo de cana *in natura*. O valor inicial não variou até 48 horas de armazenamento e não houve diferenças significativas entre tratamentos e controle até 96 horas de armazenamento, como mostra a Figura 16, mostrando que as bactérias tanto do tratamento quanto do controle estavam se adaptando a mudança de temperatura, chamada fase lag (EIFERT et al. 2005).

Na fase exponencial, após 144 horas de armazenagem, a contagem microbiológica do controle foi de 5,92 Log₁₀/mL e na amostra exposta ao campo magnético de 50 Hz por 120 minutos a contagem foi de 5,45 Log₁₀/mL, portanto apresentando menor crescimento microbiológico na amostra tratada com diferença significativa por Tukey 5%. Nas amostras submetidas ao campo magnético de 60 Hz, quanto maior o tempo de exposição, maior a inibição do crescimento microbiológico, sendo que entre o controle, a amostra exposta por 30 minutos e a amostra exposta por 210 minutos apresentaram diferenças significativas entre todas. Observando que apenas houve efeito do campo magnético no crescimento microbiológico quando este se encontrava na fase exponencial, pode-se afirmar que o mecanismo de inativação de células, como teorizado por Pothakamury et. al (1993) possui maior efeito quando os microrganismos estão se reproduzindo.

Figura 16 – Contagem padrão de micro-organismos bactérias totais do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 50 Hz por 210 min (T3) e (B) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).

Resultados apresentados como média e desvio padrão (n=9).

As diferenças das contagem microbiológicas apresentadas na Tabela 10 mostram que quanto maior o tempo de armazenagem, maior a diferença. Lins (2011) encontrou diferença significativa no crescimento microbiano em amostras de carne bovina moída tratada com campo magnético da mesma intensidade do campo magnético utilizado neste estudo na frequência de 1 Hz após 12 dias de armazenagem, sendo que até 6 dias não houve diferenças significativas entre tratamentos e controle.

Tabela 10 - Diferenças da contagem microbiológicas de bactérias totais expresso em $\text{Log}_{10}/\text{mL}$ do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0,00	0,00	0,00
6	-0,12	-0,03	-0,22
12	-0,05	0,03	0,03
24	-0,04	-0,03	-0,13
48	-0,13	0,01	-0,21
96	-0,14	-0,11	-0,16
144	-0,47	-0,25	-0,41

Valores calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

A intensidade do campo magnético utilizada neste estudo foi de no máximo 18 mT, sendo um campo de baixa intensidade. Outros estudos que apresentaram a inibição de microrganismos utilizaram intensidades relativamente maiores. Okuno (1992) utilizou campo magnético de 11,7 T para inibir o crescimento de *E. coli*, e Hofmann (1985) encontrou que é necessário campos magnéticos de intensidades de 2 a 50 T com frequências de 5 a 50 kHz para reduzir a população bacteriana em alimentos. Isto mostra que o efeito do campo magnético varia de acordo com os diferentes micro-organismos e do meio em que este está inoculado (FDA, 2000)

5.4 Ação do campo magnético sobre a atividade antioxidante

Para análise do efeito do campo magnético sobre a atividade antioxidante foi utilizado o método de ABTS. Para representar o resultado em atividade antioxidante

equivamente ao Trolox foi elaborado a curva padrão de trolox (Figura 17) com a equação linear que representou bem a curva padrão de concentração de Trolox por percentual de inibição de ABTS, com $R^2=0,9996$.

Figura 17 - Curva padrão do Trolox

A atividade antioxidante inicial do caldo de cana teve a média de 1,9 mmol Trolox por mL de caldo de cana, similar com estudo de Kadam et al. (2008) que encontrou uma média de 2,0 mmol de Trolox por mL de caldo de cana de diferentes tipos. A Figura 18 que apresenta a atividade antioxidante em mg Trolox por L de amostra mostra que a atividade antioxidante de todas as amostras e controles sofreram leve redução ao longo do tempo de armazenamento, isto devido à ação dos compostos antioxidantes sobre as enzimas oxidativas presentes em grande concentração no caldo de cana, e assim, ocorrendo a perda do poder antioxidante.

Figura 18 – Valores absolutos da atividade antioxidante pelo método de inibição do ABTS do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5). Resultados apresentados como média e desvio padrão para 3 experimentos realizados em triplicata.

