UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

HUBERT LUZDEMIO ARTEAGA MIÑANO

**Efeito dos campos magnéticos pulsados no congelamento de alimentos:
aprimoramento da técnica e sua aplicação em Mirtilo.**

Pirassununga

2019

HUBERT LUZDEMIO ARTEAGA MIÑANO

**Efeito dos campos magnéticos pulsados no congelamento de alimentos:
aprimoramento da técnica e sua aplicação em Mirtilo.**

Versão corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Ernane José Xavier Costa

Pirassununga

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A786e Arteaga-Miñano, Hubert Luzdemio
Efeito dos campos magnéticos pulsados no congelamento
de alimentos: aprimoramento da técnica e sua
aplicação em Mirtilo / Hubert Luzdemio Arteaga-Miñano
; orientador Ernane José Xavier Costa. --
Pirassununga, 2019.
160 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos, Universidade de São
Paulo.

1. Campos eletromagnéticos. 2. Bioimpedância. 3.
Relaxometria. 4. Textura. 5. Compostos bioativos.
I. Costa, Ernane José Xavier, orient. II. Título.

Universidade de São Paulo

Janus

ATA DE DEFESA

Aluno: 74132 - 10124550 - 1 / Página 1 de 1

Ata de defesa de Tese do(a) Senhor(a) Hubert Luzdemio Arteaga Miñano no Programa: Engenharia de Alimentos, do(a) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

Aos 17 dias do mês de outubro de 2019, no(a) Sala de Defesas realizou-se a Defesa da Tese do(a) Senhor(a) Hubert Luzdemio Arteaga Miñano, apresentada para a obtenção do título de Doutor intitulada:

"Efeito dos campos magnéticos pulsados no congelamento de alimentos: aprimoramento da técnica e sua aplicação em Mirtilo"

Após declarada aberta a sessão, o(a) Sr(a) Presidente passa a palavra ao candidato para exposição e a seguir aos examinadores para as devidas arguições que se desenvolvem nos termos regimentais. Em seguida, a Comissão Julgadora proclama o resultado:

Nome dos Participantes da Banca	Função	Sigla da CPG	Resultado
Ermene José Xavier Costa	Presidente	FZEA - USP	Não Votante
Cynthia Ditchfield	Titular	FZEA - USP	<u>APROVADO</u>
Sergio Paulo Amaral Souto	Titular	FZEA - USP	<u>APROVADO</u>
Káthery Brennecke	Titular	UB - Externo	<u>APROVADO</u>
Rodrigo Rodrigues Petrus	Titular	FZEA - USP	<u>APROVADO</u>
Wanderley dos Santos Roberto	Titular	CEFET-MG - Externo	<u>APROVADO</u>

Resultado Final: APROVADO

Parecer da Comissão Julgadora *

Eu, Erica Cristina Mello Fenzaz, lavrei a presente ata, que assino juntamente com os(as) Senhores(as), Pirassununga, aos 17 dias do mês de outubro de 2019.

Cynthia Ditchfield

Sergio Paulo Amaral Souto

Káthery Brennecke

Rodrigo Rodrigues Petrus

Wanderley dos Santos Roberto

Ermene José Xavier Costa
Presidente da Comissão Julgadora

* Obs: Se o candidato for reprovado por algum dos membros, o preenchimento do Parecer é obrigatório.

A defesa foi homologada pela Comissão de Pós-Graduação em 21.10.2019 e, portanto, o(a) aluno(a) foi ao título de Doutor em Ciências obtido no Programa Engenharia de Alimentos - Área de concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.

Presidente da Comissão de Pós-Graduação

Profª. Drª. Rosemary Ap. de Carvalho
Presidente da Comissão de
Pós-Graduação
FZEA/USP

Dedico este trabalho à minha família. À minha Esposa Julissa pelo seu amor, suporte e encorajamento na conquista de meus sonhos. Aos meus filhos David e Fernanda, por serem minha melhor motivação e pelo que dou meu maior esforço. Aos meus pais Luzdemio e Balbina, por conseguirem fazer de mim uma pessoa de bem. Às minhas irmãs Erika, Saida e Briseida, por me fazerem sentir seu carinho, embora longe de casa. Aos meus tios Miguel e Felicita, pelos ensinamentos e demonstrações de carinho durante a vida com vocês. Aos meus tios, primos, e avós por confiarem em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, embora agindo de formas misteriosas, me faz sentir essa paz que todo mundo precisa nos momentos de fraqueza.

A meu Orientador Dr. Ernane José Xavier Costa, pela sua amizade, ensinamentos, apoio e a liberdade de discussão.

Ao Aldo especialista do Laboratório de Física Aplicada e Computacional (LAFAC), pelos auxílios técnicos, ensinamentos, encorajamento e revisão.

Aos Professores Sergio Souto e Caio Tambelli, quanto ao Wellington pelas facilidades no uso de Espectroscópio de Impedância Elétrica e do Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear.

À Profa. Ana Carolina de Sousa Silva, pela sua amizade e revisão da tese.

À Patty e à Michelle, por me ajudarem nos experimentos. Ao Rogerio, ao Fernando, à Sheyling, e à Isabelle, pelos momentos que compartilhamos juntos dentro e fora da FZEA.

Aos meus compatriotas: Victor, Lia, Diana, Gilda, Heber, Santiago, José, Mariana pelos momentos de peruanidade.

Ao FONDECYT pela bolsa concedida sob o contrato 271-2015.

A FAPESP pelo auxílio financeiro com o Processo Nº 2018/05871-3

Deixe o futuro dizer a verdade, e avaliar cada um de acordo com seus trabalhos e suas conquistas.

Nikola Tesla

RESUMO

ARTEAGA, H.L. **Efeito dos campos magnéticos pulsados no congelamento de alimentos: aprimoramento da técnica e sua aplicação em Mirtilo**. 2019. 160 f. Tese – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

O uso de tecnologias emergentes é cada vez maior na conservação de alimentos, dentre elas os campos magnéticos tem o potencial de serem aplicados nas diferentes etapas do processamento. Nesse contexto o objetivo desta pesquisa foi desenvolver um equipamento gerador de campos magnéticos pulsados para testar sua aplicação no congelamento de alimentos, especificamente nas características físicas e químicas do mirtilo. O mirtilo é um fruto perecível com teores elevados em compostos bioativos como as antocianinas e polifenóis que precisam ser preservados. O equipamento desenvolvido foi um eletroímã portátil cuja densidade de campo pode-se regular de acordo com a entrada de tensão até 220 V e nas frequências de 0,5 Hz até 200 Hz. Também, foi desenvolvido um sistema eletrônico (*Data Logger*) para a coleta de dados em tempo real tanto dos campos magnéticos quanto das temperaturas. Com a ajuda deste sistema foi possível determinar a distribuição não uniforme nem homogênea dos campos magnéticos no espaço de ensaio, fixando os valores rms em 36,8 mT e 44,7 mT na densidade de fluxo magnético, e nas frequências de 30, 60, 90 e 120 Hz durante a experimentação. Na caracterização dos campos magnéticos no espaço de ensaio se evidenciou que nas frequências superiores a 10 Hz acontece o fenômeno de magnetização do núcleo do eletroímã, que permite coexistir simultaneamente campos magnéticos estático (≥ 30 mT) e pulsado (acima do estático). Este comportamento dual foi responsável pelas mudanças nas características do congelamento de mirtilo (tempo e temperatura de nucleação, grau de sub-resfriamento, tempo de mudança de fase e temperatura final no congelamento) quando comparado ao congelamento convencional. A densidade de fluxo magnético de 44,7 mT e frequência de 90 Hz permitiu melhorar o processo de congelamento do mirtilo. Nessa condição foi obtido o maior grau de sub-resfriamento, e menor tempo de mudança de fase, características que provocam maior nucleação na mudança de fase da água, formando cristais de gelo com menor tamanho e mais uniformes. Tais

fatos foram evidenciados na melhor preservação das membranas celulares o que foi confirmado com a técnica da impedância bioelétrica. Nesta condição também se evidenciou melhor preservação das antocianinas e dos compostos fenólicos com a consequente melhoria na atividade antioxidante. Isso não ocorreu para o caso dos açúcares (°Brix) e ácidos (acidez titulável) que se mantiveram constantes em todos os tratamentos. As enzimas polifenoloxidase e peroxidase tiveram a atividade reduzida nos tratamentos aplicados. Dos resultados encontrados se conclui que o congelamento assistido com campos magnéticos pulsados altera as características físicas e químicas do mirtilo. Com uma densidade de fluxo de 44,7 mT e 90 Hz, se obtém melhor preservação da estrutura do mirtilo e consequentemente a preservação das antocianinas e polifenóis. Fato que reforça a possibilidade de usar esta tecnologia para a conservação de compostos bioativos em frutos durante o congelamento.

Palavras-chave: Campos eletromagnéticos. Bioimpedância. Relaxometria. Textura. Cor. Compostos bioativos.

ABSTRACT

ARTEAGA, H.L. Effect of pulsed magnetic fields on food freezing: improvement of the technique and its application on Blueberry. 2019. 160 f. Ph.D. Thesis - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

The use of emerging technologies for food preservation is increasing, among them the magnetic fields have the potential to be applied in the different processing steps. In this context the objective of this research was to develop a pulsed magnetic field generator equipment to test its application in food freezing, specifically in the physical and chemical characteristics of blueberries. Blueberry is a perishable fruit with high concentration of bioactive compounds such as anthocyanins and polyphenols that need to be preserved. The equipment developed was a portable electromagnet whose field density can be adjusted according to voltage input up to 220 V and at frequencies from 0.5 Hz to 200 Hz. Also, an electronic system (Data Logger) was developed for collect the real-time data from both magnetic fields and temperatures. With the help of this system it was possible to determine the non-uniform or homogeneous distribution of magnetic fields in the test space by setting the rms values at 36.8 mT and 44.7 mT at magnetic flux density and at frequencies 30, 60, 90 and 120 Hz during the experiment. In the characterization of the magnetic fields in the test space, it was evident that at frequencies above 10 Hz there is the magnetization phenomenon of the electromagnet core, which allows the static (≥ 30 mT) and pulsed (above the static) magnetic fields to coexist simultaneously. This dual behavior was responsible for changes in the characteristics of blueberry freezing (time and temperature of nucleation, degree of supercooling, phase change time and final freezing temperature) when compared to conventional freezing. The magnetic flux density of 44.7 mT and 90 Hz frequency allowed to improve the blueberry freezing process. At this condition the highest degree of supercooling and shorter phase change time were obtained, characteristics that cause greater nucleation in the water phase change, forming smaller and more uniform ice crystals. These facts were evidenced in the better preservation of the cell membranes, which was confirmed by the bioelectrical impedance technique. This condition also showed better preservation of anthocyanins and phenolic compounds with a consequent improvement in antioxidant activity. This

did not occur for sugars (° Brix) and acids (titratable acidity) which remained constant in all treatments. The polyphenol oxidase and peroxidase enzymes had reduced activity in the applied treatments. From the results it can be concluded that assisted freezing with pulsed magnetic fields alters the physical and chemical characteristics of blueberries. With a flow density of 44.7 mT and 90 Hz, better preservation of the blueberry structure is achieved and consequently the preservation of anthocyanins and polyphenols. This fact reinforces the possibility of using this technology for the preservation of bioactive compounds in fruits during freezing.

Keywords: Electromagnetic fields. Bioimpedance. Relaxometry. Texture. Color. Bioactive compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do mirtilo	26
Figura 2 - Classificação dos compostos fenólicos	29
Figura 3 - Localização da polifenoloxidase (PFO) e da peroxidase (POD) nas células vegetais e seus substratos os compostos fenólicos	33
Figura 4 - Estrutura 3D da Polifenoloxidase. A) a estrutura de cor azul corresponde a polifenoloxidase de uva e a estrutura da cor amarela corresponde a batata doce, B) Detalhe dos sítios de coordenação do sitio ativo.....	34
Figura 5 - Transições cíclicas no sítio ativo da polifenoloxidase durante a catálise de polifenóis.....	36
Figura 6 - Estrutura 3D da peroxidase, a cor roxa corresponde a uva e o vermelho a ervilha.	37
Figura 7 - Fases do congelamento da água	41
Figura 8 - Esquema do equipamento para geração dos campos magnéticos pulsados	53
Figura 9 - Esquema elétrico para o controle de frequências do campo magnético ...	54
Figura 10 - Layout PCB do controlador de frequências do campo magnético	55
Figura 11 - Diagrama de blocos do <i>hardware</i> do <i>Data Logger</i> para coleta de dados de temperatura e campos magnéticos.	56
Figura 12 - <i>Layout PCB</i> do <i>Data Logger</i>	57
Figura 13 - Interface do <i>software</i> do <i>Data Logger</i>	58
Figura 14 - Codificação dos pontos para o mapeamento do campo magnético no espaço de ensaio	59
Figura 15 - Arranjo dos equipamentos para a coleta dos dados do campo magnético	60
Figura 16 – Montagem experimental para o congelamento do mirtilo assistido por campos magnéticos pulsados	61
Figura 17 – Mirtilos arrumados na cesta porta amostras.....	62

Figura 18 - Suporte impresso 3D em ABS para manter o mirtilo em posição equatorial durante o ensaio de textura.....	64
Figura 19 – Posição para medição da cor na casca (a) e na polpa (b) do mirtilo.....	65
Figura 20 – Suporte de eletrodos de agulha para a medição da impedância bioelétrica do mirtilo	69
Figura 21 – Interface que exhibe o algoritmo implementado no GUIDE do MatLab para ajuste dos dados de impedância a circuitos elétricos equivalentes	70
Figura 22 – Amostras de mirtilo acondicionadas para avaliação por ressonância magnética nuclear.....	71
Figura 23 - a) Desenho do Eletroímã, b) Desenho do suporte e cesto porta amostras impresso em ABS, c) Gerador de campo magnético pulsado	74
Figura 24 - Gerador de campos magnéticos pulsados e controle inseridos no congelador	75
Figura 25 - Estrutura externa do controlador de campos magnéticos pulsados.....	76
Figura 26 - Estrutura externa do <i>hardware</i> do <i>Data Logger</i>	76
Figura 27 - a) Comportamento do valor rms da densidade de fluxo magnético B (mT) no espaço de trabalho a 34 V e 30 Hz; b) Comportamento do campo magnético pulsado nas coordenadas 20, 60 e 100 a 30 Hz; c) Diminuição na escala do tempo em gráfico b	78
Figura 28 - a) Comportamento do valor rms da densidade de fluxo magnético B (mT) no espaço de trabalho a 34 V e 60 Hz; b) Comportamento do campo magnético pulsado nas coordenadas 20, 60 e 100 a 60 Hz; c) Diminuição na escala do tempo em gráfico b.	79
Figura 29 - a) Comportamento do valor rms da densidade de fluxo magnético B (mT) no espaço de trabalho a 54 V e 30 Hz; b) Comportamento do campo magnético pulsado nas coordenadas 20, 60 e 100 a 30 Hz; c) Diminuição na escala do tempo em gráfico b.	80
Figura 30 - a) Comportamento do valor rms da densidade de fluxo magnético B (mT) no espaço de trabalho a 54 V e 60 Hz; b) Comportamento do campo magnético	

pulsado nas coordenadas 20, 60 e 100 a 60 Hz; c) Diminuição na escala do tempo em gráfico b.	81
Figura 31 - Curvas de congelamento do mirtilo. Controle e 36,8 mT nas frequências de 30 Hz, 60 Hz, 90 Hz e 120 Hz.	82
Figura 32 - Curvas de congelamento do mirtilo. Controle e a 44,7 mT nas frequências de 30 Hz, 60 Hz, 90 Hz e 120 Hz	83
Figura 33 – Força máxima (F_{max}) na ruptura de mirtilo fresco, congelado com e sem campo magnético após o descongelamento	94
Figura 34 – Módulo de Young (MY) de mirtilo fresco, congelado com e sem campo magnético após o descongelamento	97
Figura 35 – Antocianinas totais (AT) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento	103
Figura 36 – Polifenóis totais (PT) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento	108
Figura 37 – Atividade antioxidante (AA) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento	111
Figura 38 – Diagrama de Nyquist do mirtilo fresco, congelado com e sem (controle) campo magnético a 36,8 mT nas frequências de 30 a 120 Hz, após o descongelamento.....	114
Figura 39 – Diagrama de Nyquist do mirtilo fresco, congelado com e sem (controle) campo magnético a 44,7 mT em frequências de 30 a 120 Hz, após o descongelamento	115
Figura 40 – Resistência extracelular (R_e) do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento	117
Figura 41 – Resistencia intracelular (R_i) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento	119
Figura 42 – Capacitância da membrana celular (C_m) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento.....	120

Figura 43 – Tempos de relaxação (T2) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético de 36,8 mT nas frequências de 30-120 Hz após o descongelamento.....	123
Figura 44 – Tempos de relaxação (T2) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético de 44,7 mT nas frequências de 30-120 Hz após o descongelamento.....	124
Figura 45 – Atividade da polifenoloxidase (Apfo) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento.....	130
Figura 46 – Atividade da peroxidase (Apdo) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química do mirtilo (fruto)	28
Tabela 3 - Parâmetros extraídos das curvas do congelamento do mirtilo com e sem (controle) campos magnéticos pulsados	84
Tabela 4 – Umidade, pH, Sólidos solúveis totais (SST) e acidez titulável total (ATT) do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados	91
Tabela 5 – Coordenadas L^* , a^* , b^* da cor na superfície (s) do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados	99
Tabela 6 – Coordenadas L^* , a^* , b^* e variação da cor na polpa do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados	101
Tabela 7 – Tempos de relaxação T2 do mirtilo fresco e, congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados	126

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade antioxidante
ABS	Acrilonitrila butadieno estireno
ABTS	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico
AGE	Acido gálico equivalente
AT	Antocianinas totais
ATT	Acidez titulável total
CAS	<i>Cell alive system</i> (Sistema celular vivo)
CME	Campos magnéticos estáticos (SMF <i>Static Magnetic Fields</i>)
CMO	Campos magnéticos oscilantes (OMF <i>Oscillating Magnetic Fields</i>)
CMP	Campos magnéticos pulsados (PMF <i>Pulsed Magnetic Fields</i>)
CNLS	<i>Complex Nonlinear Least Squares</i> (Mínimos quadrados não lineares complexos)
CPE	<i>Constant Phase Element</i> (Elemento constante de fase)
FD	Fator de diluição
GUIDE	<i>Graphical User Interface Development Enviroment</i> (Ambiente de desenvolvimento da interface gráfica do usuário)
IQF	<i>Individual Quick Freezing</i> (Congelamento rápido individual)
NNLS	<i>Non-Negative Least square</i> (Mínimos quadrados não negativos)
PCB	<i>Printed circuit board</i> (Placa de circuito impresso)
PFO	Polifenoloxidase
POD	Peroxidase
PT	Polifenóis totais
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMS	<i>Root mean square</i> (Raíz quadrada média)

SST	Sólidos solúveis totais
TE	Trolox Equivalente
UV-C	Radiação ultravioleta tipo c
UV-Vis	Ultravioleta visível

LISTA DE SIMBOLOS

a^*	Coordenada a da cor
b^*	Coordenada b da cor
B	Densidade de fluxo de magnético
C	Capacitância
C_m	Capacitância da membrana
f	Frequência
H	Intensidade de campo magnético
L^*	Coordenada L da cor
M	Magnetização
p	Coeficiente do elemento de fase constante
R	Resistencia elétrica
R_e	Resistencia extracelular
R_i	Resistencia intracelular
t_n	Tempo de nucleação
t_{mf}	Tempo de mudança de fase
T	Coeficiente do elemento de fase constante
T_0	Temperatura inicial
T_f	Temperatura de congelamento
T_{fc}	Temperatura final de congelamento
T_n	Temperatura de nucleação
ΔT_{sr}	Grau de sub-resfriamento
V	Tensão
ω	frequência angular

ω_m	frequência de relaxação angular
μ	Permeabilidade magnética
χ	Susceptibilidade magnética
Z	Impedância
Z_i	Reatância (componente imaginária da impedância)
Z_r	Resistência (componente real da impedância)

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO	24
2	REVISÃO BIBLIOBRÁFICA.....	26
2.1	Mirtilo	26
2.1.1	Características	27
2.1.1.1	Compostos fenólicos	28
2.1.1.2	Antocianinas.....	30
2.1.1.3	Atividade antioxidante	31
2.1.2	Enzimas no mirtilo	32
2.1.2.1	Polifenoloxidase	33
2.1.2.2	Peroxidase	36
2.2	Congelamento	40
2.3	Campos magnéticos	43
2.3.1	Geração	44
2.3.2	Efeitos dos campos magnéticos nos alimentos	45
3	OBJETIVOS	52
4	MATERIAL E MÉTODOS	53
4.1	Desenvolvimento de um equipamento portátil gerador de campos magnéticos pulsados.....	53
4.2	Desenvolvimento de um <i>Data Logger</i> para monitoramento do campo magnético e temperatura em tempo real.	56
4.3	Caracterização do comportamento dos campos magnéticos no espaço de ensaio	58
4.4	Avaliação dos parâmetros obtidos das curvas de congelamento do mirtilo sob campos magnéticos pulsados.....	60
4.5	Avaliação do efeito dos campos magnéticos pulsados nas características físicas e químicas do mirtilo.....	62

4.5.1	Propriedades físico-químicas do mirtilo	62
4.5.2	Textura.....	63
4.5.3	Cor	64
4.5.4	Antocianinas totais	65
4.5.5	Polifenóis totais	66
4.5.6	Atividade antioxidante	67
4.5.7	Impedância bioelétrica	68
4.5.8	Ressonância magnética nuclear	71
4.5.9	Atividade da polifenoloxidase	72
4.5.10	Atividade da peroxidase	73
4.6	Análise estatística	73
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
5.1	Desenho do gerador de campos magnéticos pulsados	74
5.2	Desenvolvimento de um <i>Data Logger</i>	76
5.3	Comportamento dos campos magnéticos no espaço de ensaio.....	77
5.4	Curvas de congelamento do mirtilo com e sem (controle) campos magnéticos pulsados	81
5.5	Efeito dos campos magnéticos pulsados nas características físicas e químicas do mirtilo.....	90
5.5.1	Umidade, pH, SST e Acidez titulável total no mirtilo	90
5.5.2	Textura	94
5.5.3	Cor	99
5.5.4	Antocianinas totais	102
5.5.5	Polifenóis totais	107
5.5.6	Atividade antioxidante	111
5.5.7	Impedância bioelétrica	113
5.5.8	Ressonância magnética nuclear	123

5.5.9	Atividade da Polifenoloxidase e da Peroxidase	129
6	CONCLUSÕES	136
7	PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	136
	REFERÊNCIAS	137

1 INTRODUÇÃO

De todo o alimento produzido no mundo um terço é considerado como perda ou desperdício, a porcentagem da perda varia em cada etapa na cadeia de produção. No caso das frutas e hortaliças esta perda é de aproximadamente 12% na etapa de processamento em países da América Latina (FAO, 2011). Esta porcentagem é alta comparada como os países desenvolvidos, associado ao caráter perecível das frutas e aos problemas técnicos durante o processamento (RAAK et al., 2017).

Em aplicações práticas, o uso de tecnologias obsoletas e inadequadas são responsáveis em grande parte por estas perdas e, portanto, deve-se aprimorar estas tecnologias (ADEYEYE, 2017). O aprimoramento implica maior instrumentação para o controle dos processos e, monitoramento em tempo real das características de qualidade do produto (PEREIRA et al., 2016). Outra opção é procurar tecnologias mais eficientes que substituam ou que possam ajudar no desempenho das convencionais, como as tecnologias emergentes (LEE; CHOI; JUN, 2016).

A conservação de produtos frescos como as frutas e hortaliças é feita principalmente pela aplicação de resfriamento ou congelamento como tecnologia convencional. A redução da temperatura nestes processos, decresce o metabolismo de degradação, incrementando a vida de prateleira desses produtos.

No entanto, no congelamento acontece uma mudança de fase da água formando cristais de gelo, que podem ser de diversos dependendo da velocidade de congelamento. Quando os cristais de gelo são grandes as estruturas celulares dos produtos ficam danificadas que levam à perda de textura, mudança de cor e esvaziamento após o descongelamento.

Para minimizar o dano aos produtos congelados, têm-se procurado soluções que são categorizadas em quatro linhas de pesquisa: a) melhora no desempenho dos equipamentos de congelamento lento, aplicando o congelamento rápido individual IQF (do inglês, *Individual Quick Freezing*) (JOY; LADA, 2006); b) aplicação da congelação criogênica em que se utiliza nitrogênio líquido (-196 °C) e dióxido de carbono; c) utilização de substâncias anticongelantes (WATHEN; JIA, 2005; HAGIWARA; AOMATSU, 2015) e, d) Combinação do congelamento convencional com tecnologias

emergentes como as altas pressões (CHEVALIER; LE BAIL; GHOU, 2000), ultrassom e, pulsos elétricos.

Na combinação de tecnologias, as soluções propostas precisam de elementos adicionais para seu total funcionamento em produtos frescos; assim, a alta pressão requer água e um espaço fechado para exercer a pressão, o ultrassom precisa de água como meio para o funcionamento e, no caso dos pulsos elétricos são necessários eletrodos para ter contato com o produto.

Diante destas desvantagens, aparecem os campos magnéticos, tecnologia emergente que é pouco explorada na indústria de alimentos e, que não precisa de meios específicos ou eletrodos para agir sobre os alimentos, vantagem que faz dela uma tecnologia de fácil adaptação. No entanto, em algumas pesquisas tem-se reportado resultados com efeitos positivos marginais e em outros estudos resultados adversos ou contraditórios na aplicação no congelamento da água e em alguns alimentos. Motivo, pelo qual, os estudos precisam ser aprofundados e ampliados para elucidar como agem os campos magnéticos nos alimentos.

Neste contexto, esta pesquisa combinou duas tecnologias, o congelamento convencional e os campos magnéticos pulsados, com equipamentos em escala de laboratório, a fim de estudar seus efeitos sobre as características físicas e químicas do mirtilo, visando obter menor dano da estrutura celular quando comparado ao congelamento convencional, e como consequência preservar as características físicas e químicas do mirtilo. Além disso, são apresentados os possíveis mecanismos subjacentes da aplicação dos campos magnéticos pulsados nas características avaliadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mirtilo

O Mirtilo é uma fruta que pertence à família Ericaceae, é uma baga de cor azul que está inclusa na categoria de frutas pequenas. Em países que falam inglês é conhecido como Blueberry, nos que falam Português é conhecido como mirtilo, e Arándano em países que falam espanhol (FACHINELLO, 2008).

Este fruto é constituído por três partes principais (Figura 1), o exocarpo (casca), mesocarpo (polpa) e o endocarpo (sementes) (KARELOVIC, 2012). Sobre o exocarpo apresenta uma camada única de epidermes sem estomas que é recoberta por uma superfície hidrofóbica de cutícula e cera epicuticular que além de servir como fator de qualidade, oferece proteção contra os fatores externos controlando o ganho e a liberação da água e compostos bioativos durante o transporte, estocagem e processamento (MICHALSKA; ŁYSIAK, 2015)

Figura 1 - Estrutura do mirtilo

Fonte: Adaptado de Karelovic, 2012.

O fruto do mirtilo é de sabor agradável e nobre aroma (CELEJEWSKA; MIESZCZAKOWSKA-FRA, 2018) é consumido principalmente fresco, e aqueles frutos que não cumprem com as características de qualidade são conservados por congelamento, assim 60% da produção nos Estados Unidos é mantida a fresco e o resto é congelada (SIDDIQ; DOLAN, 2017). A maior produção desta fruta é na América do Norte, mas tem a desvantagem de ser produzida numa única estação ao longo do ano. A deficiência deste produto nas outras estações fez com que países da América do Sul como Chile, Argentina, Uruguai, Peru e Brasil comesçassem a produzir.

No Brasil o cultivo foi introduzido pela Embrapa em 1980 com o objetivo de adaptá-lo ao clima. O resultado disso é que o Brasil tem o potencial de produzir mirtilo durante a maior parte do ano, o que representa uma grande vantagem para cobrir a demanda nos principais centros de consumo nos EUA (Estados Unidos da América) e na UE (União Europeia) (PERTUZATTI et al., 2012). Assim, a produção de mirtilo constitui uma possibilidade econômica muito atrativa para a agroindústria brasileira pela renda que pode trazer a exportação deste produto.

O mirtilo é uma das frutas mais consumidas no mundo (RODRIGUEZ-SAONA; VINCENT; ISAACS, 2019), seu alto consumo é derivado das agradáveis características sensoriais e pelos benefícios que trazem para a saúde, seus compostos bioativos, como os compostos fenólicos e especialmente as antocianinas que são responsáveis pela sua elevada capacidade antioxidante (PERTUZATTI, 2014; PAVLIDOU et al., 2018). Tanto que Reque et al. (2014) consideram que o mirtilo é uma das melhores fontes de antioxidantes na dieta.

Nas quantidades apropriadas estes compostos podem agir como agentes anticancerígenos (DUTHIE, 2007; SEERAM, 2008). Além disso, podem dar alívio para a obesidade, diabetes, lesão da retina, inflamação do coração, fígado, estômago e rim, tumores, infecção microbiana, declínio cognitivo e perda óssea (PATEL, 2014). Embora os mecanismos responsáveis pela atuação sobre estas doenças ainda sejam objeto de pesquisas.

2.1.1 Características

A qualidade do mirtilo está dividida em uma série de fatores agrupados como qualidade visual ou aparência (cor azul uniforme, presença de cera epicuticular (*bloom*), ausência de defeitos, forma e tamanho da fruta e firmeza adequada), qualidade organoléptica (conteúdo de açúcares, ácidos e compostos voláteis, responsáveis pelo aroma) e, qualidade nutritiva (relacionada principalmente com o teor de compostos fenólicos) (MINAGRI, 2016). A composição proximal do mirtilo é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química do mirtilo (fruto)

Característica	Concentração (g/100 g peso seco)
Umidade	85,78±0,62
Lipídios totais	0,73±0,06
Proteínas	4,10±0,08
Cinzas	1,80±0,01
Açúcares redutores	68,54±0,75
Açúcares totais	70,65±1,55

Fonte: Reque et al. (2014)

2.1.1.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos nos alimentos são derivados da fenilalanina e, em menor grau da tirosina. Estas são substâncias que possuem um anel aromático que contém um ou mais grupos hidroxila (Grupo fenol), incluindo os seus derivados funcionais. Esta configuração faz com que estes compostos tenham muitas variantes estruturais, que podem ser divididas em subgrupos como os ácidos fenólicos, flavonoides e taninos (Figura 2).

Os flavonoides consistem de um anel aromático condensado a um anel heterocíclico, no qual se insere um segundo anel aromático, que por sua vez são divididos em antocianinas e antoxantinas (HAN; SHEN; LOU, 2007). Rodriguez-Mateos et al. (2014) indicaram que o maior grupo de polifenóis presente no mirtilo são as antocianinas, seguido pelas procianidinas, flavonóis e ácido clorogênico.

Os compostos fenólicos nas plantas cumprem um papel fisiológico principal que está relacionado ao aumento da tolerância ao estresse (ZAREEI et al., 2019) e assim que protegem do ataque dos radicais livres a outras macromoléculas essenciais como as proteínas, as enzimas, os ácidos nucleicos, as lipoproteínas e os lipídios da membrana.

Figura 2 - Classificação dos compostos fenólicos

Fonte: Adaptado de Shahidi e Ambigaipalan (2015), estruturas inseridas de Shahidi e Naczk (2004)

A presença dos polifenóis, em tecidos de animais é devido à ingestão de alimentos vegetais, ou pela ingestão de fenólicos sintéticos, a fim de evitar a oxidação dos seus componentes lipídicos (SHAHIDI; NACZK, 2004). No entanto, estes compostos para trazerem os benefícios à saúde devem suportar a etapa de processamento dos alimentos que os contém, liberando-se após a ingestão da matriz alimentar e ficando acessíveis no trato gastrointestinal para serem submetidos ao metabolismo, a fim de que o composto ativo possa chegar ao tecido alvo. Portanto, as condições de processamento dos produtos que contém estes compostos devem permitir preservar a atividade biológica dos polifenóis (RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014).

Os polifenóis do mirtilo são susceptíveis a perdas durante o processamento ou armazenamento (PERTUZATTI, 2014). Já no consumo a perda é pelo descascamento (eliminando a casca, na qual está a maior quantidade destes compostos) e pela

atividade das enzimas oxidativas, que é inclusive incrementada pelo dano mecânico durante o transporte e o preparo (RUIZ-RODRIGUEZ et al., 2008).

Choi e Kwak (2014) reportaram que o conteúdo de polifenóis no mirtilo oscila entre 181 e 585 mg/100 g de peso fresco, sendo o ácido cinâmico e o ácido benzoico os principais. Nessa mesma linha de pesquisa, Prior et al. (1998) avaliaram quatro espécies de mirtilo [*Vaccinium corymbosum* L (Highbush), *Vaccinium ashei* Reade (Rabbiteye), *Vaccinium angustifolium* (Lowbush) e *Vaccinium myrtillus* L (Bilberry)] para quantificar os polifenóis totais, antocianinas totais e atividade antioxidante. Estes pesquisadores reportaram que os valores de polifenóis totais estão entre 233 e 495 mg/100 g de peso fresco, as antocianinas entre 61,8 e 235,4 mg/100 g de peso fresco e, a atividade antioxidante oscilou entre 13,9 a 45,9 μ mol Trolox equivalente (TE)/g de peso fresco. Os limites superiores nestas características corresponderam aos frutos com maior grau de amadurecimento. Então fica evidente que conservar estes compostos durante o processamento e armazenamento do mirtilo é de extrema importância.

2.1.1.2 Antocianinas

As antocianinas são uma classe natural de compostos fenólicos que dão coloração à maioria das flores e frutos (CHEN et al., 2014), variando do vermelho até o azul dependendo do tipo e da quantidade (CHUNG; YU; LEE, 2016). As antocianinas são formadas das antocianidinas (que derivam do cátion flavilo) com uma ou mais moléculas de açúcar.

A variação de cor destes compostos é resultado dos graus de hidroxilação, metoxilação, glicosilação, acilação, co-pigmentação com flavonóis das antocianidinas, pH dos vacúolos, tipo e concentração de íons metálicos e, efeitos de genótipo associados (AZUMA et al., 2015). Das 21 antocianidinas reportadas na literatura, seis estão presentes nas frutas e hortaliças: pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina, no mirtilo a pelargonidina é a faltante (NICOUÉ; SAVARD; BELKACEMI, 2007).

O conteúdo de antocianinas depende do cultivar, lugar onde foi cultivado e as condições ambientais. Assim, Lohachoompol et al. (2008) informaram valores para mirtilo cultivado na Austrália de 13,7 g de cianidina 3- glicosídeo/kg de peso seco. Por

sua vez Mi et al. (2004) apresentaram uma faixa de 1.435,2 mg/kg até 8.227,3 mg/kg de peso fresco para mirtilo cultivado nos Estados Unidos. Além disso, a concentração de antocianinas aumenta na medida que se atingem certos graus de amadurecimento, no entanto, os flavonóis e os ácidos hidroxicinâmicos decrescem (CASTREJÓN et al., 2008), isto concorda com o reportado por Chung, Yu e Lee, (2016) que identificaram quatro tipos no estado roxo avermelhado da casca do mirtilo, e 22 quando a casca virou roxo escuro, sendo estas glicosiladas com glicose, galactose ou arabinose.

