UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JÉSSICA CIOLA CAMPOS

Efeitos do campo magnético pulsado em maçãs: Uma abordagem experimental

Pirassununga
2022

JÉSSICA CIOLA CAMPOS

Efeitos do campo magnético pulsado em maçãs: Uma abordagem experimental.

(Versão Corrigida)

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

Área de Concentração: Ciência das Engenharia de Alimentos

Orientador:
Prof. Dr. Ernane José Xavier Costa

Pirassununga
2022

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

C576e

Campos, Jéssica Ciola
Efeitos do campo magnético pulsado em maçãs: Uma abordagem experimental / Jéssica Ciola Campos ; orientador Ernane José Xavier Costa. -- Pirassununga, 2022.
70 f.

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

1. Tecnologia de Alimentos . 2. Física Aplicada. 3. Campo Magnético . 4. Instrumentação Eletrônica . I. Costa, Ernane José Xavier, orient. II. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - o autor

JÉSSICA CIOLA CAMPOS

Efeitos do campo magnético pulsado em maçãs: Uma abordagem experimental.

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

Área de Concentração: Ciência das Engenharia de Alimentos

Data da Aprovação: __/__ /__

Banca Examinadora:

Prof.(a) Dr.(a) _____
Instituição_____

Prof.(a) Dr.(a) _____
Instituição_____

Prof.(a) Dr.(a) _____
Instituição_____

Presidente da Banca:

Prof. Dr._____
Instituição_____

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a toda a minha família, ao meu marido e aos amigos que de alguma forma me deram suporte e me encorajaram para que eu pudesse seguir meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais por todo suporte, apoio e amor. Sem eles nunca teria chego até aqui e por isso sou muito grata.

Ao meu irmão por toda ajuda e com suas brincadeiras e descontração conseguir me trazer felicidade.

Ao Prof. Dr. Ernane José Xavier Costa, pelo seu apoio e compreensão nos momentos difíceis, por acreditar no meu potencial e me deixar livre para fazer ciência sempre me orientando sabiamente.

Ao Aldo, técnico do laboratório pela orientação e ensinamento durante esse trabalho, sem ele esse projeto não seria nada.

À Luciana que me ajudou muito durante todo esse processo, sem ela tudo seria mais difícil

À família LAFAC por ter me acolhido desde a graduação, pela alegria e paz que me fornecem nos momentos bons e conturbados da minha pós-graduação.

Aos meus amigos Samuel e Dannaya por serem o presente que a USP me deu durante o mestrado e que nossa amizade seja eterna.

Aos meus amigos Rogério e Fernando, por estarem sempre por perto quando preciso de ajuda e pela amizade de anos que guardo no coração.

Ao meu marido, por estar presente, por tentar me entender e por todo amor que temos um pelo outro.

Às minhas amigas Paola e Larissa por estarem sempre comigo mesmo que distantes fisicamente, elas foram fundamentais para eu não desistir

À todos aqueles e aquelas que plantaram sua semente em minha vida e que de alguma maneira me influenciaram.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro na concessão da bolsa – código de financiamento 001.

Meus sinceros agradecimentos, pois sou resultado de todo o apoio, confiança e amor de cada um de vocês.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

Cora Coralina

RESUMO

CAMPOS, J. C. **Efeitos do campo magnético pulsado em maçãs: Uma abordagem experimental.** 2022.77 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

O campo magnético pulsado (CMP) pode ser considerado como tecnologia emergente em diversas etapas do processamento de alimentos. No entanto, não existe ainda na literatura estudos que demonstrem o potencial dos CMP na inativação enzimática que causam o escurecimento enzimático em frutas e hortaliças. Dentro deste contexto o objetivo desse trabalho é testar a hipótese de que um equipamento gerador de campo magnético pulsado em diversas frequências e intensidade de campo pode reduzir a atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO) além de manter níveis de qualidade físico-químicos reduzindo o escurecimento enzimático em maçãs armazenadas sob refrigeração. Para tanto, serão seguidas duas etapas. Na primeira etapa, maçãs serão tratadas em campo magnético em temperaturas de refrigerado, tempos de exposição, frequência e intensidade de campo diferentes seguindo um planejamento experimental fatorial 2^k. Após o tratamento as maçãs foram cortadas em 8 com auxílio de um cortador para manter certa uniformidade de tamanho e peso das amostras e tornar o processo ágil e armazenadas em refrigerador a 4°C. Foram analisados parâmetros físico químicos como pH, sólidos solúveis, acidez titulável, e PPO nas maçãs tratadas após 0, 1, e 2h do tratamento. Maçãs frescas e sem tratamento também foram analisadas a fim de comparação. Das variáveis dependentes observadas apenas a ATT não teve diferença significativa considerando p valor <0,05. No entanto, comparado com o controle, apenas foi possível observar diferença significativa na variável polifenoloxidase imediatamente após o tratamento com campo e 1h após. Os principais achados foram: foi possível concluir que quanto maior o fluxo de campo (57,2mT) e menor a frequência(1Hz) foi obtido uma redução da atividade enzimática de STT, enquanto que maiores frequências (120Hz) e maiores intensidades (57,2 mT) o efeito foi o inverso. No entanto para o pH a combinação entre intensidade de campo e tempo de exposição ao campo foram o que causaram alteração, sendo que maiores tempo de exposição e maior intensidade de campo podem alterar o pH para valores mais básicos enquanto que menor o tempo de exposição e maior o fluxo de campo os pH tendem a serem mais ácidos Na comparação com o controle, as maçãs tratadas com campo de 28,8mT e 60 Hz apresentaram comportamento de diminuição de atividade enzimática da PPO.

Palavras-chave: Polifenoloxidase, Maçã, Campos Magnético Pulsado.

ABSTRACT

CAMPOS, J. C. **Effects of pulsed magnetic field on apples: An experimental approach.** 2020. 77f. M.Sc. Dissertation - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

Pulsed magnetic field (PMF) can be considered as an emerging technology in several stages of food processing. Within this context, the research aims to test the hypothesis that a pulsed magnetic field equipment at different frequencies and field strengths can reduce the enzymatic activity of polyphenoloxidase (PPO) in addition to maintaining levels of physical-chemicals properties and reducing enzymatic browning in apples stored under refrigeration. For this, two process were followed. In the first stage, apples will be treated in a magnetic field at different refrigerated temperatures, exposure times, frequency and field intensity following a 2k factorial experimental design. After the treatment, the apples were cut in 8 with the aid of a apple cutter to maintain a certain uniformity in the size and weight of the samples and to make the process agile; after that, the samples were stored in a refrigerator at 4 ° C. Physical and chemical parameters such as pH, soluble solids, titratable acidity and PPO in treated apples were analyzed after 0, 1, and 2h of treatment. Fresh and untreated apples were also analyzed for comparison. Of the dependent variables observed, only the ATT had no significant difference considering p value <0.05. However, compared with the control, it was only possible to observe a significant difference in the polyphenoloxidase variable immediately after the field treatment and 1h after. The main findings were: it was possible to conclude that the higher the field flux (57.2mT) and the lower the frequency (1Hz) a reduction in STT enzymatic activity was obtained, while higher frequencies (120Hz) and higher intensities (57. 2 mT) the effect was the opposite. However, for pH, the combination between field strength and time of exposure to the field were what caused the change, and longer exposure time and greater field strength can change the pH to more basic values while shorter exposure time and the higher the field flux, the pH tend to be more acidic. In comparison with the control, the apples treated with a field of 28.8mT and 60 Hz showed a behavior of decreased PPO enzymatic activity.

Keywords: Polyphenoloxidase, Apple, Pulsed Magnetic Fields .

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Morfologia da maçã 15
Figura 2 - Estrutura 3D da PPO 18
Figura 3 - Reações Catalisadas pela polifenoloxidase na presença de oxigênio 19
Figura 4- Esquema da geração de CMP e CMO 22
Figura 5 - Resumo gráfico: Efeitos dos CMP em alimentos 23
Figura 6 - Resumo gráfico: Efeitos dos CMO em alimentos 24
Figura 7- Fluxograma de atividades 28
Figura 8 - Design experimental da bobina e núcleo gerador de CMP 29
Figura 9 - Montagem experimental: posição e diagrama de blocos do gerador de CMP 30
Figura 10 - Cortador utilizado para a padronização dos pedaços de maçã 32
Figura 11 - Desenho do suporte e porta amostra 34
Figura 12 - Esquema experimental: Bobina e suporte 35
Figura 13 - Diagrama de pinos do Arduino Pro-Mini 36
Figura 14 - Esquema elétrico da fonte de alimentação 36
Figura 15 - Esquema elétrico do circuito de potência 37
Figura 16 - Esquema elétrico do controlador de frequências 39
Figura 17 - Efeitos das variáveis independentes no pH a) pH no tempo 0 b) pH no tempo 1 c) pH no tempo 2 42
Figura 18 - Gráfico de contorno dos efeitos de tempo de exposição e Intensidade de campo no pH da maçã em t=2. 43
Figura 19 - Gráfico box plot comparando valores de pH entre e campo e controle em diferentes tempos após o corte 44
Figura 20 - Efeitos das variáveis independentes no STT a) STT no tempo 0 b) STT no tempo1 c) STT no tempo 2 48
Figura 21 - Gráfico de contorno dos efeitos de Frequência e Intensidade de campo no STT da maçã em t=2. 49
Figura 22 - Gráfico box plot comparando valores de STT entre e campo e controle em diferentes tempos após o corte 50
Figura 23 - Efeitos das variáveis independentes no ATT a) ATT no tempo0 b) ATT no tempo1 c) ATT no tempo2 54
Figura 24 - Gráfico box plot comparando valores de ATT entre e campo e controle em diferentes tempos após o corte 55

Figura 25 - Efeitos das variáveis independentes na atividade de PPO a) atividade de PPO no tempo0 b) atividade de PPO no tempo1 c) atividade de PPO no tempo2 59
Figura 26 - Gráfico de contorno dos efeitos de Frequência e Intensidade de campo na atividade de PPO da maçã em t=1..... 60
Figura 27 - Gráfico box plot comparando valores da atividade de PPO entre e campo e controle em diferentes tempos após o corte..... 61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de fenóis em frutos. 17
Tabela 2 - Matriz do design experimental fatorial 2k com três pontos centrais para estudar os efeitos da intensidade de campo delimitada pela tensão do equipamento e a frequência de pulsos magnéticos 31
Tabela 3 - Design experimental completo com os valores observados de pH, SST e ATT nos tempo 0, 1 e 2. 40
Tabela 4 - ANOVA: Análise de variância de primeira ordem fatorial 2^3 para o pH nos tempos 0,1 e 2 41
Tabela 5 - ANOVA comparado valores de pH para amostras e controle 44
Tabela 6 - Teste t presumindo variâncias diferentes comparando controle com amostra tratadas em campo magnético pulsado 45
Tabela 7 - ANOVA: Análise de variância de primeira ordem fatorial 23 para o STT nos tempos 0,1 e 2 47
Tabela 8 - ANOVA comparado valores de STT para amostras e controle 50
Tabela 9 - Teste t presumindo variâncias diferentes para STT comparando controle com amostra tratadas em campo magnético pulsado 51
Tabela 10 - ANOVA: Análise de variância de primeira ordem fatorial 23 para a ATT nos tempos 0,1 e 2 53
Tabela 11 - ANOVA comparado valores de ATT para amostras e controle 55
Tabela 12 -Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes para ATT comparando controle com amostra tratadas em campo magnético pulsado 56
Tabela 13 - ANOVA: Análise de variância de primeira ordem fatorial 2^3 para a atividade de PPO nos tempos 0,1 e 2 58
Tabela 14 - ANOVA comparado valores de atividade de PPO para amostras e controle 61
Tabela 15 – Teste de Tukey comparado valores de atividade de PPO para amostras e controle 61
Tabela 16 – Teste t comparado valores da atividade de PPO para amostras e controle 62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATT	Acidez titulável total
CME	Campos magnéticos estáticos
CMO	Campos magnéticos oscilantes
CMP	Campos magnéticos pulsados
F	Frequência
Hz	Hertz
POD	Peroxidase
PPO	Polifenoloxidase
SST	Sólidos solúveis totais
T	Telas
T0	Tempo imediatamente após a exposição ao campo
T1	1 hora após a exposição ao campo
T2	2 horas após a exposição ao campo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 REVISÃO DE LITERATURA 15
2.1 MAÇÃ 15
2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS 16
2.3 ENZIMAS EM FRUTAS E HORTALIÇAS 18
2.3.1 Polifenoloxidase (PPO) 18
2.3.2 Métodos de inativação enzimática 20
2.4 MAGNETISMO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS 20
2.4.1 Efeitos do CMP e CMO em alimentos 21
3 Objetivos 27
3.1 OBJETIVO GERAL 27
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 27
4 MATERIAIS E MÉTODOS 28
4.1 DESIGN EXPERIMENTAL DO EQUIPAMENTO GERADOR DE CMP 28
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPORTAMENTO DOS CMP NO ESPAÇO DE ENSAIO 30
4.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL 30
4.3.1 Primeira etapa: Fatorial completo 30
4.4 SELEÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS 32
4.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS CMP NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS 32
4.5.1 pH: 32
4.5.2 Acidez Titulável Total (ATT) 33
4.5.3 Sólidos Solúveis Totais (SST) 33
4.6 ATIVIDADE ENZIMÁTICA 33
4.6.1 Extrato Enzimático 33
4.6.2 Atividade de PPO 34
5 Resultados e discussão 34
5.1 DESENHO EXPERIMENTAL DO CMP E SUPORTE DE AMOSTRAS 34
5.1.1 Sistema de controle digital 35
5.1.2 Fonte de alimentação. 36

5.1.3 Circuito de potência **36**
5.1.4 Interface com o usuário **37**
5.2 EFEITOS DOS CAMPOS MAGNÉTICOS PULSADOS NO PH, SST E ATT DA MAÇÃ 40
5.2.1 Efeitos encontrados no pH **40**
5.2.2 Efeitos encontrados no SST **46**
5.2.3 Efeitos encontrados no ATT **52**
5.2.4 Efeitos encontrados na PPO **57**
6 CONCLUSÕES **63**
REFERÊNCIAS **64**

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas tem-se aumentado a procura por alimentos mais saudáveis e minimante processados. Em frutas e hortaliças que foram minimamente processados, também conhecidas como *fresh-cut*, as enzimas se encontram ativas e podem ocasionar mudanças em seus constituintes (REINKENSMEIER *et al.*, 2016). Umas dessas mudanças é conhecida como escurecimento enzimático que é uma consequência da oxidação de fenóis pela polifenoloxidase (PPO) levando a formação de quinonas que são polimerizadas com outras quinonas ou fenólicos e formam pigmentos de coloração escuras (MURATA *et al.*, 1995; NICOLAS *et al.*, 2003; SINHA, 2006). Esse escurecimento causa perdas na cor, sabor e valor nutricional no produto e por esses motivos em muitos casos não são desejadas na indústria de alimentos (HOLDERBAUM *et al.*, 2010; VÁMOS-VIGYÁZÓ; HAARD, 1981). A polifenoloxidase e a peroxidase (também relacionada ao escurecimento enzimático) são encontradas na maioria das frutas e hortaliças e por esse motivo representam um grande problema durante seu processamento (COSETENG; LEE, 1987; VÁMOS-VIGYÁZÓ; HAARD, 1981).

A maçã é um exemplo clássico de fruta suscetível ao escurecimento enzimático (COSETENG; LEE, 1987; VÁMOS-VIGYÁZÓ; HAARD, 1981), que é responsável por 70% do escurecimento durante o armazenamento, sendo os outros 20% relacionado ao escurecimento não enzimático provenientes de reações não oxidativas e de Maillard (SINHA, 2006).

Uma vez que em sua maioria o escurecimento enzimático no processamento de alimentos não é desejável, muitos estudos vem sendo realizados desde os anos 80 (NICOLAS *et al.*, 2003). Alguns métodos que são utilizados para conter esse tipo de escurecimento são embalagem em atmosfera modificada, armazenamento em baixa temperatura, adição de conservantes, aquecimento ôhmico, tratamento com micro-ondas, adição de acidulantes, processamento por alta pressão hidrostática (APH), processamento a alta pressão utilizando dióxido de carbono, ultrassom e campos elétricos pulsados (SINHA, 2006; TINELLO; LANTE, 2018). Nenhum estudo na literatura até o presente momento foi realizado para observar o potencial dos campos magnéticos pulsados na diminuição desse processo em frutos e hortaliças.

Ainda são escassos, na literatura, os estudos com aplicação da componente magnética do campo eletromagnético oscilatórios e pulsados em alimentos. No entanto, já foram reportados casos de sucesso na redução, morte e inativação de microrganismos em alimentos (LIN *et al.*, 2019; LIN; WANG; CUI, 2019; LINS *et al.*, 2017), manutenção das qualidades

físico-químicas após o congelamento (MOK *et al.*, 2017), redução na taxa de respiração e vazamento de eletrólitos, retardamento das taxas de amolecimento e decomposição, manutenção ou baixa redução no valor de sólidos solúveis e ácidos tituláveis (JIA *et al.*, 2015), inativação da colagenase (AHMED; VOJISAVLJEVIC; PIROGOVA, 2013), incremento na atividade da celulase atuando em carboximetilcelulose (ZHANG *et al.*, 2012) e melhora da atividade da superóxido dismutase e catalase (ÇELIK *et al.*, 2009). Especificamente relacionado a influência do campo magnético pulsado na polifenoloxidase, peroxidase e polifenóis podem ser citados dois estudos. Miñano (2019), demonstrou em seus estudos a inativação da PPO e POD em mirtilos congelados. Além disso, de acordo com Ma, Huang e Zhu (2011), CMP de intensidades de 3,5 a 4T tiveram sucesso em reduzir a atividade da POD de rabanetes.

Os estudos encontrados na literatura utilizando esta tecnologia no processo de inativação enzimáticas são muito escassos e poucas conclusões podem ser obtidas sobre o efeito conjunto da intensidade de campo e frequência. Além disso, não há na literatura estudos envolvendo campo magnético que utilizem planejamento experimental fatorial 2^k. Nesse contexto, este projeto tem como objetivo testar a hipótese de que um campo magnético pulsado de baixa intensidade e com determinada frequência tem efeitos positivos na manutenção das características físico-químicas e na redução da atividade enzimática da PPO em maçãs.

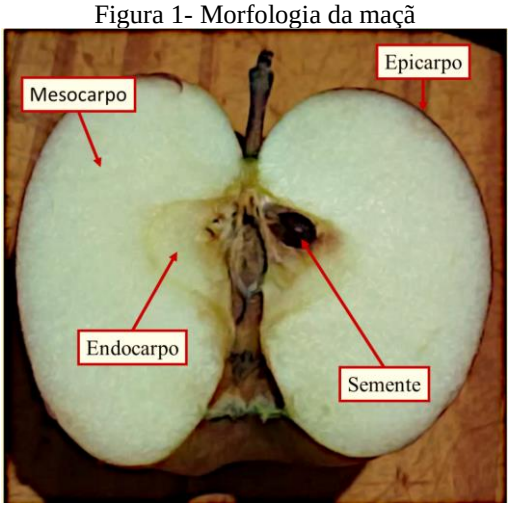
2 REVISÃO DE LITERATURA

Nesta parte do trabalho serão abordados tópicos sobre o estado da arte da maçã, compostos fenólicos e o efeito causados pelo processamento da fruta nessas substâncias. Além disso serão apresentadas as aplicações dos campos magnéticos em alimentos e meios estatísticos, incluindo inteligência computacional, para análise dos dados .

2.1 MAÇÃ

A maçã é um pseudofruto cuja árvore pertence à família Rosaceae, sua coloração depende da variedade, podendo ser verde (Granny Smith), vermelha (Red Delicious), amarelo esverdeado (Golden Delicious), ou uma combinação das três anteriores (Gala e Fuji) (SINHA, 2006). Habitualmente, a maçã é constituída por cerca de 85% água, 12 a 14% de carboidratos, 0,3% de proteínas, vitaminas, minerais e uma insignificante quantidade de lipídios (<0,1%). Variações nas quantidades desses compostos são devidos ao local de plantio, variedade, maturidade e condições ambientais e agronômicas (SINHA, 2006). Os principais elementos da morfologia desse pseudofruto são o epicarpo, mesocarpo, endocarpo e sementes (figura 1) (TUKEY; ORAN YOUNG, 1942).

Figura 1- Morfologia da maçã



Fonte: Própria autoria

As cultivares de maçã mais produzidas no Brasil são a Gala (56%) e a Fuji (39%), sendo a região Sul do Brasil a maior produtora. As exportações chegaram a 28,1% do total e foram exportadas para 66 países em 2018, sendo Bangladesh o maior importador seguido pela Rússia. Além disso, a maçã tem um papel importante no comercio nacional sendo a terceira fruta mais consumida pelos brasileiros(ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MACÃ, 2019).

O primeiro atributo de qualidade na avaliação de frutas como a maçã é o visual, portanto, a coloração da casca ou da polpa (no caso de frutas minimamente processadas) é uma

característica dominante na sua aceitabilidade (HAMADZIRIPI *et al.*, 2014; ROCHA; MORAIS, 2003a). Outras características relacionadas a qualidade pelo consumidor são sabor e textura e usualmente a preferência dos consumidores de maçã se baseiam na interação desses dois atributos (HARKER; GUNSON; JAEGER, 2003). Daillant-Spinnler et al. (1996) descobriram que os consumidores de maçã podem ser segmentados em dois grupos: aqueles que preferem uma maçã doce e dura e aqueles que preferem uma fruta mais ácida e suculenta .