As amostras expostas ao campo magnético de 40 Hz e 60 Hz por 30 minutos apresentaram menor atividade antioxidante em comparação ao controle nos tempos de armazenamento de 6 e 144 horas no primeiro caso e de 48 horas no segundo caso (Tabela 11). Propõe-se que esta redução ocorreu devido à concentração de espécies reativas de oxigênio resultante da aplicação do campo magnético, que aumentou as ações dos antioxidantes e assim reduzindo a sua atividade após um tempo, como apresentou Sahebamei, Abdolmaleki e Ghanati (2007) em seu estudo.

Tabela 11 – Diferenças da atividade antioxidante pelo método de inibição do ABTS do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T1 40Hz-30min	T2 40Hz-210min	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0%	0%	0%	0%	0%
12	-176% *	-147%	-29%	-55%	-48%
24	-127%	4%	-39%	-71%	19%
48	58%	-29%	139%	-137% *	-21%
96	20%	10%	0%	-69%	41%
144	-162% *	-1%	-15%	-94%	-11%

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

(*) Houve diferença significativa por teste de Tukey com nível de significância de 5%.

5.5 Ação do campo magnético sobre os compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram obtidos pelo método de Folin-Ciocalteu e os valores foram obtidos em mg de ácido gálico por 100 mL de caldo de cana amostra ou controle. Para obter os resultados em equivalente de ácido gálico foi

montado a curva padrão do ácido gálico (Figura 19) e assim obtido a equação da linear com $r^2=0,999$.

Figura 19 - Curva padrão do ácido gálico por Folin-Ciocalteu

Através da equação da curva padrão do ácido gálico calculou-se o conteúdo de compostos fenólicos totais das amostras submetidas ao campo magnético e controles. A concentração média inicial foi de 43,0 mg equivalente de ácido gálico por 100 mL de caldo de cana, resultado próximo do valor encontrado por Kadam et al. (2008) de 40,2 mg equivalente de ácido gálico por 100 mL. Estes valores mostram que o caldo de cana possui alto poder antioxidante em comparação a bebidas a base de soja que apresentam em média 32 mg de isoflavonas/L. (DUARTE-ALMEIRA et al., 2006)

As amostras submetidas ao campo magnético de 40 Hz e 50 Hz não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle. Porém as amostras expostas ao campo magnético de 60 Hz por 30 minutos apresentou menor concentração de compostos fenólicos totais após 48 horas de armazenagem (Tabela 12). Estes resultados foram similares aos discutidos no item anterior, portanto nos dois casos o motivo possivelmente é o mesmo, ou seja, a concentração de espécies reativas de oxigênio influenciada pelo campo magnético, forçando os compostos fenólicos a agirem rapidamente e assim perderem sua capacidade antioxidante após 48 horas de armazenagem. (Sahebamei, Abdolmaleki e Ghanati,

2007). Neste estudo mostra, também, que provavelmente o composto antioxidante em maior concentração no caldo de cana são os compostos fenólicos.

A Tabela 12 e Figura 20 apresentam os resultados referentes aos fenólicos totais das amostras expostas ao campo magnético de 60 Hz durante 30 e 210 minutos. Observa-se que houve diferença significativa, a 5% em relação ao controle, apenas no tempo de 48 horas de armazenamento das amostras, para os dois tempos de exposição, representando 2% de redução de fenólicos totais. E, entretanto, 3% de aumento destes compostos somente no tempo de 96 horas de armazenamento da amostra que foi exposta por 210 minutos ao campo magnético de 60 Hz. Propõe-se que após a intensa ação dos compostos fenólicos antes de 48 horas de armazenagem devido a aumento de concentração de espécies reativas de oxigênio, ocorre o aumento da concentração de antocianinas como apresentado pelo estudo de Khoshshokhan Mozaffar et al. (2006). A concentração de compostos fenólicos ao longo das 144 horas de armazenamento varia pouco sendo a maior diferença percentual de 6%.