As antocianinas na forma isolada são muito instáveis e de fácil degradação, o que se pode evitar em parte ao incrementar o nível de glicosilação que lhe confere maior estabilidade, mas se for hidroxilação, pode ficar ainda mais instável. Outros fatores implicados na degradação das antocianinas são: o pH (recomendável <7, muda a cor dependendo do valor), a luz, o oxigênio, o ácido ascórbico, o dióxido de enxofre, a presença de enzimas (polifenoloxidase, peroxidase e glicosilase), os íons metálicos, as proteínas e os outros flavonoides (REQUE et al., 2014).

2.1.1.3 Atividade antioxidante

As propriedades antioxidantes dos alimentos, referem-se à capacidade que alguns compostos tem de retardar ou prevenir o aparecimento da alteração oxidativa (MOURA, 2011). No caso do mirtilo, esta capacidade é devida ao conteúdo de polifenóis, principalmente às antocianinas (CANUTO et al., 2016), que atuam sobre os radicais livres como é o caso do oxigênio singleto, as espécies reativas do oxigênio, o radical hidroxila, o ânion superóxido, o radical peroxil, o radical alcóxil e o óxido nítrico.

Shahidi e Ambigaipalan (2015) e Chorfa, Savard e Belkacemi (2016) sugerem que o mecanismo de captura dos radicais livres pelas antocianinas é resultado da transferência de hidrogênio. Moraes e Colla (2006) agregam que algumas vezes atuam como quelantes de metais agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo de oxidação, sendo que os produtos intermediários formados são relativamente mais estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentado pelos compostos fenólicos. Deste modo o consumo do mirtilo pelos compostos antioxidantes presentes pode ajudar a diminuir danos relacionados a doenças cardiovasculares e, outras atividades anticancerígenas, como é discutido na literatura (NETO, 2007; NORBERTO et al., 2013; PRIOR, 2015; RAMIREZ et al., 2015; ZHAO et al., 2015).

A atividade antioxidante do mirtilo pode variar pelo seu grau de amadurecimento na colheita, o tamanho e as condições pós-colheita. O grau de amadurecimento, por espécie e por cultivar (MALLIK; HAMILTON, 2017). Sendo que os genótipos se diferenciam na sua capacidade de sintetizar compostos fenólicos. Por outro lado, o tamanho é um fator a se levar em consideração, pois como as antocianinas estão concentradas nos tecidos epidérmicos, então mirtilos pequenos com uma grande relação área superficial/volume tendem a ter maior conteúdo destes compostos. A variação nas condições de pós-colheita depende do transporte e das tecnologias aplicadas para sua preservação. Assim os campos magnéticos representam uma alternativa para este fim.

2.1.2 Enzimas no mirtilo

No mirtilo, assim como na maioria de frutas e hortaliças frescas, um dos fatores a ser levado em consideração como característica de qualidade é o escurecimento do produto. Este escurecimento é devido principalmente à atividade de duas enzimas: a polifenoloxidase (PFO) e a peroxidase (POD) que agem sobre os compostos fenólicos oxidando-os e levando à formação de pigmentos marrons, processo que é conhecido como escurecimento enzimático e que se dá de forma imediata quando a estrutura celular destruída permite a mistura das enzimas com os substratos (JANG; MOON, 2011). O escurecimento enzimático também pode afetar o sabor e aroma dos produtos resultando em características indesejáveis para o consumidor (DAAS AMIOUR; HAMBABA, 2016).

A degradação de antocianinas e outros polifenóis no mirtilo pode ser atribuída tanto à polifenoloxidase quanto à peroxidase (TEREFE et al., 2015; TEREFE; DELON; VERSTEEG, 2017a). A polifenoloxidase e a peroxidase estão amplamente distribuídas nos compartimentos celulares, como mostrado na Figura 3.

Figura 3 - Localização da polifenoloxidase (PFO) e da peroxidase (POD) nas células vegetais e seus substratos os compostos fenólicos

Fonte: Adaptado de Toivonen e Brummell (2008)

2.1.2.1 Polifenoloxidase

A polifenoloxidase (PFO) é uma enzima oxido-redutase que contém o íon cobre no seu sítio ativo (KANADE et al., 2007; BRAVO; OSORIO, 2016). Na estrutura do sítio ativo da PFO o cobre é ligado por seis ou sete resíduos de histidina e um único resíduo de cisteína (RAGHAVENDRA et al., 2015) como mostrado na Figura 4.

Na presença de oxigênio a polifenoloxidase catalisa duas reações: a primeira é a hidroxilação dos monofenóis e, a segunda a oxidação de o-difenóis a o-quinonas reagindo com grupos amino e sulfidril em proteínas, podendo estes polimerizar ou condensar com outras proteínas dando como resultado pigmentos marrons, as melanoproteínas (DE LIMA et al., 2000; GONZÁLEZ; DE ANCOS; CANO, 2000; JANG; MOON, 2011; SIDDIQ; DOLAN, 2017). Além disso, a PFO é capaz de agir nos pigmentos vermelhos como as antocianinas degradando-as (GONZÁLEZ; DE ANCOS; CANO, 2000).

A PFO é a enzima que apresenta a maior contribuição no escurecimento enzimático ou degradação da cor em frutas e hortaliças durante a pós-colheita e operações de processamento (SIDDIQ; DOLAN, 2017). Este escurecimento enzimático produto da atividade da polifenoloxidase também está associado à perda de sabor e nutrientes dos frutos (SULAIMAN et al., 2015).

Figura 4 - Estrutura 3D da Polifenoloxidase. A) a estrutura de cor azul corresponde a polifenoloxidase de uva e a estrutura da cor amarela corresponde a batata doce, B) Detalhe dos sítios de coordenação do sitio ativo

Fonte: Virador et al. (2010)

Siddiq e Dolan (2017) relataram algumas características específicas da polifenoloxidase de mirtilo, a PFO mostra uma afinidade variável com o-difenois, e nenhuma atividade foi observada em monofenois, é responsável pela perda de antocianinas. A perda de antocianinas pode ser diminuída se o pH for reduzido para menos de 4,5 onde a PFO perde significativamente sua atividade. No entanto, Terefe et al. (2015) relataram que às temperaturas médias de 30-50 °C e pressões hidrostáticas medias de 200-500 MPa a atividade da PFO do mirtilo foi incrementada, para logo passar a decrescer quando as temperaturas são superiores a 80 °C e as pressões superiores a 600 MPa.

A pesquisa científica tem procurado tratamentos que possam inativar a polifenoloxidase. O tratamento mais conhecido é o tratamento térmico, cujo mecanismo de ação é principalmente desnaturar a estrutura da polifenoloxidase nas temperaturas iguais ou maiores que 80 °C, este mecanismo também é atribuído quando aplicam o ultrassom e altas pressões, assim como a combinação destes processos (ZHU et al., 2017).

Duong, Balaban e Perera (2015), Tinello e Lante (2018) e Marques e Sulaiman (2019) agregam que a PFO pode ser inativada com o uso de tecnologias não térmicas como as altas pressões hidrostáticas, ultrassom, pulsos elétricos, radiação UV-C, pulsos de luz e plasma a frio, agindo sozinhos ou combinados com temperatura, gases (CO₂) e inibidores. Os mecanismos sugeridos dessa inativação estão ligados às mudanças na conformação secundária, terciária e quaternária da PFO decrescendo a α -hélice, aumentando a desordem nas cadeias e o aumento no tamanho da proteína, agregação e dispersão, mas a eficácia destes tratamentos depende tanto dos fatores modificáveis de cada tecnologia, assim como do produto. Além disso, é preciso sintonizar cada um dos fatores das tecnologias, pois níveis baixos destes fatores, em lugar de inativar podem sobreativar a PFO.

Mishra e Gautman (2016) mostraram que o sítio ativo da PFO sofre transições entre as formas met-, oxi- e desoxi- de forma cíclica para a catálise dos polifenóis (Figura 5). Estes pesquisadores, sugerem que para inativar a PFO é preciso eliminar ou trocar uma ou mais de dois componentes essenciais durante a catalise (oxigênio, enzima, cobre ou substrato).

No caso da ação dos campos magnéticos sobre a polifenoloxidase, tem-se reportado mudança nas estruturas conformacionais, além disso, aqui se considerou a hipótese de que como o sítio ativo é constituído por íons de cobre, então os campos magnéticos pulsados podem causar mudanças conformacionais na geometria de coordenação dos sítios ativos, o que pode mudar a afinidade pelo substrato. Dependendo da densidade de fluxo magnético, pode inativar quando a densidade é alta e em densidades menores pode aumentar a sua atividade.

Por outro lado, levando em consideração que o passo da estrutura primária até a quaternária da PFO envolve ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações eletrostáticas e, forças de van der Waals (MARQUES SILVA; SULAIMAN,

2019), então é plausível que os campos magnéticos podem agir sobre as mudanças conformacionais (MARQUES SILVA; SULAIMAN, 2019). Dependendo da mudança podem se esperar três resultados: parcial ou total inativação, que não haja alteração na atividade e, ativação da PFO. Inclusive pode-se esperar que a desnaturação seja reversível na ausência do elemento que o causava.

Figura 5 - Transições cíclicas no sítio ativo da polifenoloxidase durante a catálise de polifenóis

Fonte: Adaptado de Eicken, Krebs e Sacchettini (1999) e Mishra e Gautman (2016)

2.1.2.2 Peroxidase

A peroxidase (POD) é outra enzima responsável pelo escurecimento de frutos e hortaliças, esta enzima precisa de compostos receptores de elétrons como o peróxido de hidrogênio para sua participação ativa (JANG; MOON, 2011). A POD é uma oxido-redutase que contém ferro no seu sítio ativo, formando um grupo prostético ferriprotoporfirina III, além disso, pode conter cálcio (Figura 6) (PAZ, 2010; PELLICER; GÓMEZ-LÓPEZ, 2017).

Figura 6 - Estrutura 3D da peroxidase, a cor roxa corresponde a uva e o vermelho a ervilha.

Fonte: Nokthai, Lee e Shank (2010)

Nos frutos, a peroxidase se encontra na forma solúvel no citoplasma e na forma insolúvel na parede celular ligada iônica ou covalentemente (VÁMOS-VIGYÁZÓ; HAARD, 1981). No mirtilo, a maior parte da POD tem ligação iônica com a parede celular e durante o amadurecimento do fruto o número de isoenzimas aumenta (KADER et al., 2002). Com relação à afinidade dos polifenóis, Nokthai, Lee e Shank (2010) reportaram que a peroxidase tem maior afinidade pela epicatequina e catequina.

Segundo Vámos-Vigyázó e Haard (1981) a atividade da POD de forma geral segue a reação:

Em que: R= H+, CH₃ ou C₂H₅; AH₂= Doador de hidrogênio na forma reduzida (polifenóis); A= doador de hidrogênio na forma oxidada. A sequência da reação envolve a formação de produtos intermediários, em que a última reação é a limitante:

A POD é muito sensível ao pH podendo passar a uma desnaturação irreversível quando o pH é baixo (2,5), podendo perder o grupo heme por efeito da temperatura (SANTOS, 2001). Tem-se sugerido uma sequência de etapas na inativação desta enzima pela temperatura: (1) dissociação do grupo prostético da holoenzima, (2) uma alteração na conformação da apoenzima e, (3) a modificação ou degradação do grupo prostético.

Além disso, também foram relatados agregação e desdobramento (VÁMOS-VIGYÁZÓ; HAARD, 1981). Dependendo da temperatura à qual é submetida a POD tem a possibilidade de recuperar sua atividade (PAZ, 2010), já em valores superiores a 90 °C normalmente apresenta desnaturação irreversível.

No resfriamento ou congelamento, Vámos-Vigyázó e Haard (1981) sugerem que a estabilidade da POD a baixas temperaturas se deve a: a) o aumento da força iônica na fase solúvel causada pelo congelamento o que afeta as ligações, b) à ruptura da estrutura celular pelo congelamento o que leva a liberar novos locais de ligação iônica e c) desesterificação das pectinas, como resultado da qual a capacidade de ligação à parede celular da POD pode ser alterada.

Terefe, Delon e Versteeg (2017) reportaram pela primeira vez algumas características específicas da POD de mirtilo, mostrando que é uma enzima termolábil, cuja completa inativação é conseguida a 80 °C. Também reportaram a presença de duas isoenzimas com diferentes graus de estabilidade em tratamentos térmicos e, moderadas pressões hidrostáticas 390 MPa podem aumentar a atividade da POD do mirtilo em 40 %.

A inativação/ativação da POD quando submetida a tecnologias emergentes; altas pressões hidrostáticas, ultrassom, pulsos elétricos, UV-C, plasma, depende dos fatores atuantes em cada uma destas tecnologias e o produto no qual é aplicado. Chourio et al. (2018) encontraram efeito antagonista entre a pressão (200-600 MPa) e a temperatura (40 °C), na água de coco. Entretanto, quando a temperatura foi aumentada até 90 °C a 600 MPa, obteve-se efeito sinérgico na inativação da POD. Para explicar o efeito antagônico sugerem que esses níveis de pressão só rearranjam a estrutura da POD que melhora a interação do substrato, já nas altas pressões conseguiram quebrar as interações hidrofóbicas e eletrostáticas da estrutura secundária e terciária da POD.

Surowsky et al. (2013) reportaram perda da estrutura secundária da POD, perdendo a α -hélice e incrementado as folhas- β , após o tratamento com plasma. Além disso, as substâncias reativas de nitrogênio produzidas podem agir como inibidores oxidando o triptofano, estas reações de oxidação combinadas com efeitos de resfriamento podem ajudar na inativação.

Oliveira et al. (2018) relatam que em açaí foi melhor o tratamento com ozônio do que com ultrassom na inativação da POD, em ambos os casos o mecanismo sugerido da inativação foi a oxidação da POD diretamente pelo ozônio, ou por radicais formados pela sonólise da água ou por forças de cisalhamento resultantes da formação ou colapso das bolhas cavitantes.

Tsikrika et al. (2018) ampliaram o estudo de inativação da POD com ultrassom a potências de entre 2,1 e 64 W e frequências na faixa de 20 até 1175 kHz, mostrando que em todos os casos se consegue inativar a POD com maior efetividade na potência de 48 W e frequências de 378 e 583 kHz. A inativação foi explicada pela perda do ferro do grupo heme facilitada pelos radicais hidroxila e formação de di-tirosina.

Pellicer e Gómez-López (2017) explicaram que os mecanismos relatados com a inativação da POD sob pulsos de luz (128 J cm^{-2}), foram, a perda da α -hélice, fraco desdobramento e ejeção do grupo prostético. Wang et al. (2017) agregam que os pulsos de luz podem quebrar as ligações de enxofre destruindo a estrutura quaternária e mudando a secundária em uma proporção diferente da α -hélice com as folhas- β .

Aguilar, Garvín e Ibarz (2018) reportaram ativação da POD por UV-C no início do tratamento logo depois tem uma queda não atingindo completa inativação. Como explicado por estes pesquisadores, a radiação UV-C pode dar lugar a formas intermediárias da POD que podem ter atividade enzimática maior que a forma nativa.

A respeito do efeito dos campos magnéticos tanto na PFO quanto na POD do mirtilo não foram encontrados trabalhos. Desta forma este trabalho, dá uma primeira visão do que acontece com estas enzimas quando é aplicado campo magnético pulsado junto com congelamento no mirtilo.

2.2 Congelamento

O congelamento está entre os métodos mais usados para a conservação de alimentos por tempo longo (BIGLIA et al., 2016), sobretudo para frutos e hortaliças que são perecíveis devido a seu elevado conteúdo de água.

Neste processo, a água contida no alimento muda de fase para se converter em gelo, o que reduz a atividade da água e consequentemente a atividade microbiana e enzimática, além da oxidação e respiração. Porém, o congelamento pode diminuir a qualidade do alimento (HAIYING; SHAOZHI; GUANGMING, 2007), pela formação e pelo crescimento dos cristais de gelo que danificam as estruturas celulares (ANZALDÚA-MORALES; BRUSEWITZ; ANDERSON, 1999).

O tamanho e a estrutura dos cristais de gelo dependem da velocidade de congelamento e da concentração de solutos, fatores que fazem a diferença na etapa de nucleação. O congelamento rápido, tende a formar pequenos cristais de gelo que causam menor dano à estrutura do produto comparado ao congelamento lento (CHEVALIER; BAIL; GHOU, 2000). Este fato foi evidenciado por Charoenrein e Owcharoen (2016) ao estudar a microestrutura de manga uma vez que as paredes celulares das amostras congeladas foram destruídas pela formação de gelo, levando ao encolhimento celular e ao colapso, que foi mais intenso quando o congelamento foi lento.

No caso do mirtilo, o congelamento lento forma uma pequena quantidade de cristais de gelo de tamanho maior, propiciando a quebra da estrutura celular, apresentando uma aparência encolhida quando é descongelado resultado da perda de água (ALFARO et al., 2018). Li, Zhu e Sun (2018) enumeram que os principais fatores causadores de dano celular dos alimentos após congelamento/descongelamento são a formação de cristais, a migração da água e as características inerentes do produto.

Na medida em que se formem maior número de núcleos os cristais de gelo serão de menor tamanho e mais uniformes. Considerando que nos frutos o principal componente é a água, é importante saber que o processo de congelamento da água apresenta três etapas: a) resfriamento do líquido, b) fase de transição e c) resfriamento sólido. Estas etapas incluem as seguintes mudanças (Figura 7) (OTERO et al., 2016; ZHAO et al., 2017) : (1) resfriamento a partir da temperatura inicial (T_0) até abaixo da

sua temperatura de congelamento (T_f) a uma taxa de resfriamento definida chegando a sua temperatura de nucleação (T_n); (2) nucleação primária que é a formação de um núcleo de gelo; (3) nucleação secundária que segue instantaneamente à nucleação primária e descreve o crescimento do núcleo em cristais de gelo até atingir a temperatura de congelamento; (4) conclusão da transição da fase líquida para sólida pelo crescimento adicional de cristais de gelo a partir da água que não conseguiu ser congelada nas etapas prévias, e (5) quando toda a água foi convertida em gelo, a temperatura decresce até chegar próxima à temperatura do meio de resfriamento (GEIDOBLE; WINTER, 2013).

Figura 7 - Fases do congelamento da água

Processos: 1-2 resfriamento da água líquida, 2-3 nucleação e crescimento de cristais de gelo, 3-4 mudança completa de fase de líquido para sólido, 4-5 resfriamento da fase sólida da água.

Fonte: Adaptado de (OTERO et al., 2016)

A diferença entre a temperatura de congelamento e a temperatura na qual uma solução ou material é reduzida abaixo do seu ponto de congelamento sem que a cristalização ocorra é chamada de sub-resfriamento, fenômeno que é devido a uma barreira de energia que deve ser superada antes do início da nucleação (JAMES; SEIGNEMARTIN; JAMES, 2009).

Neste estado tem-se muitas possibilidades para formar redes de ligações de hidrogênio, mas a nucleação ocorre uma vez que se tem um número suficiente de ligações de hidrogênio de vida relativamente longa, provocando a formação de um núcleo inicial bastante compacto, que em seguida, muda lentamente de forma e tamanho até atingir um estágio que permite uma rápida expansão, resultando na cristalização de todo o sistema (MATSUMOTO et al., 2002).

Como o movimento das moléculas da água e as ligações de hidrogênio dentro e entre as moléculas seguem um padrão aleatório, pode-se inferir então que a nucleação também depende dos arranjos aleatórios destas ligações. Quanto maior o grau de sub-resfriamento maior a probabilidade de arranjos nas ligações duradoras permitindo um número maior de núcleos (GEIDOBLE; WINTER, 2013).

Por isso, o grau de sub-resfriamento e o tempo decorrido para voltar à temperatura de congelamento são importantes para serem avaliados no processo de congelamento dos alimentos. Outro aspecto a considerar é a presença e o tipo de sólidos na água que influenciam na velocidade de crescimento dos cristais de gelo, sendo maior quando há presença de sólidos quando comparado à água pura (LINDENMEYER et al., 1957).

Em frutos pequenos, Abd-Elhady (2014) relatou que a degradação da textura e o desvanecimento da cor em morangos é devido ao congelamento, ocorrendo perda de nutrientes e peso quando estes são descongelados.

Reque et al. (2014) em mirtilo encontraram uma perda de 59 % do conteúdo total em antocianinas durante o armazenamento congelado a -18 °C, no entanto, a atividade antioxidante teve um comportamento relativamente estável, sugerindo que ocorrem processos de oxidação ou condensação entre as antocianinas e outros compostos fenólicos que geram novos compostos fenólicos que mantêm a atividade antioxidante.

A perda de antocianinas, principalmente a cianidina-3-glicosídeo, pode ocorrer pelo dano das células durante o congelamento o que libera a polifenoloxidase que atua sobre este substrato (DE ANCOS et al., 2000). Outra hipótese sustentada por Sablani et al. (2010) é que os tipos de antocianinas têm ligações diferentes dependendo da estrutura celular à qual estão unidas, sendo que umas prevalecem enquanto as outras são degradadas.

O mirtilo congelado via IQF e armazenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, teve a menor perda em antocianinas e cor polimérica, além de um leve incremento nas antocianinas após seis meses de estocagem, tal fato pode ser explicado pela perda de umidade e, a maior extração pela quebra das estruturas celulares (HAGER et al., 2008). Os resultados destes trabalhos sugerem que na medida que se possa controlar o número e o tamanho dos cristais de gelo, tem-se uma chance maior para a conservação dos compostos funcionais do mirtilo, pelo que procurar tecnologias que possam ajudar no processo de congelamento ajudaria a concretizar este fim, e é com esse foco que os campos magnéticos podem ser aplicados.

2.3 Campos magnéticos

É um fato que o campo magnético oriundo do geomagnetismo terrestre, da ordem de grandeza de 25 a 70 μT , atua em alguns seres vivos do planeta e este fato por si só já demonstra a importância de tal fenômeno para a ciência, no que diz respeito a sua ação em sistemas biológicos (ANAYA; GUZMÁN; ACEA, 2011).

Um campo magnético é uma região do espaço onde uma carga elétrica (q) que se movimenta a uma velocidade (v) sofre os efeitos de uma força (F) chamada de força magnética (eq. (1)) que é perpendicular e proporcional tanto à velocidade quanto ao campo (JOHNK, 1988).

A fonte do campo magnético é o movimento das cargas elétricas no interior da estrutura atômica dos ímãs permanentes, ou pelas cargas elétricas livres que percorrem um fio condutor (EDMINISTER; NAHVI-DEKHRODI, 2013). Quando duas cargas estão em movimento, as forças que aparecem entre elas são de coulomb (elétrica) e a magnética, sendo esta última mais fraca que a primeira. No entanto, as forças de duas correntes percorrendo bobinas geram força magnética que chega a ser maior que a elétrica (POPOVIC; POPOVIC, 1999).

$$\vec{F} = q\vec{v} \times \vec{B} \quad (1)$$

Em que:

F= Força magnética (N), também é denominada força de Lorentz.

q= carga (Coulomb)

$\vec{v}$ = Velocidade da carga (m.s⁻¹)

$\vec{B}$ = Densidade de fluxo magnético (W.m⁻² ou T)

Os campos magnéticos com permeabilidade magnética μ estão governados pelo segundo par de Equações de Maxwell que geram a eq. (2) (ULABY; MICHIELSEN; RAVAIOLI, 1994).

$$\vec{B} = \mu \vec{H} \quad (2)$$

Em que:

μ = Permeabilidade magnética (T.m.A⁻¹)

H= Intensidade de campo magnético (A.m⁻¹)

Quando se trata de uma bobina com núcleo, ou quando os campos são aplicados em materiais que podem sofrer magnetização, deve-se considerar a susceptibilidade magnética, como é mostrado na eq. (3).

$$\chi = \frac{|M|}{|H|} \quad (3)$$

Em que:

M= Magnetização (A.m⁻¹)

χ = Susceptibilidade magnética (adimensional)

A susceptibilidade magnética é uma medida da força exercida pelo campo magnético sobre a unidade de massa do corpo, é específica para cada material e depende do número de elétrons desemparelhados por unidade de massa (LIMA, 2017).

2.3.1 Geração

O fenômeno magnético pode ser observado e gerado de três formas: (1) os campos magnético estáticos (CME/SMF) que apresentam uma intensidade constante e são produzidos por ímãs permanentes ou pela passagem de uma corrente contínua numa bobina ou eletroímã, (2) os campos magnéticos oscilantes (CMO/OMF) cuja intensidade varia no tempo e de acordo com a frequência, estes são produzidos em eletroímãs de corrente alternada e, (3) os campos magnéticos pulsados (CMP/PMF)

que são uma variante dos CMO em que a corrente é retificada por um banco de capacitores e a descarga é por pulsos a uma determinada frequência e tipo de onda (KOVACS; VALENTINE; ALVAREZ, 1997; BARBOSA-CANOVAS et al., 2000).

2.3.2 Efeitos dos campos magnéticos nos alimentos

A pesquisa envolvendo a ação do campo magnético em alimentos é ainda escassa. A abordagem científica para elucidar estes efeitos apresenta três enfoques principais: (1) a qualidade do produto, (2) a influência no processo produtivo e, (3) a forma como o processo e a qualidade interagem depois da ação do campo magnético.

Assim no primeiro enfoque as questões científicas surgem das variáveis físico-químicas, enzimáticas, microbiológicas, nutricionais e sensoriais do produto (HARTE et al., 2001; FOJT et al., 2004; JANAS; BARABASZ, 2004; GAO; ZHANG; FAN, 2007; LIPIEC; NOVÁK et al., 2007; CELLINI et al., 2008; GAO et al., 2008; HAILE et al., 2008; ÇELIK et al., 2009; MA; HUANG; ZHU, 2010; HUANG; ZHU, 2011; GAO; ZHANG; FENG, 2011; MA; ZHANG et al., 2012; MESA et al., 2012; MIHOUB et al., 2012; AHMED et al., 2013; VOJISAVLJEVIC; PIROGOVA, 2013; ZAGUŁA; PUCHALSKI, 2013; JIA et al., 2015; FUENTES; ACEVEDO; GÉLVEZ, 2016; QIAN et al., 2016a; QIAN et al., 2016b; LINS et al., 2017; AHMED; WU et al., 2017; RĂCUCIU; OANCEA, 2018; SAKDATORN et al., 2018; ZHAO et al., 2018; LIN; WANG; CUI, 2019).

No segundo enfoque avaliam-se os aspectos do processo nos rendimentos, aceleração de reações, melhora na operabilidade, redução de custos (CANLI et al., 2011; JIN et al., 2015; ZHANG et al., 2015; DAI et al., 2016; JIN et al., 2016a; JIN et al., 2016b; ZHAO et al., 2016).

No terceiro tem-se procurado a melhor combinação de condições operacionais para a melhoria da qualidade do produto durante o seu processo (ANAYA et al., 2013; SHOKRIBOUSJEIN et al., 2015).

A combinação dos campos magnéticos com o processo de resfriamento ou congelamento de alimentos frescos ou processados, pertence ao terceiro enfoque, e está sendo estudado faz pouco tempo. Assim, James, Reitz e James (2015) reportaram a ação do campo magnético no processo de congelamento de bulbos de alho e, discutem que esta ação pode estar relacionada às características da água

como a capacidade calorífica, calor latente e condutividade térmica como também reportado em outros estudos (IWASAKA; UENO, 1998; IMBERT, 1999; ALEKSANDROV; BARANNIKOV; DOBRITSA, 2000; OWADA; KURITA, 2001; SATO; FUJITA, 2006; PANG; DENG, 2008; DALVI-ISFAHAN et al., 2017). Nesta mesma linha de pesquisa, a literatura mostra o uso de campos magnéticos no congelamento de proteínas de frutos do mar (OTERO et al., 2017) e os efeitos na formação de cristais de gelo no congelamento de solução de cloreto de sódio (MOK et al., 2015), em peitos de frango (MOK et al., 2017) e, em cubos de manga (PUZA et al., 2019).

Porém, em alguns estudos se manifesta a controvérsia da efetividade dos campos magnéticos já que os resultados encontrados em alimentos usando equipamentos comerciais da tecnologia CAS (do inglês *Cell alive System*), que usam o chamado congelamento eletromagnético e não conseguiram manter a estrutura celular quase intacta após o descongelamento, resultados que são pretendidos com o uso desta tecnologia (ERIKSON et al., 2016; OTERO et al., 2017; PURNELL; JAMES; JAMES, 2017; RODRÍGUEZ; JAMES; JAMES, 2017; FERNÁNDEZ-MARTÍN et al., 2018; PUZA et al., 2019).

No entanto, a tecnologia CAS foi recomendada para uso na criopreservação de células do ligamento periodontal, células tronco mesenquimais (KAKU et al., 2010; KAWATA et al., 2010; KOJIMA et al., 2013) que foram congeladas adicionando soluções crioprotetoras de sulfoxido de metila, solução que tem por função atingir um equilíbrio osmótico com as células para protegê-las (LEE et al., 2012).

Um resumo das aplicações dos campos magnéticos especificamente em alimentos é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições experimentais da aplicação dos campos magnéticos em alimentos

continua

Produto/Processo	Objetivo	Equipamento	Condições experimentais	Principais resultados	Referencia
Melão Cantaloupe cortado	Qualidade de melão cortado.	Bobinas Helmholtz, campo estático.	B: 2 mT t:0,5,10,15,20 e 25 min de exposição. T= 5°C	A 2 mT por 15 min, redução da taxa de respiração e perda de qualidade.	(JIA et al., 2015)
Rabanete	Atividade da peroxidasse	Gerador de pulsos a escala de laboratório.	B: 2,3,4 T Pulsos: 5-40	A máxima inativação foi a 4 T e 40 pulsos, perdendo 67,7% da atividade enzimática.	(MA; HUANG; ZHU, 2011)
Carne moída	Conservação	Bobina solenoide, campos pulsados	B: 10 mT f= 1 Hz, Onda: quadrada Tempo: 0, 2 h e 12 dias. T=4°C	Retarda a oxidação de oximioglobina a metamioglobina, a 2 h de exposição.	(LINS et al., 2017)
Caldo de cana	Conservação	Bobina solenoide, campos pulsados	B: 18 mT f= 40, 50 e 60 Hz, Onda: quadrada Tempo: 30, 120 e 210 min. T=4°C	Reduz microrganismos com 50 Hz e tempos maiores a 120 min., mas diminui a atividade antioxidante e compostos fenólicos	(UEKI, 2013)

Tabela 2 - Condições experimentais da aplicação dos campos magnéticos em alimentos continuação

Saccharomyces cerevisiae ATCC 7754	Produção de Glutathiona	de Bobina solenoide	B: 25 mT, 34,3 mT Tempo: 8,12 e 16h T=20°C	Efeito estimulante na produção de Glutathiona com 39% de incremento a 25 mT por 16h.	(SANTOS, 2008)
Clara de ovo	Atividade lisozima	da Imãs	B: 0,7mT e 1,34 mT Tempo: 2h T=20°C	A 1,34 mT e pH de 13,7 obteve-se um incremento de 212% na atividade da lisozima.	(LIMA, 2017)
Ultrafiltração de soluções proteicas	Melhorar o desempenho e a recuperação da permeabilidade	o Imãs	B: 0,7T Tempo: 2h	O campo magnético aumentou o fluxo da permeação e a recuperação da permeabilidade.	(ZIN, 2014)
Queijo	Rendimento e características sensoriais	e Imãs	B: 0,365T Tempo: 0-60 min	Incremento do rendimento e maior aceitabilidade sensorial.	(ALI; AL-HILPHY; AL-DARWASH, 2015)

Tabela 2 - Condições experimentais da aplicação dos campos magnéticos em alimentos conclusão

Maçã	Atividade da Polifenoloxidase	Solenóide	H: 0.87- 4.22 A/m. t:0.5- 6h	Inativação quando supera 1,67 A/m	(GAO et al., 2009)
Amido	Atividade da α -amilase	Solenóide	B: 12 mT f: 1-30Hz t: 30 min	Incrementa a atividade	(MIZUKI et al., 2010)
Frutas e vegetais	Atividade da Polifenoloxidase	Solenóide	B: 2.5- 4.5 T Pulses: 5-40	Inativação do 93,10%	(MA; HUANG; ZHU, 2010)
Leite	Listeria Monocytogenes	Ímãs	B: 2000 G	Diminuição do crescimento	(KHLIL et al., 2010)

Fonte: Autores citados na tabela.

Nos três enfoques descritos tem-se utilizado diferentes configurações do equipamento e as condições que foram levadas em conta mudam tanto a frequência quanto a densidade de fluxo do campo magnético, mas na maioria dos casos se utilizam-se campos de alta densidade de fluxo o que limita a praticidade do sistema quando comparado ao uso de campos de baixa densidade (MA; HUANG; ZHU, 2011). As configurações descritas são: bobina solenoide (MINGDAN et al., 2013; CHO et al., 2016), bobinas tipo Helmholtz (GARCÍA et al., 2005), quatro bobinas tipo Helmholtz e até com seis bobinas tipo tri axial (RESTREPO; FRANCO; PINEDO, 2014). São poucos os trabalhos que utilizam eletroímãs, ou bobinas com núcleos. Apenas Hodayuni et al.(2011) aplicou uma configuração de bobina com núcleo em forma de C, para a redução da viscosidade de óleo.

Por outro lado, deve-se considerar que a diferença dos tratamentos térmicos é um erro considerar que um tratamento usando campo magnético é mais inibitório quanto maior é a sua densidade de fluxo, frequência e, tempo de exposição. Este fenômeno sugere a existência de valores de densidade de fluxo magnético e frequência que devem ser encontrados em função do tipo de aplicação, arranjo experimental e do tipo de alimento que se deseja avaliar (ANAYA; GUZMÁN; ACEA, 2011). Este fato demonstra que várias questões científicas precisam ser elucidadas no que se refere à aplicação do campo magnético em alimentos e, portanto, sua aplicabilidade tecnológica depende ainda de estudos, modelos e da instrumentação eletrônica necessária para os arranjos experimentais úteis para estudar tais efeitos no congelamento dos alimentos.

Para corroborar alguns resultados, a literatura científica reporta algumas hipóteses sobre o efeito dos campos magnéticos no processo de congelamento da água e dos alimentos, assim no trabalho Iwasaka e Ueno (1998) foi sugerido que as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água são fortalecidas na presença do campo magnético estático na ordem de 14 T, dando uma configuração mais ordenada e estável, o que concorda com Chang; Weng (2006) que observaram um incremento de 0,34 % no número de ligações com campos magnéticos da ordem de 1 a 10 T, resultado este também observado num trabalho similar (HU; HOU; WANG, 2012).

Por sua vez, Sato e Fujita (2006) propuseram uma hipótese contrária supondo que o campo magnético oscilante faz as moléculas vibrarem com maior intensidade, enfraquecendo as pontes de hidrogênio entre as moléculas de água, impedindo o

congelamento, esta hipótese é reforçada por Wang et al. (2013) que relacionaram o enfraquecimento destas ligações devido à força de Lorentz que sofre ação dos campos magnéticos com intensidades superiores a 0,1 T.

Diante destas hipóteses aparentemente contraditórias, aparece a proposta de Toledo, Ramalho e Magriotis, (2008) que sugerem que sendo as ligações de hidrogênio capazes de possuir interações de longo e de curto alcance, os campos magnéticos numa dada densidade de fluxo, agem nas interações de longo alcance o que favorece o fenômeno de curto alcance.

