

FERNANDA IZABEL GARCIA DA ROCHA

AVALIAÇÃO DA COR E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA  
POLPA E EXTRATO DE MIRTILO (*Vaccinium myrtillus*) EM PÓ

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

R672a  
2009

Rocha, Fernanda Izabel Garcia da, 1979-  
Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e  
extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó / Fernanda  
Izabel Garcia da Rocha. – Viçosa, MG, 2009.  
x, 93f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Paulo César Stringheta.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. *Vaccinium myrtillus* - Análise. 2. Antocianinas.  
3. Antioxidantes. 4. *Vaccinium myrtillus* - Secagem.  
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

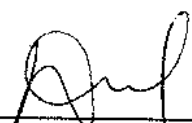
CDD 22.ed. 664.07

FERNANDA IZABEL GARCIA DA ROCHA

AVALIAÇÃO DA COR E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA  
POLPA E EXTRATO DE MIRTILO (*Vaccinium myrtillus*) EM PÓ

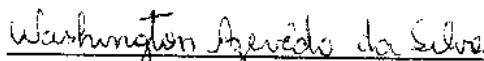
Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*

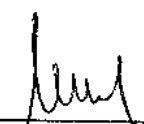
APROVADA: 17 de Dezembro de 2009.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Afonso Mota Ramos  
(Coorientador)

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Edimar Aparecida Filomeno Fontes

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Miriam Aparecida de Oliveira Pinto

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Washington Azevêdo da Silva

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Paulo César Stringheta  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por estar sempre ao meu lado guiando e protegendo cada dia da minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade da realização deste curso.

Ao conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – pela concessão da bolsa.

Ao professor Paulo César Stringheta, pelos ensinamentos, dedicação, agradável convivência e pela experiente orientação preciosa para meu crescimento.

A todos os membros da banca examinadora, pelas correções e sugestões apresentadas.

Aos professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos transmitidos no decorrer deste curso.

Ao funcionário do Laboratório de Pigmentos e Secagem Valério Poletto, pela excelente convivência, pelo constante auxílio durante a execução das análises, pela paciência e boa vontade.

Aos amigos do Laboratório de Pigmentos e Secagem, pela grande receptividade e colaboração, em especial, à Débora Sampaio, minha estagiária e amiga, dedicada e sempre motivada.

Aos funcionários do DTA, de grande importância, e que nunca mediram esforços no atendimento.

As grandes amizades conquistadas durante o período de realização do curso de pós-graduação.

Ao meu noivo Germani, pelo amor, paciência, compreensão, e por nunca me permitir desistir das coisas.

À minha família, pela força nas horas mais difíceis e o incentivo sempre presente.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação humana e acadêmica e que de alguma forma cooperaram na execução deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REVISÃO DE LITERATURA .....	4
1 – MERCADO DE FRUTAS E POLPAS .....	4
2 – MIRTILO.....	6
2.1 – Características da fruta e produção .....	6
2.2 – Compostos fenólicos .....	8
2.3 – Antocianinas .....	10
2.4 – Atividade antioxidante .....	16
2.5 – Fatores que afetam os compostos fenólicos e a atividade antioxidante .....	18
2.6 – Propriedades funcionais .....	19
3 – COR .....	21
4 – SECAGEM .....	24
4.1 – Secagem por atomização .....	26
4.2 – Secagem por liofilização.....	27
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>36</b>
<b>CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E BIOATIVAS DA POLPA E EXTRATO DE MIRTILO (<i>Vaccinium myrtillus</i>).....</b>	<b>36</b>
RESUMO .....	36
ABSTRACT .....	37
1.1 – INTRODUÇÃO.....	38
1.2 – MATERIAL E MÉTODOS .....	39
1.2.1 – Matéria - prima .....	39
1.2.2 – Elaboração da polpa e extrato.....	39
1.2.3 – Composição centesimal da polpa e casca de mirtilo .....	40
1.2.4 – Determinação de sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável .....	40
1.2.5 – Caracterização colorimétrica .....	40
1.2.6 – Determinação de polifenóis totais .....	41
1.2.7 – Determinação de antocianinas totais .....	42
1.2.8 – Análise qualitativa das antocianinas por CLAE .....	42
1.2.9 – Determinação de açúcares .....	43
1.2.10 – Determinação da atividade antioxidante.....	44
1.2.11 – Análise estatística.....	45
1.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
1.3.1 – Composição centesimal das frações da polpa e casca de mirtilo.....	45
1.3.2 – Análises Físico - Químicas .....	48
1.3.3 – Análises dos teores dos compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante .....	50
1.3.4 – Análise qualitativa das antocianinas por CLAE .....	53
1.3.5 – Análise colorimétrica.....	54
1.4 – CONCLUSÕES.....	57
1.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	58

<b>CAPÍTULO 2</b> .....	63
<b>DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA POLPA E EXTRATO DE MIRTILO (<i>Vaccinium myrtillus</i>) EM PÓ</b> .....	63
RESUMO .....	63
ABSTRACT .....	64
2.1 – INTRODUÇÃO.....	65
2.2 – MATERIAL E MÉTODOS .....	66
2.2.1 – Matéria-prima .....	66
2.2.2 – Obtenção da polpa .....	67
2.2.3 – Obtenção do extrato.....	67
2.2.4 – Secagem da polpa e extrato de mirtilo.....	68
2.2.5 – Determinação de antocianinas totais .....	70
2.2.6 – Análise qualitativa das antocianinas por CLAE .....	70
2.2.7 – Determinação de polifenóis totais .....	71
2.2.8 – Determinação da atividade antioxidante.....	71
2.2.9 – Determinação de açúcares .....	72
2.2.10 – Análise colorimétrica.....	73
2.2.11 – Umidade.....	74
2.2.12– Determinação de Atividade de Água (Aa) .....	74
2.2.13 – Análise Estatística.....	74
2.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	75
2.3.1 – Análise dos teores de antocianinas totais, polifenóis totais, percentagem da atividade antioxidante, açúcares totais e redutores, chroma, hue, Aa e umidade das amostras da polpa e extrato de mirtilo em pó.....	76
2.3.2 – Análise qualitativa das antocianinas por CLAE das amostras da polpa e extrato de mirtilo em pó.....	84
2.4 – CONCLUSÕES .....	87
2.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	88
CONCLUSÕES GERAIS .....	90
APÊNDICE .....	91

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1 - Antocianidinas mais comumente encontradas na natureza e sua respectiva coloração	13
---	----

### CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA POLPA E EXTRATO DE MIRTILO (*Vaccinium myrtillus*)

Tabela 2 - Média dos valores e desvio padrão da composição centesimal das frações da polpa e casca de mirtilo (g/100g) e estimativa da participação na composição do fruto inteiro	46
Tabela 3 - Média dos valores e desvio padrão das variáveis SST, ATT expressa em % de ácido cítrico, pH, açúcares totais e redutores	48
Tabela 4 - Teores médios de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo	51
Tabela 5 - Coordenadas de cor (L*, a*, b*), tonalidade (hue) e chroma da polpa e extrato de mirtilo	55

### CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA POLPA E EXTRATO DE MIRTILO EM PÓ (*Vaccinium myrtillus*)

Tabela 6 - Valores (médios $\pm$ desvio padrão) dos teores de antocianinas totais, polifenóis totais, percentagem da atividade sequestrante por DPPH, açúcares totais e redutores, chroma, hue, Aa e umidade para obtenção da polpa de mirtilo em pó submetido a dois métodos de secagem	76
Tabela 7 - Valores (médios $\pm$ desvio padrão) dos teores de antocianinas totais, polifenóis totais, percentagem da atividade sequestrante por DPPH, açúcares totais e redutores, chroma, hue, Aa e umidade para obtenção do extrato de mirtilo em pó submetido a dois métodos de secagem	81

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 -	Mirtilo ( <i>Vaccinium myrtillus</i> )	6
Figura 2 -	Estrutura de uma antocianidina	11
Figura 3 -	Estrutura química das antocianinas	12
Figura 4 -	Mudanças estruturais das antocianinas. Malvidina-3-glucosídeo a 25 °C	14
Figura 5 -	Sistema de coordenadas de cores CIELAB	15

### CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA POLPA E EXTRATO DE MIRTILO (*Vaccinium myrtillus*)

Figura 6 -	Perfil cromatográfico do extrato de mirtilo a 530 nm	54
Figura 7 -	Fluxograma de obtenção do corante em pó	68
Figura 8 -	Fluxograma de obtenção do corante em pó	69

### CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA POLPA E EXTRATO DE MIRTILO EM PÓ (*Vaccinium myrtillus*)

Figura 9	Fotos das amostras da polpa e extrato de mirtilo em pó	75
Figura 10	Perfil cromatográfico da polpa atomizada de mirtilo em pó a 530 nm (pigmentos antociânicos)	84
Figura 11 -	Perfil cromatográfico da polpa liofilizada de mirtilo em pó a 530 nm (pigmentos antociânicos)	85
Figura 12 -	Perfil cromatográfico do extrato atomizado de mirtilo em pó a 530 nm (pigmentos antociânicos)	85
Figura 13 -	Perfil cromatográfico do extrato liofilizado de mirtilo em pó a 530 nm (pigmentos antociânicos)	86



## RESUMO

ROCHA, Fernanda Izabel Garcia da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2009. **Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo (*vaccinium myrtillus*) em pó.** Orientador: Paulo César Stringheta. Coorientadores: Afonso Mota Ramos e Helena Maria Pinheiro Sant'Ana.

O mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) tem chamado a atenção de produtores e consumidores nos últimos anos, devido a sua qualidade nutricional e benefícios à saúde. É fonte rica de pigmentos naturais, principalmente antocianinas, e apresenta alto valor agregado devido à associação como alimento funcional. O presente trabalho teve por objetivo caracterizar e avaliar polpa e extrato de mirtilo da variedade Bluegem produzido na região Sudeste do país, bem como a avaliação do efeito de métodos de secagem sobre as propriedades físico-químicas e dos compostos bioativos nos produtos em pó obtidos, imediatamente após a secagem. Foi determinada a composição centesimal da polpa e casca, e as seguintes análises físico-químicas foram conduzidas independentemente para polpa e extrato: sólidos solúveis totais, acidez total titulável, pH, açúcares redutores e total, coordenadas de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^*$  e  $C^*$ ), antocianinas por espectrofotometria e CLAE, compostos fenólicos e atividade antioxidante por DPPH. O teor médio de SST foi semelhante para polpa e extrato, ao redor de 11,4 °Brix; a ATT da polpa expressa em ácido cítrico foi de 0,42; o pH foi de 3,30 na polpa e 3,27 no extrato; o teor de açúcares totais na polpa foi de 6,44 g/100 mL e o de açúcares redutores foi de 0,51 g/100 mL. A concentração de polifenóis foi de 317,60 e 2007 mg AGE/100 g; antocianinas totais foi de 58,95 e 1182 mg/100 g; a atividade antioxidante foi de 32,50 e 42,88%, para polpa e extrato, respectivamente. O mirtilo provou ser rico em compostos fenólicos e antocianinas, bem como possuir boa atividade antioxidante. Uma alternativa para a preservação do mirtilo é a sua desidratação pelo processo de atomização ou por liofilização, que permitem a obtenção de polpa e extrato de mirtilo desidratado com elevado teor de compostos bioativos. Na segunda fase do trabalho, amostras da polpa e extrato

de mirtilo em pó foram preparadas em função da adição de 20% de maltodextrina 10 DE, e desidratadas por dois métodos de secagem (atomização e liofilização). Foram avaliadas antocianinas totais por espectrofotometria e CLAE, polifenóis, atividade antioxidante por DPPH, açúcares totais e redutores, umidade, atividade da água (Aa), além de colorimetria de  $h^*$  (tonalidade) e  $C^*$  (saturação). A amostra em pó com maior teor de antocianinas totais e polifenóis totais foi obtida a partir do extrato quando a secagem foi realizada em liofilizador, com 2938,94 mg/100g de antocianinas e 7680 mg AGE/100g de polifenóis. A percentagem da atividade antioxidante por DPPH do extrato foi maior quando a secagem foi realizada em atomização, com 74,9% de capacidade sequestrante. A saturação foi diferenciada entre os métodos de secagem, sendo de 7,74 quando o extrato foi desidratado por liofilização, e de 30,51 na secagem por atomização. Esta diferença resulta em maior intensidade da cor vermelha para o extrato atomizado; para os valores de  $h^*$  não houve diferença entre os métodos de secagem.