Tabela 12 – Diferenças da concentração de compostos fenólicos totais do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T1 40Hz-30min	T2 40Hz-210min	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0%	0%	0%	0%	0%
12	3%	1%	4%	0%	1%
24	-3%	-6%	-1%	2%	3%
48	6%	1%	-2%	-2% *	-2% *
96	6%	3%	1%	1%	3% *
144	2%	2%	-2%	-2%	-2%

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

(*) Houve diferença significativa por teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Figura 20 - – Valores absolutos da concentração de compostos fenólicos totais do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5). Resultados apresentados como média e desvio padrão para 3 experimentos realizados em triplicata.

5.6 Ação do campo magnético sobre a atividade enzimática

A polifenoloxidase é a principal enzima responsável pelo escurecimento do caldo de cana, portanto para estudos de escurecimento enzimático da cana-de-açúcar esta é a principal enzima analisada (BUCHELI, 1994). A atividade média inicial encontrada foi de 100,69 U/mL, sendo uma alta atividade para um suco. Freitas, et al. (2008) encontrou a atividade enzimática de 1,51 U/ mL no suco uva e Valderrama, Marangoni e Clemente (2001) encontraram 5,50 U/100g na polpa da maçã tipo Fuji.

A polifenol oxidase é sensível ao aumento de temperatura, chegando a ser totalmente inativado em processos como a pasteurização. Kunitake (2012) processou o caldo de cana que apresentava 95,78 U/mL de atividade da polifenoloxidase e após a acidificação e pasteurização, a atividade encontrada foi de 0,03 U/mL, as amostra com inicial de 79,89 U/mL, após o processo não apresentaram atividade de polifenoloxidase, portanto foi totalmente inativado. Freitas, et al. (2008) verificou que inibiu aproximadamente 90% da atividade da polifenol oxidase na uva com tratamento a 85°C por 10 minutos. A polifenol oxidase mantém sua atividade a 4°C, como mostra a Figura 21, em que o caldo de cana não sofreu tratamento térmico e demonstrou pouca variação da atividade da polifenol oxidase ao longo do tempo de armazenagem.

Figura 21 - Valores absolutos da atividade do polifenol oxidase do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).

Resultados apresentados como média e desvio padrão para 3 experimentos realizados em triplicata.

Apesar de teorias mostrarem que o campo magnético pulsado pode inibir a atividade enzimática como defende Grissim (1995), não houve diferenças entre as amostras tratadas com campo magnético de 40 Hz e 50 Hz e o controle de caldo de cana. Como mostra a Tabela 13, houve aumento das diferenças entre as amostras tratadas com campo magnético e os controles ao longo do tempo de armazenamento, chegando até a 49,6% de diferença na amostra tratada com campo magnético de 60 Hz por 210 minutos.

Tabela 13 – Diferenças atividade de polifenol oxidase no caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T1 40Hz-30min	T2 40Hz-210min	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0,0%	0,0%	-1,6%	0,0%	0,0%
12	0,2%	-11,1%	3,8%	-10,9%	-17,1%
24	-1,8%	-8,3%	-1,7%	22,3%	17,6%
48	-0,4%	-16,0%	13,6%	-13,3%	-20,5%
96	-2,9%	7,5%	-4,6%	-6,9%	-16,5%
144	-15,1%	-16,1%	11,8%	-43,8%	-49,6%

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

A peroxidase é uma das enzimas mais resistentes a mudança do meio, sendo portanto muito utilizada como referência para análise da inativação enzimática após processos termicos, mudança de pH ou de umidade (YUAN; JIANG, 2002). A atividade média inicial de peroxidase encontrada foi de 152,92 U/mL, valor próximo do encontrado por Kunitake (2012), que encontrou valores de 57,33 a 436,00 U/mL em diferentes lotes de caldo do cana. BUCHELI (1994) encontrou atividade de 76 U/g no caldo de cana. Estes diferentes valores decorre devido as diferentes épocas de colheitas e tipos de cana utilizada (KUNITAKE, 2012).

A Tabela 14 mostra as diferenças percentuais entre as amostras tratadas com campo magnético pulsado em relação ao controle. Apesar da grande variação de resultados ao longo do tempo de armazenamento de até 144 horas, não houve diferença significativa por Tukey a 5% de nível de significância. Este resultado foi encontrado por estudos anteriores de peroxidase onde foram utilizados tanto campo de intensidade alta de 8,5 a 17,0 Tesla, ou de intensidade baixa de 0 a 0,25 Tesla (Grissom, 1995).