Outros aspectos importantes são discutidos por Owada e Kurita (2001) que sugerem que os campos magnéticos podem ajudar na manutenção da água em um estado metaestável levando a um maior grau de sub-resfriamento. Então, se os campos magnéticos influenciam no sub-resfriamento pode-se inferir que tal efeito criará cristais com menor tamanho e maior uniformidade (HIRASAWA et al., 2001; OWADA; KURITA, 2001; DO et al., 2004; INO et al., 2005; NAKAGAWA et al., 2006; PETERSEN et al., 2006; OWADA, 2007; OWADA; SAITO, 2010) mais detalhadamente este efeito foi observado por Mihara et al. (2011) e por Niino et al. (2012) que apresentam resultados inclusive relacionando o efeito da frequência de ação do campo magnético no fenômeno de sub-resfriamento, especificamente, para frequências superiores a 2 KHz e intensidades de campo da ordem de 0,01 a 0,4 mT (WOO; MUJUMDAR, 2010; MIHARA et al., 2011; NIINO et al., 2012).

É assim, que esta pesquisa está sob o terceiro enfoque da aplicação dos campos magnéticos, visando combinar duas tecnologias, uma convencional (congelamento) com uma emergente (campos magnéticos pulsados), para aprimorar a técnica e avaliar a qualidade dos alimentos, especificamente o mirtilo após o descongelamento.

3 OBJETIVOS

Este projeto tem como objetivo principal testar a hipótese:

O campo magnético com densidade de fluxo magnético e frequência específicas pode agir no congelamento dos frutos de mirtilo alterando suas características físicas e químicas.

Para testar esta hipótese tem-se os seguintes objetivos específicos:

- Desenvolver em escala laboratorial um equipamento portátil gerador de campos magnéticos pulsados com variação da densidade de fluxo e frequências, para aprimorar o processo de congelamento dos alimentos.
- Desenvolver um sistema de instrumentação eletrônica (*Data Logger*) com sensores de campo magnético e temperatura para monitoramento em tempo real durante o processo de congelamento.
- Caracterizar o comportamento dos campos magnéticos no espaço de ensaio.
- Avaliar os parâmetros obtidos das curvas de congelamento do mirtilo sob aplicação dos campos magnéticos pulsados.
- Avaliar o efeito dos campos magnéticos pulsados nas características físicas e químicas do mirtilo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenvolvimento de um equipamento portátil gerador de campos magnéticos pulsados

Foi projetada e construída uma bobina solenoide (retangular) a que foi inserida em núcleo tipo E de alheação de ferro laminado (adaptado de um micro-ondas) e unida a outro núcleo tipo E com recortes do mesmo material do núcleo (parte I do núcleo), deixando um espaço de ensaio para o tratamento das amostras. O motivo do uso dos núcleos de ferro foi aumentar a densidade de fluxo magnético (Figura 8). O controle da densidade de fluxo magnético foi realizado por um regulador de tensão monofásico VARIAC (Minipa, Brasil) que tem a possibilidade de variar a tensão de 0 até 220 V (A máxima tensão usada foi de 54 V, limitado pelo efeito Joule).

Figura 8 - Esquema do equipamento para geração dos campos magnéticos pulsados

Fonte: Própria autoria

Para o controle da frequência foi desenvolvido um controlador usando um microcontrolador e componentes eletrônicos e, circuitos de retificação de corrente. Estes pelo uso de um transistor Mosfet descarrega pulsos de corrente dos capacitores que passa pela bobina a qual induz os campos magnéticos pulsados (RODRIGUEZ, 2017). Este controlador tem a capacidade de geração de pulsos quadrados na faixa

de frequências de 0,5 até 200 Hz. Nas Figuras 9 e 10, pode-se visualizar o esquema elétrico do controlador de frequências, assim como o diagrama PCB projetado no software Proteus-2008.

Figura 9 - Esquema elétrico para o controle de frequências do campo magnético

Fonte: Própria autoria

Figura 10 - Layout PCB do controlador de frequências do campo magnético

Fonte: Própria autoria

4.2 Desenvolvimento de um *Data Logger* para monitoramento do campo magnético e temperatura em tempo real.

Foi desenvolvido um *Data Logger* para o monitoramento em tempo real tanto do campo magnético quanto das temperaturas durante o congelamento. Na Figura 11, pode-se observar o diagrama de blocos do *hardware* do *Data Logger*, que consta de três sensores de Temperatura (TMP100) e um sensor Hall (SS495A) que são monitorados por uma placa Arduino ProMini. O Arduino coleta as temperaturas usando o protocolo I²C e, no caso dos campos magnéticos usando o conversor analógico digital; os dados coletados são enviados por sua vez através do protocolo RS232 até um modulo Bluetooth modelo HC05 que transmite até o *software* coletor.

Figura 11 - Diagrama de blocos do *hardware* do *Data Logger* para coleta de dados de temperatura e campos magnéticos.

Fonte: Própria autoria

Na Figura 12 pode-se visualizar o Layout PCB do *hardware* do *Data Logger*.

Figura 12 - Layout PCB do *Data Logger*

Fonte: Própria autoria

O *software* coletor de dados do *Data Logger* foi desenvolvido no ambiente Visual Studio 2013 utilizando a linguagem Visual Basic, na Figura 13 pode-se visualizar a interface do *software* a partir da qual se pode selecionar em ordem sequencial as seguintes ações: 1) criar um arquivo *.txt em que serão salvos os dados, 2) selecionar a porta de conexão para a comunicação com o *hardware* do *Data Logger*, e fazer a conexão, 3) escolher o tipo de coleta, isto é, se é coleta simultânea de temperaturas e campo magnético, ou somente este último. Esta seleção está diretamente relacionada com a escolha da frequência de amostragem, sendo a máxima de 140 Hz, 4) escolher o tempo de amostragem e 5) iniciar a coleta de dados.

Figura 13 - Interface do *software* do *Data Logger*

Fonte: Própria autoria

4.3 Caracterização do comportamento dos campos magnéticos no espaço de ensaio

Foi feito um mapeamento dos campos magnéticos no espaço de ensaio, para isso, foram codificados 120 pontos separados simetricamente (nas coordenadas x, y, z) (Figura 14), nos quais foi medida a densidade de fluxo magnético (B). O sensor Hall foi posicionado em cada ponto, e foram adquiridos os dados via Bluetooth a uma frequência de amostragem de 140 Hz, num intervalo de 10 segundos. Os dados foram coletados para as frequências de 30 e 60 Hz, frequências maiores não foram caracterizadas pela limitação da máxima frequência de amostragem do *Data Logger* que é de 140 Hz. Os dados coletados foram armazenados em um arquivo de dados com extensão *.txt, para posteriormente calcular a raiz média quadrática, ou valor rms, (do inglês, *root mean square*) e finalmente serem graficados usando MatLab 2016a.

Figura 14 - Codificação dos pontos para o mapeamento do campo magnético no espaço de ensaio

Fonte: Própria autoria

O arranjo dos equipamentos para a coleta de dados dos campos magnéticos, foi como se vê na Figura 15.

Figura 15 - Arranjo dos equipamentos para a coleta dos dados do campo magnético

Fonte: Própria autoria

4.4 Avaliação dos parâmetros obtidos das curvas de congelamento do mirtilo sob campos magnéticos pulsados

Foram utilizados mirtilos (*Vaccinium corymbosum*) da marca Bloom procedente do Peru, em estado fresco com aceitável recobrimento natural de cera, com diâmetro entre 10 e 18 mm e, com aproximadamente 75 % de coloração azul.

O congelamento foi realizado num congelador (Indrel CPS10D-Londrina, Paraná, Brasil) que atinge temperaturas de até $-35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, dentro do qual foi inserido o equipamento de campos magnéticos pulsados (Figura 16). Para cada ensaio o congelador foi ligado previamente para atingir a temperatura de equilíbrio como sugerido por Liu et al. (2017) e Puza et al. (2019), o que levou um período de aproximadamente duas horas.

Figura 16 – Montagem experimental para o congelamento do mirtilo assistido por campos magnéticos pulsados

Fonte: Própria autoria

Os mirtilos foram colocados dentro das cestas porta amostras que têm uma capacidade para 13 frutos (Figura 17) para cada tratamento, neste grupo em um dos mirtilos foi inserido um sensor de temperatura, e na base da cesta foi fixado o sensor hall. Para o controle só foi usado um mirtilo para o monitoramento da temperatura (neste mirtilo foi inserido o segundo sensor de temperatura) e, o terceiro sensor de temperatura ficou em contato com o meio de congelamento. Uma vez atingida a

temperatura de equilíbrio do congelador foram inseridas as amostras, e se registrou o comportamento da temperatura em função do tempo através da comunicação *Bluetooth* considerando uma frequência de amostragem de 1 Hz. Cada tratamento foi repetido três vezes.

Com os dados da temperatura, foram feitas as curvas de congelamento para cada ensaio. A partir destas curvas, foram extraídos os parâmetros: Temperatura de nucleação (T_n), grau de sub-resfriamento (ΔT_{sr}), tempo de nucleação (t_n), tempo de mudança de fase (t_{mf}) e temperatura final de congelamento (T_{fc}).

Figura 17 – Mirtilos arrumados na cesta porta amostras

Fonte: Própria autoria

4.5 Avaliação do efeito dos campos magnéticos pulsados nas características físicas e químicas do mirtilo

4.5.1 Propriedades físico-químicas do mirtilo

Umidade: A umidade do mirtilo foi determinada pelo método de secagem em estufa (AOAC, 2005). Um mirtilo foi pesado e colocado na estufa (MA033/1, Marconi, Piracicaba, Brasil) a 105 °C até atingir um peso constante (8 horas) de acordo com o sugerido por Nowak, Zielinska e Waszkielis (2019). O resultado foi a média da triplicata.

pH: A medição foi feita utilizando um pHmetro digital (MA-522, Marconi, Piracicaba, Brasil) sob o método (AOAC, 2005) com ligeiras modificações. O equipamento foi calibrado antes do uso com as soluções tampão 4 e 7, em seguida o eletrodo foi inserido dentro do mirtilo (foi feito um corte na coroa do fruto, e sem quebrar o resto da casca, a polpa foi exposta usando bisturi, isso assegurou o bom contato do fruto com o eletrodo) a leitura foi registrada, após a estabilização. As medições foram feitas em dois mirtilos em triplicata.

Sólidos solúveis totais (SST): Os sólidos solúveis totais presentes no mirtilo foram determinados com um refratômetro digital (Pocket PAL- α , Atago, Tóquio, Japão) sob o método (AOAC, 2005). Para a medição, foi utilizado a polpa obtida dos mirtilos usada para medir o pH. A polpa foi depositada dentro do prisma do refractômetro para realizar a leitura. O resultado foi expresso em °Brix, a determinação foi feita em triplicata.

Acidez titulável total (ATT): Se utilizou os mirtilos usados na determinação do pH e sólidos solúveis, os que foram pesados (individualmente) e transferidos a um béquer, em seguida se acrescentou água destilada até completar 10 mL, logo depois foi triturado no turrator (TE-102, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 10.000 rpm (nível 3) por 2 minutos. O homogeneizado foi filtrado a vácuo, e do filtrado se coletou uma alíquota de 1 mL para dissolvê-lo com 9 mL de água. Aos 10 mL foram agregadas três gotas de fenolftaleína e foi realizado a titulação com NaOH 0,1 N de acordo com o método (AOAC, 2005). A acidez titulável total do mirtilo expressa em ácido cítrico foi calculado usando a eq. (4):

$$\% \text{ Acidez } \left(\frac{m}{m} \right) = \frac{G * N * mequiv * FD}{V_t} * 100 \quad (4)$$

Em que:

G= Volume de hidróxido de sódio usado na titulação

N= Normalidade da solução de hidróxido de sódio

FD= Fator de diluição (envolve a massa do mirtilo)

V_t= Volume da alíquota

meq= miliequivalente do ácido cítrico 0,064

4.5.2 Textura

Usando três mirtilos foram avaliadas a força máxima de perfuração e módulo de Young segundo a metodologia proposta por Zapata et al. (2010) num ensaio mecânico de compressão. Foi usado um analisador de textura (TA.XT Plus, Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) com célula de carga de 50 N. A ponta de prova de 3 mm (P/3) de diâmetro foi inserida no mirtilo a uma velocidade de 1 mm s⁻¹ no lado

equatorial do mirtilo e a inserção foi continua até que a tensão de compressão atingisse 80 % da espessura inicial, de acordo com Giongo et al. (2013).

Para o teste, cada mirtilo foi colocado num suporte impresso-3D em Acrilonitrila butadieno estireno (ABS) (Figura 18), para manter o mirtilo na posição equatorial durante a perfuração. A força máxima de perfuração da casca (N) e o módulo de Young (N/mm) foram extraídas da curva força-tempo resultante usando o *software* Exponent v.4 (Stable Micro System, Ltd., Godalming, Reino Unido). As experiências foram replicadas três vezes para cada ensaio a temperatura ambiente.

Figura 18 - Suporte impresso 3D em ABS para manter o mirtilo em posição equatorial durante o ensaio de textura

Fonte: Própria autoria

4.5.3 Cor

A cor foi obtida por um colorímetro MiniScan plus (EZ 4500L, HunterLab Inc., USA), de acordo com o método de Hunter Lab detalhado por Zielinska e Michalska (2016). A medida foi realizada tanto para a superfície (casca) como para a polpa do mirtilo (neste caso foi realizado um corte da coroa da fruta) (Figura 19). A medida consistiu na obtenção das coordenadas L^* (luminosidade), a^* (medida do verde ao vermelho) e b^* (medida do azul ao amarelo) do sistema de cor CIE (Commision Internacional L'Eclairage) considerando um iluminante D65, ângulo de observação de 10° e abertura de célula de 25 mm.

Figura 19 – Posição para medição da cor na casca (a) e na polpa (b) do mirtilo

Fonte: Própria autoria

4.5.4 Antocianinas totais

Para a quantificação das antocianinas totais (AT), polifenóis totais (PT) e atividade antioxidante (AA), foi feita uma extração segundo a proposta de Albarici, De Freitas e Cruz (2009) e Jin, Yu e Gurtler (2017). Com as seguintes modificações, dois mirtilos foram pesados num tubo falcon de 50 mL o volume foi completado a 20 mL com etanol absoluto. A mistura foi moída e homogeneizada num turrater a 10.000 rpm e deixada para a extração na escuridão por 60 min. Depois da extração realizou-se uma filtragem a vácuo (400 mmHg) com papel filtro quantitativo (MALLIK; HAMILTON, 2017) obtendo o extrato bruto. O que foi realizado em triplicata.

As antocianinas totais (AT) do mirtilo foi determinado pelo método de pH diferencial com as modificações de Ketata, Desjardins e Ratti (2013), Chung, Yu e Lee (2016) e Jin, Yu e Gurtler (2017). Assim foi diluído o extrato bruto com fator de diluição (FD) entre 5 e 10 completando 5 mL com água destilada, o que foi chamado de extrato diluído. Após, se agregou 0,6 mL do extrato diluído em tubos de ensaio de 10 mL e completou-se com 2,4 mL com tampão cloreto de potássio (pH 1,0), em duplicata, os tubos foram homogeneizados em vórtex e armazenados por 30 min na ausência de luz; o mesmo procedimento foi realizado com o tampão acetato de sódio (pH 4,5). Após esse tempo foram lidas as absorbâncias a 520 nm (máxima para cianidina 3-glicosídeo) e 700 nm respectivamente em espectrofotômetro UV-Vis (Metash UV 5100, China) como sugerido por Jin; Yu; Gurtler (2017). Com os dados das leituras, foi calculado o teor de antocianinas totais expressos em miligramas equivalentes de

cianidina-3-glicosídeo/ grama de mirtilo, usando a eq. (5) (KETATA; DESJARDINS; RATTI, 2013).

$$\text{Antocianinas totais} \left(\frac{\text{mg C3G}}{\text{g}} \right) = \frac{A * MW * FD * V_{ef} * 1000}{\epsilon * l * Mm} \quad (5)$$

Em que:

$$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH1} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH4,5}$$

MW= Peso molecular (449,2 g/mol) para cianidin-3-glicosídeo (C3G).

FD= Fator de diluição

l= espessura da cubeta do espectrofotômetro (cm)

ϵ = Coeficiente de extinção molar (26900 L/mol.cm), para (C3G)

V_{ef}= Volume do extrato filtrado

Mm= Massa do mirtilo fresco (g)

4.5.5 Polifenóis totais

O conteúdo de polifenóis totais (PT) foi determinado pelo método de Folin e Ciocalteu de acordo com as modificações de Albarici, De Freitas e Cruz (2009); Jin, Yu e Gurtler (2017). Do extrato bruto (*item 4.5.4*) se fez uma diluição em balão volumétrico de 5 mL, no qual foi adicionado 1 mL do extrato e o volume completado com água destilada (com FD entre 1 e 10). Em seguida, 0,3 mL do extrato diluído foram adicionados em duplicata em tubos de ensaio, logo depois foi adicionado 1,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (diluído em água FD=10) e foi mantido por 8 minutos a temperatura ambiente. Após foram adicionados 1,2 mL de solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 75 g/L e os tubos foram homogeneizados em vórtex e em seguida colocados em banho maria (NewLab NL-2401-C, Piracicaba, Brasil) a 50°C durante 15 min para a reação, então foram imediatamente resfriados até temperatura ambiente em banho maria a 4°C (NewLab NL-2401-C, Piracicaba, Brasil). Em seguida foi lida a absorbância a 765 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Metash UV 5100, China) e o conteúdo de polifenóis totais foi calculado pela curva padrão do ácido gálico previamente elaborada. Os resultados obtidos foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE) / grama de mirtilo, calculados usando a eq. (6) (KETATA; DESJARDINS; RATTI, 2013)

$$\text{Polifenóis totais} \left(\frac{\text{mg AGE}}{\text{g}} \right) = \frac{(A_{765 \text{ nm}} - b) * V_{ef} * FD}{a * M_m} \quad (6)$$

Em que:

$A_{765 \text{ nm}}$: Absorbância do extrato de mirtilo a 765 nm

b: intercepto da curva padrão de ácido gálico

a: inclinação da curva padrão de ácido gálico

V_{ef} : Volume do extrato de mirtilo (L)

FD: Fator de diluição

M_m : Massa do mirtilo fresco (g)

4.5.6 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi quantificada pelo método do radical ABTS^{•+} desenvolvido por Re et al. (1999), com as modificações propostas por Pannala et al. (2001); Prior, Wu e Schaich (2005) e Moura et al. (2007). Assim foi diluído o extrato bruto (*item 4.5.4*) com FD entre 1 e 10 completando 5 mL com etanol absoluto, o que foi chamado de extrato diluído.

Com antecedência foi preparada a solução de estoque do ABTS com água destilada à concentração de 7 mM. O radical ABTS^{•+} foi obtido pela reação de 10 mL da solução de estoque ATBS com 10 mL da solução de persulfato de potássio 2,45 mM e completado a 25 mL com água destilada, a mistura foi mantida em agitação magnética na escuridão por 16 horas. Após esse tempo, o radical foi diluído com etanol até obter uma absorbância de $0,7 \pm 0,05$ a 734 nm.

A curva padrão de trolox foi preparada a partir da solução estoque de Trolox 500 μM , em concentrações de 0 até 16,7 μM (7 tubos). Em cada tubo em ordem progressiva foi adicionado etanol (0-100 μL), solução de trolox 500 μM (0-100 μL) e finalmente 2,9 mL do radical ABTS^{•+}, cada tubo foi agitado em vórtex e mantido na escuridão por 6 min para completar a reação. A seguir, foi feita a leitura da absorbância a 734 nm, previamente foi lida a absorbância do tubo controle (0 μM) ao tempo zero. Com as absorbâncias calculou-se a porcentagem de inibição, para cada concentração segundo a eq. (7):

$$Inibição\ ABTS^{\bullet+}(\%) = \left[1 - \left(\frac{A_{6min}}{A_{c_{0min}}} \right) \right] \quad (7)$$

Em que:

A_{6min} = Absorbância de cada tubo depois de 6 min de reação

$A_{c_{0min}}$ = Absorbância do controle ao tempo 0

Com as concentrações de trolox ($\mu\text{g/mL}$) e as respectivas porcentagens de inibição foi graficada a curva padrão de trolox.

Com os extratos diluídos do mirtilo o preparo foi similar à curva padrão de trolox com a diferença de que em lugar do trolox foram adicionados os extratos diluídos. Após a reação foram lidas as absorbâncias a 734 nm e calculada a inibição com a eq. (7). A atividade antioxidante foi calculada substituindo os valores obtidos nos extratos diluídos de mirtilo, na curva padrão de trolox, como sugerido por Moura et al. (2007), e expressos como mg de trolox equivalente (TE)/g de mirtilo.

4.5.7 Impedância bioelétrica

Para determinar a bioimpedância foi usado um analisador de impedância (HP4192A, Hewlett-Packard, Japão) a 0,035 V numa faixa de frequência de 5 Hz à 13 MHz de acordo com o método proposto por Ando, Mizutani e Wakatsuki (2014); Imaizumi et al. (2015). Foram usados eletrodos de agulha de aço inoxidável montados num suporte 3D impresso em ABS, os eletrodos foram inseridos no ponto polar inferior do mirtilo (Figura 20), e os dados elétricos obtidos foram a resistência (Z_r), reatância (Z_i) e a frequência (f).

Os dados elétricos permitiram ajustar os modelos de circuitos elétricos equivalentes para extrair informações da estrutura do mirtilo. Para isso foram estruturados algoritmos de ajuste num GUIDE em MatLab (Figura 21). O modelo que melhor ajustou os dados foi o de Hayden modificado (ANDO; HAGIWARA; NABETANI, 2017) mostrado na eq. (8).

$$Z = \frac{R_e[1 + \omega^p T \{(2R_i + R_e) \cdot \cos\left(\frac{\pi}{2}p\right) + \omega^p T R_i(R_i + R_e)\}]}{\{\omega^p T (R_i + R_e)\}^2 + 2\omega^p T (R_i + R_e) \cdot \cos\left(\frac{\pi}{2}p\right) + 1} - j \frac{\omega^p T R_e^2 \cdot \sin\left(\frac{\pi}{2}p\right)}{\{\omega^p T (R_i + R_e)\}^2 + 2\omega^p T (R_i + R_e) \cdot \cos\left(\frac{\pi}{2}p\right) + 1} \quad (8)$$

Para extrair os valores da capacitância da membrana foi usada a eq. (9) desenvolvida por Hsu e Mansfeld (2001) e as eq. (10) e eq. (11) aplicadas por Ando, Mizutani e Wakatsuki (2014).

$$C = T(\omega_m)^{p-1} \quad (9)$$

$$\omega_m = \frac{1}{(T(R_e + R_i))^{\frac{1-p}{p}}} \quad (10)$$

$$C_m = T^{\frac{1}{p}}(R_e + R_i)^{\frac{1-p}{p}} \quad (11)$$

Em que: R_e es a Resistencia extracelular, R_i es a Resistencia intracelular, ω é a frequência angular, T é o coeficiente do elemento de fase constante (do inglês *constant phase element*, CPE) , p é o expoente (0-1) do CPE, C é a capacitância aparente, ω_m é a frequência de relaxação angular e C_m é a capacitância da membrana celular.

Figura 20 – Suporte de eletrodos de agulha para a medição da impedância bioelétrica do mirtilo

Fonte: Própria autoria

Figura 21 – Interface que exibe o algoritmo implementado no GUIDE do MatLab para ajuste dos dados de impedância a circuitos elétricos equivalentes

Fonte: Própria autoria

Os parâmetros do modelo de Hayden modificado foram estimados com ajuste ponderado de mínimos quadrados não lineares complexos (do inglês *complex nonlinear least squares* -CNLS) reportados em literatura diversa (BOUKAMP, 1986; MANOHARAN; BIRLASEKARAN; SURYANARAYANA, 1986; ZHANG; WILLISON, 1991; MACDONALD, 1992). Para isso, só foram usados os dados que formaram o semicírculo depressivo, selecionando os dois pontos com o menu InterestRange do algoritmo.

A função a minimizar é apresentada na eq. (12) e para avaliar a qualidade de ajuste do modelo foram estimados os coeficientes de determinação eq. (13) e eq. (14) tanto para a parte real, resistência (Z_r), quanto para a parte imaginária, reatância (Z_i) respectivamente (ANDO; MIZUTANI; WAKATSUKI, 2014)

$$f_{val} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \left\{ \left(\frac{Z_{rj} - \hat{Z}_{rj}}{Z_{rj}} \right)^2 + \left(\frac{Z_{ij} - \hat{Z}_{ij}}{Z_{ij}} \right)^2 \right\}} \quad (12)$$

$$R_{Z_r}^2 = 1 - \frac{\sum_{j=1}^n (z_{rj} - \hat{z}_{rj})^2}{\sum_{j=1}^n (z_{rj} - \bar{z}_{rj})^2} \quad (13)$$

$$R_{Z_i}^2 = 1 - \frac{\sum_{j=1}^n (z_{ij} - \hat{z}_{ij})^2}{\sum_{j=1}^n (z_{ij} - \bar{z}_{ij})^2} \quad (14)$$

Em que: n é o número de dados, $\hat{z}_r$ e $\hat{z}_i$ são os valores estimados de Z_r e Z_i com o modelo de Hayden modificado, $\bar{z}_r$ e $\bar{z}_i$ são os valores médios.

4.5.8 Ressonância magnética nuclear

Cortes de mirtilo de aproximadamente 10x3,5x3,5 mm tanto do fruto fresco quanto dos frutos após cada experimento, foram realizados usando um bisturi. Estes cortes foram inseridos em tubos de Duran (Figura 22), para depois serem submetidos a ressonância magnética nuclear (RMN) de acordo com a metodologia sugerida por Mattos, Souto e Tambelli (2015).

Figura 22 – Amostras de mirtilo acondicionadas para avaliação por ressonância magnética nuclear

Fonte: Própria autoria

A RMN do ^1H , foi realizada em um espectrômetro pulsado de RMN (RMN KEA-2400, Magritek, Nova Zelândia) operando na frequência de 20 MHz em temperatura ambiente. O tempo de relaxação spin-spin (T_2) foi obtido numa sequência de pulso Carr – Purcell – Meiboom – Gill (CPMG) que consiste de sequências $90^\circ - (\tau - 180^\circ -$

τ -eco)_n em que n é o número de vezes que o ciclo é repetido (ARUNYANART et al., 2015). Cada medida foi composta de 8000 números de ecos (NE) e 345 ms de tempo de eco (TE), com um tempo de espera de 4500 ms, e 16 varreduras, proposta similar à de Cheng; Zhang; Adhikari (2014). A distribuição contínua para o T₂ das amostras foram obtidas através da aplicação do algoritmo NNLS (do inglês *Non Negative Least square*) sobre o decaimento da curva de relaxação usando o *software* PROSPA.

4.5.9 Atividade da polifenoloxidase

Para o preparo do extrato enzimático tanto da polifenoloxidase quanto da peroxidase foi pesado 1 mirtilo num tubo falcon de 50 mL e completado até 20 mL com tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7) a 4 °C (LAMIKANRA; WATSON, 2001; ALBARICI; DE FREITAS; CRUZ, 2009; BENLLOCH-TINOCO et al., 2013; GE et al., 2019). A mistura foi triturada com pilão, logo depois moída e homogeneizada no turratéc (TE-102, Tecnal, Piracicaba, Brasil) a 10.000 rpm por 2 min em banho de gelo a 4 °C. O homogeneizado foi filtrado a vácuo usando papel filtro quantitativo, mantendo o filtrado em banho de gelo a aproximadamente 4 °C o que foi chamado de extrato enzimático.

A atividade da polifenoloxidase foi ensaiada usando uma alíquota de 0,2 mL de extrato enzimático (puro ou diluído, para manter os valores da absorbância menores do que 1) e 2,8 mL de uma solução de 0,07 M de catecol preparada com a solução tampão fosfato de potássio (pH 7). A mistura foi agitada em vórtex e imediatamente colocada na célula do espectrofotômetro UV-Vis (Metash UV 5100, China) para que a reação acontecesse e fosse registrado o incremento da absorbância a 420 nm e 25 °C durante 5 min, com coleta a cada 5 s no *software* UV-Basic (TEREFE et al., 2015). A atividade foi calculada a partir da inclinação entre a absorbância e o tempo como mostra a eq. (15), considerando que uma unidade de atividade da polifenoloxidase é definida como a quantidade de enzima que causa um incremento de uma unidade de absorbância por minuto (Abs min⁻¹) e, com a eq. (16) foi calculada a porcentagem de inativação (BENLLOCH-TINOCO et al., 2013).

$$A_{pfo} (U/g) = \text{Inclinação} * \left(\frac{V_{\text{solução de medida}}}{V_{\text{aliquota extrato diluido}}} \right) * \left(\frac{V_{\text{extrato diluido}}}{V_{\text{aliquota extrato bruto}}} \right) * \left(\frac{V_{\text{extrato bruto}}}{Mm} \right) \quad (15)$$

$$I = \frac{A_F - A_T}{A_F} \times 100 \quad (16)$$

Em que:

I = Porcentagem de inativação

A_F = Atividade enzimática do mirtilo fresco

A_T = Atividade enzimática do mirtilo controle e tratado com campos magnéticos pulsados

4.5.10 Atividade da peroxidase

A atividade da peroxidase foi determinada pelo método de oxidação do guaiacol na presença do peróxido de hidrogênio (ALBARICI; DE FREITAS; CRUZ, 2009; TEREFE; DELON; VERSTEEG, 2017) com as seguintes modificações; foram misturadas na ordem progressiva 0,2 mL de extrato enzimático (*item 4.5.9*) puro ou diluído (para manter a absorbância menor do que 1), 0,3 mL de peróxido de hidrogênio a 1,5 % (v/v) e finalmente 2,5 mL de solução de guaiacol 0,04 M (preparado com tampão fosfato de potássio pH=7). A mistura foi agitada em vórtex e adicionada na célula do espectrofotômetro UV-Vis (Metash UV 5100, China) para acompanhar a reação, registrando o incremento da absorbância a 485 nm e 25°C durante 5 min, com a coleta a cada 5 s no *software* UV-Basic, tempo que foi adaptado segundo diversos autores (LAMIKANRA; WATSON, 2001; GARCIA-PALAZON et al., 2004; MA et al., 2015; TEREFE; DELON; VERSTEEG, 2017). A atividade foi calculada da mesma forma utilizada para a polifenoloxidase de acordo com a eq. (16) e a porcentagem de inativação de acordo com a eq. (17), só trocando o nome da enzima.

4.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada considerando a combinação das densidades de fluxo magnético (36,8 e 44,7 mT) e frequências (30, 60, 90 e 120 Hz) como tratamentos (congelamento assistido por campos magnéticos pulsados), assim foi possível comparar tanto com o tratamento controle (congelamento convencional) quanto com o produto fresco, com n=39 (triplicata com 13 mirtilos). A análise estatística aos dez tratamentos resultantes consistiu-se da análise de variância one-way e teste de Tukey, com nível de significância de 0,05. O que foi realizado utilizando o Software OriginLab 2018.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Desenho do gerador de campos magnéticos pulsados

Na Figura 23a, pode-se observar o desenho do eletroímã projetado no *software* Autocad2018. Na Figura 23b, se apresenta o desenho do suporte para os núcleos (cor vermelho) e a cesta porta amostras (cor preto), os que foram impressos em 3D usando ABS, estas peças permitiram conter e isolar o eletroímã, bem como conter os frutos respectivamente. Já na Figura 23c é apresentado o eletroímã real. O tamanho do equipamento foi limitado pelo tamanho do núcleo, com base nas dimensões deste núcleo é que foi montada a bobina retangular, composta de 1058 espiras com fio de cobre de diâmetro 0,6438 mm (AWG 22).

Figura 23 - a) Desenho do Eletroímã, b) Desenho do suporte e cesto porta amostras impresso em ABS, c) Gerador de campo magnético pulsado

Fonte: Própria autoria

Tanto o equipamento gerador do campo magnético pulsado quanto o suporte de controle foram inseridos dentro do congelador a cada experimento (Figura 24), para realizar o congelamento do mirtilo. As condições elétricas fixadas no regulador de tensão contínua foram: a) 20 % VARIAC, saída de tensão 34 V, consumo de corrente 1,44 A, condição que permitiu obter 36,8 mT de densidade de fluxo magnético, e b) 30 % VARIAC, saída de voltagem 54 V, consumo de corrente 2,05 A, condição que permitiu obter 44,7 mT de densidade de fluxo magnético.

Figura 24 - Gerador de campos magnéticos pulsados e controle inseridos no congelador

Fonte: Própria autoria

Na Figura 25 visualiza-se a estrutura externa do controlador de frequência. Este controlador possui quatro botões, o primeiro é para incrementar a frequência, o segundo é para diminuir, o terceiro para que a frequência passe à frequência mínima de 0,5 Hz, e o quarto permite a alimentação ao gerador de campo magnético na

frequência selecionada. Este controlador recebe alimentação de corrente direta do VARIAC.

Figura 25 - Estrutura externa do controlador de campos magnéticos pulsados

Fonte: Própria autoria

5.2 Desenvolvimento de um *Data Logger*

O *Data Logger* constitui-se de *hardware* como de *software* para o envio de dados de temperatura e dos campos magnéticos. Na Figura 26 é mostrada a estrutura externa do *hardware*. Para seu funcionamento só precisa ligar o botão, e logo a seguir configurar no software coletor como explicado no *item 4.2* de material e métodos.

Figura 26 - Estrutura externa do *hardware* do *Data Logger*

Fonte: Própria autoria

5.3 Comportamento dos campos magnéticos no espaço de ensaio

Nas Figuras 27 até 30, são apresentados os gráficos do comportamento dos campos magnéticos com alimentação de 34 e 54 V às frequências de 30 e 60 Hz respectivamente. De modo geral pode-se conferir que a distribuição dos campos magnéticos no espaço de ensaio não é uniforme sendo maior na direção ao núcleo, e menor nas bordas da bobina, o que cria um gradiente espacial do campo magnético. Este comportamento está de acordo com o reportado por Rodriguez (2017) que usou um núcleo tipo C, para induzir os campos magnéticos através de três bobinas dispostas em série (características não descritas), tentando uniformizar o campo no *gap* formado no núcleo, mas também encontraram queda da densidade de fluxo magnético nas bordas, inclusive com uma dispersão embora menor na zona que abrange o núcleo.

Em testes prévios foi encontrado que nas frequências maiores que 10 Hz ocorreu o fenômeno de magnetização do núcleo, que segundo Chen et al. (2018) é resultado tanto do campo magnético da bobina, quanto dos pólos magnéticos formados no mesmo núcleo (campos de desmagnetização). O comportamento da magnetização depende da forma e do tipo de material e, estão relacionados com a susceptibilidade e anisotropia magnética. No caso do material puramente isotrópico, o campo magnético (H) é paralelo à magnetização (M) e à indução magnética (B), mas quando não cumprem esta regra o campo magnético (H) não necessariamente permanece paralelo a M e a B , existindo uma defasagem espacial devido à magnetização (KOLTERMANN, 2001). Este fenômeno poderia explicar o comportamento dos campos magnéticos em cada frequência, além da diferença na simetria de encaixe entre o núcleo e o solenoide.