## ABSTRACT

ROCHA, Fernanda Izabel Garcia da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2009. **Evaluation of coloration and antioxidant activity of powder pulp and extract from blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruits.** Adviser: Paulo César Stringheta. Co-Advisers: Afonso Mota Ramos and Helena Maria Pinheiro Sant'Ana .

Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) has drawn the attention of producers and consumers in recent years due to its nutritional quality and health benefits. It is a rich source of natural pigments, especially anthocyanins, and shows high added value due to the association as a functional food. This study aimed to characterize and evaluate the pulp and extract of blueberry from the variety Bluegem produced in the Southeastern region of the country, as well as to evaluate drying methods on the physical and chemical properties and bioactive compounds in the powders obtained. Right after the drying treatments were applied, it was determined the centesimal composition of pulp and peel, and the following physical and chemical analysis were conducted independently for pulp and extract: SST, ATT, pH, reducing and total sugars, color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^*$  and  $C^*$ ), anthocyanins by spectrophotometry and HPLC, phenolic compounds and antioxidant activity by DPPH. The SST content was similar for pulp and extract, about 11.40 ° Brix; the ATT in the pulp expressed as citric acid was 0.42; the pH was 3.30 in the pulp and 3.27 in the extract; the total sugar content in the pulp was 6.44 g/100 mL and reducing sugar was 0.51 g/100 mL. The concentration of polyphenols was 317.60 g and 2007 mgAGE/100; total anthocyanins was 58.95 and 1182 mg/100 g; antioxidant activity was 32.50 and 42.88%, for pulp and extract respectively. Blueberry proved to be rich in phenolic compounds and anthocyanins, and and to have a relative antioxidant activity. An alternative to the preservation of the blueberry is its dehydration by the atomization process (atomização) or by freeze drying, which allow obtaining dehydrated blueberry pulp and extract with high content of bioactive

compounds. In the second phase, formulations of blueberry pulp and extract in powder were prepared according to the addition of 20% maltodextrin DE 10, and dried by two drying methods (atomização and lyophilization). The following evaluations were made: anthocyanins by spectrophotometry and HPLC, polyphenols, antioxidant activity by DPPH, total and reducing sugars, moisture, water activity (Aa), and colorimetry of h\* (hue) and C\* (saturation). The powder formulation with higher content of anthocyanins and phenols was obtained from the extract when the operations were performed on lyophilizer, with 2938.94 mg/100 g of anthocyanins and 7680 mgAGE/100g of polyphenols. The percentage of antioxidant activity by DPPH of the extract was higher when the drying was performed in a atomização, with 74.90% of sequestrant capacity. Saturation differed between drying methods, being 7.74 when the extract was dried by lyophilization, and 30.51 in the spray-drying. This difference results in higher intensity of red for the atomized extract; for the values of h\*, there was no difference between the drying methods.

## INTRODUÇÃO GERAL

A cor é associada a muitos aspectos de nossa vida, influenciando de maneira inconsciente e consciente sentimentos e decisões, incluindo as que envolvem a escolha dos alimentos. A aparência, segurança, aceitabilidade e características sensoriais dos alimentos são todas afetadas pela cor. Desta forma, a indústria utiliza as cores para selecionar os alimentos e bebidas, sendo também a maneira como o consumidor percebe e julga a qualidade do alimento (GRIFFITHS, 2005).

Apesar da alimentação ser imprescindível para a sobrevivência, também é fonte de prazer e satisfação. Seguindo uma ordem inversa do que aconteceu no passado quando os corantes orgânicos sintéticos artificiais foram, progressivamente, substituindo os corantes naturais (PRADO e GODOY, 2004), nos últimos 20 anos foi observado aumento nas pesquisas e no uso de pigmentos naturais (CAI et al., 2005).

Ainda segundo estes autores, devido aos corantes naturais serem geralmente menos estáveis e de custo mais elevado que os sintéticos, seu estudo e utilização atrai cada vez mais a atenção tanto da indústria como de centros de pesquisa no mundo inteiro. Atualmente existe demanda por parte dos consumidores por alimentos de composição mais natural. Além desta tendência de substituição devido à associação dos corantes naturais com a qualidade dos alimentos, existe ainda a limitação cada vez maior de corantes sintéticos para uso na indústria (ROY et al., 2004), devido em grande parte a sua associação com reações adversas nos consumidores como efeitos toxicológicos, mutagênicos ou carcinogênicos (STREIT et al., 2005).

O aumento do poder aquisitivo da população de baixa renda, verificado no Brasil após a estabilização da moeda, aliado à mudança no hábito alimentar da população brasileira observada nos últimos anos, têm criado demanda para a produção de frutas frescas (ANTUNES, 2002). Este aumento no consumo de frutas e hortaliças deve-se em parte ao seu valor nutritivo e efeitos terapêuticos (BURNS et al., 2002). Estes alimentos contêm diferentes fitoquímicos, muitos

dos quais possuem propriedade antioxidante que pode ser relacionada com o retardo do envelhecimento e a prevenção de certas doenças (RIETJENS, 2002). Os corantes naturais são extraídos de frutas, vegetais, sementes, flores e raízes. Dentre eles encontram-se as antocianinas, betalaínas, carotenóides, carmim, cúrcuma e clorofilas (STREIT et al., 2005).

A qualidade das frutas depende, em grande parte, da tecnologia utilizada na colheita e pós-colheita. Os métodos empregados nestas duas fases não melhoram a qualidade da fruta, mas retardam os processos de senescência e decomposição, garantindo melhor conservação e, conseqüentemente, oferecendo tempo mais prolongado para a comercialização (SILVA, 2000).

A qualidade e a segurança microbiológica devem ser consideradas como prioridade, devido à intensa manipulação durante as etapas de processamento. O aumento na taxa de deterioração do fruto é decorrente da transferência da microbiota da casca para a polpa, onde microrganismos encontram condições favoráveis ao seu desenvolvimento. Várias técnicas têm sido empregadas para minimizar as perdas pós-colheita, dentre estas se destaca a desidratação de frutas (VELIC et al., 2003).

A desidratação, tanto por atomização como por liofilização, gera produtos de maior valor nutritivo, estáveis e versáteis, podendo ser utilizados como aromatizantes, corantes, edulcorantes, vitaminas, minerais, acidulantes, temperos e medicamentos (DOMINGUES et al., 2002).

O mirtilo é uma planta frutífera de clima temperado pertencente à família Ericaceae e ao gênero *Vaccinium*. Em média, os frutos possuem 1 cm de diâmetro pesando 1,5 g, podendo ser destinados tanto para o consumo *in natura* quanto para o processamento (KLUGE et al., 1994). Seus frutos são de coloração azul intenso e polpa de sabor doce-ácido, apresentando grande número de sementes de pequeno tamanho.

O mirtilo apresenta grande importância econômica, especialmente nos Estados Unidos e Europa, centros de origem das espécies deste gênero. O interesse por esta cultura em outras regiões tem sido crescente (SANTOS, 2004). Entre as pequenas frutas estudadas, o mirtilo é uma das mais ricas em

antioxidantes. Apresenta conteúdo particularmente elevado de polifenóis tanto na casca quanto na polpa, conferindo função de proteção sobre as paredes celulares (KAUR e KAPOOR, 2001). As antocianinas são encontradas em maior quantidade na casca do mirtilo, sendo que lote de frutas menores tem maior área total de superfície, resultando em maior teor de antioxidante por peso, quando comparado à extração de bagas maiores (CARLSON, 2003).

O teor de antocianinas nos frutos de mirtilo é mais afetado pelo genótipo do que por fatores climáticos ou ambientais. Cultivares apresentam diferenças nos teores de antocianinas, pH, acidez, teor de sólidos, teor de umidade, sabor dos frutos, tamanho das bagas, número e tamanho de sementes, entre outros (RASEIRA, 2004).

As antocianinas, como os demais corantes naturais, apresentam problemas de estabilidade com relação a luz, pH, oxigênio. A degradação pode ocorrer desde a extração, purificação dos pigmentos até o processamento e estocagem, sendo que os principais fatores que afetam a estabilidade são a estrutura química do pigmento, pH, temperatura e tipo de solvente (LIMA et al., 2002).

Neste contexto, devido à importância do mirtilo como fonte de pigmentos naturais, e do seu alto valor agregado devido à associação como alimento funcional, torna-se importante desenvolver métodos e aprimorar processos de extração e estabilização de antocianinas a partir de frutos de mirtilo. Além disso, pigmentos naturais são caracterizados relativamente pela baixa estabilidade após a extração, sendo necessário o uso de técnicas que mantenham estes pigmentos mais estáveis após o processo de extração.

Os objetivos deste trabalho foram caracterizar e avaliar a polpa e extrato de mirtilo, variedade Bluegem, bem como avaliar métodos de secagem quanto as propriedades físico-químicas e dos compostos bioativos nos produtos em pó obtidos.

# REVISÃO DE LITERATURA

## 1 – MERCADO DE FRUTAS E POLPAS

O agronegócio brasileiro conta com uma eficiente, moderna e competitiva fruticultura. O Brasil é o terceiro pólo mundial do setor, perdendo apenas para China e Índia, com produção anual de cerca de 38 milhões de toneladas. Em 2006, as vendas externas de frutas frescas (exceto laranja) alcançaram US\$ 471,8 milhões, com aumento de 95% em comparação aos US\$ 241 milhões em 2002. De janeiro a abril de 2007 houve crescimento em torno de 50% no valor das exportações, comparado com o mesmo período do ano anterior, de US\$ 102,3 milhões para US\$ 150,1 milhões (BRASIL, 2007).

A importância da agregação de valor na fruticultura através do processamento pode ser percebida através da comparação do valor atual do mercado internacional de frutas frescas em torno de US\$ 23 bilhões e US\$ 90 bilhões para os produtos processados (VILELA e ARAÚJO, 2006). Devido ao nosso clima privilegiado, as frutas são produzidas em regiões temperadas ou tropicais. Além da diversidade climática, tem-se solo fértil e água em abundância. Esses três fatores tornam intrínseca a vocação do Brasil para a fruticultura (BRASIL, 2007).

O crescimento do consumo interno e externo de sucos naturais e polpas, aliado a enorme variedade de frutas tropicais passíveis de exploração e de desenvolvimento do Brasil, abrem ao país uma janela de oportunidades no que diz respeito à produção e à exportação. O Brasil exporta relativamente pouco suco e polpas de frutas, mas “*o aumento da produção de frutas tropicais, a adoção de variedades próprias para industrialização e a adoção de tecnologias modernas de produção*” poderão aumentar a participação do país no agronegócio mundial (IBRAF, 2001).