O mercado de frutas e hortaliças minimante processados vem crescendo devido a demanda por produtos frescos e saudáveis (OLIVAS; MATTINSON; BARBOSA-CÁNOVAS, 2007; ROCHA; MORAIS, 2003b). Maçãs cortadas podem ser utilizadas na indústria de alimentos ou como lanches rápidos (SINHA, 2006). No entanto, o desenvolvimento desses produtos é complexo uma vez que após cortada a maçã sofre vários processos físico-químicos e microbiológicos causando uma diminuição em sua vida de prateleira (SINHA, 2006; WATADA; QI, 1999). Além disso, maçãs cortadas causam exposição de tecidos internos e menos casca e cutícula, portanto são mais suscetíveis a perda de peso(WATADA; QI, 1999). Várias técnicas para manter a cor, sabor, textura e aparência de frutas, assim como diminuir a perda de fluído celular e escurecimento enzimático de frutas minimamente processadas vem sendo amplamente usadas e estudadas nos últimos anos. Entre elas podemos citar: atmosfera modificada, armazenamento em baixas temperaturas e adição de preservativos (SINHA, 2006).

As maçãs são grandes fontes de compostos fenólicos, sendo estes encontrados em maior quantidade no epicarpo (casca) do que no mesocarpo (polpa) (GORINSTEIN *et al.*, 2001), sendo a concentração desses compostos de 1,6 a 4,5 vezes maior na casca (GÓMEZ-MAQUEO *et al.*, 2018) . Além disso, maçãs são uma fonte importante de flavonoides, contendo flavonóis, glicosídeos de quercetina, catequinas, antocianinas e ácidos hidroxicinâmicos. Sendo que os flavonóis estão mais presentes no endocarpo enquanto que os ácidos hidroxicinâmicos são frequentemente encontrados no mesocarpo (SINHA, 2006).

2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

Compostos fenólicos são considerados como substâncias aromâticas hidroxiladas que podem variar de simples moléculas a polímeros. Além disso, eles são instáveis e transformam-se quando uma célula vegetal é danificada (ARAÚJO, 2012a). São constituídos de ao menos um anel aromático e um grupo hidroxílico (SANTANA-GÁLVEZ; JACOBO-VELÁZQUEZ, 2018). Dentre os mais de oito mil tipos conhecidos pode-se classificá-los genericamente em simples e polifenóis. Amplamente presente em frutas e hortaliças (tabela 1), seu consumo diário

varia entre 25 mg e 1,0 g dia. A classe de fenólico mais consumida é a de fenóis ácido. Por serem altamente reativos e substratos de numerosas enzimas, a qualidade do alimento altera-se durante o processamento e armazenamento (ARAÚJO, 2012a).

Tabela 1 - Teor de fenóis em frutos.

Frutas frescas	**Fenóis totais (mg/100 g p.f.)**
Abacaxi	67-72
Acerola	861-888
Laranja	50-100
Maçã	27-298
Morango	38-218

Legenda: p.f. (peso fresco). Fonte: Adaptado de Araújo (2012a).

Entre as fontes fenólicas em nossa alimentação se encontra frutas, hortaliças, chás e café. Alguns fenóis podem ser encontrados em todos os produtos oriundos de vegetais enquanto outros são de alimentos específicos. Fatores ambientais ou práticas agronômicas são principais fatores de concentração de substâncias fenólicas no alimento. A preparação do alimento, assim como o cozimento, também altera o teor de fenóis. Exemplo disso é na produção de suco quando ocorre a remoção de flavonoides e na de vinho tinto que ocorre elevado teor de fenóis devido a maceração da uva (ARAÚJO, 2012a).

Mesmos não sendo essenciais ao organismo humano, a ingestão de alimentos e bebidas ricos em compostos fenólicos é altamente recomendada, por estar associada a redução de doenças degenerativas, ligadas ao seu poder antioxidante que são capazes de neutralizar radicais livres e de complexar íons metálicos, diminuindo sua ação pró-oxidante(ARAÚJO, 2012a).

A ingestão de frutas e hortaliças ou fenóis sintéticos são os responsáveis pela presença de polifenóis nos tecidos animais; todavia, para proporcionar benefícios à saúde esses compostos devem resistir a etapa de processamento e armazenamento desses alimentos e tornar-se disponíveis no trato gastrointestinal para que assim o ingrediente ativo possa atingir o tecido alvo. Consequentemente, fica claro a importância de preservar esses compostos durante o processamento e armazenamento de produtos ricos em compostos fenólicos(RODRIGUEZ-MATEOS *et al.*, 2014; SHAHIDI; NACZK, 2003).

A existência de enzima polifenoloxidase (PPO) em muitos alimentos forma a quinona através da reação com compostos fenólicos na presença de oxigênio. As quinonas então podem escurecer vegetais e derivados, geralmente um efeito indesejável. Para prevenir este efeito pode-se inativar as enzimas por diversos tratamentos. (ARAÚJO, 2012a).

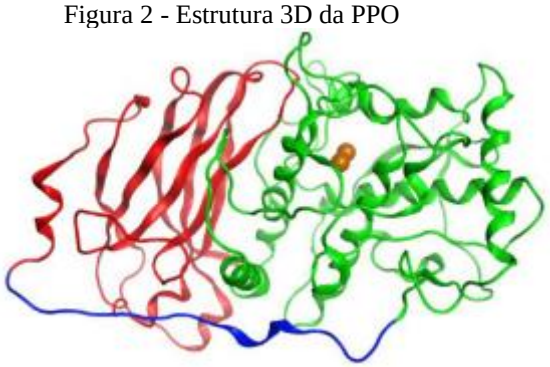
2.3 ENZIMAS EM FRUTAS E HORTALIÇAS

Mesmo em temperaturas congelantes fruta e hortaliças podem deteriorar devido a certas enzimas. Do ponto de vista nutricional, coloração e sabor essas enzimas são importantes (ARAÚJO, 2012b). Polifenoloxidase (PPO) é uma das responsáveis pela degradação de compostos fenólicos e, portanto, é considerada como uma das principais enzimas responsáveis pela perda de qualidade em frutas e hortaliças uma vez que elas levam a produção de pigmentos escuros conhecidos como escurecimento enzimático (TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001). Portanto, a inativação dessa enzima é de extrema importância na indústria alimentícia.

2.3.1 Polifenoloxidase (PPO)

A polyfenoloxidase é uma enzima oxido-redutase que possuí um centro de cobre binuclear. Nesse centro, o cobre é ligado por um resíduo de cisteína e de 6 a 7 resíduos de histidina. A estrutura da PPO pode ser observada na figura 2. Além disso, essa enzima é amplamente encontrada em animais, plantas, fungos e bactérias. Em frutas e hortaliças a ativação da PPO que quando sofre danos mecânicos gera a formação de melanina protegendo contra subsequentes ataques de insetos e microrganismo (GOLAN-GOLDHIRSH; WITAKER; VARDA, 1984; KANADE *et al.*, 2007; RAGHAVENDRA *et al.*, 2015; WONG, 1995; ZHOU *et al.*, 2022)

Figura 2 - Estrutura 3D da PPO

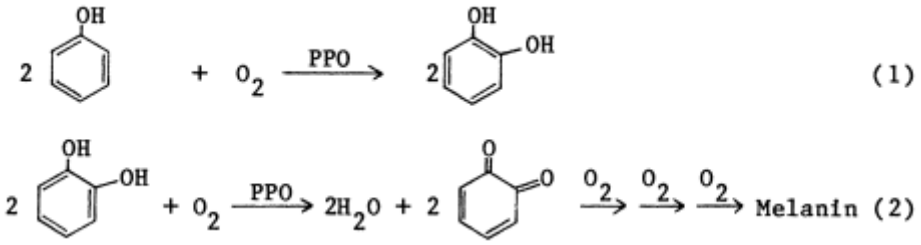


Fonte: Han, Liu e Ni (2022)

A polifenoloxidase quando em contato com oxigênio catalisa duas reações, sendo a primeira (figura 3 (1)) uma hidroxilação de monofenois e a segunda (figura 3 (2)) formação de pigmentos escuros chamados de melanina pela oxidação de o-difenois. Sendo esta última reação

responsável pelo escurecimento de frutas e hortaliças após algum dano na parede celular dos mesmos, esta é em grande parte das vezes uma reação indesejável em alimentos, podendo resultar em deterioração da cor, sabor e perdas nutricionais que involuntariamente causa perda econômicas na indústria de alimentos (GOLAN-GOLDHIRSH; WITAKER; VARDA, 1984).

Figura 3 - Reações Catalisadas pela polifenoloxidase na presença de oxigênio



Fonte: Golan-Goldhirh, Witaker e Varda (1984)

Essas reações catalisadas pela PPO que resultam na formação de pigmentos escuros em frutas e hortaliças acontecem principalmente quando passam por algum tipo de processamento que causa ruptura da célula do tecido vegetal, como corte, trituração ou são amassadas. Entretanto, o escurecimento enzimático pode ocorrer mesmo com o tecido vegetal intacto. (ARAÚJO, 2012c). A PPO é muito importante para manutenção da qualidade no processamento e armazenamento de frutas e hortaliças, uma vez que é determinante para a qualidade dos alimentos e na perda econômica na indústria de alimentos. A atividade da PPO causa escurecimento enzimático, diminuí a qualidade nutritiva, organolépticas e visual, sendo estimado que metade das perdas de frutas tropicais no mundo é devido a atividade da PPO (ARAÚJO, 2012c; GOLAN-GOLDHIRSH; WITAKER; VARDA, 1984; WONG, 1995).

A oxidação enzimática de compostos fenólicos pelas PPOs dá início ao escurecimento em frutas e certas hortaliças. A quinona é o produto inicial dessa oxidação que dá origem a melanina por condensação ou por reações não enzimáticas com outros compostos fenólicos, aminoácidos e proteínas. A formação de quinona é dependente do oxigênio e da enzima para acontecer, porém, as reações subsequentes são espontâneas. A O-quinona formada interage com substratos reduzindo a disponibilidade de lisina, metionina, tiamina e outros nutrientes essenciais. A maçã é um exemplo de fruta que possui concentrações alta da enzima PPO, sendo o ácido clorogênico e a O-catequina os substratos endógenos para PPO encontrados em maçãs (ARAÚJO, 2012c; WONG, 1995).

O principal agente responsável pelo escurecimento enzimático em frutas e hortaliças é a PPO, no entanto alguns estudos mostram que a POD pode também estar relacionada a essa

reação uma vez que a PPO poderia atuar como promotora da atividade de POD (NOKTHAI; LEE; SHANK, 2010; TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001).

Diante destes fatos, sabendo que em frutas e hortaliças é importante conservar tanto a cor como os seus nutrientes, existe um grande número de pesquisadores que se dedicam em melhorar ou procurado tratamentos que possam inativar a polifenoxidase.

2.3.2 Métodos de inativação enzimática

Maneiras de reduzir ou prevenir a ativação de PPO tem sido objeto de pesquisa desde os anos 80 por causar consequências como perda da qualidade em diversas frutas e hortaliças durante o processamento e armazenamento (NICOLAS *et al.*, 2003). Dentre os métodos de preservação estudados para conter esse tipo de escurecimento podem ser citados embalagem em atmosfera modificada, armazenamento em baixa temperatura, adição de conservantes, aquecimento ôhmico, tratamento com micro-ondas, adição de acidulantes, processamento por alta pressão hidrostática (APH), processamento a alta pressão utilizando dióxido de carbono, ultrassom e campos elétricos pulsados (SINHA, 2006; TINELLO; LANTE, 2018) e mais recentemente campos magnéticos pulsados (MA; HUANG; ZHU, 2011; MIÑANO, 2019).

2.4 MAGNETISMO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Na preservação de alimentos almejando a inativação microbiológica e de enzimas existem vários processos termais que são tradicionalmente empregados como branqueamento, pasteurização, esterilização, desidratação, resfriamento e congelamento. Mesmo esses métodos sendo considerados como eficientes, confiáveis e econômicos eles oferecem efeitos adversos na qualidade geral do produto como aparência, sabor, cor, textura, perda nutricional (GEORGE, 1993; LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2011; PEREIRA; VICENTE, 2010).

A demanda por produtos mais saudáveis, minimante processados e que mantenham suas qualidades organolépticas vêm crescendo na última década. Essa demanda é ainda maior se for considerado o segmento de frutas e hortaliças(REINKENSMEIER *et al.*, 2016). Para que essas limitações sejam superadas tecnologias emergentes vêm sendo desenvolvidas e testadas. Dentre estas podem ser citados: alta pressão hidrostática, campos elétricos, campos magnéticos, pulsos de luz de alta intensidade, microondas e radiofrequência, aquecimento ôhmico e indutivo, ultra-som, raio-X, entre outros. Entre essas tecnologias algumas já são aplicadas comercialmente, enquanto que outras ainda estão nos estágios de desenvolvimento. Fenômenos eletromagnéticos estão presentes em algumas dessas técnicas e apesar de

mostrarem eficácia em vários processos de preservação de alimentos seus estudos ainda são escassos (AHMED; RAMASWAMY, 2007) .

Magnetismo é um fenômeno que ocorre quando um material exerce alguma força de atração ou repulsão sobre outro material. Toda a matéria possuí algum tipo de interação quando em contato com um campo magnético. Essa força pode ser de baixa, moderada ou alta intensidade dependendo da característica do material. Materiais diamagnéticos são feitos de átomos que não têm nenhum momento magnético líquido. No entanto, quando exposto a um campo, uma magnetização negativa é produzida e quando o campo é retirado a magnetização se torna zero. Em materiais paramagnéticos, alguns dos átomos ou íons têm um momento magnético líquido enquanto que em materiais ferromagnéticos os momentos atômicos exibem interações muito fortes (AHMED; RAMASWAMY, 2007).

Fenômenos eletromagnéticos são eficazes na esterilização de microrganismos em alimentos e vêm sendo estudados nos últimos 100 anos. Dentre as tecnologias que utilizam desse fenômeno podem ser citadas: campos elétricos pulsados, descarga de arco de alta tensão, luz pulsada, radiação ionizante, micro-ondas, plasma frio, campos magnéticos e eletromagnéticos (AHMED; VOJISAVLJEVIC; PIROGOVA, 2013; PAN; SUN; HAN, 2017).

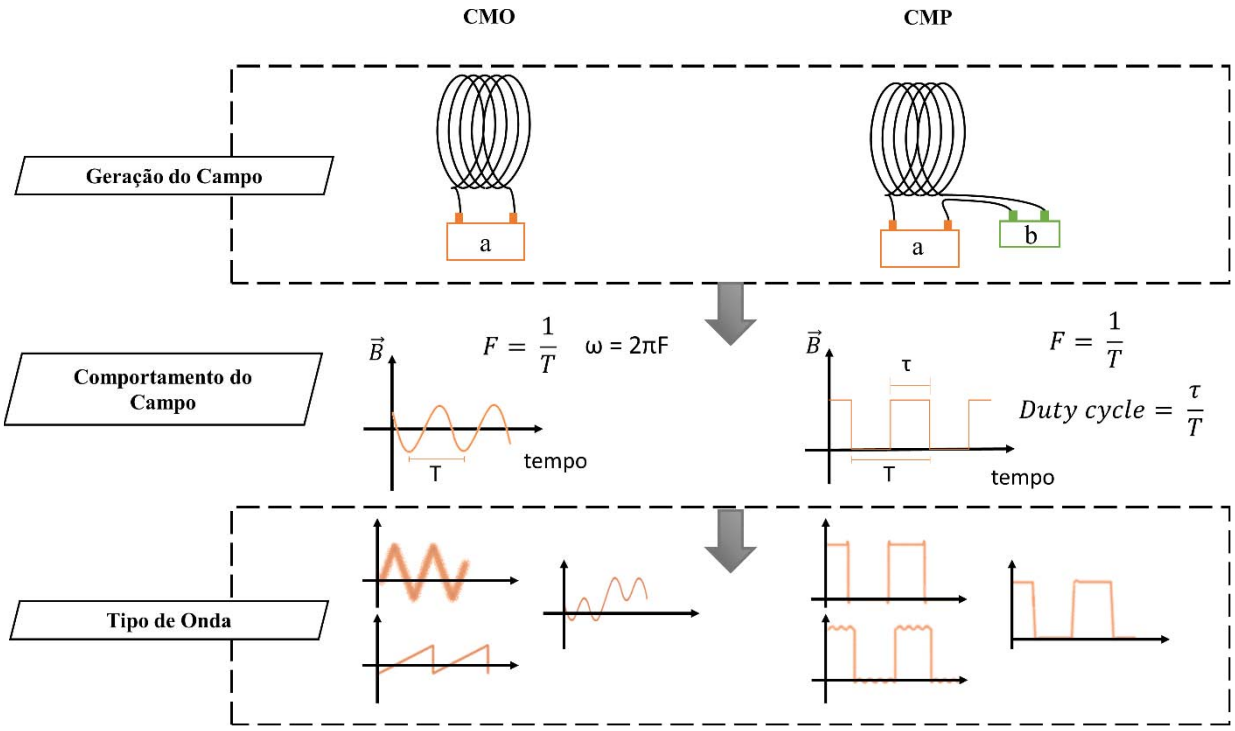
Além disso, ondas eletromagnéticas como micro-ondas e radiofrequência, assim como, campos magnéticos estáticos e oscilantes tem se mostrado um grande aliado na formação de cristais menores e aumento do grau de super-resfriamento durante o congelamento (DALVI-ISFAHAN *et al.*, 2017). Ondas eletromagnéticas, campos elétricos pulsados e campos magnéticos pulsados também podem ser responsáveis pela inativação de enzimas (AHMAD *et al.*, 2019; KNORR *et al.*, 2011; MA; HUANG; ZHU, 2011; MIÑANO, 2019). A literatura ainda apresenta poucos estudos referentes ao comportamento de campos magnéticos pulsados (CMP) e oscilantes (CMO) na preservação de alimentos.

2.4.1 Efeitos do CMP e CMO em alimentos

Um campo magnético é definido como um campo de força capaz de induzir magnetismo em outros corpos. Além disso, existem linhas de forças magnéticas em sua volta, a distância entre as linhas representam a força do campo, quanto mais próximas as linhas mais forte o campo naquela região (AHMED; RAMASWAMY, 2007; MULAY, 1964). Os campos magnéticos podem ser estáticos ou oscilatório. A intensidade dos campos estáticos é constante com o tempo, enquanto a intensidade dos oscilatórios varia de acordo com o tipo de onda e a frequência. Além disso, a intensidade ($\vec{B}$) pode ser homogênea, quando é uniforme em toda a região cercada pelo campo magnético, ou heterogênea quando não é uniforme, ou seja, é maior

quanto mais próxima da fonte geradora do campo. Os campos magnéticos pulsados (CMP) são uma variante dos oscilantes onde a corrente é retificada por um banco de capacitores e a descarga é por pulsos a uma determinada frequência e tipo de onda (GRIGELMO-MIGUEL *et al.*, 2011). Na figura 4 pode ser observado as principais diferenças entre o CMO e o CMP.

Figura 4- Esquema da geração de CMP e CMO



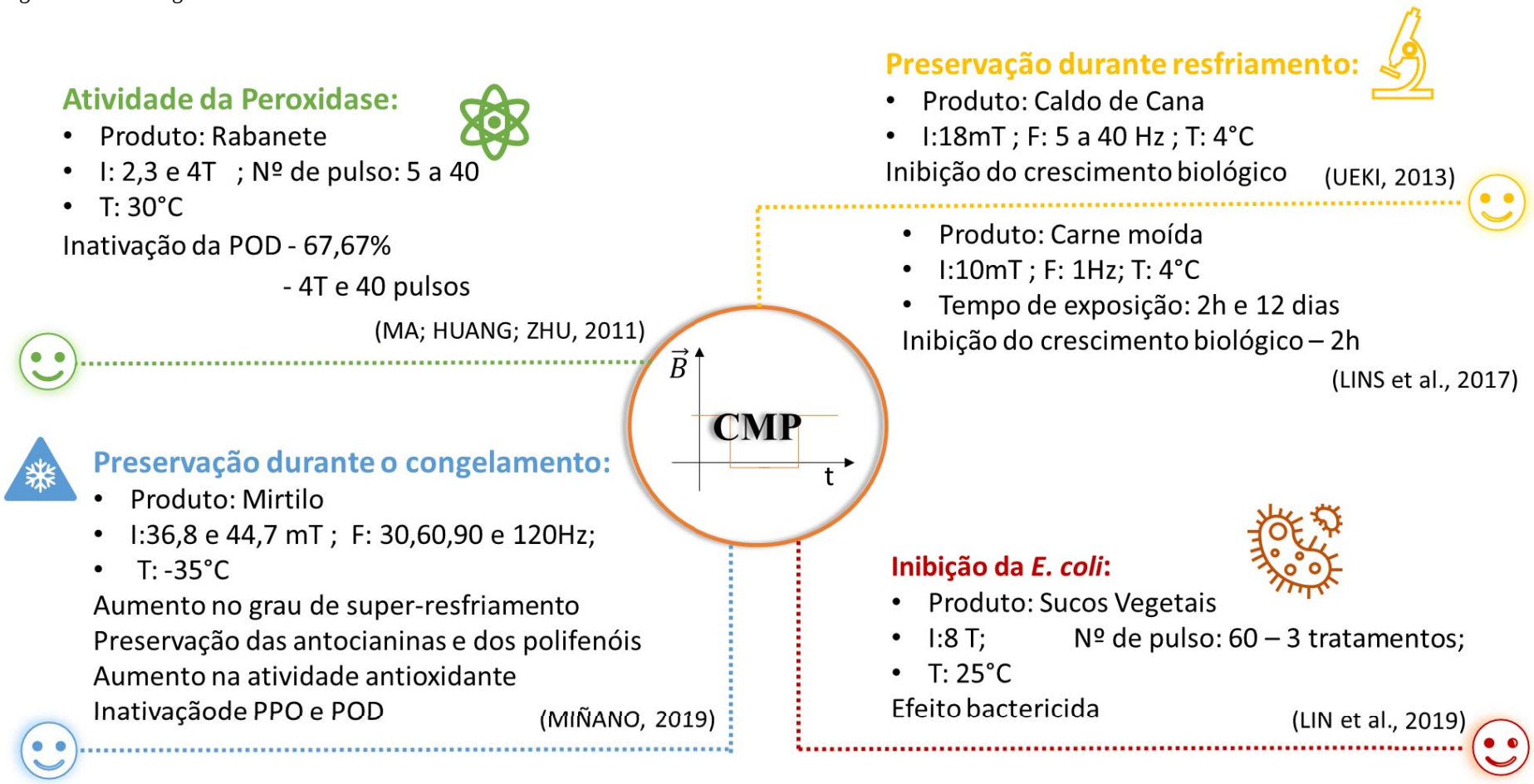
Legenda: a (fonte de corrente alternada); b(gerador de pulsos); B(densidade de campo magnético); F(frequência); T(período); ω(frequência angular);τ (intervalo de tempo no qual a função é não-nula). Fonte: Própria autoria

Os campos magnéticos oscilatórios podem ser gerados por uma corrente alternada que passa por uma bobina tendo maior intensidade quanto mais voltas tiver a bobina, quanto maior for a sessão transversal de cada loop e quanto maior for a corrente passando pelos fios. Um núcleo de ferro também pode ser inserido dentro da bobina para que a intensidade do campo seja maior (GRIGELMO-MIGUEL *et al.*, 2011).