É comum encontrar relatos da ação dos campos magnéticos só como efeito no produto, sendo poucos os trabalhos que caracterizam o campo magnético dentro dos espaços de ensaio, entretanto este campo pode ser uniforme/não uniforme, homogêneo/não homogêneo, e estas características podem estar influenciar o resultado obtido no produto mais do que um valor médio do campo magnético. Zhilong et al. (2011) sugerem que no caso de bobinas, é importante que o enrolamento das espiras seja homogêneo evitando montantes em demasia, pois isso pode aumentar os valores de indução debilitando a densidade de fluxo magnético. Isto explicaria, o comportamento dos campos no espaço de ensaio, além dos fatores, como a perda de

contato entre os núcleos inferior e superior, devido às irregularidades na superfície das lâminas que unem estes núcleos. Além disso, estes pesquisadores reportaram que o aumento tanto da densidade de fluxo magnético quanto as divergências deste fator aumentam com o aumento da tensão de descarga.

Figura 27 - a) Comportamento do valor rms da densidade de fluxo magnético B (mT) no espaço de trabalho a 34 V e 30 Hz; b) Comportamento do campo magnético pulsado nas coordenadas 20, 60 e 100 a 30 Hz; c) Diminuição na escala do tempo em gráfico b

Fonte: Própria autoria

Figura 28 - a) Comportamento do valor rms da densidade de fluxo magnético B (mT) no espaço de trabalho a 34 V e 60 Hz; b) Comportamento do campo magnético pulsado nas coordenadas 20, 60 e 100 a 60 Hz; c) Diminuição na escala do tempo em gráfico b.

Fonte: Própria autoria

Como era de se esperar, o aumento da frequência de 30 para 60 Hz exibe uma queda na amplitude do pulso, também pode-se apreciar que o incremento faz com que o comportamento do pulso quadrado (até frequências de 10 Hz) mude, chegando a ter um formato parecido a uma senoide deslocada no eixo positivo. Além disso, a maior frequência o fenômeno de magnetização foi maior. Do comportamento a 30 e

60 Hz, pode-se inferir que nas frequências de 90 e 120 Hz (frequências que não puderam ser caracterizados pela limitada frequência de amostragem 140 Hz) o comportamento foi mais acentuado.

Figura 29 - a) Comportamento do valor rms da densidade de fluxo magnético B (mT) no espaço de trabalho a 54 V e 30 Hz; b) Comportamento do campo magnético pulsado nas coordenadas 20, 60 e 100 a 30 Hz; c) Diminuição na escala do tempo em gráfico b.

Fonte: Própria autoria

Figura 30 - a) Comportamento do valor rms da densidade de fluxo magnético B (mT) no espaço de trabalho a 54 V e 60 Hz; b) Comportamento do campo magnético pulsado nas coordenadas 20, 60 e 100 a 60 Hz; c) Diminuição na escala do tempo em gráfico b.

Fonte: Própria autoria

5.4 Curvas de congelamento do mirtilo com e sem (controle) campos magnéticos pulsados

As curvas de congelamento do mirtilo com e sem (controle) campos magnéticos pulsados são exibidas nas Figuras 31 e 32. O congelamento de mirtilo sob campos magnéticos pulsados apresentam as seguintes diferenças em relação ao congelamento convencional (controle): a) A temperatura diminui mais devagar até atingir as temperaturas de nucleação, que são sempre maiores b) o grau de sub-

resfriamento é maior em todos os casos (apesar de não alcançar diferença significativa, $p > 0,05$), c) o tempo para completar a mudança de fase é sempre maior, e muito maior no caso da densidade de fluxo magnético de 44,7 mT. Estas diferenças, evidenciam que os campos magnéticos influenciam diretamente na estrutura molecular da água. Por outro lado, essas diferenças também podem ser devidas ao efeito Joule que resulta no aquecimento da bobina, sendo este proporcional à densidade de fluxo magnético, já que este depende da corrente que percorre a bobina. No entanto, para uma mesma densidade de fluxo magnético em que o efeito Joule é quase constante, o efeito apresentado com a frequência é devido justamente ao campo magnético.

Figura 31 - Curvas de congelamento do mirtilo. Controle e 36,8 mT nas frequências de 30 Hz, 60 Hz, 90 Hz e 120 Hz.

Fonte: Própria autoria

Figura 32 - Curvas de congelamento do mirtilo. Controle e a 44,7 mT nas frequências de 30 Hz, 60 Hz, 90 Hz e 120 Hz

Fonte: Própria autoria

Na Tabela 3, pode-se visualizar os parâmetros extraídos das curvas de congelamento do mirtilo. A análise detalhada destes parâmetros, permitiram atingir a hipótese mais plausível dos efeitos dos campos magnéticos pulsados no congelamento de mirtilo. São poucos os trabalhos realizados usando o campo magnético para assistir no processo de congelamento de alimentos, na maioria dos casos foi aplicado em água, ou em soluções simples, com o intuito de entender o fenômeno para então inferir destes resultados o que acontece com alimentos reais, apesar de que a complexidade destes últimos não pode ser eliminada das possíveis inferências (ZHAN; ZHU; SUN, 2019). Então nessa linha de pensamento, é que as análises das curvas de congelamento do mirtilo foram feitas, já que não tem padrão de comparação.

Tabela 2 - Parâmetros extraídos das curvas do congelamento do mirtilo com e sem (controle) campos magnéticos pulsados

Tratamento mT/Hz	T _n (°C)	ΔT _{sr} (°C)	T _{fc} (°C)	t _n (s)	t _{mf} (s)
36,8/30	-9,7±1,3 ^a	2,6±0,9 ^a	-20,5±1,0 ^a	671,3±33,1 ^a	1281,0±200,7 ^{a,d}
36,8/60	-9,7±0,6 ^a	3,2±0,6 ^a	-19,1±0,9 ^a	890,7±106,3 ^a	1541,0±15,7 ^a
36,8/90	-9,2±0,2 ^{a,b}	2,5±0,5 ^a	-18,3±0,6 ^a	843,0±16,1 ^a	1716,3±7,5 ^a
36,8/120	-9,8±0,1 ^a	2,7±0,5 ^a	-18,5±1,0 ^a	782,7±117,5 ^a	1466,7±66,9 ^a
44,7/30	-8,1±0,6 ^b	3,0±0,7 ^a	-12,1±0,6 ^b	2683,7±673,6 ^a	2487,3±186,1 ^{b,c}
44,7/60	-7,7±0,3 ^b	2,9±0,1 ^a	-11,4±0,3 ^b	2594,0±768,8 ^a	2654,3±265,0 ^{b,c}
44,7/90	-8,6±0,2 ^{a,b}	3,5±0,3 ^a	-10,8±1,1 ^{b,c}	5084,0±1658,6 ^b	2367,0±299,9 ^c
44,7/120	-7,8±0,4 ^b	3,2±0,1 ^a	-8,9±0,4 ^c	4982,0±1849,0 ^b	2901,7±28,4 ^b
Controle	-11,5±0,5 ^c	2,4±0,2 ^a	-28,1±1,0 ^d	582±92,5 ^a	984,0±13,2 ^d

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05). T_n (Temperatura de nucleação), ΔT_{sr} (Grau de super-resfriamento), T_{fc} (temperatura final do congelamento), t_n (tempo de nucleação), t_{mf} (tempo de mudança de fase)

Fonte: Própria autoria

A temperatura de nucleação para o mirtilo controle foi a menor quando comparada às amostras congeladas sob campo magnético, e nestas quanto maior a densidade de fluxo magnético maior é a temperatura de nucleação. Percebe-se também que o tempo necessário para atingir a nucleação foi menor no tratamento controle, com leve incremento quando a densidade de fluxo magnético passou para 36,8 mT e muito maior quando a densidade de fluxo magnético foi de 44,7 mT nas frequências de 90 e 120 Hz, mostrando assim três grupos com diferenças significativas (p < 0,05) nestes dois parâmetros.

Zhao et al. (2017) avaliaram a temperatura de nucleação de três substâncias: água deionizada, solução de cloreto de sódio a 0,9 % e solução de etilenoglicol a 5 % no congelamento a -16 °C sob ação de campos magnéticos estáticos de até 50 mT. Na água não encontraram diferenças significativas, apesar da elevada dispersão (não linearidade, com relação à densidade de fluxo magnético). No entanto, as diferenças se apresentaram entre a solução de cloreto de sódio (relação inversa com a densidade de fluxo magnético) e a de etilenoglicol (relação direta com a densidade de fluxo magnético) sendo menor a temperatura de nucleação no cloreto de sódio. A queda na temperatura de nucleação na solução de cloreto de sódio foi associada à maior

mobilidade dos íons Na^+ e Cl^- aumentando o coeficiente de difusão, já que a difusão da água dificulta a formação dos núcleos e consequentemente ajuda a diminuir a temperatura. No caso do etilenoglicol, estes pesquisadores propõem a hipótese de que os campos magnéticos reforçam as ligações de hidrogênio entre íons hidroxila que formam as moléculas do etilenoglicol, inibindo a rotação e vibração da molécula no estágio de sub-resfriamento assim o raio crítico de nucleação é alcançado a maior temperatura.

No congelamento eletromagnético a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ de bulbos de alho James, Reitz e James (2015) reportaram que a temperatura de nucleação deste produto dependeu tanto da densidade de fluxo magnético e da frequência (níveis da tecnologia CAS), quanto da temperatura de entrada do produto ao congelamento, estas foram de $21\text{ }^\circ\text{C}$ e $4\text{ }^\circ\text{C}$, a temperatura na qual atingiram a nucleação foi sempre menor quanto maior foi a temperatura de entrada do alho (exceto para uma densidade de fluxo de $418\text{ }\mu\text{T}$). Por outro lado, o comportamento da temperatura de nucleação com a densidade de fluxo magnético e frequência foi não linear.

Para o grau de sub-resfriamento mesmo havendo leves diferenças não foram estatisticamente significativas (Tabela 2). Os extremos obtidos no grau de sub-resfriamento pertencem ao tratamento controle, no extremo inferior com um valor de 2,4, e ao tratamento de $44,7\text{ mT}/90\text{ Hz}$ no extremo superior com um valor de 3,5.

O grau de sub-resfriamento é um fenômeno em que a temperatura do material é reduzida abaixo do seu ponto de congelamento sem ocorrência da cristalização devido a uma barreira de energia que deve ser superada antes do início da nucleação, quando começa a cristalização a temperatura sobe até atingir a temperatura de início de congelamento pelo ganho de calor latente de cristalização do gelo (JAMES; SEIGNEMARTIN; JAMES, 2009; STONEHOUSE; EVANS, 2015).

Orlowska, Havet e Le-Bail (2009) argumentaram que o processo de formação e crescimento de cristais de gelo durante o congelamento de alimentos, é um processo sumamente complexo e estocástico de difícil entendimento e controle. No entanto, inúmeros trabalhos mostram que um maior grau de sub-resfriamento permite uma nucleação homogênea quando a substância é pura, e heterogênea quando se tratam de soluções ou materiais complexos como os alimentos (KIANI; SUN, 2011; JHA et al., 2017). Com um maior grau de sub-resfriamento espera-se a formação de muitas partículas de gelo de estrutura homogênea, no entanto, a morfologia do cristal é afetada pela estrutura celular do alimento (KOBAYASHI et al., 2015). Assim, estes

pesquisadores encontraram partículas de gelo homogêneas em coalhada de soja, mas no atum foi heterogênea independentemente do grau de sub-resfriamento, só foram homogêneos na direção das miofibrilas, concluindo que a estrutura celular pode limitar a mobilidade da água afetando a morfologia dos cristais de gelo.

Kobayashi e Suzuki (2019) encontraram que o morango quando submetido ao congelamento em sub-resfriamento formou maior número de cristais de menor tamanho e mais uniforme, mas a qualidade não melhorou quando comparado com o congelamento convencional. Assim, para explicar este comportamento, sugerem que pela maior nucleação instantânea promovida no sub-resfriamento ocorre uma drástica migração de água e enorme degradação nas células pela elevada diferença de pressão osmótica. Em acordo com este fato, o congelamento do mirtilo a 44,7 mT, manteve por maior tempo o estado de sub-resfriamento, permitindo assim que a temperatura fosse o mais uniforme possível em todo o volume do mirtilo e quando atingida a temperatura de nucleação acontecesse a formação de cristais menores e uniformes, o que explicaria o menor tempo de mudança de fase obtido na frequência de 90 Hz.

Stonehouse e Evans (2015) advertem que quando um produto se encontra no estado de sub-resfriamento, fica em estado metaestável que qualquer vibração ou mudança de temperatura, pode levar à nucleação, e em frutos vermelhos como o mirtilo o congelamento começa do ápice (cálice) e não do final do pedúnculo (pedicelo). Geidobler e Winter (2013) agregam que quando o grau de sub-resfriamento é maior se tem maior número de sítios para acontecer a nucleação. Mas, a nucleação só vai acontecer se há a formação de ligações de hidrogênio de longa duração permitindo o crescimento do primeiro núcleo seguido da cristalização homogênea e rápida. Baseado neste argumento, pode-se dizer que em todos os tratamentos sob ação do campo magnético pulsado se evidenciou um aumento no grau de sub-resfriamento quando comparado ao controle, então, naqueles tratamentos com maior grau possibilitou-se maior número de núcleos, e como no equipamento o campo gerado é formado tanto por um campo magnético estático quanto pulsado, tem-se as condições para formação de pontes de hidrogênio de longa duração, sendo que a frequência onde se apresenta esta condição ideal é a de 90 Hz quando a densidade de fluxo é de 44,7 mT.

Outro fator a considerar é a velocidade de congelamento, assim Bulut (2015) reporta que o tamanho dos cristais de gelo formados durante o congelamento tem

relação com essa velocidade. Quando a velocidade é lenta formam-se cristais maiores com possibilidade de maior dano às organelas fracas e membranas que podem causar a liberação de enzimas e seus substratos.

Liu et al. (2017) monitoraram microscopicamente a mudança de fase no congelamento de cenouras sob ação de campo magnético estático e oscilante (50 Hz) entre 0,46 até 7,2 mT (gerados por bobinas Helmholtz). Assim, reportaram que o grau de sub-resfriamento caiu com o aumento da densidade de fluxo magnético, sendo que com campo estático o grau de sub-resfriamento sempre foi maior, exceto na densidade de fluxo magnético de 1,8 mT. No entanto, em todos os casos foram maiores que o controle, o que concorda com os resultados desta pesquisa. Além disso, na densidade de fluxo magnético de 3,6 mT as diferenças entre o grau de resfriamento foram ampliadas. Então, estas diferenças do grau de sub-resfriamento relativas ao controle, em ambos os tipos de campo magnético, resultaram numa redução do volume de cristais de gelo sendo mais densos que o controle. Com estas características mostraram menor dano da membrana celular das cenouras.

Por sua parte Iwasaka et al. (2011) quando aplicaram campos magnéticos pulsados da ordem de 6,5 mT (325T/s) e 10 Hz, no congelamento de soluções biológicas (cloreto de sódio e meio de cultura celular) a -30 °C encontraram que foram formados finos cristais de gelo, já que a luz irradiada sobre as amostras foi levemente dispersada no estado de sub-resfriamento, e fortemente dispersada na fase de solidificação. Sugerindo que o mecanismo tem a ver com a indução de pulsos elétricos sobre os dipolos da água que permitem a formação de inúmeros cristais de gelo mais uniformes que se aglomeram para formar grãos maiores e uniformes, se comparados com as amostras sem o campo magnético.

James, Reitz e James (2015) reportaram que o grau de sub-resfriamento de bulbos de alho sob congelamento eletromagnético foi diferenciado dependendo tanto da densidade de fluxo magnético quanto da temperatura de entrada do produto ao congelamento, 21 e 4°C. O grau de sub-resfriamento foi maior, para a temperatura de ingresso mais elevada (Exceto para 155 μ T, em que se obtiveram os maiores graus de sub-resfriamento tanto para a temperatura de 21 e 4 °C respectivamente), mas, não foi exibida uma tendência específica no que diz respeito à densidade de fluxo magnético. Rodríguez, James e James (2017) também usando o congelamento eletromagnético da tecnologia CAS sobre lombo de porco a -30 °C, com densidade

de fluxo magnético na faixa de 0,04 até 0,53 mT concluíram que este processo não apresentou melhoria com relação ao congelamento convencional, pois não foram encontradas diferenças tanto no grau de sub-resfriamento quanto no tempo de congelamento.

Mihara et al. (2011) sugerem que para atingir um maior grau de sub-resfriamento deve-se usar campos magnéticos em frequências superiores a 200 Hz, e com maior efetividade quando a frequência é 2000 Hz, com faixas de densidade de fluxo magnético de 0,01 até 0,4 mT sendo preferível 0,2 mT. Além disso, mostraram que com maior grau de sub-resfriamento conseguiram reduzir o tempo de congelamento em solução fisiológica.

Com relação ao tempo de mudança de fase, estes formaram três grupos com diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$), as que em ordem crescente começam com o tratamento controle, após os tratamentos com densidade de fluxo magnético de 36,8 mT (não tendo influência da frequência) e finalmente os tratamentos com densidade de fluxo de 44,7 mT (sendo que a frequência de 90 Hz foi a menor comparada ao restante). Comportamento similar foi encontrado para a temperatura final de congelamento (Tabela 2).

Otero et al. (2017) ao aplicar congelamento eletromagnético a -25°C em palitos de caranguejo, com densidade de fluxo menor que 2 mT e frequências na faixa de 6 até 59 Hz (valores que mudam dependendo da configuração do equipamento CAS), reportaram que não houve diferença significativa entre o congelamento eletromagnético e o congelamento convencional, com valores de 14,4; 13, e 16 minutos para 0 % CAS, 100 %CAS e congelamento convencional respectivamente.

Lou et al. (2013) quando aplicaram campos magnéticos estáticos da ordem de 0,36 a 1,08 mT durante o congelamento de carpa a -30°C , mostraram que os tempos nas três etapas de congelamento variaram em maior ou menor grau dependendo da etapa e da densidade de fluxo magnético. Assim, na etapa de resfriamento o tempo aumentou conforme a densidade de fluxo magnético até 0,72 mT, já em 1,08 mT apresentou uma queda. A etapa de mudança de fase, apresentou uma queda progressiva quando foi incrementada a densidade de fluxo magnético, já na etapa de redução da temperatura no estado sólido o tempo foi progressivamente maior.

Estas mudanças nos tempos de congelamento foram explicadas pelo equilíbrio dinâmico transitório de ligação e quebra de ligações de hidrogênio na formação de

cluster da água, que também leva à produção de moléculas únicas da água sob a ação de campo magnético. Estes pesquisadores, enfatizam que com campos magnéticos fracos é difícil mudar a taxa de transferência de calor tanto convectiva quanto condutiva. Assim, sugerem que o campo magnético pode ser ativado em estágios específicos durante o congelamento (nucleação). Com isso, pode-se poupar a energia necessária para produzir os campos magnéticos, tornando esta tecnologia economicamente mais viável.

Cheng et al. (2017) afirmam que o principal fator que afeta o congelamento da água sob o campo magnético oscilante é a densidade de fluxo magnético que não pode ser nem muito baixa e nem muito alta, já que no extremo inferior não aparece efeito nenhum e no extremo superior a água começa a levitar. Hu, Hou e Wang (2012) após simulações dinâmicas reportaram que as principais mudanças no congelamento da água acontecem quando a densidade de campo magnético é de 10 T, embora com 100 mT tenham reportado influencia para certo tipo de conformação estrutural do gelo quando combinado com campos elétricos.

Na análise de Jha et al. (2017) feita sobre o uso dos campos magnéticos no congelamento dos alimentos, refere-se que a água, por apresentar uma susceptibilidade magnética baixa ($-9,07 \times 10^{-9} \text{ m}^3 \text{kg}^{-1}$ a 20°C), precisa de densidades de fluxo maiores a 10 T para exercer uma mudança considerável nas propriedades. Esta afirmação também foi apoiada por Kitazawa et al. (2001) que argumentam que as diferenças na susceptibilidade magnética dos compostos sob um gradiente de campo magnético, podem inclusive, formar correntes convectivas, ajudando na dissolução de compostos, ou separação destes.

Então, é preciso acompanhar o momento de dipolo magnético formado sob a influência do campo magnético, se o campo é estático, pode ajudar a formar pontes de hidrogênio mais fortes e estáveis e, no caso dos campos oscilantes pode enfraquecê-las. Diante desta afirmação, na caracterização dos campos magnéticos pulsados no espaço de ensaio, foi mostrado que a magnetização do núcleo, faz aparecer um campo estático, acima do qual aparece o campo magnético pulsado.

Kobayashi e Kirschvink (2014) na tentativa de explicar algumas mudanças no congelamento de sistemas biológicos sob ação dos campos eletromagnéticos, sugerem que diversos compostos contêm materiais ferromagnéticos que podem ser inerentes ou obtidos como contaminantes do meio ambiente e, que no caso dos

alimentos ambas afirmações são corretas. Então estes materiais ferromagnéticos sob a ação do campo magnético já apresentam oscilação mecânica podendo assim quebrar a nucleação de gelo em água sub-resfriada, descartando os efeitos que podem acontecer com materiais diamagnéticos (caso da água) e paramagnéticos (alguns íons) quando a densidade de fluxo é da ordem de μT . Como os alimentos são materiais complexos, esta hipótese, deve-se somar às hipóteses propostas para a água.

Diante destes resultados, pode-se inferir que, existe por um lado o reforço das pontes de hidrogênio sob o campo estático, mas também existe a quebra destas ligações pelo campo pulsado, isto explicaria o aumento da temperatura de nucleação na maior densidade de fluxo magnético e o alongamento da fase de transição. O campo magnético estático aumentaria a ordem e, portanto, o alcance do raio crítico a menor temperatura, e por outro lado, essa competição entre a quebra e formação de ligações entre o campo estático e o pulsado, fariam com que a mudança de fase fosse mais demorada.

Então levando em consideração todas as características extraídas das curvas de congelamento do mirtilo, e sabendo que no equipamento pela magnetização do núcleo, formam-se tanto campo magnético estático quanto pulsado, a hipótese mais plausível para explicar estes resultados é uma extensão da proposta por Toledo, Ramalho e Magriotis (2008), limitada apenas ao uso de campo magnético estático de 45 a 65 mT, e que sugere que acontece uma competição entre redes intra- e intermoleculares de ligações de hidrogênio enfraquecendo as ligações intra-agrupamentos maiores (produto do campo magnético pulsado), formando agrupamentos menores com ligações internas de hidrogênio mais fortes (produto do campo magnético estático). Desta forma as características de congelamento do mirtilo mudam como discutido previamente.

5.5 Efeito dos campos magnéticos pulsados nas características físicas e químicas do mirtilo

5.5.1 Umidade, pH, SST e Acidez titulável total no mirtilo

Na Tabela 4, são exibidos os valores de umidade, pH, sólidos solúveis totais e acidez titulável total, tanto do mirtilo fresco, do mirtilo controle (congelado sem o

campo magnético pulsado) e do mirtilo congelado sob campo magnético pulsado. Em todas estas variáveis não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), portanto se pode concluir que tanto o congelamento convencional, quanto o congelamento sob campos magnéticos pulsados, não têm influência nestas características.

Tabela 3 – Umidade, pH, Sólidos solúveis totais (SST) e acidez titulável total (ATT) do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados

Tratamento mT/Hz	Umidade (%)	pH	SST (°Brix)	ATT (%)
36,8/30	81,8±0,8 ^a	2,7±0,1 ^a	17,4±1,1 ^a	1,5±0,1 ^a
36,8/60	81,6±1,1 ^a	2,7±0,3 ^a	16,2±1,4 ^a	1,9±0,4 ^a
36,8/90	82,7±0,9 ^a	2,7±0,1 ^a	16,2±0,6 ^a	2,2±0,8 ^a
36,8/120	82,8±0,3 ^a	2,9±0,0 ^a	16,5±1,4 ^a	2,3±0,5 ^a
44,7/30	81,7±1,7 ^a	2,8±0,1 ^a	16,7±2,1 ^a	1,8±0,3 ^a
44,7/60	82,6±2,1 ^a	2,6±0,1 ^a	13,8±0,7 ^a	1,9±0,3 ^a
44,7/90	83,7±1,8 ^a	2,6±0,1 ^a	14,3±1,5 ^a	1,6±0,3 ^a
44,7/120	82,6±2,2 ^a	2,9±0,3 ^a	15,3±1,6 ^a	1,2±0,4 ^a
Controle	83,4±3,2 ^a	2,9±0,1 ^a	17,2±0,6 ^a	1,8±0,5 ^a
Fresco	83,3±0,5 ^a	3,0±0,1 ^a	16,4±1,1 ^a	1,4±0,1 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria

Em diversas pesquisas foi reportado que a umidade do mirtilo pode ir de 67,1 até 89,03 % (PRIOR et al., 1998; DE ANCOS et al., 2000; DÍAZ et al., 2011; KETATA; DESJARDINS; RATTI, 2013; ALFARO et al., 2018; ALIBABIĆ et al., 2019). Esta ampla faixa, abrange diferenças inerentes ao produto como o grau de amadurecimento, a variedade e, o lugar onde foi cultivado.

Nowak, Zielinska e Waszkielis (2019) reportam que as perdas de água por congelamento podem atingir valores de até 3,3 %, o que é ainda maior no descongelamento, em que se evidencia a quebra das membranas e paredes celulares pelo crescimento de cristais de gelo durante o congelamento. Assim, as membranas perdem a capacidade de serem semipermeáveis ou barreiras de difusão. Ketata, Desjardins e Ratti (2013) confirmaram que durante o congelamento acontece redução da espessura da cutícula, perda da cera e fissuras na casca do mirtilo, que propiciam maior perda de água.

O pH do mirtilo pode oscilar entre 2,65 e 3,9 (DE ANCOS et al., 2000; KETATA; DESJARDINS; RATTI, 2013; ABUGOCH et al., 2016; SANTOS et al., 2016; ALFARO et al., 2018; CHEA et al., 2019), já sua acidez titulável pode variar de 0,25 até 2,23 % (PRIOR et al., 1998; DE ANCOS et al., 2000; CASTREJÓN et al., 2008; ABUGOCH et al., 2016; SANTOS et al., 2016; FANG et al., 2017; CELEJEWSKA; MIESZCZAKOWSKA-FRA, 2018; CHU et al., 2018; ALIBABIĆ et al., 2019) em ambas características as faixas citadas abrangem os resultados desta pesquisa.

Zareei et al. (2019) sugerem que as mudanças do pH se devem ao fato de o campo magnético pode aumentar a concentração de íons livres e o movimento destes. Por outro lado, indicam que a água pode sofrer polarização e acontecer a separação podendo alterar a concentração de íons hidrogênio. Ponne e Bartels (1995) reportaram que a energia nas ligações de hidrogênio é de 0,2 eV sendo a menor comparada a outros tipos de ligações, então, os campos magnéticos podem causar deslocamentos dos prótons, e de outras moléculas que tenham esse tipo de ligações como a água, reduzindo o pH.

Entretanto, como os alimentos são materiais complexos, o caminho de cada composto é de difícil predição. Apesar de não ser um fruto, Sakdatorn et al. (2018) encontraram que o pH do mel cai quando são aplicados campos magnéticos estáticos na ordem de 1,17 até 2,29 mT por duas horas. A queda foi em ordem inversa ao incremento da densidade de fluxo magnético, o que foi explicado sob dois mecanismos, o primeiro foi o enfraquecimento ou a distorção das pontes de hidrogênio conseguindo menos hidratação dos íons, e por outro lado sugerem as quebras de partículas de pólen liberando ácido ascórbico o que reduziria o pH.

Jia et al. (2015) reportaram que em melão cortado submetido à ação do campo magnético de 2 mT, o comportamento da acidez depende do tempo de exposição ao campo, assim com tempos de até 15 min, a acidez apresenta uma queda até o

segundo dia de armazenamento, mas quando o tempo de exposição foi superior (20 e 25 min) obteve-se um incremento na acidez até o terceiro dia de armazenamento, já para o quarto dia, independentemente do tempo de exposição, a acidez teve uma queda. Estes pesquisadores sugerem que o campo magnético em 15 min de exposição, pode agir mudando a atividade enzimática, a expressão de genes e liberando cálcio dos sítios de armazenamento intracelulares que ajudam na cicatrização do melão cortado prolongado a sua vida de prateleira.

Os sólidos solúveis totais do mirtilo tanto fresco quanto os submetidos a congelamento sob campos magnéticos pulsados variaram de 13,8 até 17,4 °Brix, não apresentando diferença significativa entre eles ($p > 0,05$), o que concorda com o resultado de Jo et al. (2014) que não encontraram diferenças no que se refere ao pH e SST do mirtilo fresco e quando estes foram congelados em diferentes temperaturas. No que corresponde aos sólidos solúveis totais a literatura científica reporta a faixa de 9,3 até 19 °Brix para os mirtilos (PRIOR et al., 1998; CASTREJÓN et al., 2008; KETATA; DESJARDINS; RATTI, 2013; ABUGOCH et al., 2016; SANTOS et al., 2016; FANG et al., 2017; ALFARO et al., 2018; CELEJEWSKA; MIESZCZAKOWSKA-FRA, 2018; CHU et al., 2018; CHEA et al., 2019).

Zagula e Puchalski (2013) reportaram que os campos magnéticos pulsados com densidade de fluxo magnético entre 50 μ T e 100 mT e, frequências de 10 Hz a 100 Hz, estimularam a produção de glicose e frutose em quatro variedades de maçãs, sendo recomendável as condições de 100 μ T, com frequências na faixa de 50-100 Hz atingindo um incremento de até 8 % em glicose e 25 % em frutose. Por outro lado, advertem que os campos magnéticos com densidades maiores que 5 mT podem não ter efeitos (no caso de campos estáticos) ou também podem reduzir estes açúcares em campos oscilantes na faixa de 50-100 Hz.

Jia et al. (2015) também informaram um decréscimo dos sólidos solúveis em melão cortado, tratado previamente como fruto inteiro com campos magnéticos alternados de 2 mT em tempos de 0, 5, 10, 15, 20 e 25 min. Sugerindo que 15 min permitem manter os sólidos solúveis em maior nível comparado aos outros tempos. Este comportamento foi explicado pela menor velocidade de respiração e a perda de eletrólitos do melão. Em pepino também foi reportado menor velocidade de respiração quando estes foram tratados com campos magnéticos de 70 G (ZHAO et al., 2018).

Os açúcares contidos no mirtilo podem ser deslocados e separados por efeito dos campos magnéticos, produto da diferença na susceptibilidade magnética

volumétrica e dos gradientes obtidos em altos campos não homogêneos (MAKI; HIROTA, 2014), e assim podem participar das vias fisiológicas podendo virar ácidos.

5.5.2 Textura

Nas características de textura, foram avaliadas a força máxima (firmeza) e o módulo de Young, estas características servem para avaliar a resistência e a possibilidade de distorção do mirtilo respectivamente, constituindo-se como parâmetros para avaliar a qualidade da fruta (HU; LI, 2019)

Na Figura 33, é mostrada a força máxima na ruptura do mirtilo fresco, e os congelados com e sem (controle) campos magnéticos pulsados, após o descongelamento.

Figura 33 – Força máxima ($F_{\max}$) na ruptura de mirtilo fresco, congelado com e sem campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

Pode-se perceber claramente que o mirtilo fresco apresenta a maior força na ruptura com média de $3,4 \pm 0,2$ N valor com diferença significativa ($p < 0,05$)

comparado tanto com o controle, quanto com os tratamentos sob campos magnéticos pulsados. Nota-se que os tratamentos com densidade de fluxo magnético de 36,8 mT independente da frequência, não mostraram diferenças significativas entre si ($p > 0,05$), e ficam num segundo patamar depois do mirtilo fresco, junto com o tratamento controle e, o tratamento a 44,7 mT e 120 Hz. Nos tratamentos com densidade de fluxo magnético de 44,7 mT apesar de não houver diferenças significativas ($p > 0,05$), ocorreu um aumento conforme foi aumentada a frequência de 30 até 120 Hz, mesmo que nas frequências de 60 a 90 Hz houve uma queda tênue.

Até o momento não foram reportadas mudanças da força máxima de perfuração no mirtilo congelado sob a ação de campos magnéticos pulsados, porém, para o mirtilo fresco Angeletti et al. (2010) e Deng et al. (2014) reportaram uma média de 3 N, que concorda com os valores reportados neste trabalho. Díaz et al. (2011) reportaram uma perda de textura do mirtilo quanto passou por processos de resfriamento e congelamento, a queda vai de 3 N para 2 N.

Por outro lado, não foram detectadas diferenças significativas no congelamento lento comparado com o rápido, sendo que o congelamento rápido apresentou o menor valor. Assim, Chiabrando, Giacalone e Rolle (2009) afirmam que em frutos pequenos como o mirtilo, a textura é difícil de interpretar durante tratamentos a baixa temperatura, já que depende de fatores tais como o tamanho (sendo que os menores podem apresentar maior resistência), a variedade e o grau de amadurecimento.

No resfriamento a textura pode aumentar, devido à inibição da atividade enzimática e à redução da produção de etileno (CHIABRANDO; GIACALONE; ROLLE, 2009). Já no congelamento a quebra das paredes e membranas celulares junto com as lamelas são os principais fatores para a queda da textura. No que diz respeito ao tamanho do fruto, Donahue e Work (1998) mostraram a clara relação inversa que existe tanto da firmeza quanto do módulo de Young com o tamanho.

Moggia et al. (2017) concluíram que a firmeza não é um bom parâmetro para detectar a qualidade dos mirtilos, pois a sensibilidade deste teste não permite diferenciar os diversos fatores que o influenciam. Assim, por exemplo destaca que como a colheita do mirtilo é feita no lado equatorial, esta apresenta maior maciez, comparado ao caliz.

Jo et al. (2014) por sua parte mostraram que o congelamento de mirtilo nas temperaturas de -20, -45 e -70 °C afetou a dureza do mirtilo tendo uma queda importante com relação ao mirtilo fresco, mas não teve diferenças entre as

temperaturas de congelamento. Este resultado concorda com o reportado com Nowak (2018) que afirma que o congelamento/descongelamento diminui tanto a força ($F_{\max}$) quanto o trabalho (Área sob a curva) requerido para quebrar a casca do mirtilo no teste de perfuração. Assim, em outro trabalho sob o teste de textura reportaram que a dureza do mirtilo congelado é menos de três vezes à do mirtilo fresco (NOWAK; ZIELINSKA; WASZKIELIS, 2019). Neste trabalho reportou-se uma queda menos impactante, mas com a mesma tendência.

Por outro lado, como a avaliação da textura foi realizada dois dias depois do armazenamento a 4 °C após o congelamento, considera-se que a perda de textura no mirtilo foi relacionada com as mudanças na parede celular causada pela atividade enzimática da poligalacturonase, da α -arabinofuranosidase e da β -galactosidase que degradam os compostos que formam o parênquima (pectinas insolúveis, hemicelulose, arabinose e galactose) dando produtos de pectinas solúveis (CHEA et al., 2019).

Qinggang, Leren e Meiyan (2014) reforçam que a perda de textura nos mirtilos submetidos tanto ao congelamento convencional quanto com o uso de nitrogênio fluidizado se deve a mudanças na pectina e no conteúdo de umidade. A pectina, o seu precursor, protopectina, é convertido em pectina pela pectinase e daí a ácido péctico, deixando o produto mais mole.