A perda de frutas no Brasil durante o manuseio é da ordem de 20 a 50% (DONADIO, 2000). Frutas tropicais usualmente sofrem maiores perdas devido a maior suscetibilidade aos danos causados durante a colheita,



transporte e pós-colheita, se estes forem inadequados (DONADIO, 2000). A implantação de agroindústrias proporciona aproveitamento dos excedentes de safra, cria empregos permanentes e interioriza o desenvolvimento, além de agregar valor ao produto final (FACHINELLO, 2008).

O mirtilo, apesar de ser uma espécie de introdução recente no Brasil, é largamente cultivado em países do Hemisfério Norte, principalmente Europa e Estados Unidos. Nestas regiões, a espécie tem grande importância comercial, sendo largamente explorados seus benefícios como alimento funcional.

Os Estados Unidos detêm 50% da produção mundial de mirtilo, sendo o estado do Maine o maior produtor, com 25% da produção norte-americana. O Canadá (províncias de Quebec e Nova Escócia) produz 33% e o continente europeu 16%, cabendo ao restante do mundo apenas 1% de participação no volume produzido em 2002 (EMBRAPA, 2007).

É também nos Estados Unidos onde se encontram os maiores índices de consumo. Os norte-americanos importam cerca de 82% da produção do restante do mundo. A demanda destes mercados tem impulsionado o cultivo em regiões não-tradicionais como a América do Sul, destacando-se países como Chile, com 2.500 ha, Argentina, com 1.500 ha e Uruguai, com 200 ha, para abastecimento na entressafra (FACHINELLO, 2008).

A primeira exportação Argentina ocorreu em 1994 para o Reino Unido, mas somente em 1997 o país começou sua incursão pelo mercado norte-americano. Produzindo hoje cerca de 380 ton/ano, 74% dessa produção é destinada ao abastecimento dos Estados Unidos entre os meses de outubro e dezembro (EMBRAPA, 2007).

A área cultivada no Brasil é superior a 150 hectares, praticamente tudo para exportação. O Rio Grande do Sul é o Estado que mais se destaca na produção de mirtilo. Em 2008, 45 produtores cultivando área de 65 ha, produziram 150 toneladas (FACHINELLO, 2008). O maior mercado consumidor do País é São Paulo, e o local onde se encontra o maior número de atacadistas dessa fruta é o Entrepósito Terminal de São Paulo (ETSP), da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). Praticamente toda a produção é comercializada na forma *in natura* e, uma pequena parte se

destina à indústria de sucos, sorvetes e doces (FACHINELLO, 2008).

## 2 – MIRTILO

### 2.1 – Características da fruta e produção

O mirtilo é uma planta frutífera de clima temperado pertencente à família Ericaceae e ao gênero *Vaccinium* (RASEIRA e ANTUNES, 2004). Possui porte arbustivo, com hábito ereto ou rasteiro produzindo frutos tipo baga, de coloração azul-escura e formato achatado, coroada pelos lóbulos persistentes do cálice, com muitas sementes envolvidas por uma polpa de coloração esbranquiçada de sabor doce-ácido (KLUGE et al., 1994).

É um arbusto hexaplóide, de folhagem decídua no inverno, de 2 – 4 m de altura, que exige número variável de horas de frio por ano com temperaturas abaixo de 7,2 °C, dependendo do genótipo. Apresenta folhas cartáceas, glabras, de 4 – 8 cm de comprimento. As flores são formadas durante a primavera quando as plantas ainda estão sem folhas (HARRI et al., 2006). De maneira geral, os frutos possuem em torno de 1 cm de diâmetro e 1,5 g de peso (Figura 1), podendo ser destinados tanto para o consumo *in natura* quanto ao processamento em forma de purês, sucos ou desidratados, geléias, tortas, muffins, snacks e cereais (KLUGE et al., 1994; RASEIRA e ANTUNES, 2004).



**Figura 1** – (*Vaccinium myrtillus*).

Fonte: Rodrigues (2009).

As principais espécies com expressão comercial podem ser divididas em três grupos de acordo com o genótipo, hábito de crescimento, tipo de fruto e outras características: "*highbush*", tem a melhor classificação em tamanho e sabor dos frutos; "*rabbiteye*" produz frutos de menor tamanho e de menor qualidade, no entanto apresenta maior produção por planta e melhor conservabilidade pós-colheita; e "*lowbush*" que produz frutos de tamanho pequeno, destinados geralmente à indústria de processamento (ECK et al., 1988; RASEIRA e ANTUNES, 2004). Sua riqueza em pigmentos antociânicos, substâncias de alto poder antioxidante e preventivas de doenças degenerativas, seu sabor único e sua cor inconfundível são fatores que atraem diretamente o consumidor (VILLATA, 2007).

No Brasil, as principais cultivares de mirtilo produzidas pertencem ao grupo "*rabbiteye*". Apresentam como características o elevado vigor, plantas longevas, produtividade alta, tolerância ao calor e à seca, baixa exigência na estação fria, floração precoce, longo período entre floração e maturação e frutos firmes com longa vida pós-colheita, desde que conservados adequadamente. Outra característica é a menor exigência de horas de frio (abaixo de 7,2 °C) que variedades do grupo "*highbush*". Elas são capazes de brotar e florescer com apenas 360 horas de frio, enquanto aquelas do grupo "*highbush*" necessitam entre 650 e 800 horas de frio (RASEIRA e ANTUNES, 2004).

Entre as limitações das cultivares do grupo "*rabbiteye*", destaca-se a completa coloração do fruto antes do ponto ideal da colheita – onde estaria com melhor qualidade em termos de sabor, a tendência de rachar a película em períodos úmidos e o longo período até alcançar o máximo de produtividade (ANTUNES et al., 2008).

O Brasil é um produtor ainda recente de mirtilo. Os primeiros experimentos tiveram início em 1983 sob responsabilidade da Embrapa Clima Temperado de Pelotas (RS), com a introdução da coleção de cultivares de baixa exigência em frio do grupo "*rabbiteye*", oriundas da Universidade da Flórida. A região de Vacaria (RS) foi pioneira na produção comercial desta fruta e é a grande referência em termos de produção. Atualmente, o cultivo no país

está em expansão, especialmente em regiões de clima temperado, onde há uma grande demanda em relação a cultivares adaptadas às condições climáticas regionais (SILVA et al., 2008).

## **2.2 – Compostos fenólicos**

Compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos (BIANCHI e ANTUNES, 1999; MALACRIDA e MOTTA, 2006). As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à capacidade de sequestrar os radicais livres, devido às propriedades de óxido-redução, desempenhando importante papel na eliminação e desativação desses radicais (BIANCHI e ANTUNES, 1999; DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004).

Muitos dos fenólicos alimentícios são solúveis em água e outros solventes orgânicos. Fenólicos encontrados em alimentos geralmente pertencem à classe dos ácidos fenólicos, flavonóides, ligninas, estibenos, coumarinas e taninos (SHAHIDI e NACZK, 1995). Para a quantificação de polifenóis totais, o método Folin-Denis é o mais indicado em materiais vegetais e bebidas, pois não há influência de interferentes como proteínas, açúcares ou outras substâncias redutoras que não sejam polifenóis, e portanto os resultados são mais exatos. Este método é baseado na redução do reagente ácido fomicilídico-fosfotungstíco (reagente Folin-Denis) para um complexo de coloração azul em solução alcalina, pelos compostos fenólicos. É também um método referencial usado para a determinação de compostos fenólicos totais pela AOAC (SHAHIDI e NACZK, 1995).

O interesse em compostos fenólicos em alimentos alcançou novo patamar nos últimos anos. Subtraindo o interesse acadêmico usual na biologia e química de descoberta e identificação de compostos fenólicos na natureza, tem-se notado que a ciência, juntamente ao interesse comercial, está buscando acentuar estudos e trabalhos sobre estes compostos, de modo a agregar maior

valor ao alimento, além de proporcionar efeitos que tragam benefícios à saúde (SILVA, 2003).

O mirtilo (*Vaccinium* sp.) apresenta em sua composição alta concentração de compostos fenólicos (WU et al., 2004), sendo superior a maioria das frutas (WOLFE et al., 2008).

Sellappan et al. (2002) encontraram os ácidos fenólicos gálico, p-hidroxibenzóico, p-cumárico, ferúlico e caféico em mirtilo produzido na Geórgia (Estados Unidos). O ácido elágico foi encontrado em algumas das cultivares avaliadas. Do grupo dos flavonóides não-antociânicos foram encontrados os flavanóis catequina e epicatequina, e como representantes dos flavonóis a quercetina, miricetina e kaempferol.

Taruscio et al. (2004) avaliaram a composição fenólica (ácidos fenólicos e flavonóides não-antociânicos) de cultivares de mirtilo pertencentes a nove espécies do gênero *Vaccinium*. A (-)-epicatequina foi o flavanol predominante, seguido da catequina. Entretanto, em algumas espécies a catequina não foi detectada ( $< 5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Do grupo dos flavonóis foram identificados e quantificados a quercetina e miricetina, não sendo detectada a presença de kaempferol. Neste trabalho, o ácido clorogênico foi encontrado como componente fenólico majoritário em todas as cultivares avaliadas.

Zadernowski et al. (2005) identificaram 17 ácidos fenólicos presentes em algumas cultivares de mirtilo por cromatografia gasosa (CG) acoplada à espectrometria de massa (EM). Encontraram os ácidos benzóicos: gentísico, gálico, o-pirocatecuico, protocatecuico, salicílico, siríngico, vanílico, verátrico. Como representantes dos ácidos cinâmicos, encontraram os ácidos caféico, m-cumárico, o-cumárico, p-cumárico, 3,4-dimetoxicinâmico, ferúlico, hidroxicaféico e sinápico.

Zheng e Wang (2003) identificaram grande número de compostos fenólicos presentes no mirtilo. O diferencial deste trabalho foi a determinação destes compostos na forma glicosilada, ou seja, sem aplicar a etapa de hidrólise. Assim, foram encontrados os flavonóis miricetina-3-arabinosídeo, quercetina-3-galactosídeo, quercetina-3-glicosídeo, quercetina-3-arabinosídeo, quercetina-3-ramnosídeo e derivados do kaempferol. As antocianinas

encontradas foram delphinidina-3-galactosídeo, delphinidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-arabinosídeo, cianidina-3-arabinosídeo, cianidina-3-galactosídeo, cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-xilosídeo, petunidina-3-galactosídeo, petunidina-3-glicosídeo, petunidina-3-arabinosídeo, malvidina-3-galactosídeo, malvidina-3-glicosídeo, malvidina-3-arabinosídeo, peonidina-3-galactosídeo, peonidina-3-glicosídeo e peonidina-3-arabinosídeo.

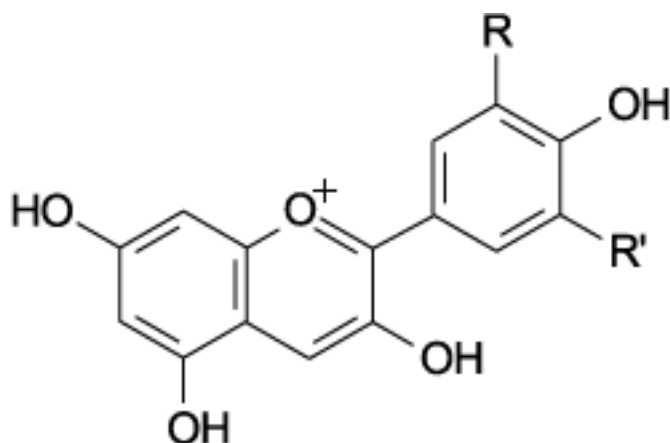
## 2.3 – Antocianinas

Antocianinas (do grego: *anthos*, flor e *kyanos*, azul) (MANHITA et al., 2006) são um grupo de pigmentos vegetais hidrossolúveis (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004) e, quimicamente, são compostos fenólicos flavonóides, amplamente distribuídos na natureza, responsáveis pela coloração de frutas, flores e vegetais (COOPER-DRIVER, 2001).