Tabela 14 – Diferenças da atividade da enzima peroxidase do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após exposição ao campo magnético em diferentes frequências e tempos de exposição, respectivamente: 40Hz e 30min (T1); 40Hz e 210min (T2); 50Hz e 120min (T3), 60 Hz e 30min (T4) e 60Hz e 210min (T5).

Armazenado (h)	T1 40Hz-30min	T2 40Hz-210min	T3 50Hz-120min	T4 60Hz-30min	T5 60Hz-210min
0	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
12	24,9%	23,8%	4,2%	37,5%	17,0%
24	13,6%	27,7%	-30,6%	7,4%	18,8%
48	12,8%	-12,4%	-15,3%	31,5%	24,3%
96	1,9%	-0,7%	8,6%	9,0%	16,2%
144	-26,5%	-20,3%	-0,9%	-36,8%	-31,9%

Valores percentuais calculados com base nos respectivos valores na ausência de exposição ao campo magnético.

A Figura 22 apresenta os valores absolutos da atividade da enzima peroxidase ao longo do armazenamento de até 144 horas. Todas as amostras apresentaram comportamento similar, a atividade enzimática aumentou nas primeiras horas, seguiu constantes por um período e então teve um decrescimo. Para as amostras tratadas com campo magnético de 40 Hz, 50 Hz e 60 Hz houve um pequeno aumento das atividades enzimáticas após 96 horas de armazenamento, porém sem diferença significativa.

Figura 22 – Valores absolutos da atividade da enzima peroxidase do caldo de cana armazenado por 0, 12, 24, 48, 96 e 144 horas após não exposição (controle) e exposição ao campo magnético: (A) 40 Hz por 30 min (T1) ou 210 min (T2); (B) 50 Hz por 210 min (T3) e (C) 60 Hz por 30 min (T4) ou 210 min (T5).

Resultados apresentados como média e desvio padrão para 3 experimentos realizados em triplicata.

6. CONCLUSÕES

Conclui-se que o campo magnético pulsado de baixa intensidade, ordem de mili Tesla, reduz o crescimento microbiológico, ou seja melhora a qualidade microbiológica do caldo de cana em termos de bactérias totais, porém estimulou a escurecimento do caldo, com maiores valores dos parâmetros a^* e b^* , e reduziu a concentração de compostos fenólicos e também a atividade antioxidante do caldo de cana. Os parâmetros físico-químicos de pH, acidez titulável, atividade de peroxidase e polifeno oxidase não foram alterados pela aplicação de campo magnético.

O campo magnético pulsado possui potencial para ser utilizado como tecnologia inovadora no tratamento de alimentos para controle microbiológico, apesar de ser necessário mais estudos para entendimento do mecanismo de ação do campo magnético em alimentos.

REFERÊNCIAS

AHMED, J.; RAMASWAMY, H. S.. Applications of Magnetic Field in Food Preservation. In: RAHMAN, M. S.. **Handbook of Food Preservation**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. Cap. 35, p. 855-866.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 3ª Ed. Viçosa: Editora UFV, 2004.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; GONGORA-NIETO, M. M.; SWANSON, B. G. Nonthermal electrical methods in food preservation/Métodos eléctricos no térmicos para la conservación de alimentos. **Food science and technology international**, v. 4, n. 5, p. 363-370, 1998.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. et al. Use of Magnetic Fields as a Nonthermal Technology. In: BARBOSA-CÁNOVAS, Gustavo V. et al. **Novel Food Processing Technologies**. New York: CRC Press, 2005. Cap. 20, p. 443-451.

BATCIOGLU, K. et al. Investigation of time dependent magnetic field effects on superoxide dismutase and catalase activity: an in vitro study. **Journal of Biological Physics and Chemistry**, v. 2, p. 108-112, 2002.

BUCHELI, C. S.; ROBINSON, S. P. Contribution of enzymic browning to color in sugarcane juice. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 42, n. 2, p. 257-261, 1994.

BUCKOW, R.; WEISS, U.; KNORR, D.. Inactivation kinetics of apple polyphenol oxidase in different pressure–temperature domains. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 4, p. 441-448, 2009.