Então, sabendo que os sítios ativos destas enzimas na maioria dos casos são íons, existe a possibilidade de serem ativados quando são aplicados campos magnéticos pulsados com densidade de fluxo de 44,7 mT (assim como acontece com a polifenoloxidase e a peroxidase, ver *item* 5.5.9, esta hipótese nas enzimas de degradação da parede celular precisa de estudos específicos para ser validada, mas à luz dos resultados desta pesquisa, parece ser a única possibilidade.

Além disso, como visto no *item* 5,3 a velocidade do congelamento tanto para o tratamento controle quanto para o congelamento sob campo magnético pulsado de 36,8 mT em todas as frequências foi maior, comparado à densidade de fluxo magnético de 44,7 mT. Isso poderia ter levado à formação de cristais com maior velocidade em todo o volume do mirtilo, com a consequente perda parcial da funcionalidade e estrutura das membranas celulares pela elevada diferença osmótica, o que explicaria os valores maiores obtidos na densidade de fluxo magnético de 36,8 mT. Isso não aconteceu para a densidade de fluxo magnético de 44,7 mT em que a frente de congelamento foi mais lenta, e pode ter formado cristais maiores, mas não

em todo o volume do fruto, embora a 30 Hz possa ter acontecido pela menor força registrada, gerando então uma perda parcial na função das membranas celulares que será melhor preservada as frequências de 60 e 120 Hz.

Charoenrein e Owcharoen (2016) evidenciaram que a membrana celular da manga teve maior dano a temperatura de congelamento de -20 °C quando comparado com a de -40 °C, o que foi explicado pelo maior desbalanço osmótico acontecido no crescimento dos cristais de gelo no congelamento lento.

Com similar comportamento ao da força máxima de perfuração, na Figura 34 são exibidos os valores do módulo de Young, encontrado para o mirtilo fresco e para o mirtilo congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados.

Figura 34 – Módulo de Young (MY) de mirtilo fresco, congelado com e sem campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

Neste parâmetro o mirtilo fresco apresentou o maior módulo de Young, com diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos. No

congelamento, os únicos tratamentos que reportaram diferenças significativas foram os de 36,8 mT/120 Hz e 44,7 mT/30 Hz, sendo este último o que teve menor valor, o restante dos tratamentos pode ser considerado iguais ($p > 0,05$).

Hu e Li (2019) mostraram que o módulo de Young do mirtilo apresentou diferenças para as variedades de mirtilo (Bluecrop, M2 e Duke) com médias de 0,706 até 0,895 g/mm²/%. Zapata et al. (2010) para as variedades O'Neal, Misty, Reveille e Emerald, reportaram uma faixa de 0,44 até 0,62 N/mm para os mirtilos maduros. Os valores encontrados nesta pesquisa, estão fora da faixa reportada por Zapata et al. (2010) basicamente explicado pelas diferenças nas variedades, nesta pesquisa foi utilizada a variedade Highbush. Zsivanovits e Iliev (2019) sugerem que a perda de turgor no mirtilo, em termos de velocidade acontece com maior rapidez na polpa que na casca, motivo pelo qual o módulo de Young apresentou menos diferenças em comparação com a força máxima.

Puza et al. (2019) reportaram uma perda de textura na faixa de 63 até 77 % (sem diferença significativa) em cubos de manga quando foram submetidos a congelamento eletromagnético no equipamento CAS configurado em 100 % e 0 % respectivamente. Assim, a maior perda tem acontecido à maior densidade de fluxo magnético e menor frequência, o que concorda com os resultados desta pesquisa.

Purnell, James e James (2017) agregam que também não encontraram diferenças na força máxima de ruptura de maçã e de batata submetidas ao congelamento CAS e ao congelamento convencional. Nessa pesquisa são destacadas as diferenças inerentes ao produto como responsáveis pela maior firmeza e maior elasticidade da batata comparada à maçã. Assim, dependendo da matriz do produto sugere-se diferentes configurações do equipamento para obter a melhor resposta, em batata foi 25 % CAS e para maçã foi 75 % CAS, inferindo que para a estrutura da batata é mais importante uma maior densidade de fluxo magnético e menor frequência, no entanto, para a maçã é preferível maior frequência e menor densidade de fluxo magnético.

Em outras matrizes alimentares, como o peito de frango, quando submetido ao congelamento eletromagnético com densidade de fluxo magnético de 1,5-2,0 mT, nas faixas de frequências de 20 a 30 Hz, e temperatura de -45 °C, não se encontraram

diferenças no teste de fratura quando comparado ao congelamento convencional, imediatamente descongelado. Porém, quando o armazenamento dos peitos de frango foi prolongado até seis meses, obteve-se melhor resultado inclusive comparável com o peito fresco. Sugerindo assim, que o congelamento eletromagnético poderia ser recomendável para produtos de estocagem longa (YAMAMOTO et al., 2005)

5.5.3 Cor

No que corresponde à cor tanto da superfície (s) quanto da polpa (p) do mirtilo, nas Tabelas 4 e 5 são mostradas respectivamente as coordenadas L^* , a^* e b^* . A literatura científica reporta valores das coordenadas só para a casca do mirtilo, ficando nas faixas de: 25 até 74,8 para L^* , 0,4 até 14,53 para a^* e, -7,02 até 16,4 para b^* (CHUNG; YU; LEE, 2016; FANG et al., 2017; JIN; YU; GURTLE, 2017; CHU et al., 2018), já para a cor da polpa não há registros até o momento.

Tabela 4 – Coordenadas L^* , a^* , b^* da cor na superfície (s) do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados

Tratamento	L_s^*	a_s^*	b_s^*
mT/Hz			
36,8/30	53,2±0,1 ^{a,b}	2,5±0,1 ^{a,b}	-8,6±0,1 ^{a,b}
36,8/60	50,6±4,9 ^a	2,3±0,2 ^{a,b}	-8,2±0,7 ^a
36,8/90	53,9±1,6 ^{a,b}	2,6±0,2 ^{a,b}	-8,6±0,2 ^{a,b}
36,8/120	58,9±1,2 ^{a,b}	2,7±0,1 ^a	-9,5±0,1 ^{a,b}
44,7/30	60,8±2,3 ^b	2,6±0,1 ^{a,b}	-9,7±0,4 ^b
44,7/60	52,8±6,0 ^{a,b}	2,3±0,2 ^{a,b}	-8,3±0,9 ^{a,b}
44,7/90	53,5±3,6 ^{a,b}	2,4±0,1 ^{a,b}	-8,4±0,5 ^{a,b}
44,7/120	56,1±3,3 ^{a,b}	2,4±0,1 ^{a,b}	-8,6±0,5 ^{a,b}
Controle	56,2±1,3 ^{a,b}	2,6±0,1 ^{a,b}	-8,8±0,2 ^{a,b}
Fresco	53,1±2,2 ^{a,b}	2,2±0,1 ^b	-8,3±0,3 ^{a,b}

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria

Na Tabela 5, a coordenada L_s^* mostrou semelhança na maioria dos tratamentos, com diferenças significativas ($p < 0,05$) nos tratamentos de 36,8 mT/60 Hz e 44,7 mT/30 Hz em que o primeiro foi mais escuro que o segundo. Na coordenada a_s^* a diferença significativa se apresentou no mirtilo fresco e no congelado a 36,8 mT/120 Hz, no mirtilo fresco o valor foi menor mostrando menores tons vermelhos, já no 36,8 mT/120 Hz o valor foi maior mostrando que neste caso os tons vermelhos foram mais intensos. Já na coordenada b_s^* as diferenças foram percebidas entre os tratamentos 36,8 mT/60 Hz e o 44,7 mT/30 Hz em que no primeiro os tons azuis foram menos intensos comparado ao segundo.

Jo et al. (2014) reportaram incremento das coordenadas L^* , a^* e b^* da superfície do mirtilo após do congelamento/descongelamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$, informação que concorda com os resultados desta pesquisa em relação ao tratamento controle e o mirtilo fresco. Esta afirmação é majoritariamente cumprida quando se trata dos mirtilos congelados sob campo magnético pulsado. Saftner et al. (2008) indicaram que maiores valores de L_s^* estão associados a maior quantidade de cera superficial do mirtilo (*bloom*). Como o congelamento diminui o conteúdo desta cera (KETATA; DESJARDINS; RATTI, 2013) é plausível esperar quedas em alguns tratamentos no valor desta coordenada.

Na Tabela 6, pode-se observar que a coordenada L_p^* não teve diferenças significativas ($p > 0,05$) em todos os tratamentos, apesar de que a polpa foi ligeiramente mais clara no caso do mirtilo fresco.

Na coordenada a_p^* foram encontrados três grupos estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) começando pelos tons menos vermelhos. O primeiro compreende o mirtilo fresco e o tratamento a 44,7 mT/120 Hz, o segundo os tratamentos controle, 44,7 mT a 60 e 90 Hz e, 36,8 mT a 60, 90 e 120 Hz, já o terceiro grupo com maior tonalidade vermelha foram os tratamentos a 36,8 mT e 44,7 mT ambos a 30 Hz. A coordenada b_p^* apresentou menos sensibilidade do que a coordenada a_p^* , formando dois grupos estatisticamente diferenciados ($p < 0,05$) com tratamentos intersectados nesses dois grupos. O grupo que apresentou a menor tonalidade azul foi o mirtilo fresco, e o grupo com o tom azul mais intenso inclui os tratamentos controle; 36,8 mT a 30, 60, 90 e 120 Hz e; 44,7 mT a 120 Hz. O grupo intermediário entre estes extremos compreendem os tratamentos 44,7 mT nas frequências de 30, 60 e 90 Hz.

Tabela 5 – Coordenadas L^* , a^* , b^* e variação da cor na polpa do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados

Tratamento	L_p^*	a_p^*	b_p^*
mT/Hz			
36,8/30	52,6±4,1 ^a	4,9±0,6 ^a	-7,9±0,9 ^a
36,8/60	50,7±4,2 ^a	4,5±0,5 ^{a,b}	-7,7±0,6 ^a
36,8/90	57,3±1,5 ^a	4,2±0,0 ^{a,b}	-8,9±0,2 ^a
36,8/120	57,3±4,0 ^a	3,9±0,2 ^b	-8,6±0,8 ^a
44,7/30	55,6±1,7 ^a	4,8±0,3 ^a	-7,5±0,1 ^{a,b}
44,7/60	53,8±3,6 ^a	4,6±0,4 ^{a,b}	-7,0±0,5 ^{a,b}
44,7/90	56,2±3,4 ^a	4,5±0,2 ^{a,b}	-7,2±0,4 ^{a,b}
44,7/120	58,4±4,2 ^a	3,7±0,3 ^{b,c}	-7,8±0,7 ^a
Controle	56,4±4,7 ^a	4,3±0,2 ^{a,b}	-8,3±0,8 ^a
Fresco	59,7±5,6 ^a	2,8±0,2 ^c	-5,4±1,3 ^b

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria

Em geral o congelamento seja com ou sem a aplicação dos campos magnéticos reduz a coordenada L , mas incrementa as coordenadas a e b . Isto concorda parcialmente com o relatado por Nowak, Zielinska e Waszkielis (2019) que indica que a casca dos mirtilos congelados são mais escuros, mais vermelhos e menos azulados. Qinggang, Leren e Meiyan (2014) usando processamento de imagens avaliaram a cor interna dos mirtilos submetidos a congelamento lento de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ e com nitrogênio fluidizado a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, obtiveram menor mudança na cor com nitrogênio, associado ao menor dano das células e conseqüentemente menos migração de pigmentos.

Destes resultados, as leves diferenças, nas coordenadas de cor da superfície do mirtilo, não permitiram avaliar o efeito do congelamento com e sem campos magnéticos pulsados. No entanto, essas tênues diferenças são amplificadas no caso da polpa, sobretudo nas coordenadas a_p^* e b_p^* tendo maior peso ponderativo a

densidade de fluxo magnético do que a frequência, assim na densidade de fluxo magnético de 36,8 mT apresentou os maiores tons vermelhos e azuis, o que indica maior dano às estruturas celulares tanto da casca quanto da polpa, permitindo a maior difusão de pigmentos (antocianinas) em todo o mesocarpo. Em menor medida aconteceu esta difusão no caso da densidade de fluxo magnético de 44,7 mT, sugerindo que parte das estruturas celulares não foram danificadas. Zhang, Li e Yang (2019) apesar de não usarem coordenadas de cor, apresentaram assim os coeficientes de absorção e espalhamento quando aplicada a espectroscopia de infravermelho próximo, reforçam o argumento de que as mudanças na polpa do mirtilo são muito mais sensíveis que na superfície. Assim estes pesquisadores, conseguiram diferenciar mirtilos com hematomas, pelas mudanças na polpa, e não pelos valores similares obtidos na casca. Essas mudanças foram percebidas justamente pela migração de antocianinas, como sugerido nesta pesquisa. Por sua parte Jin, Yu e Gurtler (2017) reportaram que não houve mudanças na cor superficial do mirtilo após o tratamento com pulsos elétricos, porém, indicaram migração das antocianinas da casca para a pele, produto da quebra das paredes celulares por eletroporação.

5.5.4 Antocianinas totais

Na Figura 35 são exibidas o teor das antocianinas totais do mirtilo fresco e, congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados após o descongelamento. Claramente se pode apreciar que os campos magnéticos pulsados a 44,7 mT conseguiram (exceto à frequência de 120 Hz) preservar esta característica com valores próximos aos do mirtilo fresco ($p > 0,05$). Porém, os tratamentos, controle e os de 36,8 mT em todas as frequências foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) do mirtilo fresco.

Figura 35 – Antocianinas totais (AT) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

O teor das antocianinas totais no mirtilo, tem valores dispersos, assim considerando vários trabalhos a faixa abrange de 0,1 até 6,8 mg C3G/g de mirtilo fresco (CHUNG; YU; LEE, 2016; JIN; YU; GURTNER, 2017; ALIBABIĆ et al., 2019), os valores reportados nesta pesquisa tanto do mirtilo fresco quanto dos congelados ficam dentro desta faixa.

As antocianinas são pigmentos que estão alojados nos vacúolos das células das frutas como o mirtilo (HORBOWICZ et al., 2008). Quando estes vacúolos por efeito do congelamento são quebrados, as antocianinas vazam e são misturadas com outros compostos; como íons metálicos, enzimas, açúcares e oxigênio; que acabam

afetando a estabilidade, tanto quanto outros fatores como a luz, o pH e a temperatura (HORBOWICZ et al., 2008).

Vollmannová et al. (2009) informaram que no congelamento a -18 °C o mirtilo perdeu entre 14 a 19,6 % das antocianinas durante seis meses de armazenamento, sendo que a porcentagem maior da perda correspondeu às variedades precoces. Esta porcentagem foi aumentada para 57,6 % quando o mirtilo foi tratado com nitrogênio líquido, passando seu conteúdo de antocianinas de 1,07 mg C3G/g no mirtilo fresco a 0,46 mg C3G/g quando o mirtilo foi congelado (ALFARO et al., 2018).

Sapers e Phillips (1985); Routray e Orsat, (2011) relataram que a perda de antocianinas do mirtilo durante o armazenamento está vinculada ao vazamento a partir da casca, produto da perfuração desta por efeito do congelamento, previamente aumentado pela diminuição da espessura da cera na cutícula. Reque et al. (2014) reportaram uma degradação de 59 % das antocianinas do mirtilo após seis meses de armazenamento a -18 °C, aparecendo como a mais instável a delphinidina-3-glicosídeo que atinge perdas de até 80 %, enquanto a pelargonidina mostrou-se mais estável (com só 9 % de perda). Estes pesquisadores agregaram que as antocianinas que contém O-dihidroxilo no anel B, como a cianidina e delphinidina, são mais susceptíveis à oxidação pelos grupos catecol como as quinonas.

Com relação à estabilidade das antocianinas, Srivastava et al. (2007) referem que a estrutura das antocianinas é o principal fator que afeta a sua estabilidade, assim, um aumento na substituição glicosídica, acilação e metoxilação tendem a melhorar a estabilidade das antocianinas. O meio azedo também é outro fator que ajuda na estabilidade das antocianinas (HOWARD et al., 2016).

Outro fator que pode afetar a perda das antocianinas é a atividade da polifenoloxidase e da peroxidase, produto da quebra das membranas celulares durante o congelamento, dando a possibilidade destas enzimas interagirem com os substratos fenólicos (LEE; DURST; WROLSTAD, 2002; SRIVASTAVA et al., 2007). A atuação da polifenoloxidase e da peroxidase, pode ser beneficiada pela atuação da enzima antocianase que converte as antocianinas em antocianidinas, sendo que as antocianidinas tem maior afinidade tanto pela polifenoloxidase quanto pela peroxidase (JIANG et al., 2004; ZHANG et al., 2005).

Por outro lado, Chiabrando e Giacalone (2011) e Ge et al. (2019) indicaram que no armazenamento refrigerado ou congelado as antocianinas do mirtilo tendem a se incrementar por causa da perda de água. Este argumento foi apoiado por Lohachoompol, Srzednicki e Craske (2004) que apresentaram leves incrementos no conteúdo de antocianinas no mirtilo congelado quando comparado ao fresco. Em ambas as pesquisas não foi reportada a umidade para melhor sustento da argumentação. Neste ponto, como a umidade do mirtilo não apresentou diferenças significativas entre o mirtilo fresco e os congelados com e sem (controle) campos magnéticos, podemos desconsiderar a influência da perda de umidade no incremento das antocianinas em alguns tratamentos. Mallik e Hamilton (2017) reportaram que o congelamento não muda o teor das antocianinas nem dos polifenóis dos mirtilos, sendo a redução do metabolismo respiratório o responsável por manter inalterável estas características.

No que diz respeito ao comportamento das antocianinas do mirtilo sob ação dos campos magnéticos, não foram encontrados trabalhos. Porém, levando em consideração que as antocianinas são moléculas carregadas positivamente (HORBOWICZ et al., 2008) a influência do campo magnético pode recair na velocidade de reação com outras moléculas, ou nas mudanças estruturais por quebras ou formação de novas ligações.

Em um trabalho recente Răcuciu e Oancea (2018) encontraram uma melhora na quantidade das antocianinas das variedades selvagens e cultivadas de amora após a ação de campo um magnético de 3 mT com o tempo máximo de exposição de 6 h a 22 °C. Para as variedades de amora de tipo selvagem o incremento oscilou entre 9 e 33%, e para as cultivadas passou de 30 a 129 %, sendo que o maior pico obteve-se após uma hora de exposição ao campo magnético, e tempos de exposição maiores que 12 h causaram um decréscimo na produção das antocianinas. Estes pesquisadores, para explicar este comportamento, propõem a hipótese de que o campo magnético poderia agir sobre a permeabilidade da membrana celular, favorecendo a extração dos compostos bioativos dos espaços intracelulares.

Já considerando os efeitos em plantas, Zareei et al. (2019) encontraram maior produção das antocianinas, polifenóis em folhas de uvas após serem irrigadas com água tratada magneticamente a 0,1 e 0,2T, concluindo que o campo magnético estimula a biossíntese dos compostos fenólicos, por três vias, primeiro por ativar com

maior rapidez as enzimas e hormônios responsáveis pela síntese, segundo melhorar a mobilidade dos nutrientes, e terceiro agir sobre a permeabilidade da membrana celular permitindo uma rápida transferência de íons, água e energia dentro da célula.

Por outro lado, os íons têm importante participação como reguladores em processos bioquímicos podendo os campos magnéticos afetar a mobilidade e a produção destes. Assim Eşitken e Turan (2004) reportaram que no morango submetido à ação de campo magnético oscilante na faixa de 0,096 a 0,384 T e 50 Hz, as folhas da planta apresentaram um aumento nos níveis de N, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Na e Zn. Este aumento dos íons esteve associado a uma produção mais uniforme e de maior tamanho de morango, concluindo assim que os campos magnéticos estimulam o metabolismo das plantas tais como a fotossíntese, o balanceamento enzimático e hormonal, melhora de transporte dos solutos e, deixando os hormônios mais próximos às zonas de síntese. No entanto, para que estas vantagens sejam garantidas a densidade de fluxo magnético deve ser menor ou igual a 96 mT, já que o incremento pode afetar os resultados negativamente.

Hara et al. (2003) reportaram que a biossíntese das antocianinas em hipocótilos de rabanete é melhorada na presença de glicose, frutose ou sacarose. No caso da sacarose dois genes, a chalcona sintase e a antocianidina sintase foram significativamente ativados. Vitrac et al. (2000), Shin et al. (2013) e Xu et al. (2014) agregam que além do açúcar, estão envolvidos na transdução do sinal o Ca^{2+} , a calmodulina e a relação quinase/fosfatase na indução da biossíntese das antocianinas em uva e arabidopsis. Esta é outra via pela qual o campo magnético poderia estar influenciando na maior produção das antocianinas no mirtilo. Outro mecanismo é a estimulação da produção do ácido abscísico que por sua vez estimula a produção das antocianinas no mirtilo (OH et al., 2018)

Routray e Orsat (2011) e Mallik e Hamilton (2017) sugerem que fatores que geram estresse no mirtilo como: decréscimo da temperatura, deficiência dos nutrientes, intensidade da luz, foto-inibição e umidade propiciam a síntese das antocianinas, considerado este como um mecanismo de defesa. Como os campos magnéticos pulsados aplicados no mirtilo superam o campo magnético da terra, então pode-se considerar como outro fator de estresse.

Então, com base nestes estudos, pode-se dizer que a estimulação da produção dos compostos bioativos pelos campos magnéticos pode ser um dos motivos que explique o maior conteúdo das antocianinas no mirtilo em tratamentos com campos magnéticos pulsados de 44,7 mT nas frequências de 30,60 e 90 Hz (Já fora do planejamento experimental desta pesquisa, com o intuito de reforçar a validade deste mecanismo, foi realizado um experimento em mirtilo a 0 °C com e sem campo magnético de 44,7 mT e 60 Hz, encontrando um incremento de 17,5 % no conteúdo das antocianinas). Sendo assim, a estimulação de compostos ativos em frutos e hortaliças por campos magnéticos, abre uma linha de pesquisa a ser explorada e desenvolvida. Routray e Orsat (2011) descrevem três vias principais para a síntese das antocianinas, a via do chiquimato, a via do fenilpropanoide e a via flavonoide. Nas três estão envolvidos muitos fatores em que os campos magnéticos podem agir, por isso é difícil apontar uma via só, podendo inclusive influenciar nas três de forma independente ou paralela.

5.5.5 Polifenóis totais

Na Figura 36, são apresentados o teor de polifenóis totais no mirtilo fresco e nos congelados com e sem (controle) campos magnéticos pulsados. Como era esperado os polifenóis totais apresentaram um comportamento semelhante às antocianinas. Isso porque 90 % dos polifenóis do mirtilo foram identificados como antocianinas (DANTAS et al., 2019). No entanto, ao contrário das antocianinas, os polifenóis do mirtilo fresco conseguiram ter diferenças significativas ($p < 0,05$) com os mirtilos do restante dos tratamentos, sendo que o maior conteúdo de polifenóis foi no mirtilo fresco com média de $3,3 \pm 0,4$ mg AGE/g. Já nos tratamentos com ação do campo magnético pulsado, os tratamentos que foram diferentes ($p < 0,05$) nesta característica foram 36,8 mT/60 Hz e 44,7 mT/90 Hz, com o menor e maior valor respectivamente.

O conteúdo de polifenóis totais no mirtilo foi reportado numa ampla faixa que vai de 1 até 6,8 mg AGE/g (SANTOS et al., 2016; GUINÉ et al., 2018), cobrindo os valores obtidos nesta pesquisa.

Figura 36 – Polifenóis totais (PT) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

Alfaro et al. (2018) reportaram uma diminuição no teor de polifenóis totais no mirtilo quando foi congelado por nitrogênio líquido, passando de 2,65 mg AGE/g no mirtilo fresco a 2,33 mg AGE/g no mirtilo congelado, representando uma perda de 12 %. Tomando como referência o mirtilo fresco e o tratamento controle, a perda atinge 59,6 %, e aumenta quando comparada ao tratamento com campos magnéticos de 36,8 mT/60 Hz que atingem uma perda de 63,8 %. No entanto, quando o tratamento foi de 44,7 mT/90 Hz foram só de 38,6 %, o que sugere que quando o mirtilo é submetido ao congelamento sob campos magnéticos da ordem de 44,7 mT as perdas são reduzidas quando comparado à densidade de fluxo magnético de 36,8 mT.

Pertuzatti et al. (2012) ao estudar os compostos bioativos em seis variedades de mirtilo, reportaram que a maioria destes compostos está localizada na pele, e em menor quantidade na polpa, informação que concorda com o reportado por Yuan (2011) que agregaram as sementes como o segundo na ordem após a pele e já no terceiro lugar a polpa. Sendo que na polpa o ácido gálico tem maior presença e a miricetina maior presença na casca (PERTUZATTI et al., 2012).

Um incremento no teor dos polifenóis de amora estimulado pelos campos magnéticos foi reportado Răcuciu e Oancea (2018), sendo que o nível de incremento foi menor quando comparado às antocianinas. Assim, em variedades selvagens o incremento alcançou de 5 a 27 % e para as variedades cultivadas foi de 6,5 a 63 %.

Considerando o tratamento controle e o tratamento sob campos magnéticos a 44,7 mT/90 Hz, houve um incremento de 34 % no teor de polifenóis, que de maneira semelhante às antocianinas, podem ter sido estimulados pelos campos magnéticos. Por outro lado, como se pode ver no comportamento da impedância bioelétrica, a capacitância da membrana apresentou maior valor neste tratamento, indicando que as membranas celulares foram menos danificadas e, portanto, houve menor degradação dos polifenóis.

Reforçando a linha da estimulação da produção dos compostos bioativos pelos campos magnéticos, Azimian e Roshandel (2015) reportaram incremento de polifenóis de 33 % em gêneros de *Artemisa* quanto estes foram irrigados com água tratada magneticamente a 200 mT por 20 min. Estes pesquisadores argumentam que os mecanismos associados a esse comportamento estão ligados à melhora na atividade enzimática, maior mobilidade dos íons como o Ca^{2+} , ativação dos genes, e à maior absorção de nutrientes.

A maior mobilidade de íons Ca^{2+} sob campo magnético foi comprovada em massa de milho (VARGAS et al., 2014) e em cubos de maçã (YANG et al., 2016). Estes mecanismos, são amplamente reportados na germinação de sementes (ASGHAR et al., 2016; HAQ et al., 2016). Barnes e Greenebaum (2015) e Kipriyanov, Doktorov e Purtov (2015) informaram que os campos magnéticos sejam estáticos ou alternados podem modificar a distribuição do spin nuclear e eletrônico, os níveis de energia e o alinhamento dos momentos magnéticos dos componentes nos pares de radicais, o que pode levar a mudanças biologicamente significativas.

Assim Okano (2008) relatou que os campos magnéticos têm a capacidade de modular a reação dos radicais livres, resultando em ação estimulante, inibitória ou

indiferente dependendo da densidade de fluxo magnético e do tempo de exposição, além dos pares de radicais envolvidos. Zablotskii et al. (2016a, 2016b) propõem que os campos magnéticos que apresentam gradiente podem desencadear reações em cadeia em sistemas biológicos, baseado no fato de os lipídios das membranas terem maior susceptibilidade magnética do que as proteínas e a água, então, estes lipídios sob ação do campo magnético podem ter um comportamento paramagnético sendo fortemente influenciados, tanto quanto os canais iônicos.

Novitskii, Novitskaya e Serdyukov (2016) reportaram maior produção de lipídios presentes nas membranas celulares, nos cloroplastos, nas mitocôndrias e no citoplasma em folhas de menta, e para isso só foi preciso aplicar 500 μ T, propondo que os campos magnéticos poderiam usar um mecanismo substitutivo da luz nesta estimulação. A interação dos campos magnéticos com os lipídios das membranas celulares também foi reportada por Poinapen et al. (2013) quando aplicaram campos magnéticos estáticos de 126 e 208 mT em sementes de tomate melhorando os lipídios em gel, e diminuindo os lipídios fluidos.

Lipiec et al. (2005) reportaram aumento no conteúdo de polifenóis e na atividade antioxidante de brotos de aveia, quando estes foram submetidos aos campos magnéticos oscilantes da ordem de 3 T em 10 ciclos de 250 μ s, nesta condição o incremento foi de 1,5 e 1,3 vezes o controle para polifenóis e a atividade antioxidante respectivamente. No entanto, ao incrementar a densidade de fluxo magnético para 8 T em 1 ciclo, não houve diferença em relação ao controle, porém, com três ciclos a esta mesma intensidade tanto o conteúdo de polifenóis quanto a atividade antioxidante caíram em torno de 20 %. Apesar de não dar explicação dos resultados, estes pesquisadores encorajam fazer a avaliação dos polifenóis na forma individual, para aprofundar o mecanismo responsável pela alteração positiva e negativa nestes compostos, uma vez que existem duas categorias de compostos biologicamente ativos, os hidrofílicos (entre estes os polifenóis) que protegem o ambiente aquoso das células, e os hidrofóbicos (tocoferóis e carotenoides) que protegem a membrana celular. Ambas as categorias pertencem ao mecanismo de defesa frente a fatores de estresse como falta de umidade, radiação UV, e outros.

Assim, os campos magnéticos podem ser considerados como um fator de estresse nas plantas, sendo que a resposta a este fator pode ser a estimulação ou a degradação, e que depende tanto da densidade de fluxo magnético quanto da frequência, como assim podemos verificar nos resultados desta pesquisa. Nessa

procura do entendimento dos mecanismos, Hunt et al. (2009) descreve 11 possíveis mecanismos de como os campos magnéticos podem agir nos sistemas biológicos. No entanto, os modelos que já foram bastante testados são os de par radical, íon ciclotron ressonância e o papel da água. Os que têm a possibilidade de explicar parcialmente os resultados obtidos nos compostos bioativos do mirtilo.

5.5.6 Atividade antioxidante

Guiné et al. (2018) sugere que a atividade antioxidante do mirtilo está estreitamente ligada ao conteúdo de compostos fenólicos. Assim, na Figura 37 é exibida a atividade antioxidante do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados.

Figura 37 – Atividade antioxidante (AA) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

Da mesma forma como as antocianinas e os polifenóis totais, a atividade antioxidante do mirtilo fresco é maior quando comparada aos mirtilos que foram congelados com e sem (controle) campos magnéticos ($p < 0,05$) atingindo uma média de $5,0 \pm 0,6$ mg TE/g. O tratamento controle teve uma atividade antioxidante semelhante aos tratamentos sob campos magnéticos de 36,8 mT em todas as frequências ($p > 0,05$). Os tratamentos com 44,7 mT não tiveram diferenças significativas entre eles ($p > 0,05$), mas os tratamentos a 44,7 mT a 60 e 90 Hz, conseguiram se diferenciar dos tratamentos a 36,8 mT em todas as frequências. Sendo que o que atingiu maior atividade antioxidante foi o tratamento a 44,7 mT/ 90Hz com uma média de $3,7 \pm 0,5$ mg TE/g, tratamento que também apresentou o maior conteúdo de antocianinas e polifenóis.

Em trabalhos que usaram o método do radical ABTS, método usado nesta pesquisa, foi reportado uma faixa de entre 2-6 mg TE/g (CELEJEWSKA; MIESZCZAKOWSKA-FRA, 2018; GUINÉ et al., 2018) abrangendo a atividade antioxidante obtida em cada tratamento desta pesquisa.

Bulut (2015) informou perdas de até 80 % na atividade antioxidante do morango durante 13 semanas de congelamento a -27°C . No mirtilo, a perda, no tratamento controle que é só congelamento nessa faixa de temperatura, atingiu 61 %. Já com o congelamento sob campos magnéticos pulsados de 44,7 mT/90 Hz essa perda foi reduzida para 26 %. Confirmando assim, que os campos magnéticos nessa condição, conseguiram evitar 35 % da perda na atividade antioxidante.

A atividade antioxidante de quatro variedades de mirtilo (“Bluecrop”, “Late Blue”, “Chandler” e “Elliot”) apresentaram diferenças, sendo que a variedade Elliot apresentou maior atividade antioxidante quantificada pelo método ABTS. Esta maior atividade esteve correlacionada diretamente com a maior quantidade de compostos fenólicos nesta variedade se comparado às outras. Além disso, dos 16 compostos fenólicos identificados 13 pertencem às antocianinas (CELEJEWSKA; MIESZCZAKOWSKA-FRA, 2018)

Scibisz e Mitek (2007) advertem que no congelamento e no descongelamento de mirtilo, podem entrar em contato os compostos ativos que estavam em diversos compartimentos celulares reagindo e formando outros compostos. Em acordo com este fato Hager et al. (2008) reportaram que a queda na atividade antioxidante por degradação das antocianinas é compensada pela formação de polímeros em framboesa.

Reque et al. (2014) reportaram que o mirtilo no estado fresco apresenta uma atividade antioxidante de 29,20 $\mu\text{M TE/g}$ de fruto, e é aumentada após três meses de armazenamento em estado congelado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ atingindo um valor de 90,38 $\mu\text{M TE/g}$ de fruto, logo depois sofre uma queda até 35,77 $\mu\text{M TE/g}$ de fruto no final do sexto mês. Este comportamento foi explicado sob duas hipóteses, na primeira acreditam que as reações de síntese das antocianinas continuam e, na segunda atribuíram o aumento ao dano do tecido do mirtilo causado no descongelamento que aumentou a extração das antocianinas.

Como a atividade antioxidante no mirtilo, está intimamente ligada ao conteúdo de polifenóis e dentre estes as antocianinas, então, os mecanismos de ação dos campos magnéticos nestes compostos ativos explicariam da mesma forma o acontecido com a atividade antioxidante. No entanto, fatores intermediários, como a ativação das enzimas antioxidantes, como a superoxidodismutase, poderiam ser responsáveis pela atividade antioxidante reportada nas condições de 44,7 mT/90 Hz em que se obteve a maior atividade antioxidante.

Finalmente, Alfaro et al. (2018) relataram que tanto o teor de antocianinas e polifenóis quanto a atividade antioxidante pode ser acompanhada pelas mudanças nas coordenadas de cor a^* e b^* . Afirmação que concorda com Macedo et al. (2019), e que no caso do mirtilo está mais ligada às mudanças na coordenada b^* , obtendo valores de R^2 superiores a 0,78.

5.5.7 Impedância bioelétrica

As Figuras 38 e 39 exibem os diagramas de Nyquist para o mirtilo fresco, o controle e os submetidos a congelamento sob campo magnético de 36,8 mT e 44,7 mT nas frequências de 30 a 120 Hz.

Na Figura 38, claramente pode-se perceber que o arco formado pelo mirtilo fresco é muito maior se comparado aos mirtilos congelados com e sem (controle) campos magnéticos. O menor arco formado, pertence ao tratamento controle, confirmando que neste caso o dano da estrutura celular foi maior que nos tratamentos de congelamento sob campo magnético pulsado de 36,8 mT, inclusive no diagrama de Nyquist inserido percebe-se que as frequências de 60 e 90 Hz apresentam arcos maiores, indicando que estas frequências ajudam a conservar melhor a estrutura celular.