O uso de antocianinas como corantes ocorre desde a antiguidade. Os romanos usavam frutas altamente coloridas para aumentar a cor de vinhos. (FRANCIS, 2000). As antocianinas são conhecidas como fontes alternativas aos corantes sintéticos de coloração vermelha. Além dos atributos de cor, o interesse nesses compostos tem intensificado em função de seus efeitos benéficos à saúde (ESPÍN et al., 2000; COOPER-DRIVER, 2001). Seu espectro de cor vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as cores, resultando em tons de púrpura. Muitas frutas, hortaliças, folhas e flores devem sua atrativa coloração a estes pigmentos, que se encontram dispersos nos vacúolos celulares (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004).

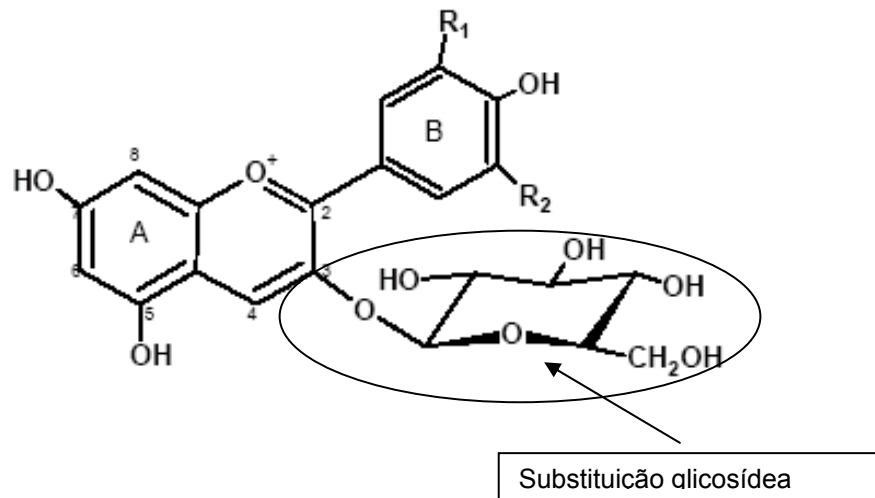
A estrutura das antocianinas é baseada em um esqueleto  $C_{15}$ , consistindo de um anel aromático ligado a um segundo anel na posição de  $C_2$ . Essa estrutura é completada por uma ou mais moléculas de açúcar ligadas em diferentes posições hidroxiladas da estrutura básica (DELGADO-VARGAS e PAREDES-LÓPEZ, 2003). Quando estão livres de moléculas de açúcar são denominadas antocianidinas (agliconas) (Figura 2). Existem seis antocianidinas

mais frequentemente encontradas nos pigmentos naturais e a maioria delas é substituída nas posições de hidroxila 3 e 5 (COOPER-DRIVER, 2001).



**Figura 2** – Estrutura de uma antocianidina  
Fonte: Giusti e Wrolstad (2003).

As antocianinas são derivados metoxílicos/polihidroxílicos glicosilados de sais de fenil-2-benzopirílio (cátion flavilium) (COOPER-DRIVER, 2001). As antocianinas diferem entre si pelo número de grupos hidroxila, número e natureza dos açúcares unidos à molécula, posição desse açúcar e pelo número e natureza dos ácidos alifáticos ou aromáticos unidos aos açúcares da molécula (KONG et al., 2003). A Figura 3 ilustra a estrutura de uma antocianina.



**Figura 3** – Estrutura química das antocianinas.

Fonte: adaptado de Malacrida e Motta (2006).

A antocianina mais frequentemente encontrada é a cianidina, que confere coloração vermelha (BOBBIO e BOBBIO, 1995). O vasto repertório de cores apresentado na faixa entre o vermelho e o azul, é resultado do complexo formado entre esses polifenóis, pectinas e íons metálicos (PADETEC, 2006). Os principais tipos de antocianinas presentes na natureza estão demonstrados na Tabela 1.



**Tabela 1:** Antocianidinas mais comumente encontradas na natureza e sua respectiva coloração.

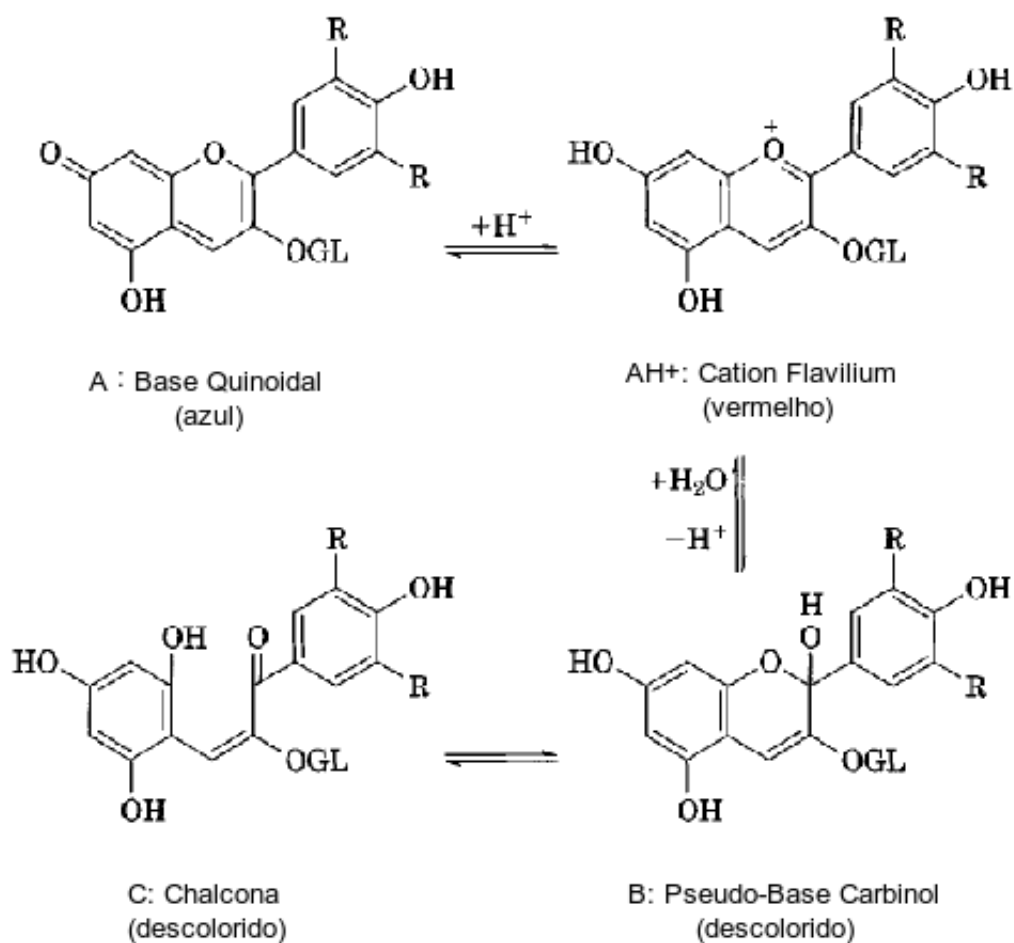
Nome	Abreviação	Substituições							Coloração
		3	5	6	7	3'	4'	5'	
Apigeninidina	Ap	H	OH	H	OH	H	OH	H	laranja
Aurantidinina	Au	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	laranja
Capensinidina	Cp	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe	azul- vermelho
Cianidina	Cy	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	laranja- vermelho
Delfinidina	Dp	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	azul- vermelho
Europinidina	Eu	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	azul- vermelho
Hirsutidina	Hs	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe	azul- vermelho
6-hidroxicianidina	6OHCy	OH	OH	OH	OH	OH	OH	H	vermelho
Luteolinidina	Lt	H	OH	H	OH	OH	OH	H	laranja
Malvidina	Mv	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	azul- vermelho
5-metilcianidina	5-MCy	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H	laranja- vermelho
Pelargonidinina	Pg	OH	OH	H	OH	H	OH	H	laranja
Peonidina	Pn	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	laranja- vermelho
Petunidina	Pt	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	azul- vermelho
Pulchelidina	Pl	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH	azul- vermelho
Rosinidina	Rs	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H	vermelho
Tricetinidina	Tr	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	vermelho

Fonte: adaptado de Kong et al. (2003).

A solubilidade destes compostos em água facilita sua incorporação em vários sistemas aquosos de alimentos, o que faz das antocianinas corantes naturais atrativos (LONGO e VASAPOLLO, 2006). Entretanto, o uso de antocianinas, especialmente como corantes naturais é dificultada pela baixa estabilidade à luz em valores de pH comumente encontrados em alimentos (pH de baixa acidez) (BAILONI, et al., 1998; FALCÃO et al., 2003).

Outro problema com relação à alteração da coloração é o cátion flavilium, altamente reativo em decorrência da deficiência de elétrons, sendo suscetível a ataques por reagentes nucleofílicos como água, peróxidos e dióxido de enxofre (VIGUERA e BRIDLE, 1999). As reações, em geral, resultam na descoloração do pigmento e quase sempre são indesejáveis no processamento de frutas e hortaliças. O branqueamento é um dos principais

responsáveis pela perda das antocianinas nos alimentos, principalmente se acompanhado da adição de sulfitos ou dióxido de enxofre. A adição destas substâncias resulta em descoloração rápida das antocianinas que se tornam amareladas, e portanto descaracterizadas (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004). De acordo com Dyrby et al. (2001), a elevação da temperatura provoca aumento logarítmico na degradação das antocianinas, com aparecimento da forma molecular chalcona. Na Figura 4 são apresentadas algumas alterações que ocorrem nas antocianinas.



**Figura 4** - Mudanças estruturais das antocianinas. Malvidina-3-glucosídeo a 25°C.

Fonte: Francis (2000).

Devido à larga distribuição das antocianinas no reino vegetal e a sua cor expressiva, muitas plantas foram estudadas como fontes em potencial. Porém, apenas duas, uvas e repolho roxo, têm tido sucesso comercial até o momento. De acordo com Francis (1999), somente *Sambucus nigra*, *Aronia arbutifolia* e *Daucus carota* L. tiveram algum êxito. Neste sentido, é imprescindível a descoberta de novas fontes que sejam viáveis economicamente.

Em frutas, as antocianinas se localizam principalmente na casca e ocasionalmente na polpa, podendo em alguns casos, conter somente um tipo de pigmento, como observado em maçã (*Pyrus mallus*) e groselha roxa (*Ribes rubrum*), que contêm unicamente cianidina. Por outro lado, frutas como uva (*Vitis vinifera*) e mirtilos (*Vaccinium myrtillus*) apresentam a combinação de cinco a seis antocianinas (SIMÓN et al., 2002).