De acordo com Rosen (2003), a intensidade dos campos magnéticos pode ser classificada como baixa (<1mT), moderada (1mt a 1T), alta (1 a 5 T) e muito alta (>5T).

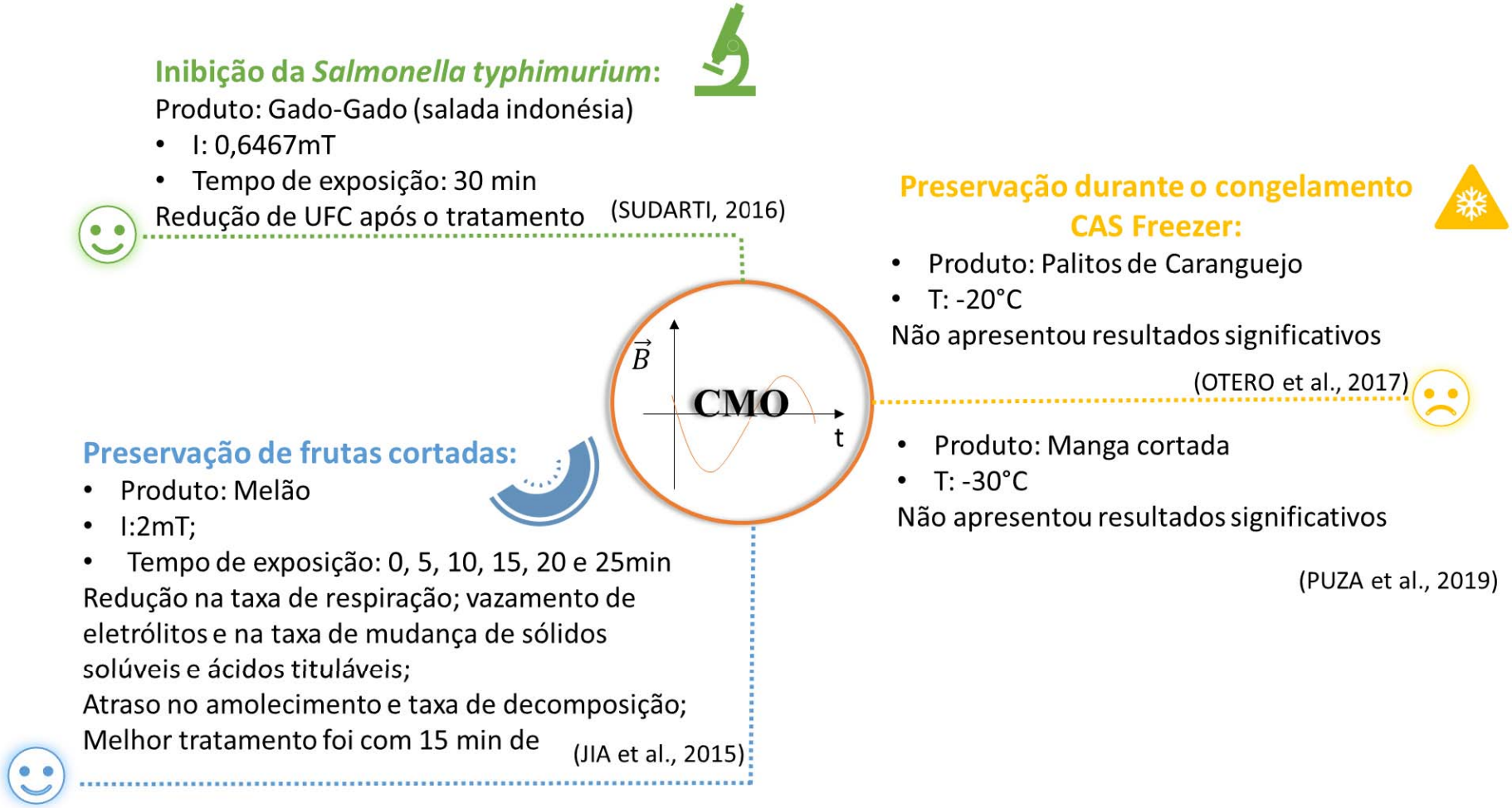
Pesquisas envolvendo os efeitos biológicos dos campos magnéticos podem ser encontrados desde 1983 (KIMBALL, 1938). No entanto, Hofmann (1985) foi o primeiro a propor que campos magnéticos poderiam ser usados como tecnologia não térmica para preservação de alimentos. Um resumo dos estudos envolvendo CMO e CMP em alimentos pode ser observado nas figuras 5 e 6.

Figura 5 - Resumo gráfico: Efeitos dos CMP em alimentos



Legenda: I (intensidade), T (temperatura), F(frequência). Fonte: Própria Autoria

Figura 6 - Resumo gráfico: Efeitos dos CMO em alimentos



Legenda: I (intensidade), T (temperatura). Fonte: Própria Autoria

As pesquisas com CMP e CMO em relação a atividade microbiológica em alimentos são as mais encontradas na literatura. Hofmann (1985) defende que campos magnéticos oscilatórios e pulsados de alta frequência e intensidade são capazes de inibir crescimento e reprodução bacteriana assim como ter efeito esterilizante. Aplicada a alimentos essa teoria mostra que CMO com frequências de 5 a 50kHz e intensidade de 5 a 50 T podem reduzir a população microbiana em leite com *Streptococcus thermophilus*, iogurte com *Saccharomyces cerevisiae*, suco de laranja com *S. cerevisiae* e massas prontas para pães e doces da marca Brown'n Serve com esporos bacterianos. Os estudos de Lin et al. (2019) vão ao encontro com os de Hoffman ao demonstrar que CMP com alta intensidade e 60 pulsos reduzem *E. coli* O157:h7 em sucos vegetais. Apesar de promissores esses estudos são de difíceis replicabilidades. Entretanto, mesmo CMP e CMO de baixa frequência e intensidade podem ser usados para inativação microbiológica e inibição do crescimento e reprodução microbiana (LINS *et al.*, 2017; SUDARTI, 2016; UEKI, 2013). Apesar de observar que o CMO teve um efeito no super-resfriamento das amostras este teve pouco resultado na redução microbiológica, mesmo que a contagem de microrganismos foi menor do que na amostra refrigerada a inativação microbiológica nesse caso é melhor explicada pelas baixas temperaturas de armazenamento (HER *et al.*, 2019), uma vez que as bactérias são incapazes de crescer a partir de 1 ° C a 2 ° C abaixo do ponto inicial de congelamento dos alimentos (KAALE *et al.*, 2011; MAGNUSSEN *et al.*, 2008).

Alguns estudos apontam que longos períodos de exposição ao campo magnético têm poucos ou nenhum efeito em respeito à qualidade microbiológica de amostra de alimentos, o que pode levar a conclusão de que as células dos microrganismos que sobreviveram tendem-se a adaptar-se ao meio estressor (FILIPIČ *et al.*, 2012; LINS *et al.*, 2017; SUDARTI *et al.*, 2014). O que pode ser explicado pelo efeito “janela” das ondas eletromagnéticas também observado nos estudos de Haile et al. (2008). O efeito janela considera que um sistema biológico só responde a ondas eletromagnéticos em uma determinada frequência, intensidade e tempo de exposição, e cada tipo de microrganismo teria sua própria “janela” (HAILE *et al.*, 2008).

Outras teorias expõem que bactérias durante sua exposição ao campo magnético de 17mT investem uma significante porção de carbono para funções como respiração e energia metabólica ao invés de utilizar para seu crescimento (FILIPIČ *et al.*, 2012). Similarmente, Jia et al. (2015) demonstraram em seus estudos que longos períodos de exposição ao campo magnético parecem menos eficazes do que tratamentos intermediários. Amostras de melão cortado tratadas com CMO por 15 min tiveram resultados físico-químicos melhores em sua preservação que amostras tradas por 20 e 25 min. Além disso, Tsuchiya et. al. (1996)

demonstraram que campos magnéticos heterogêneos tem efeitos muito maiores na inibição de *Escherichia coli* do que campos homogêneos.

Outra linha de pesquisa recente é a combinação de campos magnéticos om processo de resfriamento ou congelamento de alimentos. Quanto a preservação das qualidades microbiológicas e físico-químicas dos alimentos submetidos ao resfriamento em conjunto com CMP, Ueki (2013), Lins (2017) e Tang et al. (2020) obtiveram resultados satisfatórios. Miñano (2019) observou os efeitos do CMP no congelamento de mirtilos e chegou em resultados promissores; dentre eles, o aumento no grau de super-resfriamento, a preservação da estrutura das membranas, das antocianinas e dos polifenóis totais, o aumento na atividade antioxidante e a inibição da atividade de PPO e POD. Na mesma linha, Kang et al. (2021) utilizou campos magnéticos oscilatórios em frequências extremamente baixas (1Hz) e intensidade de 50 mT em de pedaços de manga em temperatura de -5ºC e obtiveram êxito no grau de super-resfriamento inibindo a nucleação do gelo, além do alimento ter tido menor perda de água quando comparado com os métodos convencionais de armazenamento e manter suas características de textura quando comparado com pedaços frescos de manga. Similar experimento com congelamentos de carne bovina em campo magnético contínuo e homogêneo, demonstrou campos de 100 e 150G tem um efeito significativamente inibitório no processo de congelamento comparado com o controle (WANG et al., 2022). No entanto, outros estudos foram controversos quanto a eficácia da utilização de campos magnéticos no processo de congelamento, estudos que usaram a tecnologia CAS (Cell alive System), um refrigerador patenteado que utiliza CMO e CME (JAMES; REITZ; JAMES, 2015; OTERO *et al.*, 2017; PUZA *et al.*, 2019) e Otero e Pozo, (2022), constataram em seus experimentos que batatas congeladas com CME com intensidade de 150 mT não demostraram melhoras significativas no grau de congelamento, redução da massa, drip loss, textura ou cor.

Estudos sobre o efeito do campo magnético pulsado e campo elétrico pulsado em enzimas (POD e papaína) demonstram que mesmo após o tratamento, ou seja, durante o período de armazenamento, a redução da atividade enzimática ou sua inativação foi irreversível. Esses estudos demonstram que o efeito do campo magnético pode se prolongar mesmo após o tratamento ser cessado(MA; HUANG; ZHU, 2011; YEOM; ZHANG; DUNNE, 1999; ZHONG *et al.*, 2005). Em frutas cortadas observou-se atraso do amolecimento e taxa de decomposição.

Existem também estudos que avaliam o efeito sinérgico do campo magnético com outros tratamentos. Mok et al. (2017) demonstrou que o efeito de campos magnéticos pulsados com intensidades entre 50 a 100 mT e frequências menores que 1Hz juntamente com um campo elétrico pulsado auxíliou no congelamento de peito de frango mantendo os padrões de qualidade

(cor, pH, drip loss e textura) e o estado de super-resfriamento das amostras a -6,5°C durante todo o tratamento de 12h. Enquanto que Lin, Wang e Cui (2019) observaram o efeito de inibição do microrganismo *E. coli* pelo CMP (8T e 60 pulsos) em sinergia com o óleo de *Litseacubeba* essential oil em sucos vegetais; demonstrando que quanto maior a concentração de óleo e maior o número de tratamentos maior a redução da bactéria.

Pouco ainda é entendido sobre seus mecanismos de atuação. Além disso, alguns estudos são contraditórios e de baixa replicabilidade. As contradições encontradas entre os estudos podem ser explicadas devido à falta de especificações que podem alterar o mecanismo de ação dos campos magnéticos e seus efeitos, como: valores de temperatura na qual os experimentos foram realizados, especificações das embalagens ou do suporte realizado para o estudo, falta de caracterização do campo magnético no espaço de ensaio e omissão da frequência, tipo de onda e duty cycle dos campos magnéticos.

É assim que esta pesquisa pretende avaliar a aplicação dos campos magnéticos pulsados, uma tecnologia emergente, combinando o resfriamento (uma tecnologia convencional) como preventivo na qualidade das maçãs antes do corte e para aprimorar a técnica de aplicação de campos magnéticos em alimentos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este projeto tem como objetivo principal avaliar a hipótese de que o campo magnético pulsado interage com propriedades bioquímicas e físico-químicas da maçã.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

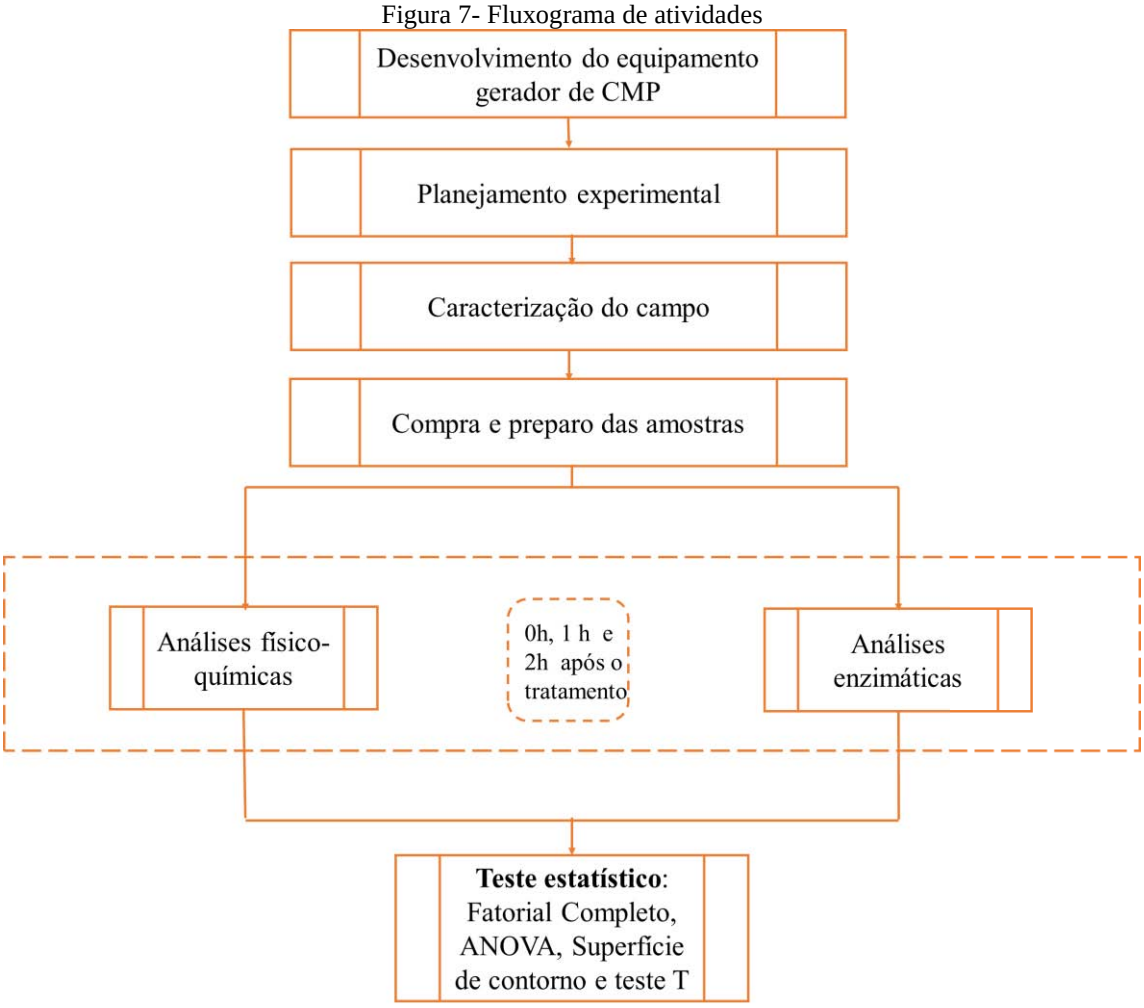
- Projetar um equipamento portátil gerador de campos magnéticos pulsados com variação da densidade de fluxo e frequências, para ser utilizado em alimentos sob refrigeração.

- Avaliar e Descrever os efeitos do campo magnético pulsados nas características físico-químicas em maçãs em especial na atividade da polifenoloxidase

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado para avaliar tempo de exposição ao campo, assim como delimitar a melhor faixa de intensidade de campo e frequência. Sabendo-se disso o fluxograma apresentado na figura 7 demonstra resumidamente como foi o desenvolvimento deste projeto.

Figura 7- Fluxograma de atividades



Fonte: Própria Autoria

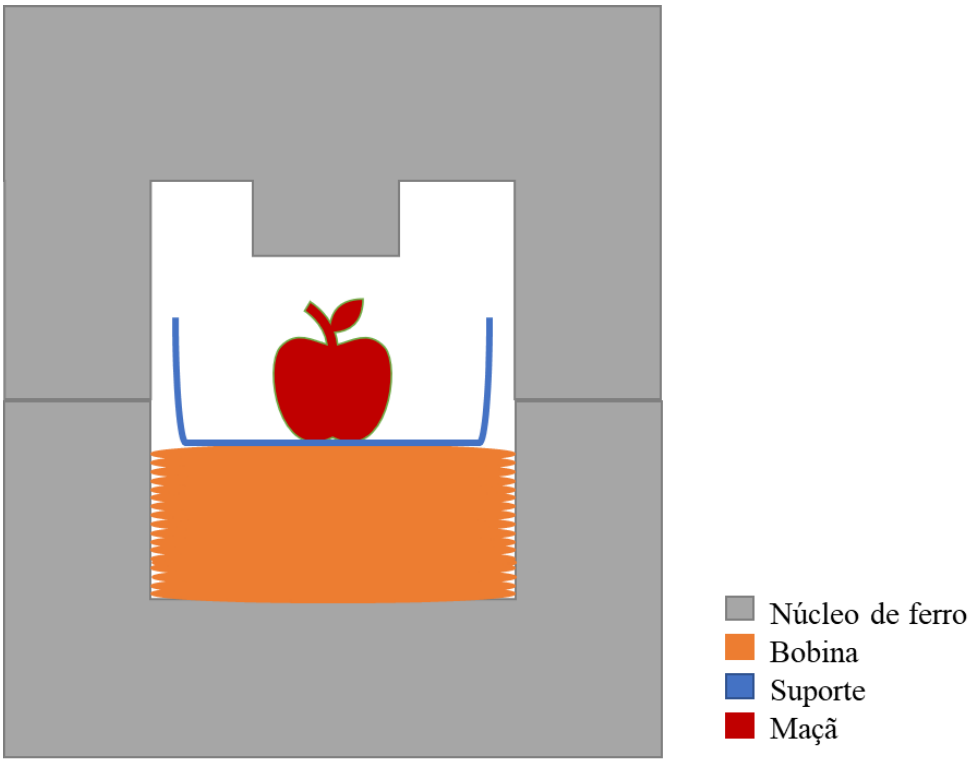
4.1 DESIGN EXPERIMENTAL DO EQUIPAMENTO GERADOR DE CMP

Primeiramente a bobina solenoide foi devidamente projetada para que fosse enrolada em um carretel produzido em ABS impresso em uma impressora 3D da marca GtMAx modelo A1. O enrolamento foi feito com fio de cobre esmaltado utilizando uma bobinadeira DigMotor DMB1005. Além disso, essa bobina foi inserida entre dois núcleos de ferro laminado em formato E deixando espaço necessário para inserção da porta amostra. A maçã foi disposta no

centro de um suporte de plástico projetado em AutoCad e produzido na impressora 3D do laboratório, para que não haja contato direto entre a bobina e a amostra afim de evitar aquecimento e a amostra sempre esteja na mesma posição durante todo o experimento, mantendo-se assim uma simetria estável conforme ilustra a figura 8. Os núcleos de ferro foram utilizados para incrementar a densidade de fluxo magnético.