Figura 38 – Diagrama de Nyquist do mirtilo fresco, congelado com e sem (controle) campo magnético a 36,8 mT nas frequências de 30 a 120 Hz, após o descongelamento

Fonte: Própria autoria

Na figura 39, o diagrama de Nyquist tem o mesmo comportamento apresentado na figura 38. Só que desta vez, a densidade de fluxo magnético de 44,7 mT permitiu uma maior preservação comparada com a de 36,8 mT. Afirmação que é suportada por atingir o dobro dos valores da resistência (Zr) e da reatância (Zi) quando a densidade de fluxo magnético foi de 44,7 mT. No que diz respeito à frequência, o melhor comportamento foi obtido nas frequências de 60 e 90 Hz, em que se apresentam as maiores componentes tanto da resistência (Zr) quanto da reatância (Zi), o que sugere melhor conservação da estrutura celular. No entanto, embora ficando longe do comportamento do mirtilo fresco, claramente é superior quando comparado ao tratamento controle.

Figura 39 – Diagrama de Nyquist do mirtilo fresco, congelado com e sem (controle) campo magnético a 44,7 mT em frequências de 30 a 120 Hz, após o descongelamento

Fonte: Própria autoria

Na literatura, até o momento, não foram encontrados relatos do comportamento da bioimpedância elétrica do mirtilo fresco e nem do mirtilo congelado sob campo magnético pulsado, de modo que estes resultados são inéditos e não tem como ser comparados.

Em outros frutos, o comportamento da bioimpedância em relação ao congelamento já foi reportado. Assim vários autores (HARKER; FORBES, 1997; DEJMEK; MIYAWAKI, 2002; WU; OGAWA; TAGAWA, 2008; CARAVIA; COLLINS; TYERMAN, 2015; ANDO et al., 2016a) mostraram um encolhimento dramático do diagrama de Nyquist em caqui, batata, berinjela, uva e cenoura quando foram congelados, estando por tanto de acordo com o comportamento observado no mirtilo (Figuras 38 e 39). O encolhimento descrito foi explicado pelo dano das membranas celulares que permitiram o vazamento dos fluidos dos compartimentos celulares.

Permitindo assim que correntes a baixa frequência percorram todo o tecido (HARKER; FORBES, 1997). Além disso, no congelamento, os vacúolos que representam em torno de 90 % do volume total da célula são quebrados pelos cristais de gelo formados esvaziando os íons contidos neles, favorecendo a passagem da corrente, assim o caminho apoplástico desaparece nos tecidos congelados para só aparecer o caminho simplástico.

Ohnishi et al. (2004) avaliaram na maçã e no brócolis as mudanças acontecidas na impedância bioelétrica após o congelamento a -18°C , seus resultados mostraram que no estado fresco os produtos têm uma impedância dependente da frequência, mas quando foram congelados/descongelados a impedância já não dependente mais da frequência, confirmando que o caminho percorrido pela corrente aplicada é simplástico, pois a estrutura celular foi extremamente danificada, o que refletiu na contração dramática do diagrama de Nyquist. No entanto, na soja e na uva, a contração não foi tão drástica, sugerindo que parte das células continuam ainda intactas após o congelamento/descongelamento. Isto sugere, que a tolerância das membranas ao dano por congelamento depende do tipo de produto.

Varlan e Sansen (1996) e Watanabe et al. (2018) sugerem que os estados de amadurecimento dos frutos e as variedades mudam tanto a composição quanto a geometria das células, assim, quando a fruta está madura, as células são mais uniformes o que leva a menores diferenças na impedância. Como o nível de amadurecimento do mirtilo muda de fruto para fruto, este é um fator a levar-se em consideração para explicar as dispersões encontradas dentro dos tratamentos.

Para melhorar o entendimento, do comportamento da impedância bioelétrica no mirtilo, os dados da impedância, foram ajustados a um modelo de circuito elétrico equivalente, o modelo de Hayden modificado. A partir do qual foram ajustados os parâmetros representativos da estrutura celular; a resistência extracelular, resistência intracelular e a capacitância da membrana, mostrados nas Figuras 40, 41 e 42 respectivamente.

Figura 40 – Resistência extracelular (R_e) do mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

Ando et al. (2016b) reportaram que a impedância obtida a baixa frequência (lado direito do diagrama de Nyquist) deve ser desconsiderada no ajuste, pois não fornece informação sobre a estrutura celular, só representa a impedância de polarização da superfície dos eletrodos. Por isso, no ajuste, para obter as informações da estrutura celular só foram considerados os dados do semicírculo depressivo formado no diagrama de Nyquist.

Na Figura 40, se evidencia que a resistência extracelular no mirtilo fresco é a maior com uma média de $56.075,8 \pm 2.440,6$ Ohm, sendo diferente ($p < 0,05$) para todos os tratamentos. Já nos mirtilos congelados sob campos magnéticos pulsados, o único tratamento que foi diferente em relação ao tratamento controle foi a 44,7 mT/90

Hz ($p < 0,05$). Isto evidencia que o campo magnético pulsado nessa condição, permitiu um menor dano das membranas celulares, evitando o vazamento em demasia, o que explica a maior resistência extracelular.

Caravia, Collins e Tyerman (2015) sugerem que na uva o comportamento da resistência extracelular, estava associado ao conteúdo de sólidos solúveis totais, sendo que ao aumentar os sólidos solúveis totais também aumentou a resistência extracelular. Entretanto no mirtilo o efeito dos sólidos solúveis totais só foi marginal quando comparado com o efeito do congelamento.

O comportamento da resistência intracelular do mirtilo pode-se observar na Figura 41, na que o mirtilo fresco apresentou a menor resistência intracelular com uma média de $715,9 \pm 331,2$ Ohm. Mesmo tendo diferenças pequenas, estas não alcançaram significância ($p > 0,05$). Sugerindo que a resistência intracelular é menos sensível às mudanças comparadas à resistência extracelular.

Ando et al. (2016a) descreveram que tanto a resistência extracelular quanto a resistência intracelular dependem da concentração de eletrólitos extra e intracelular respectivamente. Assim, a diminuição da resistência extracelular está ligada à perda da permeabilidade das membranas (protoplasma e tonoplasto) permitindo o vazamento dos eletrólitos do meio intracelular para o extracelular, o que por sua vez explicaria o incremento da resistência intracelular. Este comportamento também foi observado em outros produtos como cenoura e uva (CARAVIA; COLLINS; TYERMAN, 2015; ANDO et al., 2016a).

Por outro lado, Juansah et al. (2012) mostraram que nos frutos cítricos, tanto a resistência extracelular, quanto a intracelular têm uma relação inversa com o pH. Nesse contexto, Harker e Dunlop (1994) afirmaram que as mudanças no comportamento da resistência intracelular e extracelular estão relacionadas ao grau de amadurecimento. Em nectarina, estes pesquisadores, mostraram que o aumento das resistências esteve associado ao maior conteúdo de açúcares, no entanto, a queda das resistências estava associada ao incremento do íon potássio. Este argumento também foi usado por Imaizumi et al. (2015) para explicar as mudanças da resistência intracelular e extracelular da batata. Inclusive o íon potássio está associado ao comportamento da membrana (JINYANG et al., 2016) assim em folhas

de tomate nas concentrações menores que 3,41 % se apresenta uma dramática queda tanto na resistência extracelular quanto na capacitância da membrana.

Figura 41 – Resistência intracelular (R_i) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

A deficiência deste íon, faz com que a membrana perca permeabilidade permitindo o vazamento dos íons intracelulares para os espaços extracelulares. Comportamento similar foi encontrado com o fósforo, mas neste caso, é nítido como o fósforo tem um controle equilibrado da resistência intracelular e extracelular, ou seja, enquanto a intracelular aumenta a extracelular diminui, isto é evidente até 0,45 %. Enquanto a capacitância a menos de 0,32 % ocorre uma queda drástica, e acima desse nível a capacitância aumenta linearmente. Como o fósforo é parte importante dos fosfolipídios das membranas, então, é um elemento que pode ajudar na sua funcionalidade (MEIQING et al., 2016). Sabendo que os íons tanto potássio como

fósforo são partículas carregadas, então, são susceptíveis à influência dos campos magnéticos.

O comportamento da capacitância da membrana do mirtilo pode ser visto na Figura 42. A maior capacitância da membrana foi obtida no mirtilo fresco, apresentando uma média de $2,0 \pm 0,2$ nF, essa mesma ordem de grandeza foi obtida nos tratamentos a 44,7 mT a 90 e 120 Hz ($p > 0,05$). No outro extremo, o tratamento controle apresentou a menor capacitância da membrana, não tendo diferenças com os tratamentos a 36,8 mT ($p > 0,05$).

Figura 42 – Capacitância da membrana celular (C_m) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

Uma clara diferença na capacitância da membrana foi obtida ao mudar a densidade de fluxo magnético de 36,8 mT para 44,7 mT ($p < 0,05$), independentemente da frequência. Estes resultados sugerem que os campos magnéticos a 44,7 mT preservam melhor as membranas celulares.

Ando, Hagiwara e Nabetani (2017) sugerem que a membrana celular sofre uma quebra da bicamada lipídica causada pelo estresse térmico, mas para isso tem que se atingir uma temperatura na qual acontece este fenômeno com maior rapidez, ou então exposição a temperaturas baixas por tempo prolongado.

Watanabe et al. (2017) comparando as mudanças da impedância e da textura de brócolis após aquecimento por 40 s, concluíram que as mudanças nos parâmetros elétricos obtidos da impedância, acontecem com antecedência e em maior magnitude quando comparadas às mudanças na textura. Sugerindo assim, que a medida da impedância tem informação mais aprofundada e sensível do que as técnicas de fratura mecânica. Os resultados deste trabalho corroboram esta afirmação pela coerência encontrada entre os resultados de impedância, e o teor de antocianinas, polifenóis e a atividade antioxidante.

Ando et al. (2016a) reportaram uma queda na capacitância da membrana de cenoura após o congelamento/descongelamento que passou de 3,24 nF em estado fresco, a 1,71 nF quando foi congelado/descongelado. Em uva madura a queda passou de 4,61 para 1,34 nF (CARAVIA; COLLINS; TYERMAN, 2015). Confirmando assim, que o congelamento danificou as membranas celulares. Os resultados desta pesquisa estão nessa mesma ordem de grandeza de redução. Além disso, quando a densidade de fluxo magnético foi de 44,7 mT a capacitância da membrana dos mirtilos foi menos afetada, com maior preservação nas frequências de 90 e 120 Hz sendo estes muito próximos do mirtilo fresco. Isto sugere, que o dano da membrana no congelamento convencional e na densidade de fluxo magnético de 36,8 mT é tanto funcional quanto estrutural, mas em densidades de fluxo magnético maiores, parece ser que é mais funcional e apenas estrutural.

Este comportamento da membrana também foi reportado por Ando et al. (2016a) e Ando; Hagiwara e Nabetani (2017) na avaliação de congelamento de cenoura e rabanete japonês, sugerindo que a membrana primeiro sofre uma perda funcional, que modifica a permeabilidade à água e aos íons, e depois uma perda

estrutural pela quebra da camada bilipídica. Estas perdas, ao seguir o comportamento da curva de congelamento, podem ocorrer no caso da perda funcional, no primeiro estágio de congelamento em que só há mudança da temperatura sem mudança de fase, e a perda estrutural já acontece na transição de fase em que a água se transforma em cristais de gelo, estes quebram tanto a membrana plasmática quanto o tonoplasto (ANDO et al., 2016b). Essa perda estrutural impede aos produtos desidratados/congelados de se reidratar ao mesmo nível dos produtos frescos.

Lamanauskas et al. (2015) mostraram que o congelamento a -20 °C de mirtilo, não conseguiu destruir completamente as membranas celulares, sua afirmação foi baseada no comportamento do módulo da impedância em função da frequência (Diagrama de Bode) que permitiu confirmar uma destruição maior da membrana quando os mirtilos após o congelamento foram submetidos a pulsos elétricos com o intuito de melhorar a extração de compostos bioativos como polifenóis e antocianinas.

Zelmat et al. (2017) indicaram que tanto a intensidade, o número de pulsos, a amplitude dos pulsos e a frequência dos pulsos elétricos reduziram a impedância na batata. O dano à membrana foi associado à aplicação de tensões superiores ao potencial transmembrana, o que causa eletroporação. Por outro lado, maiores frequências (10 Hz) apresentaram melhor conservação das membranas.

Em outra explicação das mudanças na capacitância da membrana, foi sugerido que a queda da capacitância das membranas quando são resfriadas, pode ser atribuída à redução do tamanho das células ou aumento na proporção do xilema (ZHANG; STOUT; WILLISON, 1992). Zhang e Willison (1992) mostraram que o dano à membrana depende da natureza do produto, assim, em batata a mudança drástica aconteceu a -3 °C, no entanto, em cenoura só aconteceu a -12 °C, mostrando assim, que cada produto tem uma sensibilidade de membrana às temperaturas de congelamento, e que o tonoplasto é o primeiro a perder a funcionalidade e a estrutura, seguido pela membrana plasmática.

Pela análise dos resultados da impedância bioelétrica, se conclui que o congelamento do mirtilo sob campos magnéticos pulsados a 44,7 mT e 90 Hz, é o mais recomendável, pois ajuda a preservar a integridade das estruturas celulares, e com isso evita a degradação dos compostos funcionais como reportado previamente. Além disso, e de acordo com o comportamento das curvas de congelamento que nesta

condição obteve a menor temperatura de nucleação, o maior grau de sub-resfriamento, o maior tempo para atingir a nucleação e, o menor tempo de mudança de fase, características que são descritas como favoráveis para a formação de maior número de cristais de gelo, mais uniformes e de menor tamanho confirmando a hipótese proposta nesta tese.

5.5.8 Ressonância magnética nuclear

Os tempos de relaxação dos prótons no mirtilo fresco, congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados a 36,8 mT e 44,7 mT nas frequências de 30 a 120 Hz são apresentados nas Figuras 43 e 44 respectivamente.

Figura 43 – Tempos de relaxação (T2) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético de 36,8 mT nas frequências de 30-120 Hz após o descongelamento

Fonte: Própria autoria

Figura 44 – Tempos de relaxação (T_2) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético de 44,7 mT nas frequências de 30-120 Hz após o descongelamento

Fonte: Própria autoria

Nota-se que no mirtilo fresco, claramente são distinguíveis três tempos de relaxação T_{21} (parede celular), T_{22} (citoplasma e espaços extracelulares) e T_{23} (vacúolos) como reportado por (CAO et al., 2018). Sendo que a intensidade do sinal foi maior no tempo T_{23} . Os mirtilos do tratamento controle e os que foram congelados com campos magnéticos a 36,8 mT (Figura 43), apresentaram uma queda quase total no tempo T_{23} , enquanto o sinal em T_{22} foi aumentada, isto acontece em todas as frequências. Fato que indica que o tonoplasto foi quebrado e os fluidos vazaram para o citoplasma e os espaços extracelulares. Os tratamentos com densidade de fluxo magnético de 44,7 mT (Figura 44) apresentaram comportamento similar, embora, nas frequências de 90 e 120 Hz apresentaram menor deslocamento tanto no T_{21} , como no

T₂₂, e no T₂₃, e que a frequência de 90 Hz apresenta a menor mobilidade julgada pela intensidade do sinal.

Cao et al. (2018) reportaram que no mirtilo fresco os valores médios correspondentes a cada compartimento são de $21,8 \pm 6,4$; $128,8 \pm 31,3$ e $652,7 \pm 77,5$ ms para T₂₁, T₂₂ e T₂₃ respectivamente. Quando os mirtilos foram submetidos a diferentes condições de congelamento: -20 °C, -40 °C, -80 °C e em criogenia a -196 °C, os tempos de relaxação de cada compartimento sofreram uma queda, sendo que à temperatura de -80 °C houve a menor queda no que se refere a T₂₃, motivo pelo qual foi considerado como a temperatura que causa menor dano à estrutura dos vacúolos levando a manter uma melhor textura do produto.

Arunyanart et al. (2015) e Li; Zhu e Sun (2018) relataram que a quebra da membrana celular e dos vacúolos por aumento do tamanho dos cristais de gelo durante o congelamento faz com que a água migre dum compartimento para outro quando são descongelados, sendo que o percurso principal é dos vacúolos para o citoplasma e o meio extracelular. Um segundo motivo para explicar a mudança do T₂ é a maior liberdade da água após o descongelamento, podendo se movimentar com maior facilidade.

Nesse sentido, Hills, Takacs e Belton (1990) alertaram que para a interpretação do comportamento do T₂ deve-se levar em consideração o intercâmbio da água por difusão e o intercâmbio de prótons que acontece entre a água e os compostos macromoleculares como carboidratos e proteínas. Assim, Khan e Karim (2017) reportaram que a porcentagem da água presente nos compartimentos celulares de frutos oscila entre 80-86 % para o meio intracelular, 8-15 % para espaços intercelulares, e 4-6 % na parede celular. A água contida nos espaços intercelulares é conhecida como água livre, a água intracelular é considerada como água fracamente ligada e a água presente na parede celular é água fortemente ligada (KHAN et al., 2016).

Gambhir et al. (2005) advertem que ligeiras diferenças podem-se apresentar no comportamento de T₂ produto das diferenças inerentes de fruto a fruto, principalmente pela variação do conteúdo de água e açúcares. Além das mudanças na atividade fisiológica durante o crescimento ou armazenamento (WANG et al., 2019).

Qiao et al. (2019) reportaram faixas para T_{21} (0,01-10 ms), T_{22} (10-100 ms) e T_{23} (100-1000 ms) do mirtilo que dependem do grau de amadurecimento. O aumento destes valores acorde ao maior grau amadurecimento leva a uma menor intensidade do sinal apresentada em cada compartimento. Estas faixas reportadas abrangem os tempos encontrados nos mirtilos congelados com e sem campos magnéticos. A diferença inerente ao grau de amadurecimento entre frutos de mirtilo de um mesmo lote pode explicar a elevada dispersão encontrada nos tempos de relaxação, como mostrado na Tabela 7, que inclusive não encontra diferenças significativas em todos os tratamentos ($p > 0,05$). Outro fator a ter em conta, é que no momento de inserir as amostras no tubo porta amostras, é preciso amassar os mirtilos para deixar as amostras sem ar, de modo que a estrutura celular que já foi danificada pelo congelamento por este motivo será ainda mais destruída, motivo pelo qual não se consegue ter uma diferença significativa nos tempos de relaxação.

Tabela 6 – Tempos de relaxação T2 do mirtilo fresco e, congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados

Tratamento mT/Hz	T₂₁ (ms)	T₂₂(ms)	T₂₃ (ms)
36,8/30	21,3±1,3 ^a	121,8±14,8 ^{a,b}	505,9±35,4 ^a
36,8/60	25,2±6,7 ^a	130,3±14,2 ^{a,b}	555,6±60,6 ^a
36,8/90	25,5±7,2 ^a	130,3±8,5 ^{a,b}	518,9±94,1 ^a
36,8/120	25,6±7,8 ^a	126,7±28,4 ^{a,b}	590,7±144,7 ^a
44,7/30	22,9±2,6 ^a	126,8±17,1 ^{a,b}	480,0±58,5 ^a
44,7/60	31,4±13,8 ^a	149,3±36,7 ^{a,b}	644,3±137,9 ^a
44,7/90	27,7±3,6 ^a	130,7±10,6 ^{a,b}	596,3±191,7 ^a
44,7/120	32,5±4,0 ^a	170,0±9,9 ^a	712,9±150,5 ^a
Controle	24,9±5,2 ^a	124,9±21,9 ^{a,b}	475,9±87,0 ^a
Fresco	20,0±2,7 ^a	111,3±17,2 ^b	644,1±114,5 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria

Por sua vez, Kerr et al. (1997) relataram que as mudanças em T_2 por efeito do congelamento em kiwi também podem ser influenciadas pela assimetria no congelamento, ou seja, quando o fluxo de ar gelado atinge o produto diretamente os cristais de gelo são formados mais rapidamente que aqueles que ficam afastados dele, isto inclusive leva a formação de cristais de gelo em diferentes compartimentos celulares, fazendo com que exista essa grande dispersão entre os valores de T_2 . Porém, de forma geral sempre existe uma redução do T_2 do produto congelado/descongelado em relação ao produto fresco.

Ampliando a técnica da ressonância magnética nuclear de relaxometria para obter imagens Gamble (1994) conseguiu avaliar o efeito do congelamento na estrutura e migração da água e do açúcar do mirtilo, mostrando que o congelamento quebra as membranas, fenômeno que propicia a movimentação tanto da água quanto dos açúcares solúveis na parede celular das células da placenta que passam para o mesocarpo.

Os valores de T_{21} são pequenos pois a água presente forma ligações de hidrogênio com os íons e com o material macromolecular (pectina, celulose e hemicelulose) presentes na parede celular. O tempo T_{22} é produto da troca química entre a água e as proteínas do citoesqueleto e das enzimas no citoplasma. O T_{23} apresenta o maior tempo explicado pela menor troca química entre água, os açúcares e os outros compostos de baixo peso molecular (CHENG; ZHANG; ADHIKARI, 2014; CAO et al., 2018).

Por outro lado, a intensidade está relacionada à quantidade de água presente nesse compartimento celular (HILLS; REMIGEREAU, 1997), no mirtilo o T_{23} que corresponde aos vacúolos apresenta uma queda abrupta. O aumento da intensidade do sinal no T_{22} junto com a diminuição do valor sugere que o T_2 está intimamente relacionado ao aumento dos solutos (CHENG; ZHANG; ADHIKARI, 2014; CHITRAKAR; ZHANG; BHANDARI, 2019). Vários pesquisadores (DELEANU, 2016; KHAN; NAGY; KARIM, 2018; LI; ZHANG; YANG, 2019; NOWACKA et al., 2019; QIAO et al., 2019; SUN et al., 2019) reforçam o argumento que T_2 mede a mobilidade da água, enquanto a intensidade do sinal mede a quantidade da água presente no compartimento. Assim a redistribuição da água dentro dos compartimentos faz com que a intensidade do sinal acompanhe essa redistribuição.

Foucat e Lahaye (2014) sugeriram que durante o congelamento há compartimentos em que a água não congela por causa do aumento dos solutos, então nesses compartimentos o dano a estrutura é menor, além do aumento da concentração dos solutos, o campo magnético pode estar influenciando também para que a água não congele, e por isso aparecem os vacúolos com menor dano em certas frequências como 60 a 120 Hz a 44,7 mT.

Khan, Nagy e Karim (2018) sugeriram que a migração da água do meio intracelular para os espaços intercelulares durante a secagem da batata e da maçã, é gradual, dependendo da quebra das membranas celulares em diferentes estágios da secagem e, não acontece num colapso só, como se acreditava em estudos prévios. Este comportamento gradual, também pode acontecer durante o congelamento, pois o perfil de congelamento é da superfície para o centro, nesse sentido, o campo magnético também pode ajudar no retardo do congelamento da água nas áreas mais profundas do mirtilo.

Traffano-Schiffo et al. (2017) enumeraram diversos compostos que podem ser afetados pelos pulsos elétricos, entre eles eletrólitos, aminoácidos, clorofilas, carotenoides, e ácidos orgânicos, que por sua vez fazem parte de determinadas atividades biológicas dentro dos tecidos celulares de frutas. Entre os eletrólitos principalmente focam no sódio e no potássio, além do cálcio que participam do correto funcionamento da membrana celular quando estão sem perturbações e, mantêm assim a homeostase celular. No entanto, tanto os pulsos elétricos quanto os pulsos magnéticos podem afetar este equilíbrio agindo sobre estes íons, enfraquecendo ou fortalecendo a funcionalidade das membranas (plasmalema e tonoplasto) afetando o correto funcionamento do transporte ativo, o que por sua vez não consegue controlar a migração da água e outros compostos, propiciando as mudanças nos tempos de relaxação nos compartimentos celulares.

As respostas na mobilidade molecular, estão ligadas ao tipo de produto, e a sua interação com o congelamento. Assim Bulut (2015) não encontrou diferenças no comportamento do T_2 no morango nas temperaturas de congelamento entre -23 e -27°C, em ambos casos, a estrutura celular foi quebrada. No entanto, quando as mesmas condições foram aplicadas na ervilha, menores mudanças no T_2 foram atingidas. Além disso, diferenças no comportamento de T_2 podem ser influenciadas pelo tipo de tecido no fruto de mirtilo, assim Musse et al. (2009) reportaram diferenças

importantes no T_2 no tecido locular quando comparado ao núcleo, a placenta e o pericarpo externo do tomate, o que foi explicado pelas estruturas atípicas encontradas nos lóculos, comparado às células homogeneamente distribuídas nos outros tipos de tecidos. Como a estrutura do mirtilo é muito parecida com a do tomate, este é um fator a mais que explica as dispersões encontradas no T_2 .

Então, apesar de não encontrar diferenças significativas, o tratamento que teve o comportamento mais perto do mirtilo fresco, foi 44,7 mT/90 Hz. Reafirmando que o congelamento do mirtilo sob os campos magnéticos nessa condição, propicia uma melhor conservação da estrutura do mirtilo, e com isso as propriedades funcionais.

5.5.9 Atividade da Polifenoloxidase e da Peroxidase

Na Figura 45 é exibida a atividade da polifenoloxidase do mirtilo fresco e, congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados.

A atividade da polifenoloxidase foi maior e mais dispersa no mirtilo fresco, atingindo uma média de $75,9 \pm 30,5$ U/mg; apresentando diferenças significativas em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$). A atividade da polifenoloxidase no tratamento controle, foi da mesma ordem de grandeza daqueles submetidos ao congelamento sob campos magnéticos pulsados.

A literatura científica tem escassos trabalhos relatando a atividade da polifenoloxidase no mirtilo, assim Ge et al. (2019) reportaram 7 U/mg (considerando como uma unidade o aumento na absorbância de 0,001/min), o que daria 7U/g, valor que é menor que o aumento encontrado nesta pesquisa.

A respeito da ação dos campos magnéticos na atividade da polifenoloxidase do mirtilo, não foram encontrados trabalhos. Inclusive o material em outros frutos também é escasso. Em maçã Ma, Huang e Zhu (2010) reportaram uma inativação da polifenoloxidase de 93,1 % quando foram aplicados campos magnéticos pulsados de 4,5 T e 40 pulsos.

Figura 45 – Atividade da polifenoloxidase (Apfo) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

Em uva Gao, Zhang e Fan (2007) reportaram inibição da polifenoloxidase tratada por campos magnéticos oscilantes na ordem de grandeza de 0,87-1,79 A/m. Em maçã este mesmo grupo de pesquisa conseguiu inibir a polifenoloxidase (GAO et al., 2009) com resultados independentes do tempo de exposição quando os campos alternantes aplicados foram superiores a 1,67 A/m. Estes pesquisadores sugeriram que os campos magnéticos inibem a polifenoloxidase pela redução da afinidade ao substrato, o que refletiu na redução da velocidade de reação.

Estes resultados estão de acordo com os resultados desta tese, somado ao fato de que o congelamento por si só, consegue inativar esta enzima (79,3 %). Quando o congelamento foi assistido por campos magnéticos de 36,8 mT e 60 Hz atingiu-se 88,3 % de inativação. Estes resultados podem ser explicados, pelo maior dano às membranas acontecidas nos tratamentos de campos magnéticos a 36,8 mT, o que levou ao contato dos substratos fenólicos com esta enzima, de modo que a inativação

ou inibição pode estar associada à saturação pelos polifenóis, que aconteceu rapidamente quando o mirtilo foi descongelado. A dispersão pode estar associada à natureza desta enzima, pois esta pode ser solúvel ou ligada à membrana celular (MANTOVANI; CLÉMENTE, 2010; VANINI; KWIATKOWSKI; CLEMENTE, 2010; LIU et al., 2015)

De acordo com a hipótese proposta Toivonen e Brummell (2008) afirmaram que como a polifenoloxidase e peroxidase estão contidas nos diversos compartimentos intracelulares e como os polifenóis estão presentes nos vacúolos em concentrações que atingem 97 %, o principal mecanismo para que entrem em contato seria a quebra das membranas. Assim, Kader et al. (1997a), e Jiang (2000) mostraram que as antocianinas do mirtilo (apesar do impedimento estérico pela porção de açúcar na sua estrutura) podem ser degradadas pela ação da polifenoloxidase, e esta degradação é ainda maior na presença do ácido clorogênico, que está presente no mirtilo na concentração de 8,5 mg de ácido clorogênico/ kg de mirtilo fresco. O ácido cafeico, o pirocatecol, o pirogalol, o catecol, e o 4-metilcatecil também são preferidos pela polifenoloxidase do mirtilo (KADER et al., 1997b; JIANG, 2000; SIDDIQ; DOLAN, 2017).

Por outro lado, a polifenoloxidase contém o íon cobre no seu sítio ativo (PAZ, 2010; BRAVO; OSORIO, 2016), enquanto a peroxidase pode apresentar tanto o íon ferro quanto o íon cálcio (PAZ, 2010). Como os campos magnéticos agem sobre os elementos carregados, estes podem afetar a estrutura destas enzimas mudando a posição dos íons do sítio ativo e assim reduzir a atividade destas enzimas. Mudanças deste tipo pela ação de campos magnéticos têm sido reportadas em outros compostos, que tem o íon ferro como participante no sítio ativo (CONTE; WALKER, 2011; LINS et al., 2017) estas mudanças foram reportadas para densidades de fluxo magnético baixas em torno de 10 mT.

Ghole, Damle e Thiemann (1985) conseguiram inibir a atividade da enzima ácido ascórbico oxidase (que contém cobre como cofator no seu sítio ativo) de abóbora pela ação do campo magnético estático de 1,1 T, atingindo 22 % de inibição para períodos curtos (5 min) de exposição e de 35 % para períodos longos (35 min). Estes pesquisadores enfatizaram o fato de que a ação do campo magnético foi nula quando foram expostos independentemente à enzima e o substrato, mas se potencializa quando estes entram em contato, chegando a concluir que o mecanismo

de ação é mais cinético do que mudanças termodinâmicas na estrutura da enzima ou do substrato. No que diz respeito ao efeito cinético, o campo magnético aumenta a afinidade da enzima pelo substrato, mas diminui a velocidade de formação dos produtos, o que está intimamente ligado à concentração do substrato que quando aumenta inibe a formação do complexo enzima-substrato, situação semelhante à hipótese proposta para explicar a inibição/inativação da polifenoloxidase do mirtilo.

Outro mecanismo de inativação da polifenoloxidase do mirtilo são as modificações conformacionais nas estruturas secundária e terciária por efeito dos fatores como a pressão e temperatura. Assim Terefe et al. (2015) reportaram a inativação da PFO quando a pressão é superior a 500 MPa e na temperatura superior a 78 °C. Em níveis inferiores, o desdobramento da estrutura pode elevar a atividade da PFO, além de ativar isoenzimas.

Comportamento similar ao da peroxidase do mirtilo sob temperatura e altas pressões hidrostáticas tem sido reportado pelo mesmo grupo de pesquisa (TEREFE; DELON; VERSTEEG, 2017). Embora, para polifenoloxidase não tenham sido reportadas mudanças conformacionais pelo efeito dos campos magnéticos. No entanto, em outras enzimas como a α -amilase foram reportadas mudanças na estrutura secundária sob campos magnéticos na faixa de 150 a 450 mT (JIA et al., 2009). Então, as mudanças conformacionais da polifenoloxidase sob a ação dos campos magnéticos pulsados podem ser outro mecanismo para a inibição da polifenoloxidase do mirtilo.

Na Figura 46 se exhibe a atividade da peroxidase de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campos magnéticos pulsados. A atividade da peroxidase no mirtilo fresco, foi maior comparada aos tratamentos submetidos a congelamento com e sem campos magnéticos pulsados ($p < 0,05$), atingindo uma média de $86,7 \pm 23,7$ U/g. Já para os mirtilos congelados sob campos magnéticos, diferente do comportamento da polifenoloxidase, o campo magnético a 44,7 mT ajudou a reter maior atividade do que a 36,8 mT, atingindo um pico a 90 Hz (em que foi atingida uma inativação de 53 %, comparado aos valores maiores que 79 % que foram obtidos nos outros tratamentos).

Este comportamento sugere duas vias para sua explicação, relacionadas a outras variáveis, a primeira está ligada à estrutura celular já que a 44,7 mT houve

menor dano se comparado a 36,8 mT e ao tratamento controle (confirmado pela impedância bioelétrica), fazendo com que as enzimas permanecessem ativas nos compartimentos celulares em que se alojam.

Figura 46 – Atividade da peroxidase (Apdo) de mirtilo fresco e congelado com e sem (controle) campo magnético após o descongelamento

Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Fonte: Própria autoria

A segunda via, tem a ver com a estimulação na atividade da peroxidase gerada pelo estresse causado pelos campos magnéticos, como acontece com outras enzimas que pertencem à categoria das antioxidantes como a catalase e a superóxido dismutase (ZHAO et al., 2018). Como reforço desta segunda via Ge et al. (2019) argumentaram que o principal mecanismo de defesa dos fatores bióticos e abióticos no mirtilo é a produção de espécies reativas do oxigênio ERO (do inglês *reactive oxygen species*-ROS), que num nível adequado podem ajudar a manter a homeostase do fruto, no entanto, quando ocorre sobre produção, surge o efeito prejudicial que leva

à senescência do produto. Em concordância com este argumento os campos magnéticos podem afetar a produção de ERO, dentro das quais está presente o peróxido de hidrogênio, substrato da peroxidase (considerada uma enzima antioxidante). Então para atingir o equilíbrio entre a produção/eliminação das ERO, quanto maior conteúdo de peróxido de hidrogênio, maior atividade da peroxidase (SUN et al., 2012; ZHOU et al., 2014; SHASHURIN et al., 2017). No entanto, é preciso sintonizar a densidade de fluxo magnético e a frequência, na produção das ERO, estes são muito específicos e dependem da natureza do produto. Nesta tese, 44,7 mT e 90 Hz mostrou-se ser a melhor combinação.

Ge et al. (2019) reportaram 12 U/mg de atividade da peroxidase do mirtilo (considerando como unidade um incremento na absorbância de 0,01/min), o que resulta em 120 U/g. Esta atividade é maior que a encontrada nesta tese. A peroxidase apresentou maior atividade que a polifenoloxidase, o que está de acordo com o reportado neste trabalho. Ainda a esse respeito, Clemente e Correia (2006) indicaram que a peroxidase costuma ser mais resistente as temperaturas de congelamento do que a polifenoloxidase. Como os substratos são concentrados com o decorrer do congelamento, então as reações podem acontecer apesar das baixas temperaturas.

Assim como com a polifenoloxidase, não foram encontrados relatos do efeito dos campos magnéticos na peroxidase do mirtilo, e frutos em geral. Ma, Huang e Zhu (2011) reportaram pela primeira vez o efeito dos campos magnéticos pulsados na peroxidase de rabanete. Estes pesquisadores mostraram que os campos magnéticos pulsados conseguiram inativar a peroxidase de rabanete na faixa de 2-4 T e de 5-40 pulsos, conseguindo 67,67 % de inativação a 4 T e 40 pulsos. Esta inativação prevaleceu até por 48 h a 4°C após o tratamento com campos magnéticos, motivo pelo qual foi sugerida a inativação irreversível desta enzima, explicado pelas mudanças conformacionais da estrutura terciária da enzima.

Nesta linha de alterações conformacionais das enzimas, Atef et al. (1995) informaram que os campos magnéticos estáticos da ordem de 350-400 mT têm a capacidade de modificar a estrutura das moléculas como a hemoglobina, mostrando diferentes conformações acompanhadas por alterações nas interações intermoleculares, que foram estreitamente relacionadas com a água.