Pertuzatti et al. (2007) avaliaram os teores de antocianinas totais na fruta inteira, casca e polpa das variedades de mirtilo *Powder Blue* e *Delite*. *Powder Blue* apresentou os maiores teores de antocianinas no fruto e na casca, com valores médios de 256 e 716 mg de cianidina 3-glicosídeo/100 g de fruta fresca, respectivamente. A variedade *Delite* apresentou valores médios inferiores, entre 144 e 382,3 mg/100 g para fruto e casca, respectivamente. Com relação a polpa, a variedade *Delite* apresentou os maiores teores de antocianinas, em torno de 80,9 mg de cianidina 3-glicosídeo/100 g, enquanto os teores foram de 2,7 mg/100 g em polpa de frutos da variedade *Powder Blue*. Isto deve-se ao fato da polpa de frutos da variedade *Delite* possuírem coloração avermelhada, enquanto *Powder Blue* possui frutos amarelados.

Em trabalho recente, Lohachoompol et al. (2008) identificaram e quantificaram antocianinas em várias cultivares de mirtilo produzidas na Austrália. Em todas as cultivares avaliadas, observou-se perfil qualitativo similar para as antocianinas, porém a proporção de cada antocianina variou em função da cultivar. As cultivares representantes da espécie *Vaccinium ashei* apresentaram conteúdo de antocianinas totais significativamente superior ao da espécie *Vaccinium corymbosum*. As cultivares estudadas foram *Crunchie*, *Star* e *Sharpe* (“*highbush*”, *Vaccinium corymbosum*); *Clímax*, *Powder Blue* e

Brightwell (*“rabbiteye”, Vaccinium ashei*). Quinze antocianinas foram identificadas. As antocianidinas majoritárias foram a delfinidina, petunidina e malvidina.

Vendramini et al. (2004) identificaram agliconas de antocianinas em acerola (*Malpighia puniceifolia*, L.). O teor de antocianinas na casca da acerola madura foi de 37,5 mg.100 g<sup>-1</sup>. Lima et al. (2000) determinaram o teor de antocianinas totais nas seleções de acerola Barbados, Coopama, Flor Branca, Inada, Miró e Okinawa. As seleções Inada e Barbados apresentaram os mais altos teores desses pigmentos, comparadas às demais seleções, tornando-as agronomicamente interessantes como fontes de antocianinas.

Mota (2006) avaliou a composição de antocianinas em seis cultivares de amora negra, encontrando predominância de cianidina. Durante a elaboração do suco com estas frutas, houve decréscimo de 42% no conteúdo de antocianinas. O tempo de armazenamento também contribuiu para o decréscimo, sendo este menor nas amostras mantidas sob refrigeração, em relação ao suco fresco.

## 2.4 – Atividade antioxidante

A atividade antioxidante pode ser definida como a capacidade de um composto em inibir a degradação oxidativa. Pode ser avaliada pelo potencial antioxidante, que é determinado pela composição e propriedades dos constituintes e, ainda, pela atividade biológica, que depende da biodisponibilidade do antioxidante (SANTOS et al., 2007).

Existem diversas definições para antioxidantes. A definição mais ampla de antioxidante, é que são *“substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato”* (SIES, 1993). Existe também a definição de antioxidante alimentar, que de acordo com a US National Academy of Sciences (2000), *“é toda substância na dieta capaz de reduzir significativamente os efeitos adversos produzidos por espécies reativas, como aquelas de oxigênio e nitrogênio, e que possuem função normal no organismo”*.

O termo radical livre é frequentemente usado para designar qualquer átomo ou molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais mais externos, o que torna estas moléculas altamente reativas, capazes de reagir com qualquer composto que esteja próximo, possuindo papel oxidante (HALLIWEL e GUTTERIDGE, 1999). Assim, a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e radicais livres ocorre no metabolismo normal, existindo a necessidade permanente de inativar estas moléculas de alta reatividade. O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes resulta no chamado estresse oxidativo (DÁVALOS, et al., 2003), que afeta muitas moléculas biológicas, incluindo lipídios, proteínas, carboidratos e DNA. Consequentemente, as ERO estão implicadas em várias doenças degenerativas humanas, como doenças cardiovasculares, disfunções cognitivas e câncer (PIETTA, 2000).

Para combater os radicais livres ou as chamadas espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN), o corpo é constituído com um sistema de defesa efetivo (antioxidantes endógenos), o qual inclui várias enzimas e moléculas antioxidantes de alto e baixo peso molecular (KAUR e KAPOOR, 2001). Esta proteção pode ser baseada em vários mecanismos de ação, principalmente: inibição da geração e a capacidade de neutralizar ERO/ERN, capacidade redutora, capacidade de quelar metais, atividade como enzima antioxidante e inibição de enzimas oxidativas (MAGALHÃES et al., 2008). Além destes antioxidantes endógenos, há aqueles consumidos na dieta (antioxidantes exógenos), que incluem ácido ascórbico (vitamina C), vitamina E, vitamina A, carotenóides e compostos fenólicos.

Entre os antioxidantes presentes nas frutas e vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os ácidos fenólicos e flavonóides (SOARES, 2002).

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas, e um dos mais usados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil - DPPH•, de coloração púrpura, com faixa de absorção ao redor de 515 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido,

modificando a coloração para amarelo, com conseqüente desaparecimento da absorção, sendo possível monitorá-la em função da absorbância. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional, num determinado tempo (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998).

## **2.5 – Fatores que afetam os compostos fenólicos e a atividade antioxidante**

A composição fenólica do mirtilo (*Vaccinium* sp.) apresenta grande variação qualitativa e quantitativa. Vários trabalhos demonstraram que esta variação é dependente de fatores intrínsecos - gênero, espécie e cultivar - e extrínsecos - condições ambientais e de cultivo, manejo e condições de armazenamento (WANG et al., 2008; GIOVANELLI e BURATTI, 2009). Além disso, fatores como a complexidade dos compostos fenólicos, métodos de extração e quantificação, também podem afetar a composição deste grupo de compostos.

Prior et al. (1998) estudaram mirtilos oriundos de quatro espécies (*Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium ashei* Reade, *Vaccinium angustifolium* e *Vaccinium myrtillus*), tendo observado que houve aumento na concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante ao longo da maturação para as cultivares Brightwell e Tifblue. Em contrapartida, o local de cultivo (Oregon, Michigan e New Jersey (EUA)) não apresentou influência sobre o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante da cultivar Jersey. Connor, et al. (2002) avaliaram a influência da cultivar, do local e época de cultivo sobre o conteúdo fenólico e atividade antioxidante do mirtilo, tendo concluindo que, ao contrário do observado por PRIOR et al. (1998), ocorreu interação entre genótipo (cultivar) e ambiente, na determinação da atividade antioxidante do mirtilo.

Castrejón et al. (2008) observaram diminuição dos compostos fenólicos (ácidos hidroxinâmicos e flavonóis) e da atividade antioxidante de cultivares de mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) ao longo do amadurecimento. Os valores para fenólicos totais variaram de 60,76 para 33,00 mg EAG.100 g<sup>-1</sup> em

peso seco, do estágio inicial até o final do amadurecimento, respectivamente.

A influência do sistema de cultivo (orgânico e convencional) sobre a composição fenólica e atividade antioxidante do mirtilo foi analisada por WANG et al. (2008). Os resultados deste trabalho mostraram que o mirtilo (*Vaccinium corymbosum*, cv. Bluecrop) produzido em sistema orgânico, apresentou concentração superior de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante do que aqueles produzidos em sistema convencional.

As condições e o tempo de armazenamento dos extratos produzidos também são fatores determinantes no conteúdo fenólico total e na atividade antioxidante medida. Srivastava et al. (2007) avaliaram o efeito da temperatura ( $-20 \pm 1$ ;  $5 \pm 1$ ;  $23 \pm 1$ ; e  $35 \pm 1$  °C) e tempo de armazenamento (15, 30, 45 e 60 dias) sobre os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos de mirtilo, e verificaram que não houve perda significativa ( $p < 0,05$ ) durante 30 dias de armazenamento para compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante a  $-20$  °C. Porém, esta perda foi verificada quando armazenados sob temperaturas entre 5 e 35 °C.

## **2.6 – Propriedades funcionais**

Estudos epidemiológicos e *in vitro* sugerem que o mirtilo (*Vaccinium* sp.) ajuda a manter a saúde e atua como obstáculo aos efeitos do envelhecimento, particularmente com respeito à neurodegeneração e defeitos cognitivos. Há ainda evidências de sua atuação na prevenção de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (DUFFY et al., 2008). Muitos dos efeitos benéficos parecem estar relacionados às propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos presentes na fruta (KALT e DUFOUR, 1997).

Duffy et al. (2008) realizaram estudo com ratos, verificando que a suplementação da dieta com 2% de extrato de mirtilo por 8 semanas protegeu-os contra a neurodegeneração e defeitos cognitivos, mediados por excitotoxicidade e estresse oxidativo. Este trabalho trouxe evidências de que a suplementação com extrato de mirtilo pode ser utilizada para prevenir ou tratar a doença de Alzheimer, e possivelmente outras desordens neurodegenerativas,

sendo sugerido que o extrato atenua processos degenerativos causados por estressores oxidativos ou inflamatórios.

Wolfe et al. (2008) avaliaram a atividade antioxidante de 25 tipos de frutas, comumente consumidas nos EUA, e encontraram o mirtilo como uma das frutas com maior atividade antioxidante em sistema de cultura de células. Também foi observada alta correlação entre o conteúdo fenólico total e a atividade antioxidante celular, demonstrando que o primeiro pode ser usado como indicador de atividade antioxidante. Os resultados deste trabalho indicam o possível efeito do extrato do mirtilo sobre a atenuação de eventos oxidativos nas células, diminuindo assim o risco de câncer.

Seeram et al. (2006) verificaram a propriedade de extratos de mirtilo em inibir a proliferação de células tumorais na cavidade oral, mama, cólon e próstata, sendo esta ação dose-dependente e com diferentes níveis de potência entre os tipos de células avaliadas. Além disso, os extratos estimularam a apoptose em culturas de células cancerígenas de cólon.

Boivin et al. (2007) avaliaram o efeito de suco de mirtilo sobre a morte celular e sobre a interrupção do ciclo celular de células humanas cancerígenas do estômago, mama, próstata e intestino. Estes autores verificaram grande capacidade do suco em inibir o crescimento celular, principalmente para o suco derivado das cultivares do grupo “*lowbush*”. O mecanismo de ação parece estar relacionado à interrupção do ciclo celular, mais do que à apoptose caspase-dependente.

A ação dos componentes fenólicos do mirtilo na redução de um dos fatores de risco das doenças cardiovasculares foi demonstrada por Kalt et al. (2008). Um experimento com suínos demonstrou que a suplementação com extrato de mirtilo (*Vaccinium corymbosum*, cv. Jersey) reduziu os níveis de colesterol total, LDL e HDL. A maior redução foi observada com mirtilo na concentração de 2%, sendo que o colesterol total, LDL e HDL reduziram, 11,7, 15,1 e 8,3%, respectivamente.