Foi desenvolvido um circuito que energizará a bobina com corrente elétrica cujas características de frequência e amplitude poderão ser controladas através de um dispositivo de interface humana (HDMI). Foi utilizado um sistema microcontrolado baseado na plataforma Arduino que acionará através de um opto-acoplador um transistor mosfet que, por sua vez, chaveará a saída de tensão de um regulador de voltagem (Variac) cuja saída varia na tensão de 0 a 250 V AC e DC. O dispositivo poderá energizar a bobina com frequências de 0,5 a 200Hz. Ademais, o software embarcado foi desenvolvido na IDE Arduino e o layout de circuito eletrônico foi projetado no software Proteus e posteriormente foi impresso em placas de fibra de vidro cobreadas utilizando o equipamento ProtoMat E33 da LPKF.

Figura 8 - Design experimental da bobina e núcleo gerador de CMP

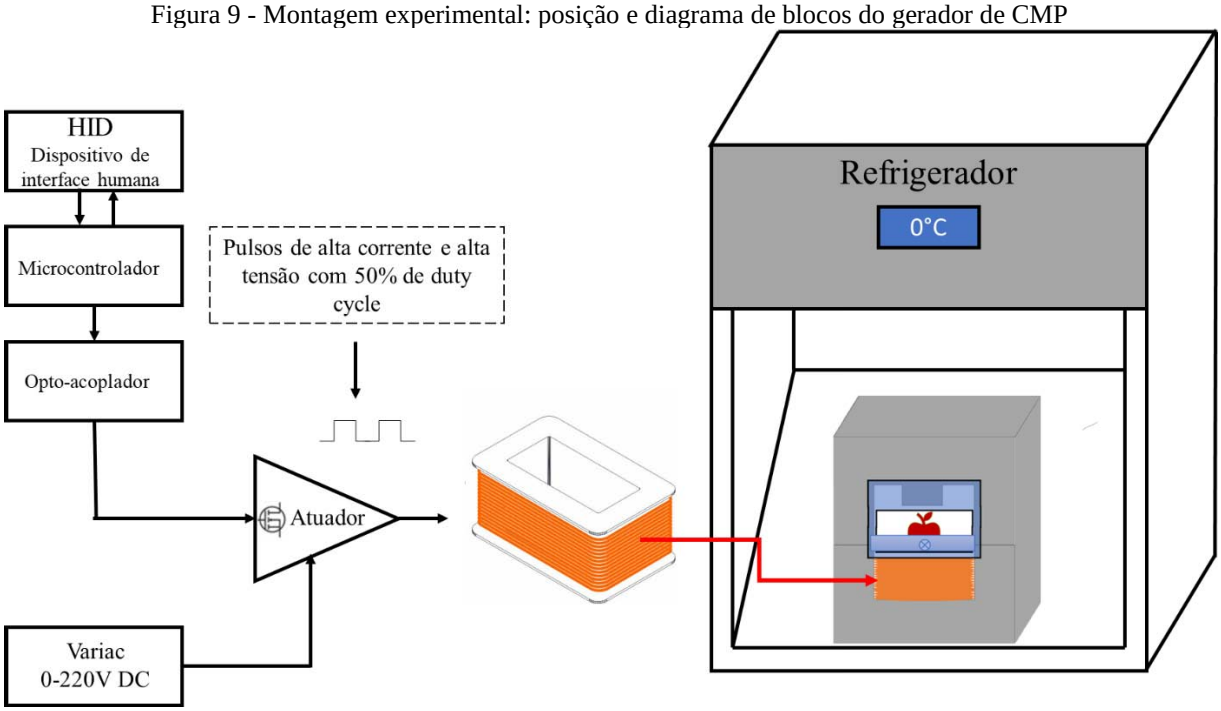


Fonte: Própria Autoria

Para o experimento o equipamento foi inserido dentro de um refrigerador desenvolvido previamente no Laboratório de física aplicada e computacional (LAFAC) (LINS *et al.*, 2017) conforme ilustrado na figura 8. Para cada experimento o refrigerador foi ligado previamente a

fim de atingir a temperatura de equilíbrio. Ainda de acordo com a figura 9 a bobina foi conectada em série com o Variac e o controlador de frequências.

Figura 9 - Montagem experimental: posição e diagrama de blocos do gerador de CMP



Fonte: Própria Autoria

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPORTAMENTO DOS CMP NO ESPAÇO DE ENSAIO

Foi feito um mapeamento do campo magnético no espaço de ensaio. Para tal fim, foi utilizada uma sonda de efeito HALL. A densidade do campo magnético será medida em 3 pontos, no centro, acima e abaixo da maçã. Esse procedimento será repetido para cada frequência do equipamento utilizada no experimento. Os dados serão posteriormente analisados.

4.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

4.3.1 Primeira etapa: Fatorial completo

A primeira etapa dos experimentos será realizada seguindo o método fatorial 2^k completo com três pontos centrais, onde k é o número de variáveis independentes. Nesse caso as variáveis independentes foram a intensidade de campo, frequência de pulsos e tempo de exposição ao campo magnético.

O número de ensaios no fatorial completo é dado pela equação 1. Portanto, foram realizados 11 ensaios uma vez que o número de variáveis dependentes é 3. Nos modelos fatorial completo e DCCR os níveis de cada variável são codificados como: 0 para o ponto central, 1 para o maior valor e -1 para o menor valor. A tabela 2 apresenta a matriz fatorial dos experimentos onde p.c. significa ponto central

$$N.^{\circ}\ deensaios = 2^{k} + 3_{p.c.} \tag{1}$$

O planejamento fatorial completo é importante pois nos fornece informações tais como os efeitos de interação de cada variável e o efeito de interação entre elas sobre as variáveis dependentes analisadas, curva de contorno e estimar de forma eficiente os termos da equação de primeira ordem e segunda ordem (RODRIGUES; IEMMA, 2009). As variáveis independentes foram tensão de alimentação, frequência de pulsos e tempo de exposição ao campo, enquanto que as variáveis dependentes foram pH, sólidos solúveis, acidez titulável, e a atividade enzimática da polifenoloxidase que foram medidas imediatamente logo após o tratamento e 1h e 2h após o tratamento.

Tabela 2 - Matriz do design experimental fatorial 2k com três pontos centrais para estudar os efeitos da intensidade de campo delimitada pela tensão do equipamento e a frequência de pulsos magnéticos

NÚMERO DO ENSAIO	***INTENSIDADE DE CAMPO (MT)***	***FREQUÊNCIA (HZ)***	***TEMPO DE EXPOSIÇÃO (MIN)***
1	- (8)	- (1)	-(15)
2	+ (57,2)	- (1)	- (15)
3	- (8)	+ (120)	- (15)
4	+ (57,2)	+ (120)	- (15)
5	- (8)	-(1)	+(60)
6	+(57,2)	-(1)	+(60)
7	-(8)	+(120)	+(60)
8	+(57,2)	+(120)	+(60)
9 (P.C.)	0 (28,8)	0 (60)	0(37,5)
10 (P.C.)	0 (28,8)	0 (60)	0(37,5)
11 (P.C.)	0 (28,8)	0 (60)	0(37,5)

Legenda: p.c. (ponto central). Fonte: Própria Autoria

O experimento foi conduzido dentro de freezer desenvolvido previamente no Laboratório de física aplicada e computacional (LAFAC) (LINS *et al.*, 2017). Dentro deste

freezer foi inserido o equipamento gerador de campos magnéticos pulsados, uma sonda deefeito hall e um sensor de temperatura no centro da maçã. Após o tempo de exposição ao campo a amostra foi cortada em oito pedaços iguais com um auxílio de um cortador de maçãs (figura11). Dois pedaços foram separados para as análises das variáveis dependentes e os demais armazenado em uma caixa com entrada de ar sob refrigeração a 4°C.

Figura 10 - Cortador utilizado para a padronização dos pedaços de maçã

Fonte: Própria Autoria

4.4 SELEÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS

Foram usadas amostras de maçã gala que foram adquiridas em mercado local na cidade de Pirassununga da marca Rasip distribuídas pela Garden Fruits e vendidas em embalagens de 1kg. As frutas foram selecionadas respeitando uma homogeneidade de cor da casca e ausência de defeitos visíveis. As amostras foram higienizadas antes dos tratamentos.

4.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS CMP NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS

4.5.1 pH:

O pH das amostras foi determinado de acordo com a metodologia adaptada de Coseteng e Lee (1987), onde pHmetro digital (MA522) será inserido na solução de 5g de amostra de maçã picada homogeneizada em um blender com 10ml de água destilada. O equipamento foi calibrado antes do uso com as soluções buffers 4 e 7. As análises foram realizadas em duplicata tanto para as amostras seguindo o planejamento experimental quanto para a amostra controle e para a amostra fresca.

4.5.2 Acidez Titulável Total (ATT)

A acidez de um produto pode fornecer um dado precioso em relação a sua conservação. Será pesado cinco gramas de maçã em um Becker, onde será agregado água destilada até completar 10mL. Essa solução será triturada no turratec (1000rpm nível 3) por 2 minutos. O homogeneizado será filtrado a vácuo. Do filtrado será coletado 10 mL para ser dissolvido em 100 mL de água destilada e agregado 0,3 mL de fenolftaleína 1% m/v (VOLUME DE ETANOL). A solução final será titulada com NaOH 0,1 N sob agitação constante até a obtenção de coloração rósea (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A ATT da maçã será expressa em ácido málico e será calculado pela equação 2.

$$\%ATT_{\left(\frac{g}{mL}\right)} = \frac{n*N*f*Eq}{V} * 100 \qquad (2)$$

Onde:

n é o volume hidróxido de sódio usado na titulação.

N é a normalidade da solução de hidróxido de sódio.

f é o fator de diluição (envolve a massa da amostra de maçã)

Eq é a miliequivalência do ácido málico 0,067.

V é o volume da amostra em mL.

4.5.3 Sólidos Solúveis Totais (SST)

O teor de sólidos solúveis totais presentes das amostras foi determinado com um refractómetro digital ATAGO sob o método adaptado de Coseteng e Lee (1987). Para a medida, 5g de amostra de maçã picada homogeneizada em um blender com 10ml de água destilada foram agitadas e filtradas. O extrato filtrado foi colocado dentro do compartimento de medida do refractómetro e a leitura realizada teve o valor do resultado em °Brix.

4.6 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

4.6.1 Extrato Enzimático

Foi pesado 5g de maçã e adicionado 20 mL de tampão fosfato (pH = 7) e homogeneizado em turratec a 10000 por 3 minutos. A solução foi filtrada em banho de gelo para se obter o extrato enzimático que permaneceu em banho de gelo a 4°C para futuras análises.

4.6.2 Atividade de PPO

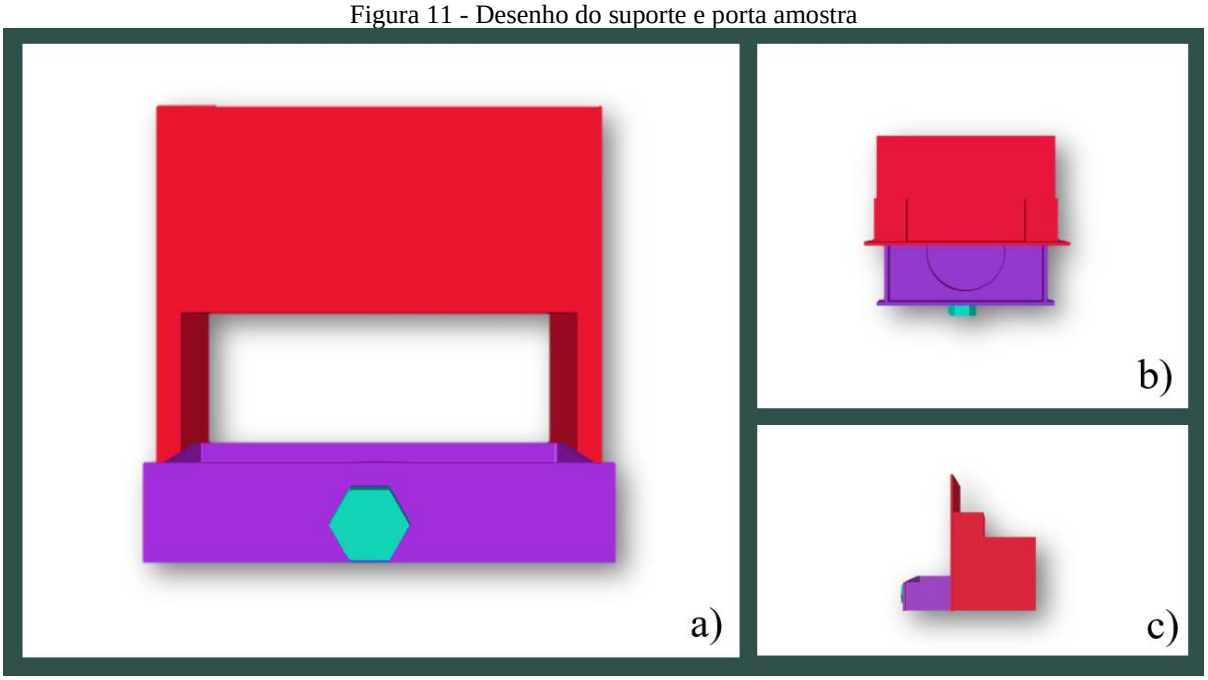
A solução para realização da análise da atividade enzimática será preparada com 2,8 ml de catecol (0,07M) e 200µL de extrato enzimático. A atividade de PPO foi determina pela medida da absorbância à 420 nm de comprimento de onda durante 5 minutos com coleta de dados a cada 5s de acordo com método modificado de Kumar, Mohan e Murugan (2008). O branco será constituído por água destilada e uma unidade de atividade enzimática será definida como a quantidade de enzima que causa um aumento em absorbância de 0.001 min^{-1}.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DESENHO EXPERIMENTAL DO CMP E SUPORTE DE AMOSTRAS

Na figura 12 pode ser observado o desenho do suporte porta amostra em três diferentes vistas que foi projetado no Software AutoCad2019 e que posteriormente foram impressos usando ABS. Esta peça permite conter a amostra (no caso a maçã), isolar a amostra do eletroímã e permitir que a amostra esteja sempre na mesma posição. A bobina solenoide é composta por espiras com fio de cobre de diâmetro 0,6438 mm. Na figura 12 pode ser observado o protótipo já montado da bobina com o suporte porta amostra.

Figura 11 - Desenho do suporte e porta amostra



Legenda: a) (vista frontral); b) (vista superior); c) (vista lateral). Fonte: Própria Autoria

Figura 12 - Esquema experimental: Bobina e suporte

Fonte: Própria Autoria

A figura 13 mostra o diagrama esquemático do sistema gerador pulso desenvolvido. O controlador de frequências possui quatro botões: para incrementar a frequência, para diminuir a frequência, para voltar a frequência mínima e o último para iniciar os pulsos. A alimentação de corrente do controlador de frequências será direta do VARIAC.

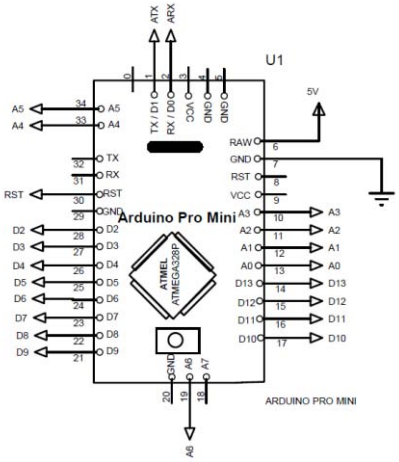
O equipamento gerador de pulsos de campo magnético basicamente possibilita a circulação de uma corrente DC através de uma bobina em tempos pre-programados. É constituído por um sistema de controle digital, uma fonte de alimentação, um circuito de potência e uma interface com o usuário.

5.1.1 Sistema de controle digital

Este sistema é composto por uma placa Arduino Pro-Mini que contêm um microcontrolador Atmega 328. Esse microcontrolador é responsável por processar os comandos introduzidos através da interface com o usuário e exibir os detalhes do pulso que está sendo gerado pelo equipamento. O pino **D12** do Arduino é conectado ao sistema de potência do equipamento e é configurado como uma saída digital com pulso proporcional à frequência programada pelo usuário.

A figura 14 representa o diagrama de pinos da placa.

Figura 13 - Diagrama de pinos do Arduino Pro-Mini



Fonte: Autoria Própria

O firmware para o microcontrolador foi desenvolvido no ambiente da IDE Arduino.

5.1.2 Fonte de alimentação.

A fonte de alimentação tem por objetivo suprir a energia para o funcionamento do sistema de controle digital e da interface com o usuário. É constituída por um transformador de tensão que converte a tensão de 127V AC de entrada em uma tensão de 12V AC. A tensão então é retificada por uma ponte de diodos e posteriormente convertida em uma tensão de 5V DC por um regulador de tensão LM7805.

A figura 15 mostra o esquema elétrico da fonte de alimentação.

Figura 14 - Esquema elétrico da fonte de alimentação

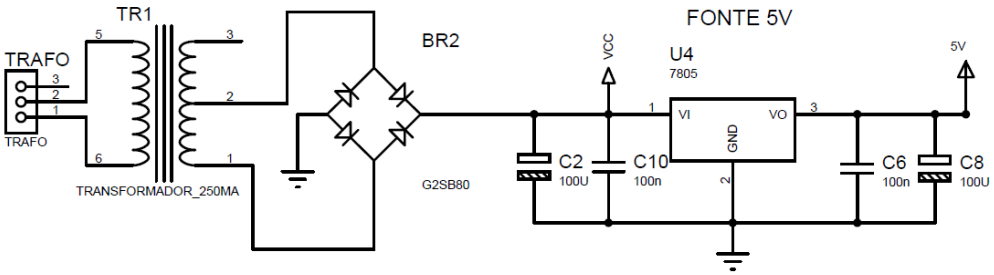


Figura Esquema elétrico da fonte de alimentação

5.1.3 Circuito de potência

O circuito de potência é responsável por amplificar o pulso gerado pelo sistema de controle digital através do pino D12. Este sistema é acoplado ao pino D12 através de um opto-acoplador PC817 cujo papel é isolar o circuito digital do circuito de alta potência para evitar que surtos de tensão ou corrente possam danificar os sensíveis componentes da placa Arduino.

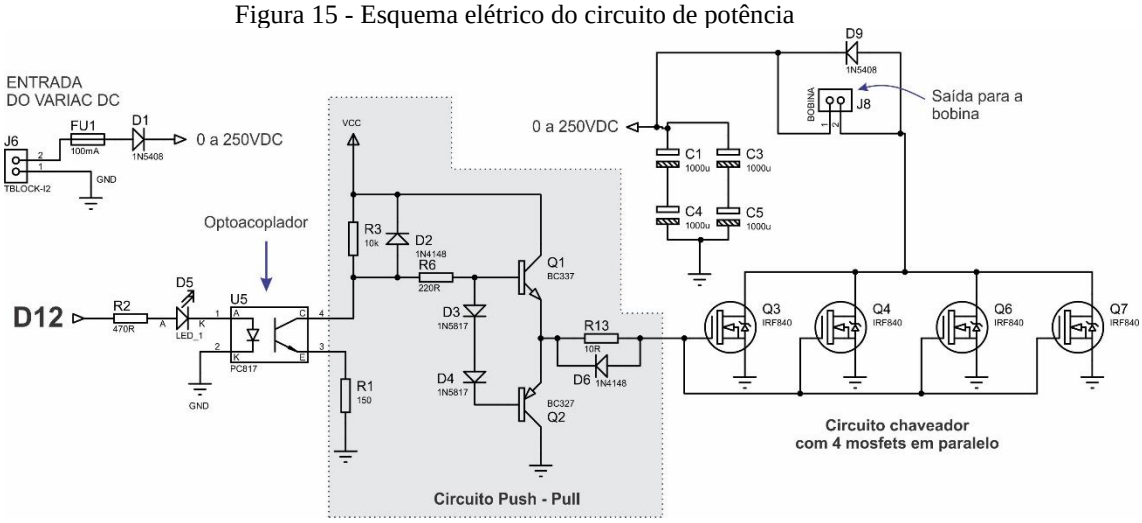
O chaveamento do pulso de alta tensão é feito utilizando quatro transistores do tipo MOSFET modelo IRF840 acoplados em paralelo. Esta configuração foi adotada para tornar o circuito mais robusto à passagem de corrente, evitando assim superaquecimento.

A fim de tornar possível o acionamento simultâneo dos quatro transistores MOSFET, a saída do opto-acoplador foi ligada a um circuito “push-pull” composto por dois transistores BC337, cujo papel é diminuir a impedância de saída do pulso digital a fim de tornar desprezível a capacitância interna das junções dos transistores MOSFET que é responsável pelo retardo no acionamento dos mesmos.

A entrada do circuito de potência é ligada através de conectores do tipo “banana” a um equipamento variador de tensão (VARIAC DC).

Figura 16 mostra o esquema elétrico do circuito de potência

Figura 15 - Esquema elétrico do circuito de potência



Fonte: Própria Autoria

O esquema elétrico completo do controlador de frequências pode ser observado na figura 17.