De Ninno e Castellano (2014) por sua parte no estudo da hidratação dos aminoácidos L-fenilalanina e L-glutamina sob a ação dos campos magnéticos tanto estáticos quanto oscilantes a 50 Hz, encontraram que estes podem afetar o equilíbrio ácido-base, fato explicado pelas mudanças ocorridas nas ligações de hidrogênio da água ao redor do esqueleto e do resíduo, o que sugere uma modificação na interação hidrofóbica permitindo que os aminoácidos fiquem agregados dependendo da polaridade e do resíduo dos aminoácidos.

Considerando que a peroxidase pertence ao grupo heme então está é rodeada por aminoácidos. Desta forma, os campos magnéticos pulsados podem modificar a estrutura terciária da peroxidase, agindo sobre os íons ferro do sítio ativo e acarretando mudanças na sua atividade. Estas propostas, abrem novas linhas de pesquisa, para sintonizar as condições sob as quais os campos magnéticos pulsados agem sobre estas enzimas e esclarecer os sítios específicos onde eles atuam.

6 CONCLUSÕES

Foi desenvolvido um equipamento portátil gerador de campos magnéticos pulsados, que pode ser inserido em diversos sistemas de congelamento. Este equipamento é constituído por um eletroímã, um controlador de tensão, e um controlador de frequência. Nos congeladores que atingem temperaturas de até -35°C a máxima densidade de fluxo a trabalhar é de 44,7 mT numa faixa de frequência de 0,5 até 200 Hz.

Foi desenvolvido um *Data Logger* que permite monitorar e coletar os dados das temperaturas e dos campos magnéticos em tempo real, tanto para a caracterização do espaço de ensaio quanto para o monitoramento do congelamento do mirtilo.

O comportamento dos campos magnéticos no espaço de ensaio, resultou em um valor rms de 36,8 mT na tensão de alimentação de 34 V, e aumenta para 44,7 mT quando a tensão é de 54 V, sendo campos não uniformes e não homogêneo. A frequências superiores a 10 Hz se evidencia o fenómeno de magnetização do núcleo, o que promove a formação de um campo magnético estático acima do qual se apresenta o campo magnético pulsado.

Em geral, os resultados apresentados permitem concluir que a hipótese que os campos magnéticos com densidade de fluxo magnético e frequência específicas podem agir no congelamento dos frutos de mirtilo alterando suas características físicas e químicas é verdadeira. Sendo que a combinação de 44,7 mT e 90 Hz permite a preservação das estruturas celulares com a consequente preservação das antocianinas e polifenóis.

7 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

Ampliar estudos de congelamento assistido por campos magnéticos pulsados em frutos e hortaliças pequenas, visando preservar suas estruturas celulares.

Realizar estudos de estimulação na produção de compostos bioativos em frutas e hortaliças pelos campos magnéticos.

Identificar e validar os mecanismos de atuação dos campos magnéticos na estrutura da polifenoloxidase e da peroxidase.

REFERÊNCIAS

- ABD-ELHADY, M. Effect of citric acid , calcium lactate and low temperature prefreezing treatment on the quality of frozen strawberry. **Annals of Agricultural Sciences**, Cairo, v. 59, n. 1, p. 69–75, 2014.
- ABUGOCH, L. et al. Shelf-life of fresh blueberries coated with quinoa protein/chitosan/sunflower oil edible film. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 96, n. 2, p. 619–626, 2016.
- ADEYEYE, S. The role of food processing and appropriate storage technologies in ensuring food security and food availability in Africa Introduction. **Nutrition & Food Science**, Doha, v. 47, n. 1, 2017.
- AGUILAR, K.; GARVÍN, A.; IBARZ, A. Effect of UV–Vis processing on enzymatic activity and the physicochemical properties of peach juices from different varieties. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 48, n. September 2017, p. 83–89, 2018.
- AHMED, I. et al. Evaluation of the effects of Extremely Low Frequency (ELF) Pulsed Electromagnetic Fields (PEMF) on survival of the bacterium *Staphylococcus aureus*. **EPJ Nonlinear Biomedical Physics**, Marseille, v. 1, n. 1, p. 1–17, 2013.
- AHMED, I.; VOJISAVLJEVIC, V.; PIROGOVA, E. Investigation of the Effect of Extremely Low Frequency (ELF) Pulsed Electromagnetic Field (PEMF) on Collagenase Enzyme Kinetics. **Proceedings of the International Conference on Biomedical Electronics and Devices**, Barcelona, p. 143–147, 2013.
- ALBARICI, T.; DE FREITAS, D.; CRUZ, J. **Protocolos de análises para polpa de açaí: um guia pratico de consulta**. 1a. ed Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, p. 15-33, 2009. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/257308/protocolos-de-analises-para-polpa-de-acai-um-guia-pratico-de-consulta>. Acesso em: 15 fevereiro, 2019.
- ALEKSANDROV, V. D.; BARANNIKOV, A. A.; DOBRITSA, N. V. Effect of magnetic field on the supercooling of water drops. **Inorganic Materials**, Moscow, v. 36, n. 9, p. 895–898, 2000.
- ALFARO, L. et al. Effects of liquid nitrogen pretreatment on the osmotic dehydration and quality of cryogenically frozen blueberries (*Vaccinium angustifolium* Ait.). **Food Bioscience**, Wuxi, v. 22, n. November 2016, p. 165–169, 2018.
- ALI, H. I.; AL-HILPHY, A. R. S.; AL-DARWASH, A. K. The effect of magnetic field treatment on the characteristics and yield of Iraqi local white cheese. **IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science Ver. II**, Uttar Pradesh, v. 8, n. 9, p. 2319–2372, 2015.
- ALIBABIĆ, V. et al. Application of multivariate statistic to classify blueberry fruits. In: **New Technologies, Deveopment and Applications**. Springer International Publishing, Switzerland, v.42. p.498-506, 2019.
- ANAYA, M. et al. Influencia del campo magnético estático en la turbidez de la cerveza de alta gravedad Influence of application static magnetic on the turbidity of high gravity beer. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 273–277, 2013.

ANAYA, M.; GUZMÁN, T. M.; ACEA, C. M. Tratamiento magnetico aplicado a la Industria Alimentaria. **Ciencia y Tecnologia de Alimentos**, La Habana, v. 21, n. 2, p. 61–67, 2011.

ANDO, Y. et al. Impact of blanching and freeze-thaw pretreatment on drying rate of carrot roots in relation to changes in cell membrane function and cell wall structure. **LWT - Food Science and Technology**, Georgia, v. 71, p. 40–46, 2016a.

ANDO, Y. et al. Effect of air-dehydration pretreatment before freezing on the electrical impedance characteristics and texture of carrots. **Journal of Food Engineering**, California, v. 169, p. 114–121, 2016b.

ANDO, Y.; HAGIWARA, S.; NABETANI, H. Thermal inactivation kinetics of pectin methylesterase and the impact of thermal treatment on the texture, electrical impedance characteristics and cell wall structure of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.). **Journal of Food Engineering**, California, v. 199, p. 9–18, 2017.

ANDO, Y.; MIZUTANI, K.; WAKATSUKI, N. Electrical impedance analysis of potato tissues during drying. **Journal of Food Engineering**, California, v. 121, n. 1, p. 24–31, 2014.

ANGELETTI, P. et al. Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening and cell wall degradation of two blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 58, n. 2, p. 98–103, 2010.

ANZALDÚA-MORALES, A.; BRUSEWITZ, G. H.; ANDERSON, J. A. Pecan Texture as Affected by Freezing Rates , Storage Temperature , and Thawing Rates. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 64, n. 2, p. 332–335, 1999.

AOAC. AOAC Official Methods of Analysis. **Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C.**, v. 18th. p. 136–138, 2005.

ARUNYANART, T. et al. Rapid Method Based on Proton Spin-Spin Relaxation Time for Evaluation of Freezing Damage in Frozen Fruit and Vegetable. **Journal of Food Processing and Preservation**, Dublin, v. 39, n. 6, p. 2802–2810, 2015.

ASGHAR, T. et al. Laser light and magnetic field stimulation effect on biochemical, enzymes activities and chlorophyll contents in soybean seeds and seedlings during early growth stages. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Jorhat, v. 165, p. 283–290, 2016.

ATEF, M. M. et al. Effects of a static magnetic field on haemoglobin structure and function. **International Journal of Biological Macromolecules**, Colorado, v. 17, n. 2, p. 105–111, 1995.

AZIMIAN, F.; ROSHANDEL, P. Magnetic field effects on total phenolic content and antioxidant activity in *Artemisia sieberi* under salinity. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 20, n. 3, p. 264–270, 2015.

AZUMA, A. et al. MYB diplotypes at the color locus affect the ratios of tri/di-hydroxylated and methylated/non-methylated anthocyanins in grape berry skin. **Tree Genetics and Genomes**, Germany, v. 11, n. 2, 2015.

BARBOSA-CANOVAS, G. V. et al. Oscillating Magnetic Fields. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 65, n. s8, p. 86–89, nov. 2000.

BARNES, F. S.; GREENEBAUM, B. The effects of weak magnetic fields on radical pairs. **Bioelectromagnetics**, Chicago, v. 36, n. 1, p. 45–54, 2015.

BENLLOCH-TINOCO, M. et al. Comparison of microwaves and conventional thermal treatment on enzymes activity and antioxidant capacity of kiwifruit puree. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 19, p. 166–172, 2013.

BIGLIA, A. et al. Case Studies in Food Freezing at Very Low Temperature. **Energy Procedia**, United Kingdom, v. 101, n. September, p. 305–312, 2016.

BOUKAMP, B. A. A nonlinear least squares fit procedure for analysis of immittancs data of electrochemical systems. **Solid State Ionics**, Stuttgart, v. 20, p. 31–44, 1986.

BRAVO, K.; OSORIO, E. Characterization of polyphenol oxidase from Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L .) fruit. **Food Chemistry**, Norwich, v. 197, p. 185–190, 2016.

BULUT, M. **Effect of different freezing rates on the texture and quality parameters of selected fruit and vegetable**. 2015. 91f. Dissertação (Mestrado) – Department of Food Engineering, Middle East Technical University, Ancara, Turquia, 2015.

CANLI, O. et al. Effects of extremely low magnetic field on the production of invertase by *Rhodotorula glutinis*. **Toxicology and industrial health**, Unites States, v. 27, n. 1, p. 35–9, 2011.

CANUTO, G. A. B. et al. Development and validation of a liquid chromatography method for anthocyanins in strawberry (*Fragaria* spp.) and complementary studies on stability, kinetics and antioxidant power. **Food Chemistry**, Norwich, v. 192, p. 566–574, 2016.

CAO, X. et al. Effects of freezing conditions on quality changes in blueberries. **J Sci FoodAgric**, Davis, v. 98, p. 4673–4679, 2018.

CARAVIA, L.; COLLINS, C.; TYERMAN, S. D. Electrical impedance of Shiraz berries correlates with decreasing cell vitality during ripening. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Milton, v. 21, n. 3, p. 430–438, 2015.

CASTREJÓN, A. D. R. et al. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, Norwich, v. 109, n. 3, p. 564–572, 2008.

CELEJEWSKA, K.; MIESZCZAKOWSKA-FRA, M. The Influence of Ultrasound and Cultivar Selection on the Biocompounds and Physicochemical Characteristics of Dried Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L .) Snacks. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 83, n. 9, p. 2305–2316, 2018.

ÇELİK, Ö. et al. Effects of Magnetic Field on Activity of Superoxide Dismutase and Catalase in *Glycine max* (L .) Merr . Roots. **Polish J. of Environ. Stud.**, Poland, v. 18, n. 2, p. 175–182, 2009.

CELLINI, L. et al. Bacterial response to the exposure of 50 Hz electromagnetic fields. **Bioelectromagnetics**, Chicago, v. 29, n. 4, p. 302–311, 2008.

CHANG, K.; WENG, C. The effect of an external electric field on the structure of liquid water using molecular dynamics simulation. **Journal of Applied Physics**,

Leipzig, v. 100, n. 4, p. 43917–43922, 2006.

CHAROENREIN, S.; OWCHAROEN, K. Effect of freezing rates and freeze-thaw cycles on the texture, microstructure and pectic substances of mango. **International Food Research Journal**, Malaysia, v. 23, n. 2, p. 613–620, 2016.

CHEA, S. et al. Fruit softening correlates with enzymatic and compositional changes in fruit cell wall during ripening in 'Bluecrop' highbush blueberries. **Scientia Horticulturae**, Canada, v. 245, n. June 2018, p. 163–170, 2019.

CHEN, D.-X. et al. Demagnetizing correction in fluxmetric measurements of magnetization curves and hysteresis loops of ferromagnetic cylinders. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, Campinas, v. 449, p. 447–454, 2018.

CHEN, L. et al. Phytochemical properties and antioxidant capacities of various colored berries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 94, n. 2, p. 180–188, 2014.

CHENG, L. et al. Emerging techniques for assisting and accelerating food freezing processes: A review of recent research progresses. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 57, n. 4, p. 769–781, 2017.

CHENG, X.; ZHANG, M.; ADHIKARI, B. Effect of Power Ultrasound and Pulsed Vacuum Treatments on the Dehydration Kinetics, Distribution, and Status of Water in Osmotically Dehydrated Strawberry: a Combined NMR and DSC Study. **Food Bioprocess Technol**, Dublin, v. 7, p. 2782–2792, 2014.

CHEVALIER, D.; LE BAIL, A.; GHOU, M. Freezing and ice crystals formed in a cylindrical food model: part II. Comparison between freezing at atmospheric pressure and pressure-shift freezing. **Cell**, United States, v. 46, p. 287–293, 2000.

CHIABRANDO, V.; GIACALONE, G. Shelf-life extension of highbush blueberry using 1-methylcyclopropene stored under air and controlled atmosphere. **Food Chemistry**, Norwich, v. 126, n. 4, p. 1812–1816, 2011.

CHIABRANDO, V.; GIACALONE, G.; ROLLE, L. Mechanical behaviour and quality traits of highbush blueberry during postharvest storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 89, n. 6, p. 989–992, 2009.

CHITRAKAR, B.; ZHANG, M.; BHANDARI, B. Novel Intelligent Detection of Safer Water Activity by LF-NMR Spectra for Selected Fruits and Vegetables during Drying. **Food and Bioprocess Technology**, Dublin, v. 12, n. 7, p. 1093–1101, 2019.

CHO, H. et al. Pulsed Electromagnetic Field Stimulate Cellular Proliferation in Different Types of Cells. **IEEE Transactions on Magnetism**, Maryland, v. 52, n. 7, p. 10–13, 2016.

CHOI, I. L. S.; KWAK, E. J. Comparison of antioxidant activities and bioactive compounds between Bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) and other berries. **Food Science and Biotechnology**, South Korea, v. 23, n. 5, p. 1677–1682, 2014.

CHORFA, N.; SAVARD, S.; BELKACEMI, K. An efficient method for high-purity anthocyanin isomers isolation from wild blueberries and their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, Norwich, v. 197, p. 1226–1234, 2016.

CHOURIO, A. M. et al. Inactivation of peroxidase and polyphenoloxidase in coconut

water using pressure-assisted thermal processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 49, n. December 2017, p. 41–50, 2018

CHU, W. et al. Changes in Cuticular Wax Composition of Two Blueberry Cultivars during Fruit Ripening and Postharvest Cold Storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 66, n. 11, p. 2870–2876, 2018.

CHUNG, S. W.; YU, D. J.; LEE, H. J. Changes in anthocyanidin and anthocyanin pigments in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* cv. Bluecrop) fruits during ripening. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, South Korea, v. 57, n. 5, p. 424–430, 2016.

CLEMENTE, E.; CORREIA, J. M. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in uvaia fruit at different maturation stages. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, Helsinki, v. 4, n. 2, p. 112–115, 2006.

CONTE, S. S.; WALKER, E. L. Transporters contributing to iron trafficking in plants. **Molecular Plant**, Berkeley, v. 4, n. 3, p. 464–476, 2011.

DAAS AMIOUR, S.; HAMBABA, L. Effect of pH, temperature and some chemicals on polyphenoloxidase and peroxidase activities in harvested Deglet Nour and Ghars dates. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 111, p. 77–82, 2016.

DAI, C. et al. Effects of Ultrafine Grinding and Pulsed Magnetic Field Treatment on Removal of Free Gossypol from Cottonseed Meal. **Food and Bioprocess Technology**, Dublin, v. 9, p. 1494–1501, 2016.

DALVI-ISFAHAN, M. et al. Review on the Control of Ice Nucleation by Ultrasound Waves, Electric and Magnetic Fields. **Journal of Food Engineering**, California, v. 195, p. 222–234, 2017.

DANTAS, A. M. et al. Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. **Food Chemistry**, Norwich, v. 274, p. 202–214, 2019.

DE ANCOS, B. et al. Frozen Storage Effects on Anthocyanins and Volatile Compounds of Raspberry Fruit. **J. Agric. Food Chem**, München, v. 48, p. 873–879, 2000.

DE LIMA, M. A. C. et al. Qualidade, fenóis e enzimas oxidativas de uva italia sob influência do cálcio, durante a maturação. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2493–2499, 2000.

DE NINNO, A.; CASTELLANO, A. C. Influence of magnetic fields on the hydration process of amino acids: Vibrational spectroscopy study of L-phenylalanine and L-glutamine. **Bioelectromagnetics**, Chicago, v. 35, n. 2, p. 129–135, 2014.

DEJMEK, P.; MIYAWAKI, O. Relationship between the Electrical and Rheological Properties of Potato Tuber Tissue after Various Forms of Processing. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Ibaraki, v. 66, n. 6, p. 1218–1223, 2002.

DELEANU, C. Nuclear magnetic resonance spectroscopy applications. **Current Research in Nutrition and Food Science**, Mumbai, v. 4, Sl.2, p. 303–315, 2016.

DENG, J.B. et al. Effects of cold storage and 1-methylcyclopropene treatments on ripening and cell wall degrading in rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fruit. **Food**

Science and Technology International, Espanha, v. 20, n. 4, p. 287–298, 2014.

DÍAZ, P. et al. Thermal transitions of pulp and cuticle of blueberries. **Thermochimica Acta**, Rostock, v. 525, n. 1–2, p. 56–61, 2011.

DO, G. S. et al. Three-dimensional measurement of ice crystals in frozen beef with a micro-slicer image processing system. **International Journal of Refrigeration**, Berlin, v. 27, n. 2, p. 184–190, 2004.

DONAHUE, D. W.; WORK, T. M. Sensory and textural evaluation of maine wild blueberries for the fresh pack market. **Journal of Texture Studies**, Wageningen, v. 29, n. 3, p. 305–312, 1998.

DUONG, T.; BALABAN, M.; PERERA, C. Effects of Combined High Hydrostatic Pressure and Dense Phase Carbon Dioxide on the Activity, Structure and Size of Polyphenoloxidase. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 80, n. 11, p. E2486–E2494, 2015.

DUTHIE, S. J. Review Berry phytochemicals , genomic stability and cancer : Evidence for chemoprotection at several stages in the carcinogenic process. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 51, p. 665–674, 2007.

EDMINISTER, J.; NAHVI-DEKHRODI, M. **Electromagnetismo**. 3º ed. Porto Alegre, p.357. 2013.

EICKEN, C.; KREBS, B.; SACCHETTINI, J. C. Catechol oxidase - Structure and activity. **Current Opinion in Structural Biology**, Cambridge, v. 9, n. 6, p. 677–683, 1999.

ERIKSON, U. et al. Quality of Atlantic Cod Frozen in Cell Alive System, Air-Blast, and Cold Storage Freezers. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, Oregon, v. 25, n. 7, p. 1001–1020, 2016

EŞİTKEN, A.; TURAN, M. Alternating magnetic field effects on yield and plant nutrient element composition of strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa). **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, Uppsala, v. 54, n. 3, p. 135–139, 2004.

FACHINELLO, J. C. Blueberry. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 1–4, 2008.

FANG, X. et al. Effects of cuticular wax on the postharvest quality of blueberry fruit. **Food Chemistry**, Norwich, v. 239, n. June, p. 68–74, 2017.

FAO. **Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention**. 2011. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/014/mb060e/mb060e00.pdf>>. Acesso em: 5 mar. 2017.

FERNÁNDEZ-MARTÍN, F. et al. Impact of magnetic assisted freezing in the physicochemical and functional properties of egg components. Part 1: Egg yolk. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 49, n. July, p. 176–183, 2018.

FOJT, L. et al. Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* and *Staphylococcus aureus*. **Bioelectrochemistry**, London, v. 63, n. 1–2, p. 337–341, 2004.

- FOUCAT, L.; LAHAYE, M. A subzero ^1H NMR relaxation investigation of water dynamics in tomato pericarp. **Food Chemistry**, Norwich, v. 158, p. 278–282, 2014.
- FUENTES, L.; ACEVEDO, D.; GÉLVEZ, V. M. Efecto del Ultrasonido y Campos Magnéticos en la Carne de Lomo Atún (*Thunnus albacares*). **Información tecnológica**, La Serena, v. 27, n. 2. p. 21-30. 2016.
- GAMBHIR, P. N. et al. Proton spin – spin relaxation time of peel and flesh of navel orange varieties exposed to freezing temperature. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 85, p. 2482–2486, 2005.
- GAMBLE, G. R. Non-Invasive Determination of Freezing Effects in Blueberry Fruit Tissue by Magnetic Resonance Imaging. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 59, n. 3, p. 571–573, 1994.
- GAO, M. et al. Alternating Magnetic Field Preservation of MP Lotus Roots. **Food Science**, China, v. 29, n. 01, p. 322–324, 2008.
- GAO, M. et al. Effects of Magnetic Field on Reaction Kinetics of Apple Polyphenol-oxidase. **Food Science**, China, v. 30, n. 05, p. 60–63, 2009.
- GAO, M.; ZHANG, C.; FAN, H. Preservation Study on Fresh Grapes by Alternating Magnetic Field. **Food Science**, China, v. 28, n. 11, p. 587–590, 2007.
- GAO, M.; ZHANG, J.; FENG, H. Extremely low frequency magnetic field effects on metabolite of *Aspergillus niger*. **Bioelectromagnetics**, Chicago, v. 32, n. 1, p. 73–78, 2011.
- GARCIA-PALAZON, A. et al. The effects of high hydrostatic pressure on b-glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Food Chemistry**, Norwich, v. 88, n. 1, p. 7–10, 2004.
- GARCÍA, E. J. et al. ELF magnetic fields generator, variable in intensity and frequency for biological applications. **2nd International Conference on Electrical and Electronics Engineering, ICEEE and XI Conference on Electrical Engineering, CIE 2005**, México, v. 2005, n. Cie, p. 185–188, 2005.
- GE, Y. et al. Effect of sodium nitroprusside on antioxidative enzymes and the phenylpropanoid pathway in blueberry fruit. **Food Chemistry**, Norwich, v. 295, n. December 2018, p. 607–612, 2019.
- GEIDOBLE, R.; WINTER, G. Controlled ice nucleation in the field of freeze-drying: Fundamentals and technology review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Regensburg, v. 85, n. 2, p. 214–222, 2013.
- GHOLE, V. S.; DAMLE, P. S.; THIEMANN, W. H. P. Effect of Magnetic Field on Ascorbic Acid Oxidase Activity I, **Notizen**, Poona, p. 355–358, 1985.
- GIONGO, L. et al. Texture profiling of blueberries (*Vaccinium* spp.) during fruit development, ripening and storage. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 76, p. 34–39, 2013.
- GONZÁLEZ, E. M.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Partial characterization of peroxidase and polyphenol oxidase activities in blackberry fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 48, n. 11, p. 5459–5464, 2000.

GUINÉ, R. P. F. et al. Evaluation of phenolic compounds and antioxidant activity of blueberries and modelization by artificial neural networks. **International Journal of Fruit Science**, Nebraska, v. 18, n. 2, p. 199–214, 2018.

HAGER, A. et al. Processing and Storage Effects on Monomeric Anthocyanins , Percent Polymeric Color , and Antioxidant Capacity of Processed Blueberry Products. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 73, n. 6, p. 134–140, 2008.

HAGIWARA, Y.; AOMATSU, H. Supercooling enhancement by adding antifreeze protein and ions to water in a narrow space. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, Hong Kong, v. 86, p. 55–64, 2015.

HAILE, M. et al. Efficacy in Microbial Sterilization of Pulsed Magnetic Field Treatment. **International Journal of Food Engineering**, Suzhou, v. 4, n. 4, 8 jan. 2008.

HAIYING, W.; SHAOZHI, Z.; GUANGMING, C. Experimental study on the freezing characteristics of four kinds of vegetables. **LWT - Food Science and Technology**, Georgia, v. 40, n. 6, p. 1112–1116, 2007.

HAN, X.; SHEN, T.; LOU, H. Dietary polyphenols and their biological significance. **International Journal of Molecular Sciences**, Vigo, v. 8, n. 9, p. 950–988, 2007.

HAQ, Z. ul et al. Magnetically treated water irrigation effect on turnip seed germination, seedling growth and enzymatic activities. **Information Processing in Agriculture**, China, v. 3, n. 2, p. 99–106, 2016.

HARA, M. et al. Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyl. **Plant Science**, Davis, v. 164, n. 2, p. 259–265, 2003.

HARKER, F. R.; DUNLOP, J. Electrical impedance studies of nectarines during coolstorage and fruit ripening. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 4, n. 1–2, p. 125–134, 1994.

HARKER, F. R.; FORBES, S. K. Ripening and development of chilling injury in persimmon fruit: An electrical impedance study. **N Z J Crop Hortic Sci**, New Zealand, v. 25, n. 2, p. 149–157, 1997.

HARTE, F. et al. Potential use of 18 Tesla, static and pulsed magnetic fields on *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Food Processing and Preservation**, Dublin, v. 25, n. 3, p. 223–235, 2001.

HILLS, B. P.; REMIGEREAU, B. NMR studies changes in subcellular water compartmentation in parenchyma apple tissue during drying and freezing. **International Journal of Food Science and Technology**, Christchurch, v. 32, p. 51–61, 1997.

HILLS, B. P.; TAKACS, S. F.; BELTON, P. S. A new interpretation of proton NMR relaxation time measurements of water in food. **Food Chemistry**, Norwich, v. 37, n. 2, p. 95–111, 1990.

HOMAYUNI, F. et al. Viscosity Reduction of Heavy and Extra Heavy Crude Oils by Pulsed Electric Field. **Petroleum Science and Technology**, Wyoming, v. 29, n. 19, p. 2052–2060, 2011.

HORBOWICZ, M. et al. Anthocyanins of Fruits and Vegetables - Their Occurrence,

Analysis and Role in Human Nutrition. **Vegetable Crops Research Bulletin**, Poland, v. 68, p. 5–22, 2008.

HOWARD, L. R. et al. Improved stability of blueberry juice anthocyanins by acidification and refrigeration. **Journal of Berry Research**, Ancona, v. 6, p. 189–201, 2016.

HSU, C. H.; MANSFELD, F. Concerning the conversion of the constant phase element parameter Y_0 into a capacitance. **Corrosion**, Virginia, v. 57, n. 9, p. 747–748, 2001.

HU, H.; HOU, H.; WANG, B. Molecular dynamics simulations of ice growth from supercooled water when both electric and magnetic fields are applied. **Journal of Physical Chemistry C**, Illinois, v. 116, n. 37, p. 19773–19780, 2012.

HU, M.; LI, Q. An efficient model transfer approach to suppress biological variation in elastic modulus and firmness regression models using hyperspectral data. **Infrared Physics and Technology**, Southampton, v. 99, n. January, p. 140–151, 2019.

HUNT, R. W. et al. Electromagnetic biostimulation of living cultures for biotechnology, biofuel and bioenergy applications. **International Journal of Molecular Sciences**, Vigo, v. 10, n. 10, p. 4515–4558, 2009.

IMAIZUMI, T. et al. Effects of hot water treatment on electrical properties, cell membrane structure and texture of potato tubers. **Journal of Food Engineering**, California, v. 162, p. 56–62, 2015.

IMBERT, J. Estudio de la influencia del empleo de agua tratada magnéticamente en su velocidad de cristalización. **Tecnología Química**, Santiago de Cuba, v. XIX, n. 2, p. 66–70, 1999.

IWASAKA, M. et al. Effects of pulsed magnetic fields on the light scattering property of the freezing process of aqueous solutions. **Journal of Applied Physics**, Leipzig, v. 109, n. 7, p. 1–4, 2011.

IWASAKA, M.; UENO, S. Structure of water molecules under 14 T magnetic field. **Journal of Applied Physics**, Leipzig, v. 83, n. 11, p. 6459–6461, 1998.

JAMES, C.; REITZ, B.; JAMES, S. J. The Freezing Characteristics of Garlic Bulbs (*Allium sativum* L.) Frozen Conventionally or with the Assistance of an Oscillating Weak Magnetic Field. **Food and Bioprocess Technology**, Dublin, v. 8, p. 702–708, 2015.

JAMES, C.; SEIGNEMARTIN, V.; JAMES, S. J. The freezing and supercooling of garlic (*Allium sativum* L.). **International Journal of Refrigeration**, Berlin, v. 32, n. 2, p. 253–260, 2009.

JANG, J. H.; MOON, K. D. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. **Food Chemistry**, Norwich, v. 124, n. 2, p. 444–449, 2011.

JHA, P. et al. An Overview on Magnetic Field and Electric Field Interactions with Ice Crystallisation; Application in the Case of Frozen Food. **Crystals**, Konstanz, v. 7, n. 299, p. 1–22, 2017.

JIA, J. et al. Alternating Magnetic Field Prior to Cutting Reduces Wound Responses

and Maintains Fruit Quality of Cut cucumis melo L . cv Hetao. **The Open Biotechnology Journal**, Naples, v. 9, p. 230–235, 2015.

JIA, S. et al. Effect of static magnetic field on α -amylase activity and enzymatic reaction. **Transactions of Tianjin University**, Tianjin, v. 15, n. 4, p. 272–275, 2009.

JIANG, Y. Role of anthocyanins, polyphenol oxidase and phenols in lychee pericarp browning. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 80, n. 3, p. 305–310, 2000.

JIANG, Y. et al. Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. **Food Chemistry**, Norwich, v. 88, n. 3, p. 443–446, 2004.

JIN, T. Z.; YU, Y.; GURTNER, J. B. Effects of pulsed electric field processing on microbial survival, quality change and nutritional characteristics of blueberries. **LWT - Food Science and Technology**, Georgia, v. 77, p. 517–524, 2017.

JIN, Y. et al. Effect of Magnetic Field and Flowing Saline Solution on Salt Content in Garlic During Brining. **Food and Bioprocess Technology**, Dublin, v. 8, p. 2495–2499, 2015.

JIN, Y. et al. Rotary magnetic field combined with pipe fluid technique for efficient extraction of pumpkin polysaccharides. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 35, p. 103–110, 2016a.

JIN, Y. et al. Effect of rotating magnetic field and flowing Ca^{2+} solution on calcium uptake rate of fresh-cut apple. **LWT - Food Science and Technology**, Georgia, v. 66, p. 143–150, 2016b.

JINYANG, L. et al. Diagnosis of potassium nutrition level in *Solanum lycopersicum* based on electrical impedance. **Biosystems Engineering**, Northumberland, v. 147, p. 130–138, 2016.

JO, H. et al. Effect of Freezing Temperature on Blueberry Quality. **J Korean Soc Food Sci Nutr**, Cheongju, v. 43, n. 12, p. 1906–1912, 2014.

JOHNK, C. T. **Engineering electromagnetic fields and waves**. 2° ed. Wiley, Canada, p. 656, 1988.

JOY, P.; LADA, R. Crack development in individually quick frozen cut and peel carrots. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 71, n. 9, 2006.

JUANSAN, J. et al. Electrical Behavior of Garut Citrus Fruits During Ripening Changes in Resistance and Capacitance Models of Internal Fruits. **International Journal of Engineering & Technology IJET-IJENS**, Mansoura, v. 12, n. 04, p. 1–8, 2012.

KADER, F. et al. Mechanism of Browning in Fresh Highbush Blueberry Fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). Role of Blueberry Polyphenol Oxidase, Chlorogenic Acid and Anthocyanins. **J Sci Food Agric**, Davis, v. 74, p. 31–34, 1997a.

KADER, F. et al. Mechanism of Browning in Fresh Highbush Blueberry Fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). Partial Purification and Characterisation of Blueberry Polyphenol Oxidase. **J Sci Food Agric**, Davis, v. 73, p. 513–516, 1997b.

KADER, F. et al. Involvement of blueberry peroxidase in the mechanisms of anthocyanin degradation in blueberry juice. **Journal of Food Science**, North

Carolina, v. 67, n. 3, p. 910–915, 2002.

KAKU, M. et al. Cryopreservation of periodontal ligament cells with magnetic field for tooth banking. **Cryobiology**, Luton, v. 61, n. 1, p. 73–78, 2010.

KANADE, S. R. et al. Functional interaction of diphenols with polyphenol oxidase: Molecular determinants of substrate/inhibitor specificity. **FEBS Journal**, Dublin, v. 274, n. 16, p. 4177–4187, 2007.

KARELOVIC, F. I. **Influencia del método de congelamiento en el daño microestructural de arándanos liofilizados. 2012. 61f. Memoria para Optar al título de Ingeniero Civil Mecánico** - Departamento de Ingeniería Mecánica, Universidad de Chile, Santiago de Chile, 2012.

KAWATA, T. et al. Water molecule movement by a magnetic field in freezing for tooth banking. **Biomedical Research**, Shizuoka, v. 21, n. 4, p. 351–354, 2010.

KERR, W. L. et al. Freezing effects in fruit tissue of kiwifruit observed by magnetic resonance imaging. **Scientia Horticulturae**, British Columbia, v. 69, n. 3–4, p. 169–179, 1997.

KETATA, M.; DESJARDINS, Y.; RATTI, C. Effect of liquid nitrogen pretreatments on osmotic dehydration of blueberries. **Journal of Food Engineering**, California, v. 116, n. 1, p. 202–212, 2013.

KHAN, M. I. H. et al. Investigation of bound and free water in plant-based food material using NMR T2 relaxometry. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 38, p. 252–261, 2016.

KHAN, M. I. H.; KARIM, M. A. Cellular water distribution, transport, and its investigation methods for plant-based food material. **Food Research International**, Netherlands, v. 99, p. 1–14, 2017.

KHAN, M. I. H.; NAGY, S. A.; KARIM, M. A. Transport of cellular water during drying: An understanding of cell rupturing mechanism in apple tissue. **Food Research International**, Netherlands, v. 105, p. 772–781, 2018.

KHLIL, S. H. et al. 2010 Cytogenic and bacteriological study of raw and magnetic milk, **Journal of Biotechnology Research Center**, Iraq, v. 4, n. 2, p. 70–75, 2010.

KIANI, H.; SUN, D. W. Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. **Trends in Food Science and Technology**, England, v. 22, n. 8, p. 407–426, 2011.

KIPRIYANOV, A.; DOKTOROV, A.; PURTOV, P. Magnetic field effects on bistability and bifurcation phenomena in lipid peroxidation. **Bioelectromagnetics**, Chicago, v. 36, n. 7, p. 485–493, 2015.

KITAZAWA, K. et al. Magnetic field effects on water, air and powders. **Physica B-Condensed Matter**, Amsterdam, v. 294, p. 709–714, 2001.