### 3 – COR

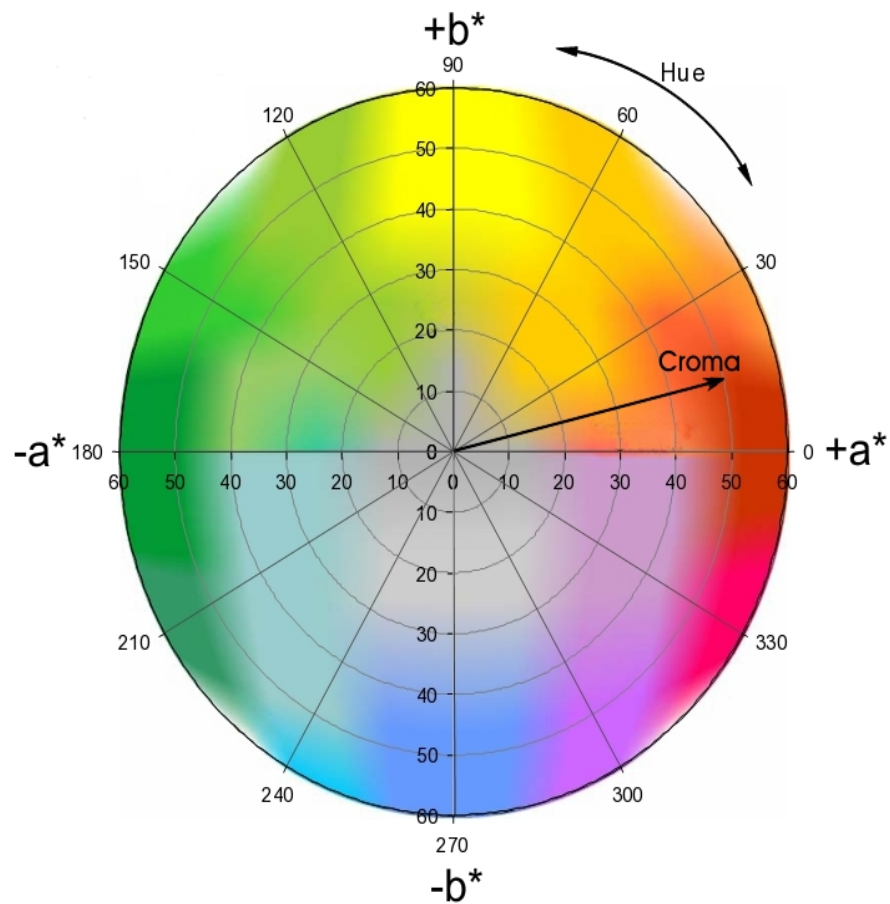
Segundo Billmeyer e Saltzman (1981), a cor pode ser descrita por vários sistemas de coordenadas. Alguns dos sistemas mais conhecidos são: Hunter L a b, CIE (Comissão Internacional de “L’Eclairage”)  $L^* a^* b^*$ , CIE X Y Z, CIE  $L^* u^* v^*$ . Estes se diferem na simetria do espaço das cores e no sistema de coordenadas usado para definir pontos dentro deste espaço. Destes, o CIE e o sistema Hunter são os de maior importância para medida instrumental. O método proposto pela CIE, definido em 1976, baseia-se num espaço tridimensional de modo que cada cor é representada por um único ponto nesse espaço. É definido pelas coordenadas  $L^* a^* b^*$ , em que:

Eixo  $L^*$  representa a luminosidade numa escala de 0 (preto) a 100 (branco).

Eixo  $a^*$  representa uma escala de tonalidades de vermelho ( $0 + a$ ) a verde ( $0 - a$ ).

Eixo  $b^*$  representa uma escala de tonalidades de amarelo ( $0 + b$ ) a azul ( $0 - b$ ).

Numa representação polar do sistema de coordenadas retangulares CIELAB, surge a escala CIE  $L^* C^* h^*$ , que, numericamente, descreve a cor tridimensionalmente em luminosidade ( $L^*$ ), saturação ( $C^* = (a^* + b^*)^{1/2}$ ) e tonalidade ( $h^* = \arctan (b/a^*)$ ) (Figura 5). No entanto, por ser obtida matematicamente da escala CIELAB, essa escala apresenta uniformidade visual similar à do sistema de coordenadas retangulares (RAMOS e Gomide, 2007).



**Figura 5** – Sistema de coordenadas de cores CIELAB.

Fonte: Minolta (1998).

A cor é um aspecto da percepção visual, cuja definição e quantificação são difíceis. Fisicamente, cor é uma característica da luz, mensurável em termos de intensidade (energia radiante) e comprimento de onda. Fisiologicamente, é limitada a banda do espectro no intervalo de 380 a 770 nanômetros, uma vez que o olho humano é praticamente insensível a outros comprimentos de onda de energia radiante (KRAMER e TWIGG, 1962).

A percepção da cor é limitada pela existência de uma fonte de luz. Tal luz pode ser refletida, transmitida, absorvida ou refratada pelo objeto que está sendo iluminado. Quando praticamente toda energia radiante do espectro visível é refletida por uma superfície opaca, o objeto é visto branco. Se a luz é parcialmente absorvida, de forma homogênea através de todo espectro visível, o objeto é cinza. Se a absorção é praticamente completa, o resultado é um

objeto negro. Se, no entanto, a energia radiante é absorvida em certo comprimento de onda de forma mais pronunciada que em outros, o observador humano vê o que popularmente é conhecido como cor, fisicamente como o comprimento de onda dominante ou fisiologicamente como tonalidade (KRAMER e TWIGG, 1962).

Cada objeto absorve e reflete luz em diferentes porções do espectro e em quantidades diferentes. Essa diferença na absorbância e reflectância é que torna diferentes as cores de alimentos distintos. Na análise objetiva de cores de objetos opacos, como na maioria dos alimentos, a reflexão possui maior importância, uma vez que sua reflectividade é que será medida. O alimento absorve parte dos comprimentos de onda da fonte de luz e reflete o restante. Essa luz refletida entra no olho humano e estimula a retina, sendo esse estímulo interpretado pelo cérebro como cor do objeto (RAMOS e GOMIDE, 2007).

A cor dos alimentos é um importante atributo de qualidade, não só servindo de base para a identificação e a aceitação de grande variedade de produtos, mas também influenciando negativa ou positivamente na percepção dos demais atributos sensoriais (PONTES, 2004).

Os principais tipos de instrumentos utilizados na medição da cor, são os colorímetros e os espectrofotômetros. Os colorímetros são utilizados para avaliar a cor de um objeto exatamente da forma que o ser humano percebe. Os espectrofotômetros determinam o espectro de reflectância da amostra, sendo mais versáteis, avaliando a cor de forma mais complexa e com elevada precisão (MINOLTA, 1998).

## 4 – SECAGEM

A desidratação é considerada uma operação unitária que tem o propósito de diminuir a água presente nos produtos agrícolas e alimentícios, reduzir ou inibir as atividades químicas, enzimáticas e microbiológicas, que são responsáveis pela deterioração dos alimentos (FELLOWS, 2006).

Várias são as vantagens em se utilizar um processo de secagem, desde a facilidade na conservação do produto até a estabilidade dos componentes aromáticos à temperatura ambiente, durante longo tempo. Outras vantagens são a proteção contra degradação enzimática e oxidativa, redução do seu peso, dispensa de refrigeração durante o transporte e armazenagem, disponibilidade do produto durante qualquer época do ano e agregação de valor ao produto (DOYMAZ, 2004).

A secagem é um processo que deve ser previsto, dimensionado e planejado. Para qualquer projetista ou pesquisador é importante a utilização de um programa que permita a simulação deste processo de forma a prever, de acordo com as condições de uma região, o melhor tipo de secador a ser usado e as condições de secagem, bem como o tempo necessário para realizá-la (CAVALCANTI-MATA et al., 1999).

A desidratação de alimentos sólidos, como frutas e hortaliças, normalmente significa remoção da umidade por vaporização, tendo por objetivo assegurar a conservação da fruta por meio da redução da atividade de água. Essa redução deve ser efetuada até o ponto onde as concentrações de açúcares, ácidos, sais e outros componentes sejam suficientemente elevados para reduzir a atividade de água e inibir o desenvolvimento de microrganismos. Deve ainda conferir ao produto final características sensoriais próprias e o máximo de seu valor nutricional (CANO-CHAUCA et al., 2004).

A atividade de água é uma das propriedades mais importantes para o processamento, conservação e armazenamento de alimentos. É definida como a razão entre a pressão de vapor da água no alimento e a pressão de vapor de saturação da água na mesma temperatura (FELLOWS, 2006). Ela quantifica o grau de ligação da água contida no produto e a sua disponibilidade para agir

como solvente e participar das transformações químicas, bioquímicas e microbiológicas (LABUZA, 1977).

A escala de atividade de água varia de 0 a 1, e no estado de equilíbrio existe igualdade entre a pressão parcial de vapor de água no ar e da água do produto. Dessa forma, podem-se utilizar as isotermas de adsorção e dessorção de umidade de cada produto para conduzir a secagem até estabelecer a umidade final ou a atividade de água do produto, tal que garanta nas condições de estocagem (temperatura e umidade relativa do ar) sua integridade biológica (FELLOWS, 2006).

A água está ligada ao material sólido de maneira química, físico-química ou mecânica. A água ligada quimicamente é aquela que se une com mais solidez ao material, em proporções estequiométricas, podendo ser eliminada somente com aquecimento do material a temperaturas altas ou como resultado de uma reação química, esta água não pode ser eliminada do material por secagem. Durante a secagem é eliminada, como regra, a água ligada ao material na forma físico-química e mecânica (KASATKIN, 1985).

Compostos fenólicos como as antocianinas, além da relativa instabilidade à luz, são instáveis ao calor (STRINGHETA, 1991). Estes pigmentos são submetidos ao calor durante o tratamento térmico dos alimentos, ocorrendo perdas durante o processamento. Desta forma, torna-se importante promover métodos de desidratação dos alimentos que ocasionem a menor perda possível destes pigmentos, adicionados ou contidos naturalmente no alimento. Dentre os processos de secagem, existem aqueles que envolvem baixas e altas temperaturas (ERSUS e YURDAGEL, 2007).

O processo de secagem pode envolver três meios de transferência de calor: convecção, condução e radiação. A transferência de calor por convecção é a mais utilizada na secagem comercial, onde um fluxo de ar aquecido passa através da camada do produto. Durante o processo de secagem, a umidade migra do interior para a superfície do produto, de onde evapora para o ambiente. Existem diversos métodos para desidratação de alimentos, e a escolha do mais adequado depende do tipo de alimento, do nível de qualidade que se deseja obter e de seu custo (FELLOWS, 2006).

## 4.1 – Secagem por atomização

A secagem por atomização teve seus primeiros passos na metade do século 18, quando foi patenteada a primeira operação de secagem de ovos (1865). Porém, o início de sua utilização como processo em nível industrial data da década de 1920 com leite e sabão em pó. Sua eficácia está baseada na área de contato entre o material a ser seco e o agente dessecante, ou seja, o ar quente (ROSA et al., 2009).

A atomização em pequenas gotas resulta na secagem da substância em poucos segundos, com temperatura de entrada do ar de aproximadamente 200 °C. Visto que o resfriamento evaporativo raramente permite que as partículas adquiram temperaturas superiores à 80 °C e que os sistemas são corretamente projetados para rapidamente removerem as partículas secas das zonas aquecidas, a qualidade do produto não chega a ser comprometida. Este método de desidratação pode originar produtos de alta qualidade, mesmo aqueles altamente sensíveis ao calor como leite, ovos e café (FELLOWS, 2006).

O mais importante tipo de secador por convecção forçada de ar é conhecido como torre de atomização (“spray drying”). Existem vários tipos de torres de atomização projetados para produtos alimentícios específicos. São limitados a alimentos que possam ser atomizados, como por exemplo, líquidos e purês de baixa viscosidade (CRUZ, 1990).

O alimento na forma líquida é introduzido como um fino spray ou névoa dentro de uma torre ou câmara junto com ar aquecido. As pequenas gotas perdem rapidamente a umidade devido ao contato íntimo com o ar quente, tornando-se pequenas partículas que precipitam para o fundo da torre. O ar quente torna-se úmido, sendo retirado da torre através de um exaustor. É um processo contínuo, sendo o alimento na forma líquida continuamente bombeado e atomizado dentro da câmara junto com o ar quente e seco (POPPLEWELL et al., 1995).