5.1.4 Interface com o usuário

A interface com usuário serve como periférico de entrada e saída de informações com o usuário. Para a entrada de dados, foram utilizados quatro botões cuja funcionalidade foi programada no firmware do sistema de controle digital do seguinte modo:

Botão 1.- Serve para incrementar a frequência do pulso

Botão 2.- Serve para decrementar a frequência do pulso

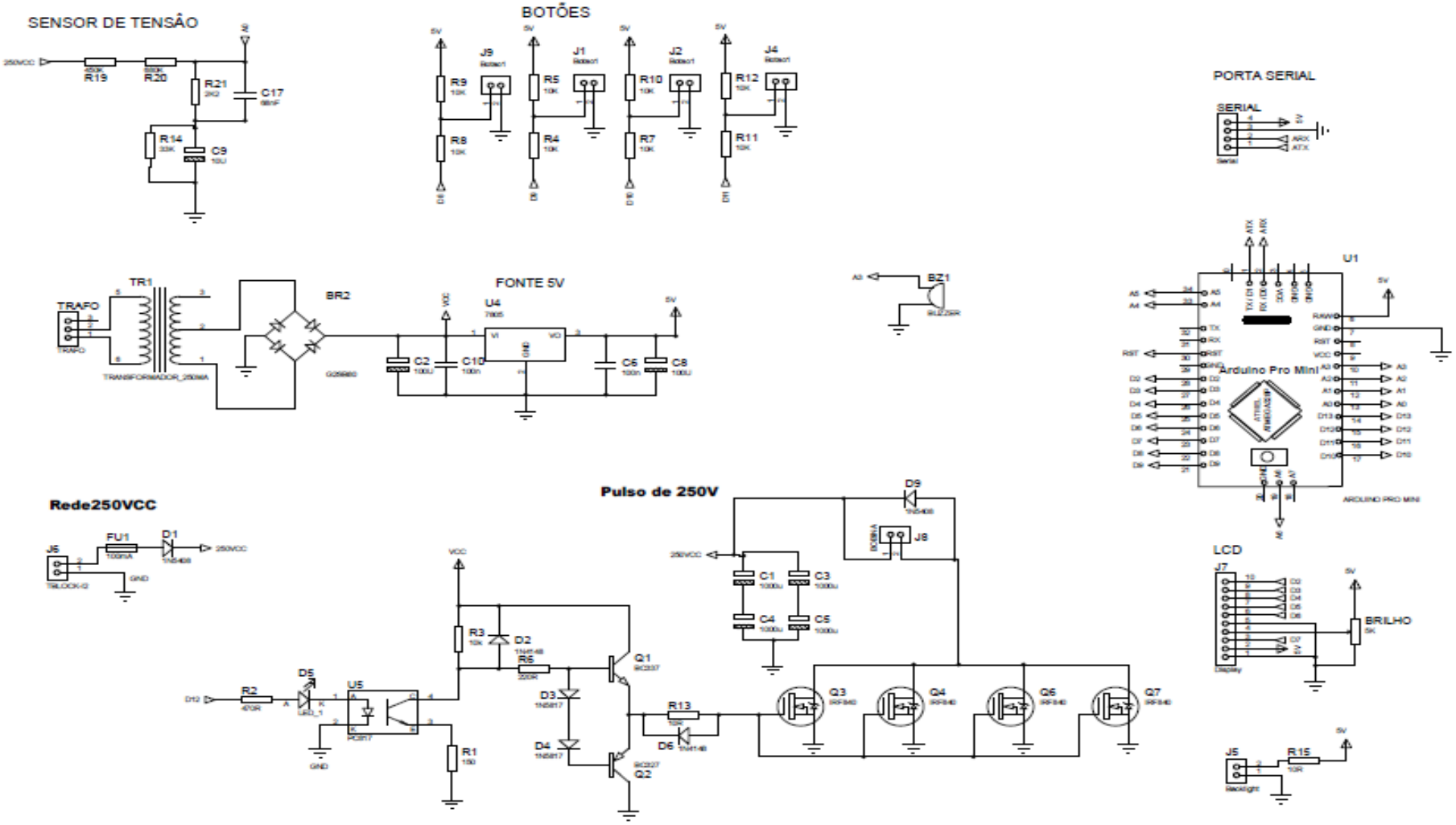
Botão 3.- Serve para restaurar as configurações iniciais do equipamento

Botão 4.- Serve para iniciar a geração dos pulsos

A fim de exibir as características do pulso que está sendo gerado pelo equipamento, foi adicionado um display LCD que mostra o estado do equipamento (gerando pulso ou parado), a frequência do pulso em Hertz e a tensão do pulso.

A tensão do pulso é a mesma tensão de entrada do VARIAC e para efetuar a medição desta tensão foi utilizado um circuito divisor de tensão cuja saída é acoplada à entrada do conversor analógico-digital da placa Arduino através do pino A0.

Figura 16 - Esquema elétrico do controlador de frequências



Fonte: Própria Autoria

5.2 EFEITOS DOS CAMPOS MAGNÉTICOS PULSADOS NO PH, SST E ATT DA MAÇÃ

Na tabela 3, a matriz do design experimental completo 2^3 apresenta os valores das variáveis dependentes e os resultados obtidos nas análises das variáveis independentes nos tempos imediatamente após o experimento (t=0), após 1hora do experimento (t=1) e após 2 horas do experimento (t=2).

Tabela 3 - Design experimental completo com os valores observados de pH, SST e ATT nos tempo 0, 1 e 2.

Runs	Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes											
	Field Intensity (mT)	Frequency (Hz)	Time (min)	pH T0	STT (°Brix) T0	ATT (%) T0	PPO (U)	pH T1	STT (°Brix) T1	ATT (%) T1	PPO (U)	pH T2	STT (°Brix) T2	ATT (%) T2	PPO (U)
1	8,0	1,0	15,0	4,1	4,4	0,9	0,010	4,0	4,4	0,9	0,0077	4,2	3,8	0,8	0,0069
2	57,2	1,0	15,0	4,1	1,7	0,9	0,006	4,2	2,3	1,0	0,0056	4,2	2,0	1,1	0,0041
3	8,0	120,0	15,0	4,1	4,0	0,9	0,005	4,3	3,8	1,0	0,0057	4,1	3,1	0,9	0,0092
4	57,2	120,0	15,0	3,9	4,7	1,0	0,011	3,9	4,3	1,1	0,0166	4,0	4,6	0,9	0,0164
5	8,0	1,0	60,0	4,2	3,7	0,7	0,011	4,3	3,8	0,6	0,0112	4,3	3,9	0,6	0,0099
6	57,2	1,0	60,0	4,2	4,0	0,8	0,008	4,2	4,0	0,6	0,0079	4,1	3,9	0,6	0,0075
7	8,0	120,0	60,0	4,0	3,6	0,9	0,007	4,1	3,6	0,9	0,0069	4,1	3,9	0,9	0,0070
8	57,2	120,0	60,0	4,2	3,2	0,9	0,007	4,1	3,3	0,9	0,0089	4,0	3,5	0,8	0,0095
9 (C)	28,8	60,0	37,5	4,0	4,4	1,0	0,006	4,0	3,9	0,9	0,0069	4,3	3,5	0,8	0,0063
10 (C)	28,8	60,0	37,5	4,0	3,7	0,8	0,006	4,2	3,6	0,7	0,0088	4,1	3,7	0,7	0,0073
11 (C)	28,8	60,0	37,5	4,0	3,5	1,2	0,009	4,3	3,4	1,1	0,0090	4,0	3,9	0,9	0,0110

Legenda: C (ponto central), t=0 (medidas imediatamente após experimento), t=1 (medidas após 1h sob refrigeração) e t=2 (medidas após 2h sob refrigeração). Fonte: Própria Autoria

Nessa etapa foram avaliados os efeitos de interação das variáveis dependentes assim como seus efeitos nas variáveis dependentes pelos gráficos da curva de contorno gerado na simulação pelo software Statistica, gráfico de Pareto e o cálculo da ANOVA.

As variáveis independentes testadas foram tensão de alimentação, frequência de pulsos e tempo de exposição ao campo, enquanto as variáveis dependentes foram pH, sólidos solúveis e acidez titulável. Também foram comparados os valores do ponto central com a triplicata de um controle (maçã fresca refrigerada a 4°C). Durante todo o experimento a intensidade de campo foi homogênea no espaço de ensaio e a temperatura fora da maçã foi de 4°C enquanto que no centro da maçã foi de 5°C.

5.2.1 Efeitos encontrados no pH

Tabela 4 mostra a análise de variância (ANOVA) para primeira ordem do design experimental para pH nos tempos 0h, 1h e 2h após o experimento. Para t=0 é possível observar diferenças significativas no pH devido a frequência, tempo de exposição ao campo e interação

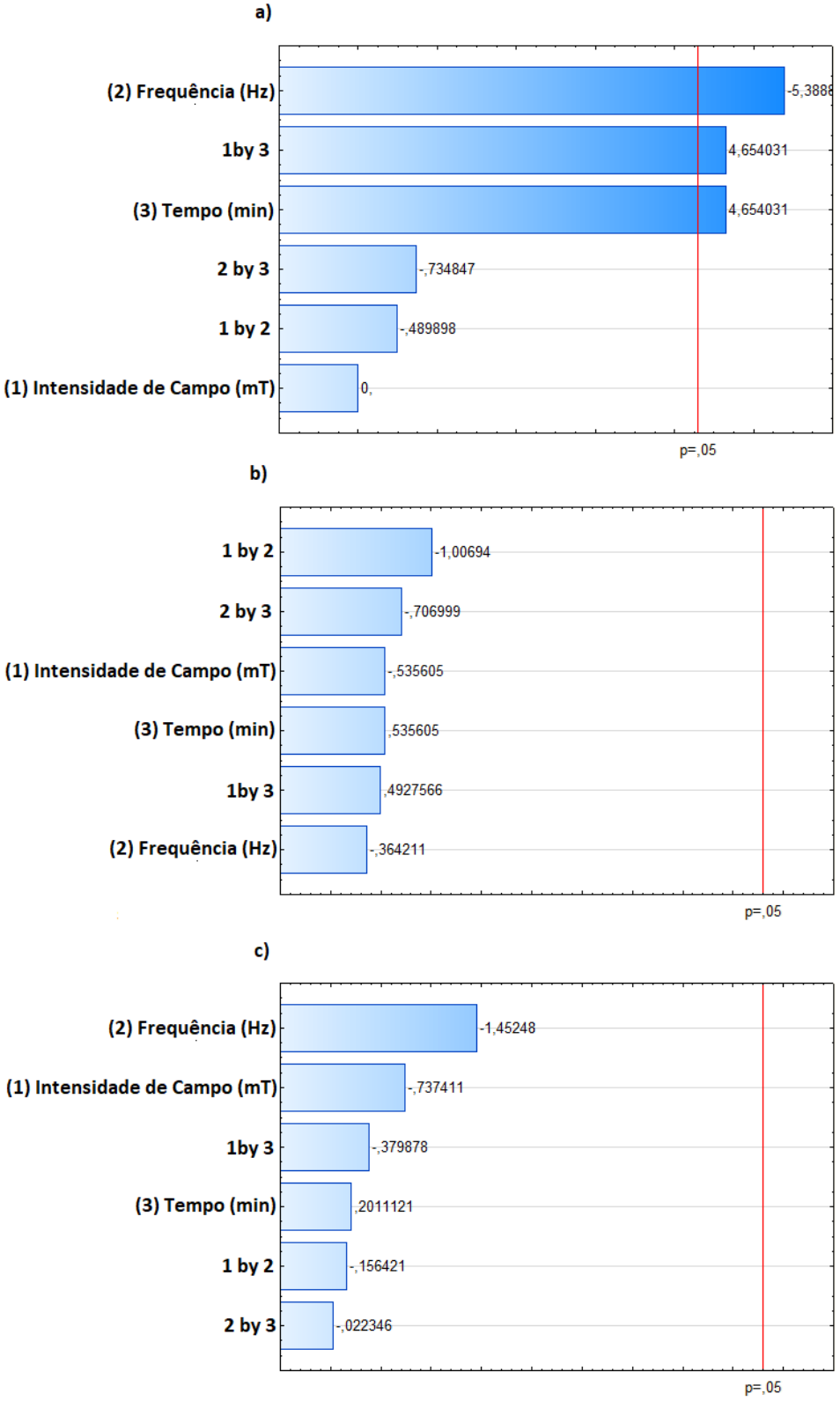
da intensidade de campo por tempo de exposição ao campo. Enquanto que após 1h e 2h do experimento não foram observadas diferenças significativas no pH. No diagrama de Pareto (figura 17) podem ser observados os mesmos resultados para pH nos tempo 0h, 1h e 2h. As barras horizontais representam a magnitude das estimativas de efeitos divididas pelo erro padrão (valor absoluto dos efeitos) enquanto as barras cruzando a linha pontilhada representam estatisticamente efeitos significativos no limite de confiança (95%).

Tabela 4 - ANOVA: Análise de variância de primeira ordem fatorial 2^3 para o pH nos tempos 0,1 e 2

Fator	Soma dos quadrados SQ	gl	MQ	F	valor - p
		Para t= 0			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,000000	1	0,000000	0,00000	1,000000
(2) Frequência (Hz)	0,0242	1	0,0242	29,04	0,032753
(3) Tempo (min)	0,01805	1	0,01805	21,66	0,043198
1 por 2	0,0002	1	0,0002	0,24	0,672673
1 por 3	0,01805	1	0,01805	21,66	0,043198
2 por 3	0,00045	1	0,00045	0,54	0,538916
Falta de ajuste	0,080256	2	0,04013	48,1536	0,020344
Erro puro	0,001667	2	0,00083		
Total SQ	0,142873	10			
R^2	0,4266				
		Para t= 1			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,007812	1	0,007812	0,286873	0,645820
(2) Frequência (Hz)	0,003612	1	0,003612	0,132650	0,750602
(3) Tempo (min)	0,007812	1	0,007812	0,286873	0,645820
1 por 2	0,027612	1	0,027612	1,013923	0,419989
1 por 3	0,006612	1	0,006612	0,242809	0,670969
2 por 3	0,013613	1	0,013613	0,499847	0,552841
Falta de ajuste	0,076131	2	0,038066	1,397755	0,417057
Erro puro	0,054467	2	0,027233		
Total SQ	0,197673	10			
R^2	0,33932				
		Para t= 2			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,013613	1	0,013613	0,543775	0,537651
(2) Frequência (Hz)	0,052812	1	0,052812	2,109687	0,283519
(3) Tempo (min)	0,001013	1	0,001013	0,040446	0,859209
1 por 2	0,000612	1	0,000612	0,024467	0,890064
1 por 3	0,003613	1	0,003613	0,144308	0,740581
2 por 3	0,000013	1	0,000013	0,000499	0,984201
Falta de ajuste	0,007877	2	0,003938	0,157321	0,864065
Erro puro	0,050067	2	0,025033		
Total SQ	0,129618	10			
R^2	0,55297				

Legenda: t=0 (medidas imediatamente após experimento), t=1 (medidas após 1h sob refrigeração) e t=2 (medidas após 2h sob refrigeração), cor vermelha indica diferença significativa para $p < 0,05$. Fonte: Própria Autoria

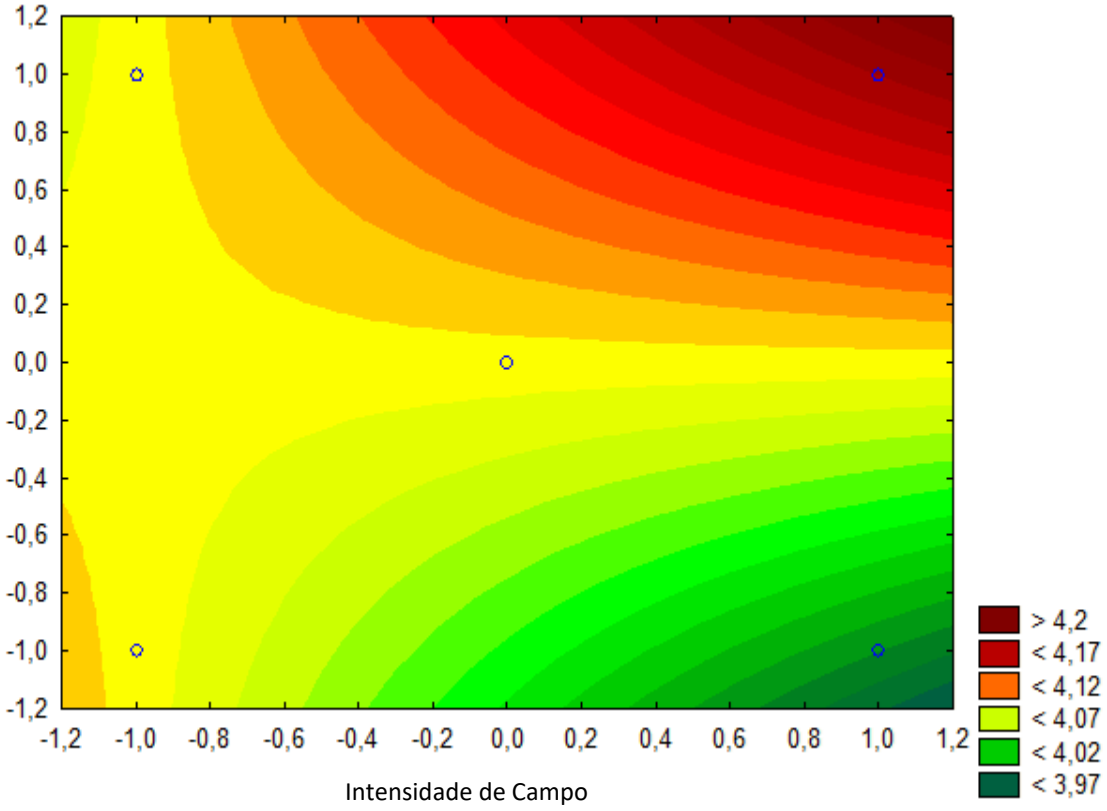
Figura 17 - Efeitos das variáveis independentes no pH a) pH no tempo 0 b) pH no tempo 1 c) pH no tempo 2



Fonte: Própria Autoria

O gráfico de Pareto (figura 17), também mostra (figura 17 a) que quanto maior a frequência menor o pH, quanto maior o tempo de exposição maior o pH e quanto maior a interação de intensidade de campo e tempo de exposição ao campo maior o pH. Na figura 18 podemos ver no gráfico de contorno que quanto maior o tempo de exposição e intensidade de campo, maior o pH, enquanto com menores tempo de exposição mesmo com maior intensidade de campo o pH vai de valores medianos a baixos valores.

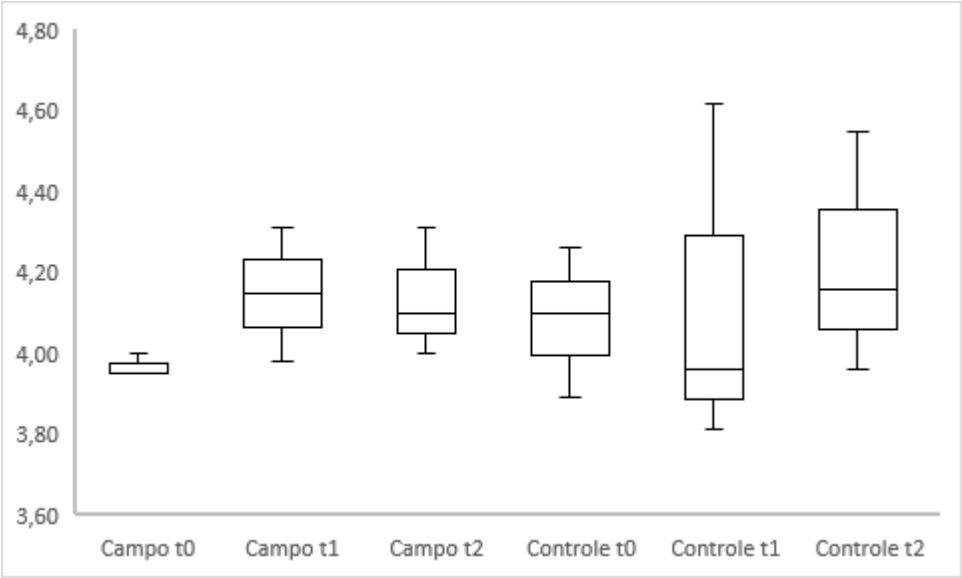
Figura 18 - Gráfico de contorno dos efeitos de tempo de exposição e Intensidade de campo no pH da maçã em t=2.



Fonte: Própria Autoria

Para responder à pergunta de que há diferenças entre o controle, fruta que não passou pelo campo magnético, em comparação ao experimento, um controle foi feito e comparado com o ponto central do experimento (Frequência = 60Hz, intensidade de campo = 28,8 mT e tempo de exposição ao campo = 37,5 min). No gráfico da figura 19 e nas tabelas 5 e 6 são exibidos os valores de pH tanto da maçã fresca 0,1 e 2h após o corte e das amostras passadas pelo campo magnético pulsado. Em todas estas análises não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), considerando as análises de box plot, teste t e ANOVA, se pode concluir que os campos magnéticos pulsados, não têm influência no pH.