CASTRO, S. B. de., ANDRADE, S. A. **Tecnologia do açúcar**. Ed. Universitaria da UFPE. Recife. 2007. Pag.: 31-33

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, safra 2012/2013, terceiro levantamento, dezembro/2012.** Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_12_12_10_34_43_boletim_cana_portugues_12_2012.pdf>. Acesso em: 11/06/2013

DE OLIVEIRA, A. C. G. et al. Análise das condições do comércio de caldo de cana em vias públicas de municípios paulistas. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, 13(2): 06-18, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Antioxidant activity of phenolics compounds from sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) juice. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 61, n. 4, p. 187-192, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Phenolic composition and antioxidant activity of culms and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) products. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 660-664, 2011.

EIFERT, J. D.; ARRITT, F. M. III; KANG, D.; Microbiology of Food Systems. In: HUI, Yiu H. et al. (Ed.). **Handbook of Food Science, Technology, and Engineering, Volume Four**. CRC press, 2005. Cap. 50, p.50-1 - 50-12

ESKIN N. A. M., PRZYBYLSKI R.. Antioxidant and Shelf Life of Foods. In: ESKIN, Michael; ROBINSON, David S.. **Food Shelf Life Stability: Chemical, Biochemical, and Microbiological Changes**. Danvers: Crc Press Llc, 2001. Cap. 6, p. 297-322.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A.. **Growth and Mineral Nutrition of Field Crops**. 3. ed. Boca Raton, Fl: CRC Press LLC, 2011.

FAOSTAT - Food And Agriculture Organization Of The United Nations. **Sugar Cane: Crop production** 2011. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#SEARCH_DATA>. Acesso em: 12 jun. 2013.

FDA - Food and Drug Administration. **Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies: Oscillating Magnetic Fields**.

Disponível em:
 <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/SafePracticesforFoodProcesses/ucm100158.htm>>. Acesso em: 02 jun. 2000.

FREITAS, AA de et al. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008.

FREITAS, AA de et al. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008.

GEORGE, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p.1370-1373, 2005.

GRISSOM, C. B. Magnetic field effects in biology: A survey of possible mechanisms with emphasis on radical-pair recombination. **Chemical Reviews**, v. 95, n. 1, p. 3-24, 1995.

HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LOLINGER J., e ARUOMA O. A., The characterization of antioxidants, **Food Chem Toxic**, 33, 601-617, 1995.

HAMERSKI, F. Estudo de variáveis no processo de carbonatação do caldo de cana-de-açúcar. 2009. 149f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2009.

HOFMANN, G.A. Deactivation of Microorganisms by an Oscillating Magnetic Field. **US Patent 4,524,079**, 1985.

JANOVITZ-KLAPP, A. H. et al. Inhibition studies on apple polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 4, p. 926-931, 1990.(a)

JANOVITZ-KLAPP, Arturo H. et al. Kinetic studies on apple polyphenol oxidase. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 38, n. 7, p. 1437-1441, 1990.(b)

KADAM, U. S. et al. Antioxidant activity in sugarcane juice and its protective role against radiation induced DNA damage. **Food chemistry**, v. 106, n. 3, p. 1154-1160, 2008.

KHOSHSOKHAN MOZAFFAR, M. et al. The Effects Of Static Magnetic Field on The Metabolism Of Certain Phenolic Compounds In Red Cabbage (Brassica Oleracea L. Cv. Saccata). **Pajouhesh And Sazandegi**, v. 19, 2006.

KUNITAKE, M. T.. Processamento e estabilidade do caldo de cana acidificado. 2012. 131f. Dissertação (Mestrado) - Ciências da Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LINGLE, S. E., TEW, T. L.. 2008. A comparison of growth and sucrose metabolism in sugarcane germplasm from Louisiana and Hawaii. **Crop Sci.** 48:1155–1163. 2008.

LINS, P. G. Campo magnético pulsado na preservação de carne bovina moída. 2011. 89f. Dissertação (Mestrado) - Ciências da Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Básicas, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

MCLELLAN, Kathryn M.; ROBINSON, David S. Heat stability of peroxidases from orange. **Food chemistry**, v. 13, n. 2, p. 139-147, 1984.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). **Cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em: 01 jun. 2013.