As principais vantagens da secagem por atomização são a baixa degradação e alteração de nutrientes, aroma, sabor, cor, alta produtividade e

capacidade, efetivo controle das variáveis, produz materiais diretamente na forma de pó com forma, tamanho e densidades controlados pelas condições de processo, capacidade de microencapsulação de aromas e corantes (ROSA et al., 2009).

## **4.2 – Secagem por liofilização**

A liofilização é um processo que se caracteriza pela retirada da água do alimento sem submetê-lo a altas temperaturas. No processo de liofilização, o alimento passa pelas etapas de preparo (lavagem, descascamento, corte, branqueamento), sendo congelado a temperatura de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  e colocado em câmara de alto vácuo. Com o aumento progressivo da temperatura e a manutenção da condição de baixíssima pressão (vácuo), atinge-se a temperatura necessária para obter a saída da água do alimento por sublimação. Dessa forma, o alimento não é exposto a altas temperaturas e conseqüentemente não ocorre a degradação do valor nutricional (ROSA et al., 2009).

O congelamento deve ser rápido, para que se formem microcristais de gelo que não danifiquem a membrana celular do alimento. Se o congelamento for lento, os cristais formados são grandes e a membrana celular é rompida, acarretando perda do líquido citoplasmático e conseqüentemente encolhimento do alimento, que fica com aspecto de “murcho” (FELLOWS, 2006).

O fundamento físico para o processo de liofilização é a coexistência dos três estados da água - sólido, líquido e gasoso - em determinadas condições de temperatura e pressão. Sob temperaturas de aproximadamente  $t= 0\text{ }^{\circ}\text{C}$  e pressão de 4,7 mm Hg (milímetros de mercúrio) obtém-se o chamado ponto triplo da água, possibilitando sua passagem diretamente do estado sólido para o gasoso, sem passar pela fase líquida.

Pelo fato da liofilização não submeter os alimentos a altas temperaturas como nos outros processos de desidratação, apresenta uma série de vantagens (CRUZ, 1990):

- Manutenção da forma original do alimento, pois a retirada da água por

sublimação mantém intactas as estruturas dos alimentos de origem animal e vegetal, favorecendo reidratação mais completa devido, à estrutura esponjosa deixada pela saída da água;

- Preservação das características sensoriais como sabor, odor e aroma dos alimentos. Os componentes que conferem essas características são modificados pela alta temperatura, e na liofilização as temperaturas empregadas são baixas;

- Preservação do valor nutritivo, pois como o calor não é empregado no alimento, as estruturas proteicas e o conteúdo de vitaminas é mantido no processo.

Os trabalhos de desenvolvimento da técnica de liofilização visaram a otimização do processo e dos equipamentos para reduzir custos com a desidratação. Mesmo assim, o custo para se remover 1 kg de água por liofilização é 2 a 5 vezes maior que o custo de outros métodos de secagem (FELLOWS, 2006). Devido a isso, a liofilização é aplicada com mais frequência em produtos alimentícios nobres que necessitem de reidratação rápida e completa.



## 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC (Association of Official Agriculture Chemists) – **Official methods of analysis**, 12<sup>th</sup> ed., Washington, D. C., AOAC, 1984, métodos nº 22058 e 22059.

ANTUNES, L.E.C. Amora Preta: Nova Opção de Cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, v. 32, p. 151-158, 2002.

BAILONI, M. A.; BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Preparação e estabilidade do extrato antociânico das folhas da *acalipha hispida*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, 1998.

BIANCHI, M. L. P., ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, p. 123-130, 1999.

BILLMEYER, F. W.; SALTZMANN, M. **Principles of color technology**. John Wiley & Son. New York, 1981.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 1995. 151 p.

BOIVIN, D.; BLANCHETTE, M.; BARRETTE, S.; MOGHRABI, A.; BELIVEAU, R. Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF induced activation of NFkappaB by edible berry juice. **Anticancer Research**, v. 27, p. 937- 948, 2007.

BURNS, J.; FRASER, P. D.; BRAMLEY. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. **Phytochemistry**, v. 62, p. 939-947, 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensm Wiss Technology**, v. 28, p. 25, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Fruticultura**. O setor produtivo da fruticultura. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 26/08/2009; 2007.

CAI, Y. Z.; SUN, M.; CORKE, H. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, p. 370-376, 2005.

CANO-CHAUCA, M.; RAMOS, M. A.; STRINGHETA, C. P.; PEREIRA, J. A. M.; SILVA, I. P. **Curvas de secagem e avaliação da atividade de água da banana passa**. **Boletim CEPPA**, v. 22, n. 1. Curitiba Jan/Jun. 2004.

CARLSON, J. S. **Processing Effects on the Antioxidant Activities of Blueberry Juices**. Tese submetida à Graduate Faculty of North Carolina State University. Raleigh, p.80. 2003.

CASTREJÓN, A. D. R.; EICHHOLZ, I.; ROHN, S.; KROH, L. W.; HUYSKENSKEIL, S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 564- 572, 2008.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DANTAS, L. A. ; BRAGA, M. E. D. Programa computacional para secagem de grãos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 1, n. 1, p. 21-26, 1999.

CONNOR, A. M.; LUBY, J. J.; TONG, C. B. S. Genotype and enviromental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars.

**Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 127, p. 89- 97, 2002.

COOPER-DRIVER, G. A., Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 56, p. 229-236, 2001.

CRUZ, G. A. **Desidratação de alimentos**. Publicações Globo Rural. São Paulo, 1990. 207 p.

DÁVALOS, A.; GOMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Commercial dietary antioxidant supplements assayed for their antioxidant activity by different methodologies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2512-2519, 2003.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains – Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, p. 173-289. 2000.

DELGADO-VARGAS, F., PAREDES-LÓPEZ, O. Anthocyanins and Betalains. In: DELGADO-VARGAS, F., PAREDES-LÓPEZ, O. **Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses**, New York: CRC Press, 2003.

DOMINGUES, A. et al. Caracterização das propriedades físicas do suco de abacaxi (*Ananás comosus*) em pó desidratado por atomização otimizado através de análise de suporte de superfície de resposta. In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 18., 2002, Porto Alegre, p. 1717 – 1720.

DONADIO, L. C. Produtividade qualidade e diversificação. **Revista Frutas e Cia**, São Paulo, n. 1, p. 4-6, 2000.

DOYMAZ, I. Effect of dipping treatment on air drying of plums. **Journal of Food Engineering**, v. 64, p. 465-470, 2004.

DUFFY, K. B.; SPANGLER, E. L.; DEVAN, B. D.; GUO, Z.; BOWKER, J. L.; JANAS, A. M.; HAGEPANOS, A.; MINOR, R. K.; DECABO, R. ; MOUTON, P. R.; SHUKITT-HALE, B.; JOSEPH, J. A.; INGRAM, D. K. A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainate-induced learning impairment in rats. **Neurobiology of Aging**, v. 29, p. 1680-1689, 2008.

DYRBY, M.; WESTERGARD, N.; STAPELFELDT, H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink models systems. **Food Chemistry**, v. 72, p. 431-437, 2001.

ECK, P. **Blueberry Science**, Rutgers Press, Brunswick, N.J. 1988.

Embrapa Clima Temperado Sistemas de Produção, 8 ISSN 1806-9207 – Versão Eletrônica Agosto/2009. **Sistema de Produção do Mirtilo**. João Carlos Medeiros Madail e Alverides Machado dos Santos.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 805–812, 2007.

ESPÍN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H. J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1588-1592, 2000.

FACHINELLO, J. C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 285-576, 2008.

FALCÃO, L. D., BARROS, D. M., GAUCHE, C., BORDIGNON LUIZ, M. T. Copigmentação intra

- e intermolecular de antocianinas: uma revisão. **Boletim CEPPA**, v .21, n. 2, p. 351-366, 2003.
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602p.
- FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.). **Anthocyanins as food color**, New York: Academic Press, 1982, p. 181-207.
- FRANCIS, F. J. A new group of food colorants. **Food Science and Technology**, v .3, p. 27-30, 1992.
- FRANCIS, F. J. **Colorants**. Minnesota: Eagan Press, 1999. 145p. (Eagan Press Hanbook Series).
- FRANCIS, F. J. Colorants: introduction. In: Francis F. J. **Encyclopedia of food science and technology**, New York: Wiley-Interscience Publication, v. 1, p. 380-383, 2000.
- GIOVANELLI, G.; BURATTI, S. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. **Food Chemistry**, v. 112, p. 903-908, 2009.
- GIUSTI, M. M, WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, p. 217-225, 2003.
- GRIFFITHS, J. C. Coloring Foods e Beverages. **Food Technology**, v. 59, p. 38-44, 2005.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**, 3 ed. New Yor: Clarendon Press; Oxford: Oxford University Press. 1999.
- HARRI, L.; SARTORI, S.; BACHER, L. B.; LACERDA, M. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.
- HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**, London: Blackie Academic, 1996. p. 1-1982.
- HRAZDINA, G. Anthocyanins. In: Harborne, J. B.; Mabry, T. (Ed). **The flavonoids, advances in research**, Chapman-Hall, 1982. p. 135-188.
- HUTCHINGS, J. B. **Food Colour and Apperance**. In: Chemistry of Food Colour. London: Blackie Academic, 1994. 513p.
- IBRAF. **Cadeia produtiva da fruticultura: termo de referência**. Brasília: IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas, 2001.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1018p.
- JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: Hendry, G. A. F. and HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**, London: Blackie Academic, 1996. p. 244-296.
- JURD, L. Some advances in the chemistry of anthocyanin-type plant pigments. In: The Chemistry of Plant Pigments. Chichester: Academic Press, 1972. p.123-142.
- KALT, W.; DUFOUR, D. Health functionality of blueberries. **Horticultural Technology**, v. 7, p. 216-221, 1997.

- KALT, W.; FOOTE, K.; FILLMORE, S. A. E.; LYON, M.; LUNEN, T. A. V.; McRAE K. B. Effect of blueberry feeding on plasma lipids in pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 100, p. 70-78, 2008.
- KASATKIN, A. **Operaciones básicas y aparatos em la tecnologia química**. T.I. p. 262-366, 1985.
- KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. **International Journal of Food Science e Technology**, v. 36, p. 703- 725, 2001.
- KONG, J. M.; CHIA, L. S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; BROUILLARD, F. Analysis and biological activities of anthocyanins. Review. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923–933, 2003.
- KLUGE, R. A., HOFFMANN, A., BILHALVA, A. B. Comportamento de frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cv. Powder Blue em armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, v. 24, p. 281-285, 1994.
- KRAMER, A.; TWIGG, B. A. **Fundamentals of quality control for the food industry**. Westport, Conn.: Avi, 1962, 512 p.
- LABMAQ DO BRASIL LTDA. **Manual de Operações do Mini-atomização MSD 0.5**. Depto de Engenharia, 2003.
- LESS, D. H.; FRANCIS, F. J. **Standardization of pigment analylis**. 1972.
- LABUZA, T. P. The properties of water in relationship to water biging in food: a review. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 1, n. 2, p. 167-190, 1977.
- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A. LIMA, L. S.; NASCIMENTO, P. P. Flavonóides em Seleções de Acerola (*Malpighia* sp L.). 1-Teor de Antocianinas e Flavonóides totais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 6, p. 1063-1064, 2000.
- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e Carotenóides Totais em Pitanga. **Scientia Agrícola**, v. 59, p. 447-450, 2002.
- LOHACHOOMPOL, V.; MULHOLLAND, M.; SRZEDNICKI, G.; CRASKE, J. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**, v. 111, p. 249-254, 2008.
- LONGO, L., VASAPOLLO, G. Extraction and identification of anthocyanis from *Smilax aspera* L. berries. **Food Chemistry**, v. 94, p. 226-231, 2006.
- MAGALHÃES, L. M.; SEGUNDO, M. A.; REIS, S.; LIMA, J. L. F. C. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, p. 1- 19, 2008.
- MALACRIDA, C. R., MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**. v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.
- MANHITA, A. C., TEIXEIRA, D. M., COSTA, C. T. Application of sample disruption methods in the extraction of anthocyanins from solid or semi-solid vegetables samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1129, p. 14-20, 2006.
- MINOLTA. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. Japan: Minolta Co. Ltda, 1998, 57 p.
- MOTA, R. V.; Caracterização do suco de amora-preta elaborado em extrator caseiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n. 2, p. 303-308, 2006.