Figura 19 - Gráfico box plot comparando valores de pH entre e campo e controle em diferentes tempos após o corte



Fonte: Própria Autoria

Tabela 5 - ANOVA comparado valores de pH para amostras e controle

ANOVA

Fonte da variação	*SQ*	*gl*	*MQ*	*F*	*valor-P*	*F crítico*
Amostra	0,017422222	1	0,017422222	0,287759222	0,601463307	4,747225347
Colunas	0,077211111	2	0,038605556	0,637639934	0,545538447	3,885293835
Interações	0,014677778	2	0,007338889	0,121214902	0,886914472	3,885293835
Dentro	0,726533333	12	0,060544444			
Total	0,835844444	17				

Fonte: Própria Autoria

Tabela 6 - Teste t presumindo variâncias diferentes comparando controle com amostra tratadas em campo magnético pulsado

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t0	*Controle t0*
Média	3,966666667	4,083333333
Variância	0,000833333	0,034433333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	2	
Stat t	-1,07603206	
P(T<=t) uni-caudal	0,197239084	
t crítico uni-caudal	2,91998558	
P(T<=t) bi-caudal	0,394478168	
t crítico bi-caudal	4,30265273	

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t1	*Controle t1*
Média	4,146666667	4,136666667
Variância	0,027233333	0,025033333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	0,075761441	
P(T<=t) uni-caudal	0,471623382	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	0,943246763	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t2	*Controle t2*
Média	4,136666667	4,223333333
Variância	0,025033333	0,090033333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	3	
Stat t	-0,44252515	
P(T<=t) uni-caudal	0,344035378	
t crítico uni-caudal	2,353363435	
P(T<=t) bi-caudal	0,688070757	
t crítico bi-caudal	3,182446305	

Fonte: Própria Autoria

5.2.2 Efeitos encontrados no SST

A análise de variância (ANOVA) para primeira ordem do design experimental para STT nos tempos 0h, 1h e 2h após o experimento é apresentada na tabela 7. Para t=2 é possível observar diferenças significativas nos sólidos solúveis totais devido a interação entre as variáveis frequência e intensidade de campo. Enquanto que imediatamente após o corte e 2h após o experimento não foram observadas diferenças significativas no STT pela análise de variância. No diagrama de Pareto (figura 20) podem ser observados os mesmos resultados para STT nos tempo 0h, 1h e 2h onde as barras horizontais representam a magnitude das estimativas de efeitos divididas pelo erro padrão (valor absoluto dos efeitos) enquanto as barras cruzando a linha pontilhada representam estatisticamente efeitos significativos no limite de confiança (95%), portanto, somente a interação da frequência com o campo no tempo T2 demonstrou diferenças significativas, deforma demonstradas no gráfico que quando maior essa interação , maiores são os valores STT. Na figura 21 podemos ver no gráfico de contorno que quanto maior a intensidade de campo e menor a frequência, maiores os valores de STT, enquanto com menores frequências e menores intensidades de campo, ou maiores frequência e menores intensidade de campo obtemos valores mais baixos de STT.

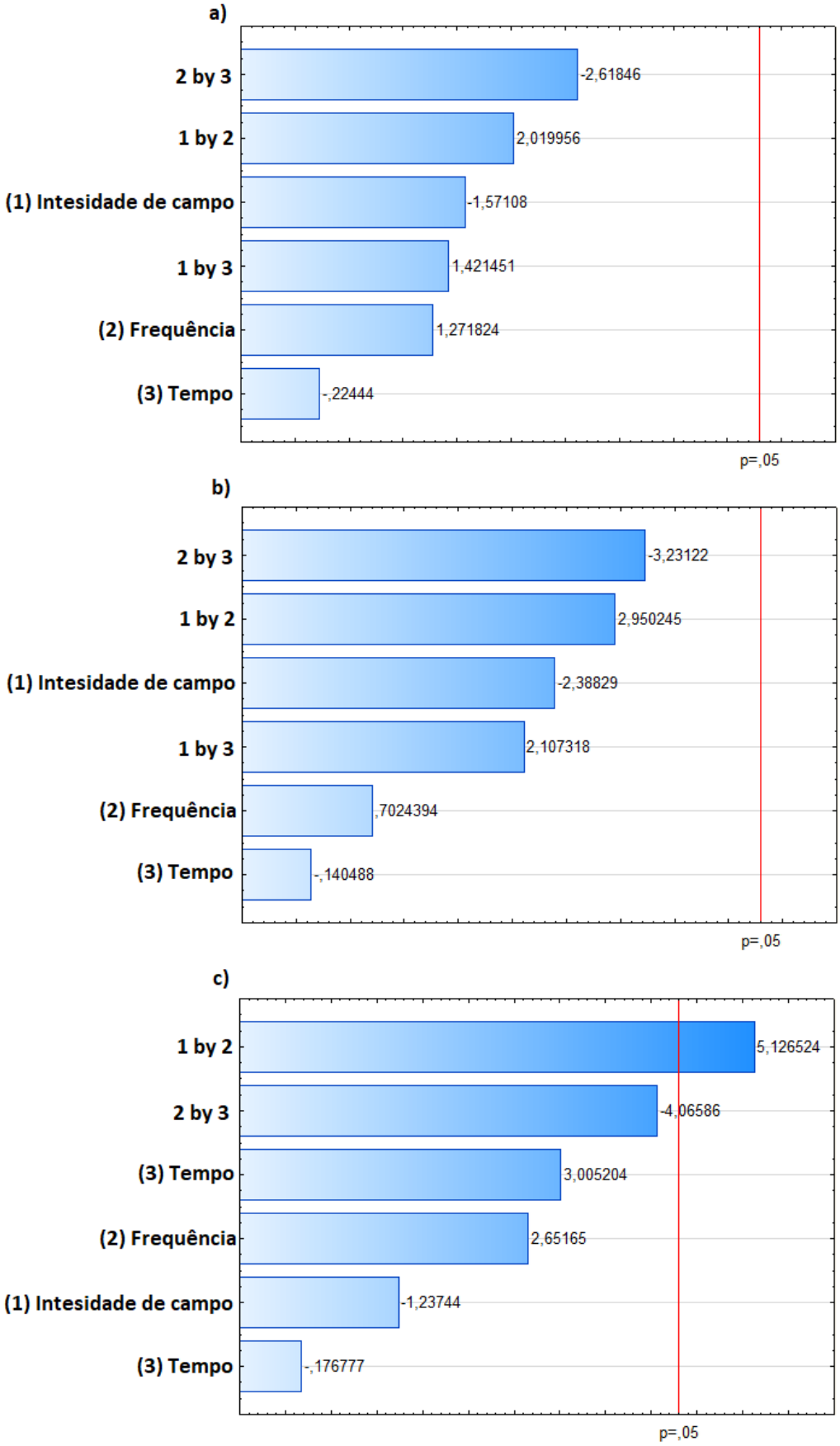
Na literatura, foram apontados um aumento de teor de glicose e frutose em maçãs de diversos cultivares estimuladas com campo magnético de intensidade que variou de 50 a 100 µT e uma variação de frequência de 50 a 100 Hz , o que representou um aumento em média de 8% de frutose e 25% de glicose, sendo que a frequência do campo não alterou significativamente os resultados (ZAGUŁA; PUCHALSKI, 2013). Essas informações vão de encontro com os achados dessa pesquisa, uma vez que observando a figura 21 que demonstra a curva de contorno da interação frequência e intensidade de campo na variável STT, demonstrou que valores muito altos de frequência (120 Hz) e máximos de intensidade de campo (57,2 mT) tiveram os menores valores de STT, enquanto que baixas frequências (1Hz) com alta intensidade de campo é onde vemos os maiores valores de STT. Baixos valores de campo e frequência também demonstraram menores valores de STT, o que vai ao encontro com Jia et al. (2015) que reportou uma diminuição em sólidos solúveis em melão cortados, tratados com campos magnéticos oscilatórios de 2mT (valor abaixo de 8mT que foi utilizado neste experimento). Também foi demonstrado que o tempo de exposição ao campo traria diferenças nos resultado , o que já não foi encontrado neste experimento que não demonstrou o tempo de exposição como uma variável que alteraria significativamente os valores de STT em maçãs.

Tabela 7 - ANOVA: Análise de variância de primeira ordem fatorial 23 para o STT nos tempos 0,1 e 2

Fator	Soma dos quadrados SQ	gl	MQ	F	valor - p
Para t= 0					
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,551250	1	0,551250	2,468284	0,256763
(2) Frequência (Hz)	0,361250	1	0,361250	1,617537	0,331316
(3) Tempo (min)	0,011250	1	0,011250	0,050373	0,843259
1 por 2	0,911250	1	0,911250	4,080224	0,180815
1 por 3	0,451250	1	0,451250	2,020522	0,291091
2 por 3	1,531250	1	1,531250	6,856343	0,120129
Falta de ajuste	2,192197	2	1,096098	4,907904	0,169265
Erro puro	0,446667	2	0,223333		
Total SQ	6,456364	10			
R^2	0,59128				
Para t= 1					
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,361250	1	0,361250	5,703947	0,139539
(2) Frequência (Hz)	0,031250	1	0,031250	0,493421	0,555153
(3) Tempo (min)	0,001250	1	0,001250	0,019737	0,901147
1 por 2	0,551250	1	0,551250	8,703947	0,098250
1 por 3	0,281250	1	0,281250	4,440789	0,169651
2 por 3	0,661250	1	0,661250	10,440789	0,083900
Falta de ajuste	1,207652	2	0,603826	9,534091	0,094930
Erro puro	0,126667	2	0,063333		
Total SQ	3,221818	10			
R^2	0,58585				
Para t= 2					
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,061250	1	0,061250	1,531250	0,341495
(2) Frequência (Hz)	0,281250	1	0,281250	7,031250	0,117647
(3) Tempo (min)	0,361250	1	0,361250	9,031250	0,095181
1 por 2	1,05125	1	1,05125	26,28125	0,0360074
1 por 3	0,001250	1	0,001250	0,031250	1,000000
2 por 3	0,661250	1	0,661250	16,531250	0,055503
Falta de ajuste	1,738864	2	0,869432	21,735795	0,043984
Erro puro	0,080000	2	0,040000		
Total SQ	4,236364	10			
R^2	0,57065				

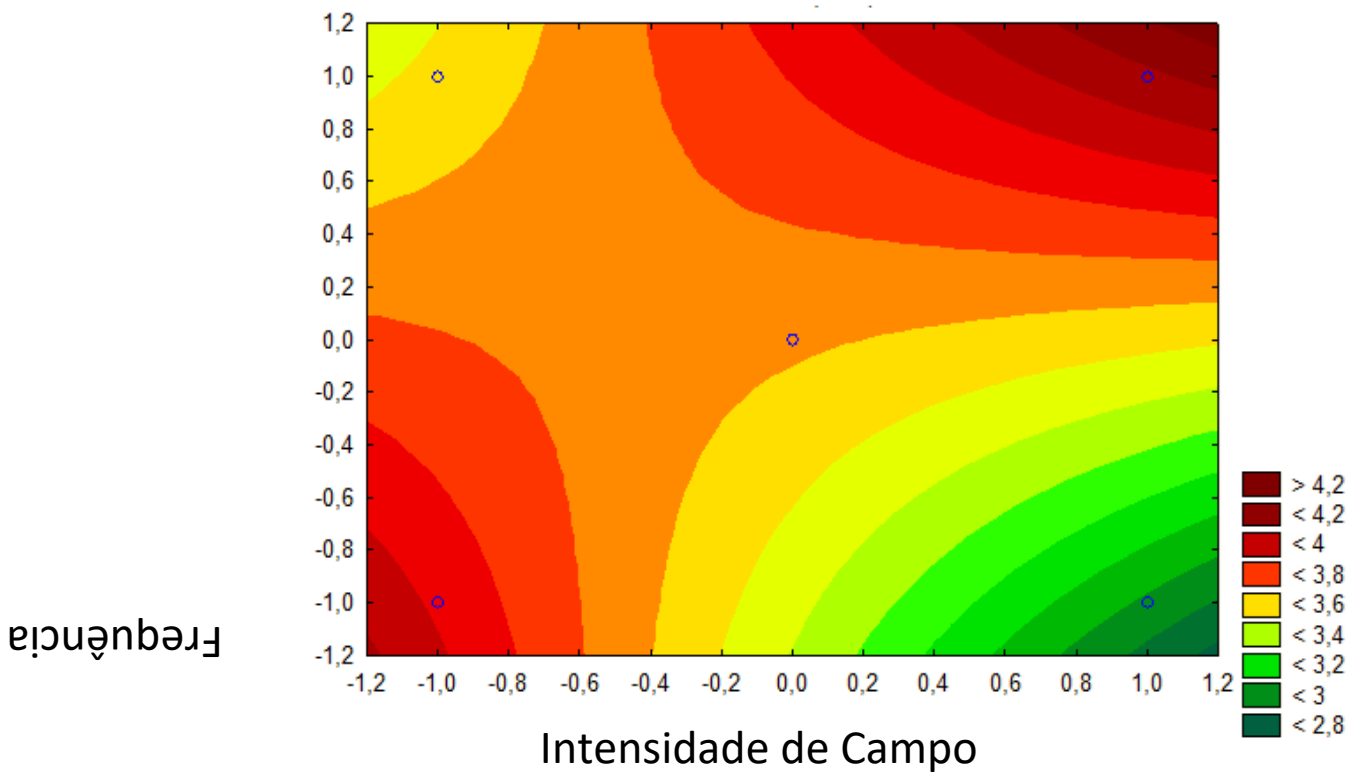
Fonte: Própria Autoria

Figura 20 - Efeitos das variáveis independentes no STT a) STT no tempo 0 b) STT no tempo1 c) STT no tempo 2



Fonte: Própria Autoria

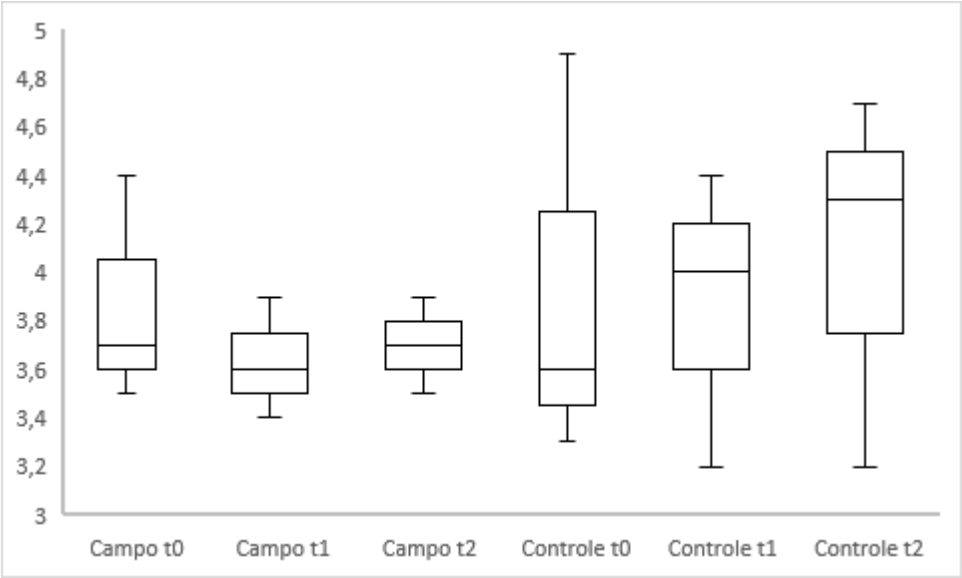
Figura 21 - Gráfico de contorno dos efeitos de Frequência e Intensidade de campo no STT da maçã em t=2.



Fonte: Própria Autoria

Para efeitos de comparação com o controle, os resultados obtidos com os valores do ponto central no experimento foram comparados com maçãs que não passaram por efeitos do campo magnético. O gráfico de boxplot (figura 22), a análise de variância (tabela 8) e o teste t (tabela 9) não demonstraram diferenças significativas entre os valores de sólidos solúveis considerando $p < 0,05$, portanto pode-se dizer que a maçã que passou pelo tratamento com campo magnético (Frequência = 60Hz, intensidade de campo = 28,8 mT e tempo de exposição ao campo = 37,5 min) teve os mesmos resultados em termo de STT que o controle.

Figura 22 - Gráfico box plot comparando valores de STT entre e campo e controle em diferentes tempos após o corte



Fonte: Própria Autoria

Tabela 8 - ANOVA comparado valores de STT para amostras e controle

Fonte da variação	*SQ*	*gl*	*MQ*	*F*	*valor-P*	*F crítico*
Amostra	0,222222222	1	0,222222222	0,657894737	0,433097631	4,747225347
Colunas	0,081111111	2	0,040555556	0,120065789	0,887914111	3,885293835
Interações	0,067777778	2	0,033888889	0,100328947	0,905290531	3,885293835
Dentro	4,053333333	12	0,337777778			
Total	4,424444444	17				

Fonte: Própria Autoria

Tabela 9 - Teste t presumindo variâncias diferentes para STT comparando controle com amostra tratadas em campo magnético pulsado

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t0	*Controle t0*
Média	3,866666667	3,933333333
Variância	0,223333333	0,723333333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	3	
Stat t	-0,11867817	
P(T<=t) uni-caudal	0,456515485	
t crítico uni-caudal	2,353363435	
P(T<=t) bi-caudal	0,91303097	
t crítico bi-caudal	3,182446305	

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t1	*Controle t1*
Média	3,633333333	3,866666667
Variância	0,063333333	0,373333333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	3	
Stat t	-0,61159284	
P(T<=t) uni-caudal	0,292017874	
t crítico uni-caudal	2,353363435	
P(T<=t) bi-caudal	0,584035748	
t crítico bi-caudal	3,182446305	

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t2	*Controle t2*
Média	3,7	4,066666667
Variância	0,04	0,603333333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	2	
Stat t	-0,79179733	
P(T<=t) uni-caudal	0,255736425	
t crítico uni-caudal	2,91998558	
P(T<=t) bi-caudal	0,511472849	
t crítico bi-caudal	4,30265273	

Fonte: Própria Autoria

5.2.3 Efeitos encontrados no ATT

Tabela 10 apresenta a análise de variância (ANOVA) para primeira ordem do design experimental de acidez titulável nos tempos 0h, 1h e 2h após o experimento. Não foi possível observar diferenças significativas na ATT em nenhum dos casos experimentais de acordo com a análise de variância nem no gráfico de Pareto (figura 23) considerando 95% de confiabilidade.

Estes resultados concordam com Miñano (2019) que observou que a acidez titulável em mirtilos congelados por campos magnéticos pulsados que variaram entre 36,8mT e 44,7 mT de intensidade e frequência variando de 30 a 120Hz não sofreu alteração significativa considerando p valor < 0,5 quando comparado com amostras de mirtilo congelado sem o uso de campo magnético e com mirtilo fresco. No entanto, Jia et al. (2015) demonstrou em seus experimentos que um campo magnético oscilatórios de 2mT de intensidade em pedaços de melão cortado a acidez titulável foi dependente do tempo de exposição ao campo, considerando que o tempo de exposição de 15 min teve um decréscimo na ATT enquanto tempos maiores de exposição (20 e 25 min) houve um aumento da acidez até o terceiro dia de armazenamento sob refrigeração.

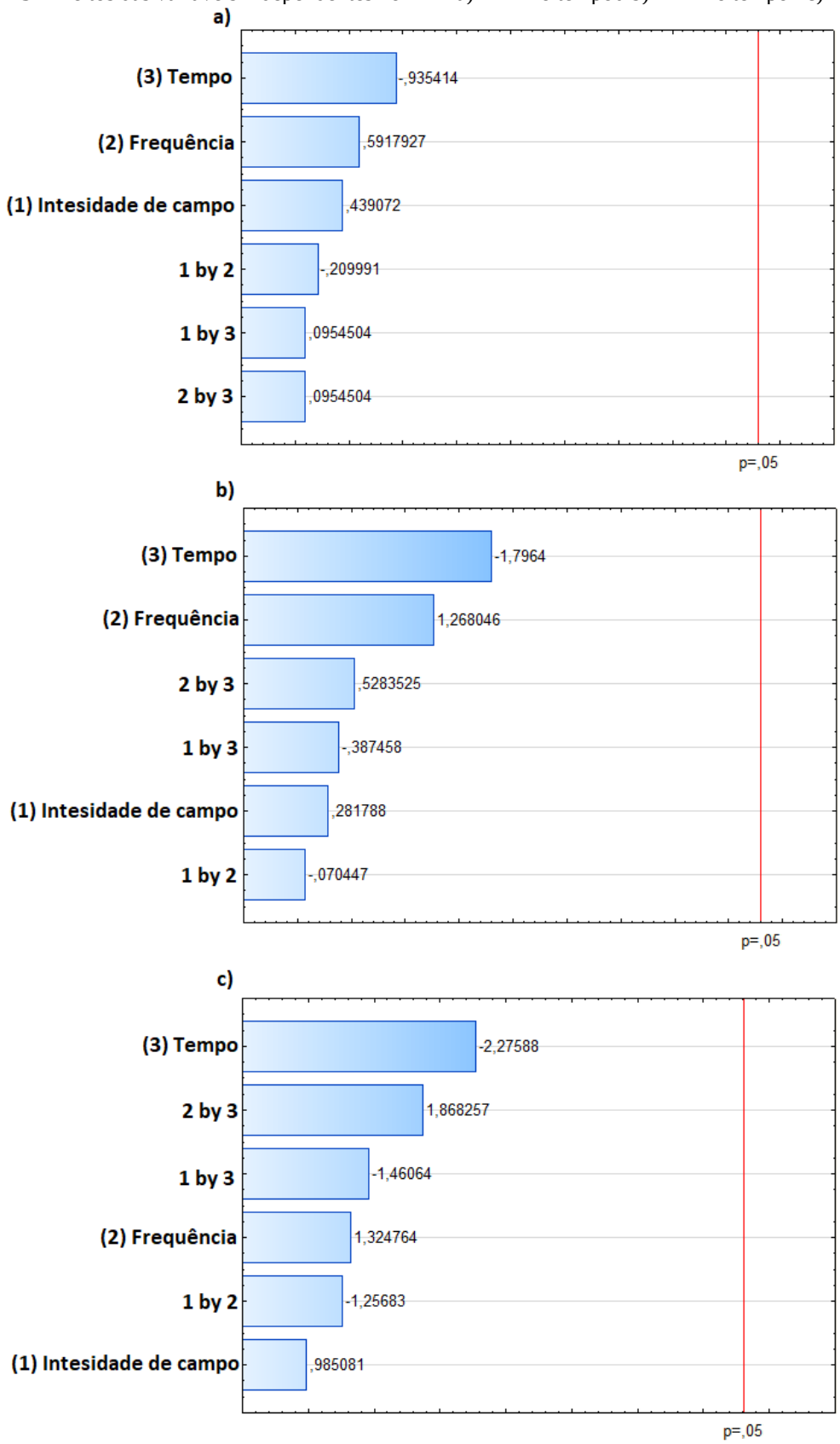
Quando comparado com a maçã que não passou pelo campo magnético e a maçã resfriado sob campo magnético pulsado (Frequência = 60Hz, intensidade de campo = 28,8 mT e tempo de exposição ao campo = 37,5 min), também não houve diferenças significativas considerando p valo < 0,05, o que pode ser constato no gráfico da figura 24, na análise de variância (tabela 11) e no teste t (tabela 12), podendo se concluir que tanto o resfriamento convencional, quanto o resfriamento com campos magnéticos pulsados não têm influência na ATT.