NUNES, P. E. Q. et al. Efeito do campo magnético pulsante sobre o escurecimento enzimático da banana. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 16., 2008 Piracicaba. **Resumos...** São Paulo: USP, 2008. CD-ROM. Disponível em: <<https://uspdigital.usp.br/siicusp/cdOnlineTrabalhoVisualizarResumo?numeroInscricaoTrabalho=4512&numeroEdicao=16>>. Acesso em: 30 setembro 2011

OKUNO, K. et al. Effect of super high magnetic field on the growth of *escherichia coli* under various medium compositions and temperatures. **Journal of fermentation and bioengineering**, v. 75, n. 2, p. 103-106, 1993.

POTHAKAMURY, U.R., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., and SWANSON, B.G. Magnetic-field inactivation of microorganisms and generation of biological changes. *Food Technol.* 47(12):85-93. 1993.

PRATI, P.; MORETTI, R. H.. Study of clarification process of sugar cane juice for consumption. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 776-783, 2010.

PRATI, P.; MORETTI, R. H.; CARDELLO, H. M. A. B. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e sucos de frutas ácidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 147-152, 2005.

RAMIREZ, E. C.; WHITAKER, J. R.; VIRADOR, V. M.. Polyphenol Oxidase. In: WHITAKER, John R.; VORAGEN, Alphons G. J.; WONG, Dominic W. S.. **Handbook of Food Enzymology**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. Cap. 39.

RAMON, C.; MARTIN, J. T.; POWELL, M. R. Low-level, magnetic-field-induced growth modification of *Bacillus subtilis*. **Bioelectromagnetics**, v. 8, n. 3, p. 275-282, 1987.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; MIN YANG, M.; RICE-EVANS, C.. Antioxidante activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, pp. 1231-1237, 1999.

ROBINSON, D. S.. The Effect of Oxidative Enzymes in Foods. In: ESKIN, Michael; ROBINSON, David S.. **Food Shelf Life Stability: Chemical, Biochemical, and Microbiological Changes**. Danvers: Crc Press Llc, 2001. Cap. 9, p. 297-322.

SAHEBJAMEI, H.; ABDOLMALEKI, P.; GHANATI, F.. Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension-cultured tobacco cells. **Bioelectromagnetics**, v. 28, n. 1, p. 42-47, 2007.

SESSA, D. J.; ANDERSON, R. L. Soybean peroxidases: purification and some properties. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 29, n. 5, p. 960-965, 1981.

SILVEIRA, T. J. D. et al. Tratamentos não Térmicos: Efeito do Campo Magnético sobre os microorganismos mesófilos do leite de cabra cru refrigerado. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 16., 2008 Piracicaba. **Resumos...** São Paulo: USP, 2008. CD-ROM. Disponível em: <https://uspdigital.usp.br/siicusp/cdOnlineTrabalhoVisualizarResumo?numeroInscricaoTrabalho=4636&numeroEdicao=16>. Acesso em: 04 agosto 2011

SOARES, M.. **Eletromagnetismo I-40: Solenóide ideal**. Disponível em: <http://www.mspc.eng.br/elemag/eletrm0140.shtml>. Acesso em: 03 nov. 2009

SOCCOL C.R., SCHWAB A., KATSOKA C.E.. Avaliação microbiológica do caldo de cana (garapa) na cidade de Curitiba. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. 1990; 8:(2), 116-125

VALDERRAMA, P.; MARANGONI, F.; CLEMENTE, E.. Effect of thermal treatments on peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) activities of apple (*Mallus comunis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 321-325, 2001.

VIUDA-MARTOS, M.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.. Functional Antioxidant Foods. In: BARTOSZ, Grzegorz. **Food Oxidants and Antioxidants: Chemical, Biological, and Functional Properties**. Boca Raton, Fl: Crc Press Llc, 2013. Cap. 17, p. 489-528.

WANG, L. P., P. A. et al. 2008. Evaluation of sugarcane X *Saccharum spontaneum* progeny for biomass composition and yield components. **Crop Sci.** 48:951–961. 2008.

YUAN Y. Z., JIANG T. J.. Horseradish Peroxidase. In: WHITAKER, John R.; VORAGEN, Alphons G. J.; WONG, Dominic W. S.. **Handbook of Food Enzymology**. New York: Marcel Dekker