KOBAYASHI, A.; KIRSCHVINK, J. L. A ferromagnetic model for the action of electric and magnetic fields in cryopreservation. **Cryobiology**, Luton, v. 68, n. 2, p. 163–165, 2014.

KOBAYASHI, R. et al. The effect of supercooling on ice structure in tuna meat observed by using X-ray computed tomography. **International Journal of**

Refrigeration, Berlin, v. 60, p. 270–277, 2015.

KOBAYASHI, R.; SUZUKI, T. Effect of supercooling accompanying the freezing process on ice crystals and the quality of frozen strawberry tissue. **International Journal of Refrigeration**, Berlin, v. 99, p. 94–100, 2019.

KOJIMA, S. et al. Cryopreservation of rat MSCs by use of a programmed freezer with magnetic field. **Cryobiology**, Luton, v. 67, n. 3, p. 258–263, 2013.

KOLTERMANN, P. I. **Cálculo de campos magnéticos considerando histerese.2001. 117f. Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

KOVACS, P. E.; VALENTINE, R. L.; ALVAREZ, P. J. J. The effect of static magnetic fields on biological systems: Implications for enhanced biodegradation. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, California, v. 27, n. 4, p. 319–382, 1997.

LAMANAUSKAS, N. et al. Pulsed electric field-assisted juice extraction of frozen/thawed blueberries. **Zemdirbyste-Agriculture**, Lithuania, v. 102, n. 1, p. 59–66, 2015.

LAMIKANRA, O.; WATSON, M. a. Effects of ascorbic acid on peroxidase and polyphenoloxidase activities in fresh-cut cantaloupe melon. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 66, n. 9, p. 1283–1286, 2001.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. . Impact of Juice Processing on Blueberry Anthocyanins and Polyphenolics : Comparison of Two Pretreatments. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 67, n. 5, p. 1660–1667, 2002.

LEE, S.-Y. S. et al. Determination of Cryoprotectant for Magnetic Cryopreservation of Dental Pulp Tissue. **Tissue Engineering Part C: Methods**, Houston, v. 18, n. 6, p. 397–407, 2012.

LEE, S. H.; CHOI, W.; JUN, S. Conventional and Emerging Combination Technologies for Food Processing. **Food Engineering Reviews**, Washington, v. 8, n. 4, p. 414–434, 2016.

LI, D.; ZHU, Z.; SUN, D. W. Effects of freezing on cell structure of fresh cellular food materials: A review. **Trends in Food Science and Technology**, England, v. 75, n. February, p. 46–55, 2018.

LI, L.; ZHANG, M.; YANG, P. Suitability of LF-NMR to analysis water state and predict dielectric properties of Chinese yam during microwave vacuum drying. **LWT - Food Science and Technology**, Georgia, v. 105, n. September 2018, p. 257–264, 2019.

LIMA, P. **Avaliação da atividade e estabilidade da lisozima da clara de ovo submetida ao tratamento com campo magnético.2017.80f.Dissertação (Mestrado)**. 2017. Centro Tecnológico Universidade Federal de Santa Catarina., 2017.

LIN, L.; WANG, X.; CUI, H. Synergistic efficacy of pulsed magnetic fields and Litseacubeba essential oil treatment against Escherichia coli O157 : H7 in vegetable juices. **Food Control**, Netherlands, v. 106, p. 106686, 2019.

LINDENMEYER, C. S. et al. Rate of Growth of Ice Crystals in Supercooled Water. **The Journal of Chemical Physics**, Georgia, v. 27, n. 3, p. 822–822, 1957.

LINS, P. et al. Effect of Exposure to Pulsed Magnetic Field on Microbiological Quality, Color and Oxidative Stability of Fresh Ground Beef. **Journal of Food Process Engineering**, Ohio, v. 40, n. 2, p. 1–9, 2017.

LIPIEC, J. et al. Effects of oscillating magnetic field pulses on selected oat sprouts used for food purposes. **Acta Agrophysica**, Silésia, v. 5, n. 2, p. 357–365, 2005.

LIPIEC, J.; JANAS, P.; BARABASZ, W. Effect of oscillating magnetic field pulses on the survival of selected microorganisms. **International Agrophysics**, Germany, v. 18, p. 325–328, 2004.

LIU, B. et al. Effects of magnetic field on the phase change cells and the formation of ice crystals in biomaterials: Carrot case. **Journal of Thermal Science and Engineering Applications**, North Carolina, v. 9, n. 3, p. 1–6, 2017.

LIU, F. et al. Comparison of membrane-bound and soluble polyphenol oxidase in Fuji apple (*Malus domestica* Borkh . cv . Red Fuji). **Food Chemistry**, Norwich, v. 173, p. 86–91, 2015.

LOHACHOOMPOL, V. et al. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**, Norwich, v. 111, n. 1, p. 249–254, 2008.

LOHACHOOMPOL, V.; SRZEDNICKI, G.; CRASKE, J. The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Maryland, v. 2004, n. 5, p. 248–252, 2004.

LOU, Y.-J. et al. Experimental of the effects of static magnetic field on carp frozen process. **Journal of Shandong University (Engineering Science)**, China, v. 43, n. 6, p. 89–93, 2013.

MA, H.; HUANG, L.; ZHU, C. Inactivation of polyphenol oxidase by high-intensity pulsed magnetic field and kinetic. **Transactions of the CSAE**, China, v. 26, n. Supp. 1, p. 325–328, 2010.

MA, H.; HUANG, L.; ZHU, C. The effect of pulsed magnetic field on horseradish peroxidase. **Journal of Food Process Engineering**, Ohio, v. 34, n. 5, p. 1609–1622, 2011.

MA, Y. et al. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in relation to flesh browning of stem-end and calyx-end tissues of “Empire” apples during controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 108, p. 1–7, 2015.

MACDONALD, J. R. Impedance Spectroscopy. **Annals of Biomedical Engineering**, Virginia, v. 20, p. 289–305, 1992.

MACEDO, A. et al. Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. **Food Chemistry**, Norwich, v. 274, p. 202–214, 2019.

MAKI, S.; HIROTA, N. Magnetic separation technique on binary mixtures of sorbitol

and sucrose. **Journal of Food Engineering**, California, v. 120, p. 31–36, 2014.

MALLIK, A. U.; HAMILTON, J. Harvest date and storage effect on fruit size, phenolic content and antioxidant capacity of wild blueberries of NW Ontario, Canada. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 54, n. 6, p. 1545–1554, 2017.

MANOHARAN, S. P.; BIRLASEKARAN, S.; SURYANARAYANA, C. V. Computer program for nonlinear least square analysis of impedance and admittance data. **Bulletin of Electrochemistry**, Texas, v. 2, n. 5, p. 509–513, 1986.

MANTOVANI, C.; CLÉMENTE, E. Peroxidase and polyphenoloxidase activity in tomato in natura and tomato purée. **Acta Scientiarum - Technology**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 91–97, 2010.

MARQUES SILVA, F. V.; SULAIMAN, A. **Polyphenoloxidase in Fruit and Vegetables: Inactivation by Thermal and Non-thermal Processes**. In Encyclopedia of Food Chemistry, 1th ed, v. 2 Elsevier, 2019.

MATSUMOTO, M. et al. Molecular dynamics simulation of the ice nucleation and growth process leading to water freezing. **Nature**, United Kingdom, v. 416, n. 6879, p. 409–413, 2002.

MATTOS, R. I.; SOUTO, S.; TAMBELLI, C. E. Estudo por RMN no domínio do tempo de blendas de agar-gelatina. In: 13º Congresso Brasileiro de Polímeros, **Anais**.2015.

MEIQING, L. et al. Diagnosis and detection of phosphorus nutrition level for *Solanum lycopersicum* based on electrical impedance spectroscopy. **Biosystems Engineering**, Northumberland, v. 143, p. 108–118, 2016.

MESA, Y. et al. Efecto de un campo electromagnético de 40 gauss a 60 Hz en la viabilidad del cultivo bioyogurt en las fases de crecimiento bacteriana. **Investigación y Saberes**, Ecuador, v. I, n. 3, p. 65–70, 2012.

MI, J. C. et al. Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 84, n. 13, p. 1771–1782, 2004.

MICHALSKA, A.; ŁYSIAK, G. Bioactive compounds of blueberries: Post-harvest factors influencing the nutritional value of products. **International Journal of Molecular Sciences**, Vigo, v. 16, n. 8, p. 18642–18663, 2015.

MIHARA, M. et al. Freezing method. **EP Patent 2 499 924 A1**, 2011.

MIHOUB, M. et al. Effects of static magnetic fields on growth and membrane lipid composition of *Salmonella typhimurium* wild-type and dam mutant strains. **International Journal of Food Microbiology**, Wageningen, v. 157, n. 2, p. 259–266, 2012.

MINAGRI. El arandano en el Perú y el Mundo. **Ministerio de Agricultura y Riego del Perú**. p. 1-42. 2016. Disponível em: http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/tematicas/f-taxonomia_plantas/f01-cultivo/el_arandano.pdf. Acesso em: 05 oct. 2018.

MINGDAN, L. et al. Research on the Pulsed Magnetic Field Device for Sterilization of Fruit and Vegetable Equipment. **TELKOMNIKA**, Indonesia, v. 11, n. 4, p. 2084–

2087, 2013.

MISHRA, B. B.; GAUTMAN, S. Polyphenol Oxidases: Biochemical and Molecular Characterization, Distribution, Role and its Control. **Enzyme Engineering**, California, v. 05, n. 01, p. 1–9, 2016.

MIZUKI, T. et al. Activity of an enzyme immobilized on superparamagnetic particles in a rotational magnetic field. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Martinsried, v. 393, n. 4, p. 779–782, 2010.

MOGGIA, C. et al. Firmness at harvest impacts postharvest fruit softening and internal browning development in mechanically damaged and non-damaged highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Frontiers in Plant Science**, Melbourne, v. 8, p. 1–11, 2017.

MOK, J. H. et al. Emerging pulsed electric field (PEF) and static magnetic field (SMF) combination technology for food freezing. **International Journal of Refrigeration**, Berlin, v. 50, p. 137–145, 2015.

MOK, J. H. et al. Effects of pulsed electric field (PEF) and oscillating magnetic field (OMF) combination technology on the extension of supercooling for chicken breasts. **Journal of Food Engineering**, California, v. 196, p. 27–35, 2017.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos Funcionais E Nutracêuticos: Definições, Legislação E Benefícios À Saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 14, 2006.

MOURA, L. M. **Compostos bioativos em frutas cítricas: quantificação, avaliação da atividade antioxidante, parâmetros de cor e efeito da pasteurização. 2011. 142 f. Tese (Doutorado)** - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

MOURA, M. et al. **Metodologia Científica : Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS•+.** Comunicado tecnico 128, Embrapa. 2007.

MUSSE, M. et al. Monitoring the postharvest ripening of tomato fruit using quantitative MRI and NMR relaxometry. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 53, n. 1–2, p. 22–35, 2009.

NAKAGAWA, K. et al. Influence of controlled nucleation by ultrasounds on ice morphology of frozen formulations for pharmaceutical proteins freeze-drying. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, London, v. 45, n. 9, p. 783–791, 2006.

NETO, C. C. Cranberry and blueberry: Evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 51, n. 6, p. 652–664, 2007.

NICOUE, E. É.; SAVARD, S.; BELKACEMI, K. Anthocyanins in wild blueberries of Quebec: Extraction and identification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 55, n. 14, p. 5626–5635, 2007.

NIINO, T. et al. Whole Ovary Cryopreservation Applying Supercooling under Magnetic Field. **ACSC**, Tokyo, v.1, n.5, p. 14–20, 2012.

NOKTHAI, P.; LEE, V. S.; SHANK, L. Molecular modeling of peroxidase and polyphenol Oxidase: Substrate specificity and active site comparison. **International Journal of Molecular Sciences**, Vigo, v. 11, n. 9, p. 3266–3276, 2010.

NORBERTO, S. et al. Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. **Journal of Functional Foods**, Wageningen, v. 5, n. 4, p. 1518–1528, 2013.

NOVÁK, J. et al. Effects of low-frequency magnetic fields on the viability of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioelectrochemistry**, London, v. 70, n. 1, p. 115–121, 2007.

NOVITSKII, Y.; NOVITSKAYA, G.; SERDYUKOV, Y. Effect of weak permanent magnetic field on lipid composition and content in perilla leaves. **Bioelectromagnetics**, Chicago, v. 37, n. 2, p. 108–115, 2016.

NOWACKA, M. et al. Water state and sugars in cranberry fruits subjected to combined treatments: Cutting, blanching and sonication. **Food Chemistry**, Norwich, v. 299, n. January, p. 125122, 2019.

NOWAK, K. W.; ZIELINSKA, M.; WASZKIELIS, K. M. The effect of ultrasound and freezing/thawing treatment on the physical properties of blueberries. **Food Science and Biotechnology**, Seoul, v. 28, n. 3, p. 741–749, 2019.

OH, H. D. et al. Absciscic acid stimulates anthocyanin accumulation in ‘Jersey’ highbush blueberry fruits during ripening. **Food Chemistry**, Norwich, v. 244, n. June 2017, p. 403–407, 2018.

OHNISHI, S. et al. Effect of freezing on electrical and rheological properties of food materials. **Food Science and Technology Research**, Kyoto, v. 10, n. 4, p. 453–459, 2004.

OKANO, H. Effect of static magnetic fields in biology: role of free radicals. **Frontiers in Bioscience**, Qingdao, v. 13, n. 1, p. 6106–6125, 2008.

OLIVEIRA, A. F. A. et al. Non-thermal combined treatments in the processing of açai (*Euterpe oleracea*) juice. **Food Chemistry**, Norwich, v. 265, n. April, p. 57–63, 2018.

ORLOWSKA, M.; HAVET, M.; LE-BAIL, A. Controlled ice nucleation under high voltage DC electrostatic field conditions. **Food Research International**, Netherlands, v. 42, n. 7, p. 879–884, 2009.

OTERO, L. et al. Effects of Magnetic Fields on Freezing: Application to Biological Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Maine, v. 15, n. 3, p. 646–667, 2016.

OTERO, L. et al. Electromagnetic freezing : Effects of weak oscillating magnetic fields on crab sticks. **Journal of Food Engineering**, California, v. 200, p. 87–94, 2017.

OWADA, N.; KURITA, S. Super-quick freezing method and apparatus therefor. **US Patent 6250087 B1**, 2001.

PANG, X.; DENG, B. Investigation of changes in properties of water under the action of a magnetic field. **Science in China, Series G: Physics, Mechanics and Astronomy**, Peking, v. 51, n. 11, p. 1621–1632, 2008.

PANNALA, A. S. et al. Flavonoid B-Ring Chemistry and Antioxidant Activity : Fast Reaction Kinetics. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Martinsried, v. 282, p. 1161–1168, 2001.

PATEL, S. Blueberry as functional food and dietary supplement: The natural way to ensure holistic health. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, Ancona, v. 7, n. 2, p. 133–143, 2014.

PAVLIDOU, E. et al. Clinical Evaluation of the Effect of Blueberries Consumption on Chronic Diseases, Illness Prevention and Health Promotion. **The Natural Products Journal**, Hangzhou, v. 8, p. 45–53, 2018.

PAZ, J. C.S.N. **Caracterização bioquímica da polifenoloxidase e da peroxidase de ameixa Rubimel, polpa de cacau e estudo do efeito de agentes anti-escurecimento**. 2010. 100f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

PELLICER, J. A.; GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. Pulsed light inactivation of horseradish peroxidase and associated structural changes. **Food Chemistry**, Norwich, v. 237, p. 632–637, 2017.

PEREIRA, L. A. M. et al. Construction of an experimental pilot-scale electric oven using wireless sensor instrumentation for baked food evaluation. **Food and Bioproducts Processing**, London, v. 100, p. 214–220, 2016.

PERTUZATTI, P. B. et al. Quantification of Several Bioactive Compounds and Antioxidant Activities of Six Cultivars of Brazilian Blueberry. **The Natural Products Journal**, Hangzhou, v. 2, n. 3, p. 188–195, 2012.

PERTUZATTI, P. B. **Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em espécies de mirtilo produzidas no brasil**. 2014. 170f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

PETERSEN, A. et al. A new approach for freezing of aqueous solutions under active control of the nucleation temperature. **Cryobiology**, Luton, v. 53, n. 2, p. 248–257, 2006.

POINAPEN, D. et al. Static magnetic fields enhance lipid order in native plant plasma membrane. **Soft Matter**, Delaware, v. 9, n. 29, p. 6804, 2013.

PONNE, C. T.; BARTELS, P. V. Interaction of electromagnetic energy with biological material - relation to food processing. **Radiation Physics and Chemistry**, Parkville, v. 45, n. 4, p. 591–607, 1995.

POPOVIC, Z. ; POPOVIC, B.D. **Introductory Electromagnetics**. Prentice Hall, New Jersey, p. 556, 1999.

PRIOR, R. L. et al. Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of *Vaccinium* Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 46, n. 7, p. 2686–2693, 1998.

PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. **Journal of Functional Foods**, Wageningen, v. 18, p. 797–810, 2015.

PRIOR, R.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 53, p. 4290–4302, 2005.

PURNELL, G.; JAMES, C.; JAMES, S. J. The Effects of Applying Oscillating Magnetic Fields During the Freezing of Apple and Potato. **Food and Bioprocess Technology**, Dublin, v. 10, n. 12, p. 2113–2122, 2017.

PUZA, E. A. et al. Effect of freezing with oscillating magnetic fields on the physical and sensorial characteristics of mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Kent'). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 22, n. e2018169, p. 1–11, 2019.

QIAN, J. et al. Proteomics Analyses and Morphological Structure of *Bacillus subtilis* Inactivated by Pulsed Magnetic Field. **Food Biophysics**, Knoxville, v. 11, n. 4, p. 436–445, 2016a.

QIAN, J. et al. Biological Effect and Inactivation Mechanism of *Bacillus subtilis* Exposed to Pulsed Magnetic Field: Morphology, Membrane Permeability and Intracellular Contents. **Food Biophysics**, Knoxville, v. 11, n. 4, p. 429–435, 2016b.

QIAO, S. et al. Analysis and detection of decayed blueberry by low field nuclear magnetic resonance and imaging. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 156, n. July, 2019.

QINGGANG, Z.; LEREN, T.; MEIYAN, C. Process and Storage Quality of Quick Freezing Blueberries in LN₂-spraying Fluidized Bed. **Advance Journal of Food Science and Technology**, New York, v. 6, n. 7, p. 852–866, 2014.

RAAK, N. et al. Processing- and product-related causes for food waste and implications for the food supply chain. **Waste Management**, Southampton, v.61, n. march, p. 461-472, 2017.

RĂCUCIU, M.; OANCEA, S. Impact of 50 Hz magnetic field on the content of polyphenolic compounds from blackberries Impact of 50 Hz magnetic field on the content of polyphenolic compounds from blackberries. **Bulgarian Chemical Communications**, Bulgaria, v. 50, n. 3, p. 393–397, 2018.

RAGHAVENDRA, S. et al. Multiple ligand simultaneous docking (MLSD): A novel approach to study the effect of inhibitors on substrate binding to PPO. **Computational Biology and Chemistry**, Luton, v. 59, p. 81–86, 2015.

RAMIREZ, J. E. et al. Anthocyanins and antioxidant capacities of six Chilean berries by HPLC-HR-ESI-ToF-MS. **Food Chemistry**, Norwich, v. 176, p. 106–114, 2015.

RE, R. et al. Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. **Free Radical Biology and Medicine**, California, v. 26, n. 9, p. 1231–1237, 1999.

REQUE, P. M. et al. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, Texas, v. 33, n. 1, p. 111–116, 2014.

REQUE, P. M. et al. Characterization of blueberry fruits (*Vaccinium* spp.) and derived products. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 34, n. 4, p. 773–779, 2014.

RESTREPO, A. F.; FRANCO, E.; PINEDO, C. R. Metodología de diseño e implementación de un sistema para generación de campos magnéticos uniformes con bobinas helmholtz cuadrada tri-axial. **Informacion Tecnologica**, La Serena, v. 25, n. 2, p. 3–14, 2014.

RODRIGUEZ-MATEOS, A. et al. Impact of processing on the bioavailability and vascular effects of blueberry (poly)phenols. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 58, n. 10, p. 1952–1961, 2014.

RODRIGUEZ-SAONA, C.; VINCENT, C.; ISAACS, R. Blueberry IPM : Past Successes and Future Challenges. **Annual Review of Entomology**, New York, v. 64, p. 95–114, 2019.

RODRIGUEZ, A. **Characterization of electromagnetic freezing in food matrixes and model food**. 2017. 347f. Tese (Doutorado) – Escuela tecnica superior de de ingenieros industriales, Universidad Politecnica de Madrid, Madrid, 2017.

RODRÍGUEZ, A. C.; JAMES, C.; JAMES, S. J. Effects of Weak Oscillating Magnetic Fields on the Freezing of Pork Loin. **Food and Bioprocess Technology**, Dublin, v. 10, n. 9, p. 1615–1621, 2017.

ROUTRAY, W.; ORSAT, V. Blueberries and Their Anthocyanins : Factors Affecting Biosynthesis and Properties. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Maine, v. 10, p. 303–320, 2011.

RUIZ-RODRIGUEZ, A. et al. Effect of domestic processing on bioactive compounds. **Phytochemistry Reviews**, Leiden, v. 7, n. 2, p. 345–384, 2008.

SABLANI, S. S. et al. Effect of thermal treatments on phytochemicals in conventionally and organically grown berries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 90, n. 5, p. 769–778, 2010.

SAFTNER, R. et al. Instrumental and sensory quality characteristics of blueberry fruit from twelve cultivars. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 49, n. 1, p. 19–26, 2008.

SAKDATORN, V. et al. Improvement of rheological and physicochemical properties of longan honey by non-thermal magnetic technique. **International Journal of Food Science and Technology**, Christchurch, p. 1–9, 2018.

SANTOS, E. R. **Caracterização bioquímica da Peroxidase e da Polifenoloxidase de Açaí (Euterpe oleracea)**. 2001. 120f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SANTOS, L. O. **Estudo da produção de glutatona a partir de Saccharomyces cerevisiae e avaliação da aplicação de campos magnéticos durante as fermentações**. 2008. 140 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

SANTOS, R. O. et al. Physicochemical, antioxidant and sensory quality of Brazilian Blueberry Wine. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 3, p. 1557–1568, 2016.

SAPERS, G. M.; PHILLIPS, J. G. Leakage of Anthocyanins from Skin of Raw and Cooked Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 50, n. 2, p. 437–439, 1985.

SATO, M.; FUJITA, K. Refrigeration device, refrigeration method and. **US Patent 2006/0112699A1**, 2006.

SCIBISZ, I.; MITEK, M. The changes of antioxidant properties in highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during freezing and long-term frozen storage. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, Poznań, v. 6, p. 75–82, 2007.

SEERAM, N. P. Berry fruits for cancer prevention: Current status and future prospects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 56, n. 3, p. 630–635, 2008.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, Wageningen, v. 18, p. 820–897, 2015.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. Washington, D.C. CRC Press. 2004.

SHASHURIN, M. M. et al. Effect of extremely low frequency magnetic fields on the seedlings of wild plants growing in Central Yakutia. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 64, n. 3, p. 438–444, 2017.

SHIN, D. H. et al. Calcium dependent sucrose uptake links sugar signaling to anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Martinsried, v. 430, n. 2, p. 634–639, 2013.

SHOKRIBOUSJEIN, Z. et al. Effect of a magnetic field on dispersion of a hop extract and the influence on gushing of beer. **Journal of Food Engineering**, California, v. 145, p. 10–18, 2015.

SIDDIQ, M.; DOLAN, K. D. Characterization of polyphenol oxidase from blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Food Chemistry**, Norwich, v. 218, p. 216–220, 2017.

SRIVASTAVA, A. et al. Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 55, n. 7, p. 2705–2713, 2007.

STONEHOUSE, G. G.; EVANS, J. A. The use of supercooling for fresh foods: A review. **Journal of Food Engineering**, California, v. 148, p. 74–79, 2015.

SULAIMAN, A. et al. Modeling the polyphenoloxidase inactivation kinetics in pear, apple and strawberry purees after High Pressure Processing. **Journal of Food Engineering**, California, v. 147, n. C, p. 89–94, 2015.

SUN, J. et al. Membrane deterioration, enzymatic browning and oxidative stress in fresh fruits of three litchi cultivars during six-day storage. **Scientia Horticulturae**, British Columbia, v. 148, p. 97–103, 2012.

SUN, Y. et al. Intelligent detection of flavor changes in ginger during microwave vacuum drying based on LF-NMR. **Food Research International**, Netherlands, v. 119, n. January, p. 417–425, 2019.

SUROWSKY, B. et al. Cold plasma effects on enzyme activity in a model food system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 19, p.

146–152, 2013.

TEREFE, N. S. et al. Blueberry polyphenol oxidase: Characterization and the kinetics of thermal and high pressure activation and inactivation. **Food Chemistry**, Norwich, v. 188, p. 193–200, 2015.

TEREFE, N. S.; DELON, A.; VERSTEEG, C. Thermal and high pressure inactivation kinetics of blueberry peroxidase. **Food Chemistry**, Norwich, v. 232, p. 820–826, 2017.

TINELLO, F.; LANTE, A. Recent advances in controlling polyphenol oxidase activity of fruit and vegetable products. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 50, n. May, p. 73–83, 2018.

TOIVONEN, P. M. A.; BRUMMELL, D. A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 48, n. 1, p. 1–14, 2008.

TOLEDO, E. J. L.; RAMALHO, T. C.; MAGRIOTIS, Z. M. Influence of magnetic field on physical–chemical properties of the liquid water: Insights from experimental and theoretical models. **Journal of Molecular Structure**, Coimbra, v. 888, n. 1–3, p. 409–415, 2008.

TRAFFANO-SCHIFFO, M. V. et al. Osmotic dehydration of organic kiwifruit pre-treated by pulsed electric fields: Internal transport and transformations analyzed by NMR. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 41, p. 259–266, 2017.

TSIKRIKA, K. et al. The effect of different frequencies of ultrasound on the activity of horseradish peroxidase. **LWT - Food Science and Technology**, Georgia, v. 89, n. November 2017, p. 591–595, 2018.

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

ULABY, F. T.; MICHIELSEN, E.; RAVAIOLI, U. **Fundamentals of Applied Electromagnetics**. 6° ed. Prentice Hall, Michigan, p. 513, 1994.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L.; HAARD, N. F. Polyphenol Oxidases and Peroxidases in Fruits and Vegetables. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Massachusetts, v. 15, n. 1, p. 49–127, 1981.

VANINI, L. S.; KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Polyphenoloxidase and peroxidase in avocado pulp (*Persea americana* Mill.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Brasil, v. 30, n. 2, p. 525–531, 2010.

VARGAS, S. et al. Determination of Calcium Mobility in Alkaline-Cooked Grounded Corn in Presence of a Magnetic Field. **Journal of Food Science**, North Carolina, v. 79, n. 7, 2014.

VARLAN, A. R.; SANSEN, W. Nondestructive electrical impedance analysis in fruit: Normal ripening and injuries characterization. **Electro- and Magnetobiology**, Washington, v. 15, n. 3, p. 213–227, 1996.

VIRADOR, V. M. et al. Cloning, sequencing, purification, and crystal structure of grenache (vitis vinifera) polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 58, p. 1189–1201, 2010.

VITRAC, X. et al. Sugar sensing and Ca²⁺-calmodulin requirement in Vitis vinifera cells producing anthocyanins. **Phytochemistry**, Nantes, v. 53, n. 6, p. 659–665, 2000.

VOLLMANNOVÁ, A. et al. Anthocyanins content in blueberries (vaccinium corymbosum L.) in relation to freezing duration. **Czech Journal of Food Sciences**, Czech Republic, v. 27, n. SPEC. ISS., p. 204–206, 2009.

WANG, B. et al. Effect of pulsed light on activity and structural changes of horseradish peroxidase. **Food Chemistry**, Norwich, v. 234, p. 20–25, 2017.

WANG, Q. et al. Effect of different preservation treatments on olecranon honey peach. **Journal of Food Processing and Preservation**, Dublin, v. 43, n.7, p. 1–13, 2019.

WANG, Y. et al. The effect of a static magnetic field on the hydrogen bonding in water using frictional experiments. **Journal of Molecular Structure**, Coimbra, v. 1052, p. 102–104, 2013.

WATANABE, T. et al. Effect of short time heating on the mechanical fracture and electrical impedance properties of spinach (Spinacia oleracea L.). **Journal of Food Engineering**, California, v. 194, p. 9–14, 2017.

WATANABE, T. et al. Electrical impedance estimation for apple fruit tissues during storage using Cole–Cole plots. **Journal of Food Engineering**, California, v. 221, p. 29–34, 2018.

WATHEN, B.; JIA, Z. **Controlling the freezing process with antifreeze proteins**. In: DA-WEN SUN. Emergin Technologies for food processing. Chap. 25. Elsevier Ltd, p. 653–672. 2005.

WOO, M.; MUJUMDAR, A. Effects of Electric and Magnetic Field on Freezing and Possible Relevance in Freeze Drying. **Drying Technology**, Quebec, v. 28, n. 4, p. 433–443, 2010.

WU, L.; OGAWA, Y.; TAGAWA, A. Electrical impedance spectroscopy analysis of eggplant pulp and effects of drying and freezing-thawing treatments on its impedance characteristics. **Journal of Food Engineering**, California, v. 87, n. 2, p. 274–280, 2008.

WU, P. et al. Study on inactivation mechanisms of Listeria grayi affected by pulse magnetic field via morphological structure, Ca²⁺-transmembrane transport and proteomic analysis. **International Journal of Food Science and Technology**, Christchurch, v. 52, n. 9, p. 2049–2057, 2017.

XU, W. et al. Effect of calcium on strawberry fruit flavonoid pathway gene expression and anthocyanin accumulation. **Plant Physiology and Biochemistry**, Bari, v. 82, p. 289–298, 2014.

YAMAMOTO, N. et al. Fracture Properties and Microstructure of Chicken Breasts Frozen by Electromagnetic Freezing. **J. Home Econ. Jpn**, Japan, v. 56, n. 3, p. 141–151, 2005.

YANG, N. et al. Effect of electric field on calcium content of fresh-cut apples by inductive methodology. **Journal of Food Engineering**, California, v. 182, p. 81–86, 2016.

YUAN, W. Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity of Vaccinium L. in Texas, USA. **Pharmaceutical Crops**, Netherlands, v. 2, n. 1, p. 11–23, 2011.

ZABLOTSKII, V. et al. Effects of high-gradient magnetic fields on living cell machinery. **Journal of Physics D: Applied Physics**, York, v. 49, n. 49, p. 493003, 2016a.

ZABLOTSKII, V. et al. How a High-Gradient Magnetic Field Could Affect Cell Life. **Scientific Reports**, United Kingdom, v. 6, n. 1, p. 37407, 2016b.

ZAGUŁA, G.; PUCHALSKI, C. Changes in Glucose and Fructose in Apples Exposed To Constant and Slowly Changing Magnetic Fields. **ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość**, Poland, v. 2, n. 87, p. 162–172, 2013.

ZAPATA, L. M. et al. Estudio sobre cambios de la firmeza de bayas de arándanos durante su maduración. **Ciencia, docencia y tecnología**, Argentina, v. 21, n. 41, p. 159–171, 2010.

ZAREEI, E. et al. Effects of magnetic solutions on some biochemical properties and production of some phenolic compounds in grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Scientia Horticulturae**, British Columbia, v. 253, n. April, p. 217–226, 2019.

ZELMAT, A. et al. Determination and analysis of the electrical components of a PEF treated equivalent circuit of potato tissue. **International Journal of Environmental Studies**, Deux-Sevres, v. 74, n. 2, p. 262–274, 2017.

ZHAN, X.; ZHU, Z.; SUN, D. W. Effects of extremely low frequency electromagnetic field on the freezing processes of two liquid systems. **LWT - Food Science and Technology**, Georgia, v. 103, p. 212–221, 2019.

ZHANG, J. et al. Effect of alternating magnetic field treatments on enzymatic parameters of cellulase. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 92, n. 7, p. 1384–1388, 2012.

ZHANG, J. et al. Effect of low-frequency magnetic field on formation of pigments of *Monascus purpureus*. **European Food Research and Technology**, Dresden, v. 240, p. 577–582, 2015.

ZHANG, M. I. N.; STOUT, D. G.; WILLISON, J. H. M. Plant Tissue Impedance and Cold Acclimation : **Journal of Experimental Botany**, Colchester, v. 43, n. 247, p. 263–266, 1992.

ZHANG, M. I. N.; WILLISON, J. H. M. Electrical impedance analysis in plant tissues: A double shell model. **Journal of Experimental Botany**, Colchester, v. 42, n. 244, p. 1465–1475, 1991.

ZHANG, M. I. N.; WILLISON, J. H. M. Electrical impedance analysis in plant tissues: The effect of freeze-thaw injury on the electrical properties of potato tuber and carrot root tissues. **Canadian Journal of Plant Science**, Canada, v. 72, p. 545–553, 1992.

ZHANG, M.; LI, C.; YANG, F. Optical properties of blueberry flesh and skin and Monte Carlo multi-layered simulation of light interaction with fruit tissues.

Postharvest Biology and Technology, Leuven, v. 150, p. 28–41, 2019.

ZHANG, Z. et al. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. **Food Chemistry**, Norwich, v. 90, n. 1–2, p. 47–52, 2005.

ZHAO, H. et al. Experimental study on freezing of liquids under static magnetic field. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, Pekin, v. 25, n. 9, p. 1288–1293, 2017.

ZHAO, M. et al. Blueberry anthocyanins extract inhibits acrylamide-induced diverse toxicity in mice by preventing oxidative stress and cytochrome P450 2E1 activation. **Journal of Functional Foods**, Wageningen, v. 14, p. 95–101, 2015.

ZHAO, S. et al. Effect of combined static magnetic field and cold water shock treatment on the physicochemical properties of cucumbers. **Journal of Food Engineering**, California, v. 217, p. 24–33, 2018.

ZHAO, X. et al. Magnetic-Field-Assisted Extraction of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. **Journal of Food Processing and Preservation**, Dublin, v. 40, n. 3, p. 463–472, 2016.

ZHILONG, Z. et al. The Design and Measurement of Pulsed Magnetic Field. **2011 Third International Conference on Measuring Technology and Mechatronics Automation**, Shanghai, v. 3, p. 744–747, 2011.

ZHOU, Q. et al. Changes in antioxidative metabolism accompanying pitting development in stored blueberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Leuven, v. 88, p. 88–95, 2014.

ZHU, J. et al. Combined effect of ultrasound, heat, and pressure on *Escherichia coli* O157:H7, polyphenol oxidase activity, and anthocyanins in blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, Victoria, v. 37, p. 251–259, 2017.

ZIELINSKA, M.; MICHALSKA, A. Microwave-assisted drying of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits: Drying kinetics, polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity, colour and texture. **Food Chemistry**, Norwich, v. 212, p. 671–680, 2016.

ZIN, G. **Efeito de campo magnético no desempenho da ultrafiltração de soluções proteicas utilizando membrana polimérica**. 2014. 98 f. Dissertação (mestrado). 2014. Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

ZSIVANOVITS, G.; ILIEV, A. Quality changes of fresh grapes and blueberries during cold storage. **AIP Conference Proceedings**, United States, v. 2075, n. 160006, p. 5, 2019.