Tabela 10 - ANOVA: Análise de variância de primeira ordem fatorial 23 para a ATT nos tempos 0,1 e 2

Fator	Soma dos quadrados SQ	gl	MQ	F	valor - p
		Para t= 0			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,006612	1	0,006612	0,192784	0,703491
(2) Frequência (Hz)	0,012013	1	0,012013	0,350219	0,613975
(3) Tempo (min)	0,030013	1	0,030013	0,875000	0,448323
1 por 2	0,001513	1	0,001513	0,044096	0,853124
1 por 3	0,000312	1	0,000312	0,009111	0,932660
2 por 3	0,000312	1	0,000312	0,009111	0,932660
Falta de ajuste	0,022698	2	0,011349	0,330871	0,751388
Erro puro	0,068600	2	0,034300		
Total SQ	0,142073	10			
R^2	0,35739				
		Para t= 1			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,003200	1	0,003200	0,079404	0,804587
(2) Frequência (Hz)	0,064800	1	0,064800	1,607940	0,332417
(3) Tempo (min)	0,130050	1	0,130050	3,227047	0,214268
1 por 2	0,000200	1	0,000200	0,004963	0,950248
1 por 3	0,006050	1	0,006050	0,150124	0,735763
2 por 3	0,011250	1	0,011250	0,279156	0,650025
Falta de ajuste	0,001414	2	0,000707	0,017539	0,982763
Erro puro	0,080600	2	0,040300		
Total SQ	0,297564	10			
R^2	0,72438				
		Para t= 2			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,010513	1	0,010513	0,970385	0,428435
(2) Frequência (Hz)	0,019013	1	0,019013	1,755000	0,316350
(3) Tempo (min)	0,056113	1	0,056113	5,179615	0,150628
1 por 2	0,017113	1	0,017113	1,579615	0,335710
1 por 3	0,023113	1	0,023113	2,133462	0,281568
2 por 3	0,037813	1	0,037813	3,490385	0,202675
Falta de ajuste	0,010622	2	0,005311	0,490245	0,671031
Erro puro	0,021667	2	0,010833		
Total SQ	0,195964	10			
R^2	0,83523				

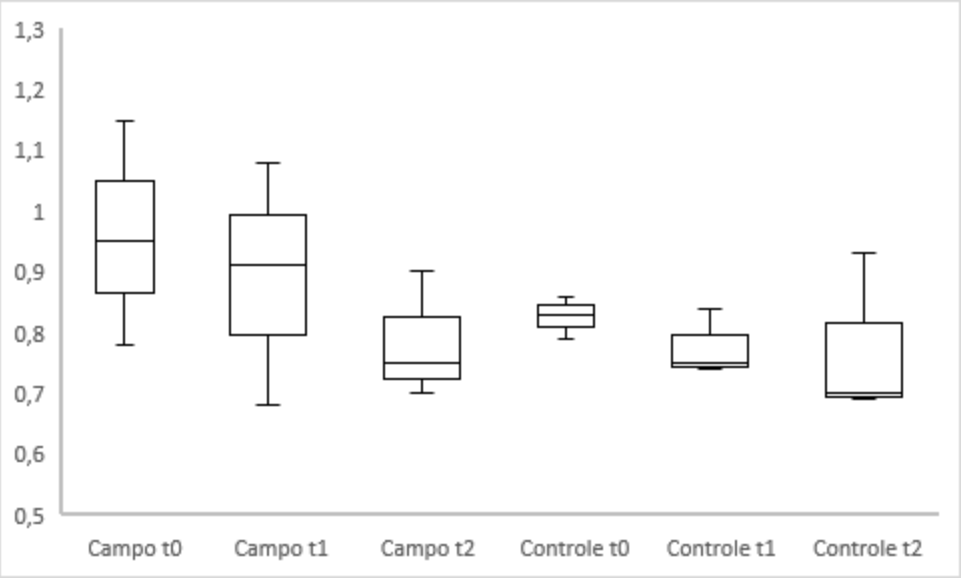
Fonte: Própria Autoria

Figura 23 - Efeitos das variáveis independentes no ATT a) ATT no tempo0 b) ATT no tempo1 c) ATT no tempo2



Fonte: Própria Autoria

Figura 24 - Gráfico box plot comparando valores de ATT entre e campo e controle em diferentes tempos após o corte



Fonte: Própria Autoria

Tabela 11 - ANOVA comparado valores de ATT para amostras e controle

Fonte da variação	*SQ*	*gl*	*MQ*	*F*	*valor-P*	*F crítico*
Amostra	0,032938889	1	0,032938889	1,827681874	0,201333334	4,747225347
Colunas	0,0397	2	0,01985	1,101418002	0,363778512	3,885293835
Interações	0,013144444	2	0,006572222	0,364673243	0,701860544	3,885293835
Dentro	0,216266667	12	0,018022222			
Total	0,30205	17				

Fonte: Própria Autoria

Tabela 12 -Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes para ATT comparando controle com amostra tratadas em campo magnético pulsado

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t0	*Controle t0*
Média	0,96	0,826666667
Variância	0,0343	0,001233333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	2	
Stat t	1,225127784	
P(T<=t) uni-caudal	0,172614698	
t crítico uni-caudal	2,91998558	
P(T<=t) bi-caudal	0,345229396	
t crítico bi-caudal	4,30265273	

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t1	*Controle t1*
Média	0,89	0,776666667
Variância	0,0403	0,003033333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	2	
Stat t	0,942990334	
P(T<=t) uni-caudal	0,222612983	
t crítico uni-caudal	2,91998558	
P(T<=t) bi-caudal	0,445225967	
t crítico bi-caudal	4,30265273	

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t2	*Controle t2*
Média	0,783333333	0,773333333
Variância	0,010833333	0,018433333
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	0,101245096	
P(T<=t) uni-caudal	0,462113951	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	0,924227902	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

Fonte: Própria Autoria

5.2.4 Efeitos encontrados na PPO

A análise de variância (ANOVA) para primeira ordem do design experimental para a atividade de PPO nos tempos 0h, 1h e 2h após o experimento é apresentada na tabela 13. Para t=1 é possível observar diferenças significativas na atividade de polifenooxidase devido a interação entre as variáveis frequência e intensidade de campo. Enquanto que imediatamente após o corte e 2h após o experimento não foram observadas diferenças significativas considerando p valor < 0,05 na atividade de PPO pela análise de variância. No diagrama de Pareto (figura 25) podem ser observados os mesmos resultados para atividade de PPO nos tempo 0h, 1h e 2h onde as barras horizontais representam a magnitude das estimativas de efeitos divididas pelo erro padrão (valor absoluto dos efeitos) enquanto as barras cruzando a linha pontilhada representam estatisticamente efeitos significativos no limite de confiança (95%), portanto, somente a interação da frequência com o campo no tempo T1 demonstrou diferenças significativas, de forma demonstradas no gráfico que quanto maior essa interação , maiores são os valores atividade enzimática da PPO.

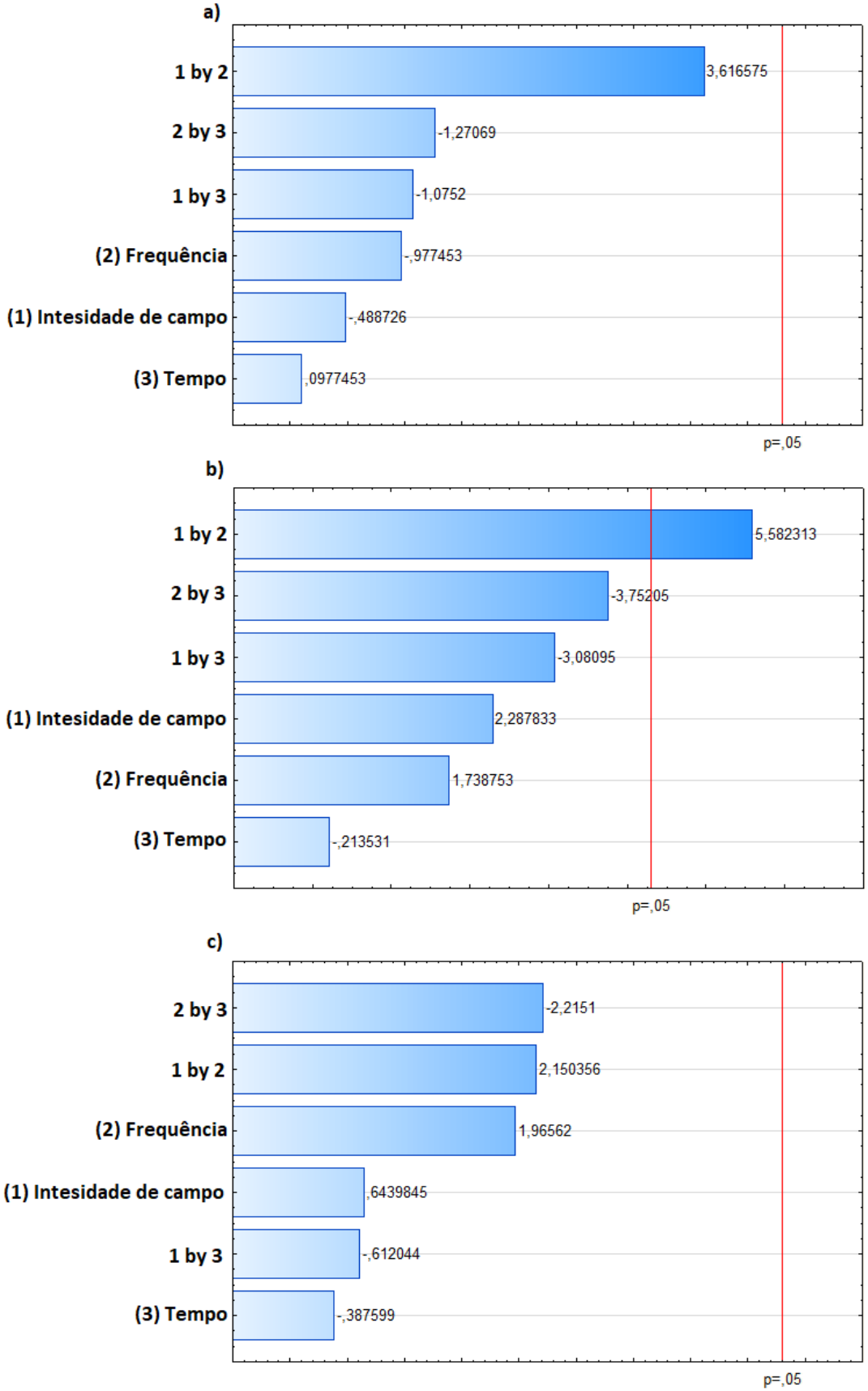
Na literatura são escassos os estudos que comparam a atividade enzimática em frutos e hortaliças que passaram por tratamento de campos magnéticos de qualquer natureza. O único estudo avaliando a atividade de polifenoloxidase é o de Miñano (2019). Neste estudo foram observados que durante o congelamento de mirtilos por campos magnéticos pulsados, onde campos de intensidade de 36,8 mT comparado com o controle foram estatisticamente iguais aos do controle e menores que o do mirtilo fresco exceto quando a frequência de pulsos foi de 120Hz e nos tratamentos com 44,7 mT de intensidade de campo os valores de atividade enzimática foram de menor grandeza (MIÑANO, 2019). Enquanto que apresentaram que houve aumento da PPO em 35% de bananas cortadas após 30 minutos de exposição ao campo magnético de 206,4 +/- 3,13 Gauss pulsado a 1 Hertz a 25°C, observando também que em diferentes tempo de exposição ao mesmo campo a atividade enzimática poderia aumentar ou diminuir demonstrando a sensibilidade da fruta em relação ao campo magnético (COSTA et al., 2020). No entanto nessa pequisa não foram encontrados relação entre tempo de exposição e atividade de PPO, porém, em T1 (figura 25) podemos observar que a interação entre frequência e intensidade pode causar alterações na atividade enzimática da PPO em maçãs.

Tabela 13 - ANOVA: Análise de variância de primeira ordem fatorial 2^3 para a atividade de PPO nos tempos 0,1 e 2

Fator	Soma dos quadrados SQ	gl	MQ	F	valor - p
		Para t= 0			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,000001	1	0,000001	0,238854	0,673372
(2) Frequência (Hz)	0,000002	1	0,000002	0,955414	0,431426
(3) Tempo (min)	0,000000	1	0,000000	0,009554	0,931048
1 por 2	0,000027	1	0,000027	13,079618	0,068673
1 por 3	0,000002	1	0,000002	1,156051	0,394776
2 por 3	0,000003	1	0,000003	1,614650	0,331647
Falta de ajuste	0,000008	2	0,000004	1,872756	0,348098
Erro puro	0,000004	2	0,000002		
Total SQ	0,000048	10			
R^2	0,748				
		Para t= 1			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,000007	1	0,000007	5,234181	0,149392
(2) Frequência (Hz)	0,000004	1	0,000004	3,023263	0,224209
(3) Tempo (min)	0,000000	1	0,000000	0,045596	0,850703
1 por 2	0,000042	1	0,000042	31,162221	0,030624
1 por 3	0,000013	1	0,000013	9,492246	0,091171
2 por 3	0,000019	1	0,000019	14,077854	0,064262
Falta de ajuste	0,000008	2	0,000004	3,030933	0,248082
Erro puro	0,000003	2	0,000001		
Total SQ	0,000096	10			
R^2	0,88661				
		Para t= 2			
(1) Intensidade do Campo (mT)	0,000003	1	0,000003	0,414716	0,585578
(2) Frequência (Hz)	0,000023	1	0,000023	3,863663	0,188263
(3) Tempo (min)	0,000001	1	0,000001	0,150233	0,735674
1 por 2	0,000028	1	0,000028	4,624030	0,164495
1 por 3	0,000002	1	0,000002	0,374598	0,602820
2 por 3	0,000030	1	0,000030	4,906666	0,157133
Falta de ajuste	0,000004	2	0,000002	0,352314	0,739473
Erro puro	0,000012	2	0,000006		
Total SQ	0,000103	10			
R^2	0,84126				

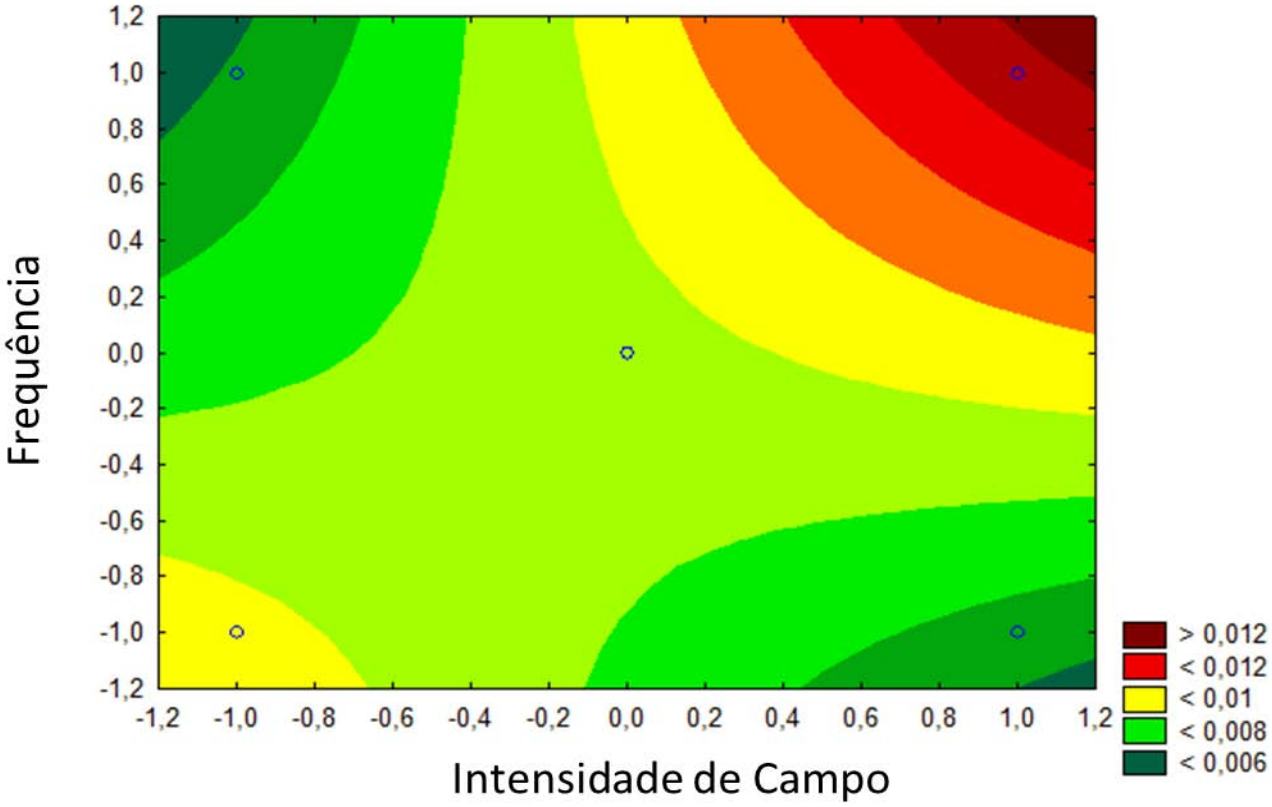
Fonte: Própria Autoria

Figura 25 - Efeitos das variáveis independentes na atividade de PPO a) atividade de PPO no tempo0 b) atividade de PPO no tempo1 c) atividade de PPO no tempo2



Fonte: Própria Autoria

Figura 26 - Gráfico de contorno dos efeitos de Frequência e Intensidade de campo na atividade de PPO da maçã em t=1.



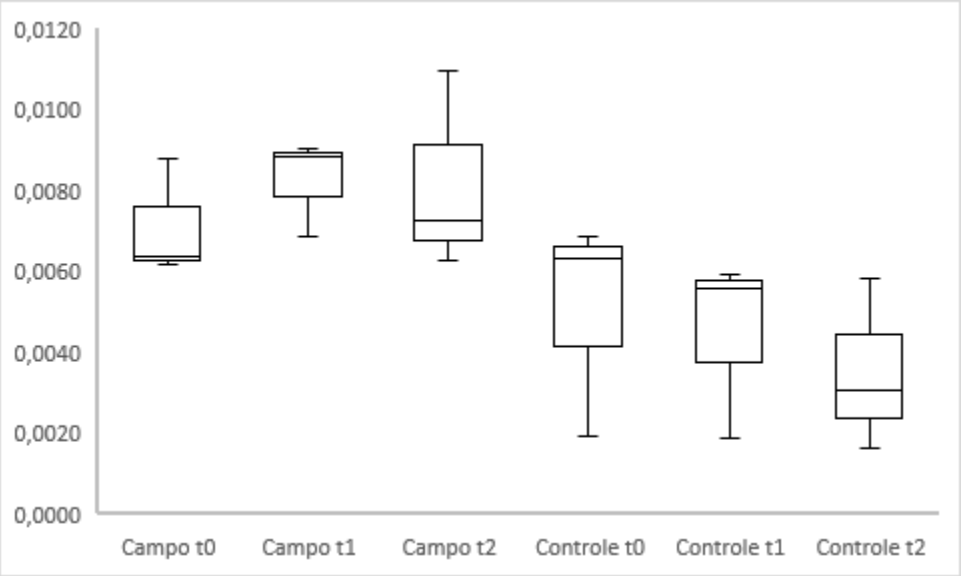
Fonte: Própria Autoria

Na figura 26 podemos observar no gráfico de contorno que quanto maior a intensidade de campo e menores frequência ou menores intensidade e maiores frequências obtemos valores mais baixos de atividade enzimática, em contra partida valores altos de intensidade de campo e altos de frequência temos atividades enzimáticas de PPO em maior escala. Aqui podemos então observar que a PPO é sensível aos campos magnéticos o que vai ao encontro tanto com Costa et al. (2020) quanto com Miñano (2019) e que intensidade e frequência quando inversamente proporcionais podem aumentar a atividade enzimática enquanto que quando diretamente proporcionais podem diminuir esta atividade em maçãs.

Quando comparado com a maçã que não passou pelo tratamento com campo magnético pulsado e a maçã resfriado sob campo magnético pulsado (Frequência = 60Hz, intensidade de campo = 28,8 mT e tempo de exposição ao campo = 37,5 min), também não houve diferenças significativas considerando p valor < 0,05 em t0, porém houve diferenças quando o tempo após o tratamento foi de 1h e 2h o que pode ser constato no gráfico da figura 27, na análise de variância (tabela 14) que demonstrou que tanto pelo valor quanto pelo F houve diferenças entre as amostras. Para saber quais amostras houve diferença significativa o teste de Tukey foi realizado (tabela 15), mostrando que a atividade enzimática da PPO aumentou quando

comparado com o controle em T1 e T2. No teste t (tabela 16), podemos concluir o mesmo, que houve diferenças significativas entre as amostras em T1 e T2 com aumento da atividade de polifineoloxidase.

Figura 27 - Gráfico box plot comparando valores da atividade de PPO entre e campo e controle em diferentes tempos após o corte



Fonte: Própria Autoria

Tabela 14 - ANOVA comparado valores de atividade de PPO para amostras e controle

Fonte da variação	*SQ*	*gl*	*MQ*	*F*	*valor-P*	*F crítico*
Amostra	5,51574E-05	1	5,51574E-05	12,47081824	0,004135711	4,747225347
Colunas	7,87355E-07	2	3,93677E-07	0,089008555	0,91543602	3,885293835
Interações	5,18553E-06	2	2,59277E-06	0,586211758	0,571601504	3,885293835
Dentro	5,3075E-05	12	4,42292E-06			
Total	0,000114205	17				

Fonte: Própria Autoria

Tabela 15 – Teste de Tukey comparado valores de atividade de PPO para amostras e controle

Tratamento	T0	T1	T2
	Média	Média	Média
Campo	0,0071 [a]	0,0082 [a]	0,0078 [a]
Controle	0,0050 [a]	0,0045 [b]	0,0035 [b]

Legenda: [a-b] Na mesma coluna, as médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (P <0,05).

Fonte: Própria Autoria

Tabela 16 – Teste t comparado valores da atividade de PPO para amostras e controle

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Campo t0	*Controle t0*
Média	0,007113	0,005039382
Variância	2,12783E-06	7,32726E-06
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	3	
Stat t	1,168037172	
P(T<=t) uni-caudal	0,163587909	
t crítico uni-caudal	2,353363435	
P(T<=t) bi-caudal	0,327175818	
t crítico bi-caudal	3,182446305	

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances

	Campo t1	*Controle t1*
Média	0,008238	0,004470911
Variância	1,41337E-06	5,03981E-06
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	3	
Stat t	2,568500429	
P(T<=t) uni-caudal	0,041300379	
t crítico uni-caudal	2,353363435	
P(T<=t) bi-caudal	0,082600758	
t crítico bi-caudal	3,182446305	

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Variances

	Campo t2	*Controle t2*
Média	0,008174	0,003511622
Variância	6,03864E-06	4,5906E-06
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
gl	4	
Stat t	2,476948737	
P(T<=t) uni-caudal	0,034217317	
t crítico uni-caudal	2,131846786	
P(T<=t) bi-caudal	0,068434633	
t crítico bi-caudal	2,776445105	

Fonte: Própria Autoria

6 CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste trabalho permitiu verificar a hipótese de que o campo magnético pulsado interage com propriedades bioquímicas e físico-químicas da maçã usando-se uma metodologia que constituiu-se em projetar um equipamento portátil gerador de campos magnéticos pulsados com variação da densidade de fluxo e frequências. Mais especificamente conclui-se que foi possível investigar e descrever os efeitos do campo magnético pulsados nas características físico-químicas em maçãs em especial na atividade da polifenoloxidase, sólidos totais, pH e acidez titulável. Na comparação entre amostras que passaram pelo tratamento do campo magnético, exceto a variável acidez titulável, todas as demais variáveis tiveram em algum momento uma variação significativa. No entanto, comparado com o controle, apensa foi possível observar diferença significativa na variável polifenoloxidase imediatamente após o tratamento com campo e 1h após. Em particular, na polifenoloxidase foi possível concluir que quanto maior o fluxo de campo (57,2mT) e menor a frequência(1Hz) foi obtido uma redução da atividade enzimática, enquanto que maiores frequências (120Hz) e maiores intensidades (57,2 mT) o efeito foi o inverso. Na comparação com o controle, as maçãs tratadas com campo de 28,8mT e 60 Hz apresentaram comportamento de diminuição de atividade enzimática da PPO. Com relação ao pH conclui-se que as interações entre intensidade e tempo de exposição ao campo magnético demonstraram que maiores tempo de exposição e maior intensidade de campo podem alterar o pH para valores mais básicos enquanto que menor o tempo de exposição e maior o fluxo de campo os pH tendem a serem mais básicos. Em relação ao STT, conclui-se que as variáveis frequência e intensidade de campo podem também aumentar ou diminuir a quantidade de sólidos solúveis sendo que quanto maior o fluxo de campo (57,2mT) e menor a frequência(1Hz) foi obtido uma redução nos STT, enquanto que maiores frequências (120Hz) e maiores intensidades (57,2 mT) o efeito foi o inverso. Em relação ao a comparação com o controle, nem os STT nem o pH tiveram diferenças significativas considerando p valor <0,05. Pode-se concluir então que tempo de exposição ao campo, intensidade e frequência podem ser variáveis fundamentais influenciar nas características físico químicas da maçã. Pouco ainda é entendido sobre os mecanismos de atuação dos CMP em alimentos. Por isso é fundamental que novos estudos sejam realizados com mais unidades experimentais e variação de alimentos, assim como a variação de variáveis que já foram provadas ter relação com a interação dos campo nas propriedades físico-químicas dos alimentos (tempo de exposição, fluxo de campo e frequência).

REFERÊNCIAS

AHMAD, T.; BUTT, M. Z.; AADIL, R. M.; INAM-UR-RAHEEM, M.; ABDULLAH; BEKHIT, A. E.; GUIMARÃES, J. T.; BALTHAZAR, C. F.; ROCHA, R. S.; ESMERINO, E. A.; FREITAS, M. Q.; SILVA, M. C.; SAMEEN, A.; CRUZ, A. G. Impact of nonthermal processing on different milk enzymes. **International Journal of Dairy Technology**, v. 72, n. 4, p. 481–495, 4 nov. 2019.

AHMED, I.; VOJISAVLJEVIC, V.; PIROGOVA, E. Investigation of the Effect of Extremely Low Frequency (ELF) Pulsed Electromagnetic Field (PEMF) on Collagenase Enzyme Kinetics. In: Proceedings of the International Conference on Biomedical Electronics and Devices, 2013, [...]. SciTePress - Science and and Technology Publications, 2013. p. 143–147.

AHMED, J.; RAMASWAMY, H. S. Applications of Magnetic Field in Food Preservation. *In*: RAHMAN, M. S. **Handbook of Food Preservation**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2007. p. 855–866.

ARAÚJO, J. M. A. Compostos fenólicos. *In*: UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Química de Alimentos**. 5. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012a. p. 193–243.

ARAÚJO, J. M. A. Enzimas: catalase e peroxidase. *In*: UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Química de Alimentos**. 5. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012b. p. 459–465.

ARAÚJO, J. M. A. Escurecimento enzimático. *In*: UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Química de Alimentos**. 5. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012c. p. 437–458.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MACÃ. Anuário brasileiro da maçã 2019. **Editora Gazeta**, p. 56, 2019.

ÇELIK, O.¨; BÜYÜKUSLU, N.; ATAK, C. ¸; RZAKOULIEVA, A. Effects of magnetic field on activity of superoxide dismutase and catalase in Glycine max (L.) Merr. roots. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 18, n. 2, p. 175–182, 2009.

COSETENG, M. Y.; LEE, C. Y. Changes in Apple Polyphenoloxidase and Polyphenol Concentrations in Relation to Degree of Browning. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 4, p. 985–989, jul. 1987.

DAILLANT-SPINNLER, B.; MACFIE, H. J. H.; BEYTS, P. K.; HEDDERLEY, D. Relationships between perceived sensory properties and major preference directions of 12

varieties of apples from the Southern Hemisphere. **Food Quality and Preference**, v. 7, n. 2, p. 113–126, abr. 1996.

DALVI-ISFAHAN, M.; HAMDAMI, N.; XANTHAKIS, E.; LE-BAIL, A. Review on the control of ice nucleation by ultrasound waves, electric and magnetic fields. **Journal of Food Engineering**, v. 195, p. 222–234, fev. 2017.

FILIPIČ, J.; KRAIGHER, B.; TEPUŠ, B.; KOKOL, V.; MANDIC-MULEC, I. Effects of low-density static magnetic fields on the growth and activities of wastewater bacteria Escherichia coli and Pseudomonas putida. **Bioresource Technology**, v. 120, p. 225–232, set. 2012.

GEORGE, R. M. Freezing proceseses used in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 4, n. 5, p. 134–138, 1993.

GOLAN-GOLDHIRSH, A.; WITAKER, J.; VARDA, K. RELATION BETWEEN STRUCTURE OF POLYPHENOL OXIDASE AND PREVENTION OF BROWNING. *In*: FRIEDMAN, M. **Nutritional and Toxicological Aspects of Food Safety**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Boston, MA: Springer US, 1984. p. 437–436.

GÓMEZ-MAQUEO, A.; ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z.; CANO, M. P.; WELTI-CHANES, J. Phenolic Compounds in Food. *In*: NOLLET, L. M. L.; GUTIERREZ-URIBE, J. A. **Phenolic Compounds in Food Characterization and Analysis**. Nova York: CRC Press Taylor & Francis Group, 2018. p. 33–60.

GORINSTEIN, S.; ZACHWIEJA, Z.; FOLTA, M.; BARTON, H.; PIOTROWICZ, J.; ZEMSER, M.; WEISZ, M.; TRAKHTENBERG, S.; MÀRTÍN-BELLOSO, O. Comparative Contents of Dietary Fiber, Total Phenolics, and Minerals in Persimmons and Apples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 952–957, fev. 2001.

GRIGELMO-MIGUEL, N.; SOLIVA-FORTUNY, R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; MARTÍN-BELLOSO, O. Use of Oscillating Magnetic Fields in Food Preservation. *In*: **Nonthermal Processing Technologies for Food**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2011. p. 222–235.

HAILE, M.; PAN, Z.; GAO, M.; LUO, L. Efficacy in Microbial Sterilization of Pulsed Magnetic Field Treatment. **International Journal of Food Engineering**, v. 4, n. 4, p. 1–14, 8 jan. 2008.

HAMADZIRIPI, E. T.; THERON, K. I.; MULLER, M.; STEYN, W. J. Apple Compositional and Peel Color Differences Resulting from Canopy Microclimate Affect Consumer Preference for Eating Quality and Appearance. **HortScience**, v. 49, n. 3, p. 384–392, mar. 2014.

HAN, Q.; LIU, F.; NI, Y. Cloning, sequencing and structural analysis of membrane-bound polyphenol oxidase from Granny Smith apples (Malus × domestica Borkh). **International Journal of Food Science & Technology**, v. 57, n. 2, p. 920–930, 24 fev. 2022.

HARKER, F. R.; GUNSON, F. A.; JAEGER, S. R. The case for fruit quality: an interpretive review of consumer attitudes, and preferences for apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, n. 3, p. 333–347, jun. 2003.

HER, J.-Y.; KANG, T.; HOPTOWIT, R.; JUN, S. Oscillating Magnetic Field (OMF) Based Supercooling Preservation of Fresh-Cut Honeydew Melon. **Transactions of the ASABE**, v. 62, n. 3, p. 779–785, 2019.

HOFMANN, G. A. **Deactivation of microorganisms by an oscillating magnetic field**. US Patent 4,524,079. 1985.

HOLDERBAUM, D. F.; KON, T.; KUDO, T.; GUERRA, M. P. Enzymatic Browning, Polyphenol Oxidase Activity, and Polyphenols in Four Apple Cultivars: Dynamics during Fruit Development. **HortScience**, v. 45, n. 8, p. 1150–1154, ago. 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. CONSERVAS VEGETAIS, FRUTAS E PRUDUTOS DE FRUTAS. *In*: INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde Coordenadoria de Controle de Doenças, 2008. p. 567–587.

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**, v. 8, n. 3, p. 702–708, 18 mar. 2015.

JIA, J.; WANG, X.; LV, J.; GAO, S.; WANG, G. Alternating Magnetic Field Prior to Cutting Reduces Wound Responses and Maintains Fruit Quality of Cut cucumis melo L. cv Hetao. **The Open Biotechnology Journal**, v. 9, n. 1, p. 230–235, 2 nov. 2015.

KAALE, L. D.; EIKEVIK, T. M.; RUSTAD, T.; KOLSAKER, K. Superchilling of food: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 107, n. 2, p. 141–146, dez. 2011.

KANADE, S. R.; SUHAS, V. L.; CHANDRA, N.; GOWDA, L. R. Functional interaction of diphenols with polyphenol oxidase. **FEBS Journal**, v. 274, n. 16, p. 4177–4187, ago. 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-4658.2007.05944.x>.

KIMBALL, G. C. The Growth of Yeast in a Magnetic Field. **Journal of bacteriology**, v. 35, n. 2, p. 109–122, 1938.

KNORR, D.; FROEHLING, A.; JAEGER, H.; REINEKE, K.; SCHLUETER, O.; SCHOESSLER, K. Emerging Technologies in Food Processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 203–235, 10 abr. 2011.

KUMAR, V. B. A.; MOHAN, T. C. K.; MURUGAN, K. Purification and kinetic characterization of polyphenol oxidase from Barbados cherry (Malpighia glabra L.). **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 328–333, set. 2008.

LEYGONIE, C.; BRITZ, T. J.; HOFFMAN, L. C. Oxidative stability of previously frozen ostrich Muscularis iliofibularis packaged under different modified atmospheric conditions. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 6, p. 1171–1178, jun. 2011.

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**, v. 106, n. June, p. 106686: 1–9, dez. 2019.

LIN, L.; WANG, X.; HE, R.; CUI, H. Action mechanism of pulsed magnetic field against E. coli O157:H7 and its application in vegetable juice. **Food Control**, v. 95, n. August 2018, p. 150–156, 2019.

LINS, P. G.; SILVA, A. A.; PUGINE, S. M. P.; ARCE, A. I. C.; COSTA, E. J. X.; MELO, M. P. DE. Effect of Exposure to Pulsed Magnetic Field on Microbiological Quality, Color and Oxidative Stability of Fresh Ground Beef. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 2, p. 1–9, 2017.

MA, H.; HUANG, L.; ZHU, C. THE EFFECT OF PULSED MAGNETIC FIELD ON HORSERADISH PEROXIDASE. **Journal of Food Process Engineering**, v. 34, n. 5, p. 1609–1622, out. 2011.

MAGNUSSEN, O. M.; HAUGLAND, A.; TORSTVEIT HEMMINGSEN, A. K.; JOHANSEN, S.; NORDTVEDT, T. S. Advances in superchilling of food – Process characteristics and product quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 8, p. 418–424, ago. 2008.

MIÑANO, H. L. A. **Efeito dos campos magnéticos pulsados no congelamento de alimentos: aprimoramento da técnica e sua aplicação em Mirtilo**. 2019. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

MOK, J. H.; HER, J. Y.; KANG, T.; HOPTOWIT, R.; JUN, S. 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**, v. 196, p. 27–35, 2017.

MULAY, L. N. Basic Concepts Related to Magnetic Fields and Magnetic Susceptibility. *In*: BARNOTHY, M. F. **Biological effects of magnetic fields**. 1. ed. New York: Plenum Press, 1964. p. 33–55.

MURATA, M.; TSURUTANI, M.; TOMITA, M.; HOMMA, S.; KANEKO, K. Relationship between Apple Ripening and Browning: Changes in Polyphenol Content and Polyphenol

Oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 5, p. 1115–1121, maio 1995.

NICOLAS, J.; BILLAUD, C.; PHILIPPON, J.; ROUET-MAYER, M. A. BROWNING | Enzymatic – Biochemical Aspects. *In*: TRUGO, L.; FINGLAS, P. M. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. 2. ed. Cambridge: Elsevier, 2003. p. 678–686.

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**, v. 11, n. 9, p. 3266–3276, 14 set. 2010.

OLIVAS, G. I.; MATTINSON, D. S.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Alginate coatings for preservation of minimally processed 'Gala' apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, n. 1, p. 89–96, jul. 2007.

OTERO, L.; PÉREZ-MATEOS, M.; RODRÍGUEZ, A. C.; SANZ, P. D. Electromagnetic freezing: Effects of weak oscillating magnetic fields on crab sticks. **Journal of Food Engineering**, v. 200, p. 87–94, 2017.

PAN, Y.; SUN, D.-W.; HAN, Z. Applications of electromagnetic fields for nonthermal inactivation of microorganisms in foods: An overview. **Trends in Food Science & Technology**, v. 64, p. 13–22, jun. 2017.

PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A. Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. **Food Research International**, v. 43, n. 7, p. 1936–1943, ago. 2010.

PUZA, E. A.; MAYO, F. E. C.; POLO, J. M. A.; DE LA MATTA, A. P.; ESPINOZA, J. S.; ALVA, J. C. 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**, v. 22, n. e2018169, p. 1–11, 2019.

RAGHAVENDRA, S.; ADITYA RAO, S. J.; KUMAR, V.; RAMESH, C. K. Multiple ligand simultaneous docking (MLSD): A novel approach to study the effect of inhibitors on substrate binding to PPO. **Computational Biology and Chemistry**, v. 59, p. 81–86, dez. 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1476927115301705>.

REINKENSMEIER, A.; STEINBRENNER, K.; HOMANN, T.; BUSSLER, S.; ROHN, S.; RAWEL, H. M. Monitoring the apple polyphenol oxidase-modulated adduct formation of phenolic and amino compounds. **Food Chemistry**, v. 194, p. 76–85, mar. 2016.

ROCHA, A. M. C. N.; MORAIS, A. M. M. B. Shelf life of minimally processed apple (cv. Jonagored) determined by colour changes. **Food Control**, v. 14, n. 1, p. 13–20, jan. 2003a.

ROCHA, A. M. C. N.; MORAIS, A. M. M. B. Shelf life of minimally processed apple (cv. Jonagored) determined by colour changes. **Food Control**, v. 14, n. 1, p. 13–20, jan. 2003b.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos & Otimização de Processos**. 2. ed. Campinas: Cárita, 2009. 358 p.

RODRIGUEZ-MATEOS, A.; PINO-GARCÍA, R. del; GEORGE, T. W.; VIDAL-DIEZ, A.; HEISS, C.; SPENCER, J. P. E. Impact of processing on the bioavailability and vascular effects of blueberry (poly)phenols. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 58, n. 10, p. 1952–1961, out. 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mnfr.201400231>.

ROSEN, A. D. Mechanism of Action of Moderate-Intensity Static Magnetic Fields on Biological Systems. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 39, n. 2, p. 163–174, 2003.

SANTANA-GÁLVEZ, J.; JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. Classification of Phenolic Compounds. *In*: NOLLET, L. M. L.; GUTIERREZ-URIBE, J. A. **Phenolic Compounds in Food Characterization and Analysis**. Nova York: CRC Press Taylor & Francis Group, 2018. p. 3–20.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2003. 576 p.

SINHA, N. K. Apples. *In*: HUI, Y. H. **Handbook of Fruits and Fruit Processing**. 1. ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006. p. 265–278.

SUDARTI. Utilization of Extremely Low Frequency (ELF) Magnetic Field is as Alternative Sterilization of Salmonella Typhimurium In Gado-Gado. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 9, p. 317–322, 2016.

SUDARTI; NURHAYATTI; RURIANI, E.; HERSA, V. T. Prevalence of Salmonela typhimurium on Gado-Gado seasoning by Treatment of Extremely Low Frequency Magnetic Field. In: Prosiding Seminar Nasional “Nutrisi, Keamanan Pangan dan Produk Halal", 2014, Surakarta. [...]. Surakarta: Fakultas MIPA UNS, 2014. p. 26–37.

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

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 9, p. 853–876, jul. 2001.

TSUCHIYA, K.; NAKAMURA, K.; OKUNO, K.; ANO, T.; SHODA, M. Effect of homogeneous and inhomogeneous high magnetic fields on the growth of Escherichia coli. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 81, n. 4, p. 343–346, jan. 1996.

TUKEY, H. B.; ORAN YOUNG, J. Gross Morphology and Histology of Developing Fruit of the Apple. **Botanical Gazette**, v. 104, n. 1, p. 3–25, 1942.

UEKI, R. **Ação do campo magnético pulsado sobre as propriedades do caldo de cana ao longo do armazenamento**. 2013. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L.; HAARD, N. F. Polyphenol oxidases and peroxidases in fruits and vegetables. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 49–127, 29 set. 1981.

WATADA, A. E.; QI, L. Quality of fresh-cut produce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, n. 3, p. 201–205, mar. 1999.

WONG, D. W. S. POLYPHENOL OXIDASE. *In*: **Food Enzymes : Structure and Mechanis**. 1. ed. Boston, MA: Springer US, 1995. p. 271–307.

YEOM, H. W.; ZHANG, Q. H.; DUNNE, C. P. Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system. **Food Chemistry**, v. 67, n. 1, p. 53–59, out. 1999.

ZHANG, J.; WANG, S.; XU, B.; GAO, M. Effect of alternating magnetic field treatments on enzymatic parameters of cellulase. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 7, p. 1384–1388, maio 2012.

ZHONG, K.; HU, X.; ZHAO, G.; CHEN, F.; LIAO, X. Inactivation and conformational change of horseradish peroxidase induced by pulsed electric field. **Food Chemistry**, v. 92, n. 3, p. 473–479, set. 2005.

ZHOU, H.; WANG, F.; NIU, H.; YUAN, L.; TIAN, J.; CAI, S.; BI, X.; ZHOU, L. Structural studies and molecular dynamic simulations of polyphenol oxidase treated by high pressure processing. **Food Chemistry**, v. 372, p. 131243, mar. 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814621022494>.