OZELA, E.F. **Caracterização de flavonóides e estabilidade de pigmentos de frutos de bortalha (*Basella rubra* L.)**. 2004. 71p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

PADETEC - Parque de Desenvolvimento Tecnológico- Ceará. **Células Solares Usando Corantes Fotoexcitáveis**. Disponível em: [www.padetec.ufc.br/natuclteoria.htm](http://www.padetec.ufc.br/natuclteoria.htm). Acessado em 11/08/2009.

[PERTUZATTI, P. B.; JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C. Relação de fitoquímicos na casca e polpa de mirtilo \(\*Vaccinium ashei\* Reade\)](#). XVI Congresso de Iniciação Científica. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, novembro de 2007.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035 – 1042, 2000.

PONTES, L.V. **Avaliação sensorial e instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais**. Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, DTA/UFV, 2004.

POPPELWELL, L. M.; BLACK, J. M.; NORRIS, L. M.; PORZIO, M. Encapsulation system for flavors and colors. **Food Technology**, v. 49, p. 76-82, 1995.

PRADO, M.; GODOY, A. Determinação de corantes artificiais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em pó para gelatinas. **Química Nova**, v. 17, p. 22-26, 2004.

PRIOR, R. L.; CAO, G. H.; MARTIN, A.; SOFIC, E.; McEWEN, J.; O'BRIEN, C.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W. KREWER, G.; MAINLAND, C. M. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, 2686- 2693, 1998.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Avaliação Objetiva da Cor. In: **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Cap.7, ed. UFV, Viçosa-MG, p. 287-370, 2007.

RASEIRA, M. C. B.; ANTUNES, L. E. C. (Ed.). **A cultura do Mirtilo (*Vaccinium sp.*)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004, 67p. (Série Documentos, 121).

RASEIRA, M. C .B. Cultivares. In: **A Cultura do Mirtilo**. Pelotas: Embrapa CPACT. Série documentos n. 121. 2004.

RIETJENS, I. M. C. M. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 11, p. 321-333, 2002.

RODRIGUES, E. **Atividade antioxidante *in vitro* e perfil fenólico de cultivares de mirtilo (*vaccinium sp.*) produzidas no Brasil**. Florianópolis, 2009. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina.

ROSA, E. D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. Secagem por atomização na indústria alimentícia: Fundamentos e Aplicações. 12p. Disponível: <http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduacao/Disciplinas/Exclusivo/Inserir/Anexos/LinkAnexos/secag%20de%20materiais.pdf>. Acesso em: 9 de agosto de 2009.

ROY, K.; GULLAPALLI, S.; CHAUDHURI, U. R.; CHAKRABORTY, R. The use of natural colorant based on betalain in the manufacture of sweet products in Índia. **International Journal of Food Science and Tecnology**. v. 39, p.1087-1091, 2004.

SANTOS, A. M. **Situação e perspectiva do mirtilo no Brasil**. Embrapa Clima Temperado Pelotas, RS. Série Documentos, n. 134, p. 282-285, 2004.

SANTOS, M. H. et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal Science Food Agricultural**, v. 76, p. 270, 1998.

SEERAM, N. P.; ADAMS, L. S.; ZHANG, Y.; SAND, D.; HEBER, D. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 9329-9339, 2006.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50 p. 2432-2438, 2002.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **Journal of Biochemistry**, v. 215, p. 213-219, 1993.

SILVA, J. S. **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**, Viçosa, Aprenda Fácil, 2000. 502p.

SILVA, P. C. F. da. **Propriedades antioxidantes in vitro de uvas branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados**. Viçosa, MG: UFV, 2003, 138p. (Dissertação Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, 2003.

SILVA, S. D. A. E.; ANTUNES, L. E. C.; ANTHONISEN, D. G.; LEMÕES, J. S.; GONÇALVES, E. D. Caracterização de genótipos de mirtilo utilizando marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 180- 184, 2008.

[SIMÓN, G. V., HERNÁNDEZ, R. M. S., GONZÁLEZ, M. T. R. Análisis preliminar de antocianinas en fruto de icaco. Revista Fitotecnia Mexicana. v. 25, p. 261-264, 2002.](#)

[SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. Revista de Nutrição, v. 15, p. 71- 81, 2002.](#)

SHAHIDI, F; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. 1. ed. Lancaster: Technomic Publishing Co, Inc., 1995. 331p.

SHRIKHANDE, A. J. Anthocyanins in foods. CRC Crit. **Food Science and Nutrition**, v. 7, p.193-217, 1976.

SRIVASTAVA, A.; AKOH, C. C.; YI, W.; FISCHER, J.; KREWER, G. Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 2705-2713, 2007.

STRACK, D.; WRAY, V. Anthocyanins. In: **Methods in plant biochemistry**, v. 1, Academic Press, 1989. p. 325-353.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, p. 748-755, 2005.

STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv)**. Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos, UNICAMP, 1991.

TARUSCIO, T. G.; BARNEY, D. L.; EXON, J. Content and profile of flavanoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of northwest *Vaccinium* berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3169- 176, 2004.

VELIC, D.; PLANINIC, S.; VILLIC, M. Influence of airflow velocity on kinetics of convection apple drying. **Journal of Food Engineering**, v. 64, p. 97-102, 2003.

VENDRAMINI, A. L. A.; TRUGO, L. C. Phenolic Compounds in Acerola Fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664-668, 2004.

VIGUERA, C. G.; BRIDLE, P. Influence of structure on colour stability of anthocyanins and flavylum salts with ascorbic acid. **Food Chemistry**, v. 64, p. 21-26, 1999.

VILELA, D.; ARAUJO, P. M. M. **Contribuição das câmaras setoriais e temáticas à formulação de políticas públicas e privadas para o agronegócio**. Brasília: MAPA/SE/CGAC, 496p. 2006.

VILLATA, M. **United States Highbush Blueberry Council Announces Best New Blueberry Product Contest Winners**. Folsom: North American Blueberry Council, 2007, 2p.

WANG, S. Y.; CHEN, C-T; SCIARAPPA, W.; WANG, C. Y.; CAMP, M. J. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56 , p. 5788- 5794, 2008.

WOLFE, K. L.; KANG, X.; HE, X.; DONG, M.; ZHANG, Q.; LIU, R. H. Cellular antioxidant activity of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8418-8426, 2008.

WU, X.; BEECHER, G. R.; HOLDEN, J. M.; HAYTOWITZ, D. B.; GEBHARDT, S. E.; PRIOR, R. L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the united states. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4026-4037, 2004.

ZADERNOWSKI, R.; NACZK, M.; NESTEROWICZ, J. Phenolic Acid profiles in some small berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2118-2124, 2005.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 502-509, 2003.

## CAPÍTULO 1

### CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E BIOATIVAS DA POLPA E EXTRATO DE MIRTILO (*Vaccinium myrtillus*)

#### RESUMO

Objetivou-se com este trabalho caracterizar e avaliar polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) variedade Bluegem, produzido na região Sudeste do país. Foi determinada a composição centesimal da polpa e casca, e as seguintes análises físico-químicas foram conduzidas independentemente para polpa e extrato: sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH, açúcares redutores e totais, coordenadas de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^*$  e  $C^*$ ), antocianinas por espectrofotometria e CLAE, compostos fenólicos e atividade antioxidante por DPPH. Foram feitas análises descritivas dos dados para a caracterização da polpa e extrato de mirtilo. O teor de SST foi semelhante para polpa e casca, ao redor de 11,4 °Brix; a ATT da polpa expressa em percentagem de ácido cítrico foi de 0,42 %; o pH foi de 3,30 na polpa e 3,27 no extrato; o teor de açúcares totais na polpa foi de 6,44 g/100 mL e o de açúcares redutores foi de 0,51 g/100 mL. A concentração de polifenóis foi de 317,6 e 2007 mg AGE/100 g; antocianinas totais foi de 58,95 e 1182 mg/100 g; a atividade antioxidante foi de 32,50 e 42,88 %, sempre para polpa e extrato, respectivamente. Conclui-se que o mirtilo é rico em compostos fenólicos e antocianinas, bem como possuir boa atividade antioxidante.

Palavras-chave: antocianinas, compostos fenólicos, atividade antioxidante.



## ABSTRACT

The objective of this work was to characterize and evaluate the pulp and extract of blueberry (*Vaccinium myrtillus*), from the Bluegem variety, produced in the Southeastern region of the country. It was determined the centesimal composition of pulp and peel, and the following physical and chemical analysis were conducted independently for the pulp and extract: SST, ATT, pH, reducing and total sugars, color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^*$  and  $C^*$ ), anthocyanins by spectrophotometry and HPLC, phenolic compounds and antioxidant activity by DPPH. The TSS was similar for pulp and peel, about 11,4 ° Brix; ATT in the pulp expressed as citric acid was 0,42; the pH was 3,3 in the pulp and 3,27 in the extract; the total sugar content in the pulp was 6,44 g/100 mL and reducing sugar was 0,51 g/100 mL. Polyphenols concentration was 317,6 g and 2007 mgAGE/100; anthocyanins was 58,95 and 1182 mg/100 g. The antioxidant activity was 32,5 and 42,88%, for pulp and extract, respectively. Blueberry proved to be rich in phenolic compounds and anthocyanins and to have relative antioxidant activity.

Keywords: anthocianins, phenolic compounds, antioxidant activity.

## 1.1 – INTRODUÇÃO

Atualmente existe grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo. A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do nosso metabolismo e, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica (BARREIROS et al., 2006). A ação dos antioxidantes está relacionada à redução de eventos oxidativos e inibição ou ativação de sistemas enzimáticos que podem contribuir para o surgimento de eventos maléficos ao organismo (PIETTA, 2000; SEERAM e NAIR, 2002).

Entre as principais fontes de antioxidantes, estão pequenas frutas como amora, cereja, uva, ameixa, framboesa, morango e mirtilo (MOYER et al., 2002; WU et al., 2004). O mirtilo (*Vaccinium* sp.) destaca-se pela elevada concentração de compostos fenólicos, os quais compreendem ácidos fenólicos e flavonóides (ZHENG e WANG, 2003).

Dentre os flavonóides, destaca-se a alta concentração de antocianinas presentes, caracterizando esta fruta como matéria-prima para produção de corante natural (CAMIRE et al., 2002).

Vários trabalhos demonstraram que há grande variabilidade qualitativa e quantitativa dos fenólicos encontrados no mirtilo, em função de fatores intrínsecos (gênero, espécie e cultivar) e extrínsecos (condições ambientais e de cultivo, manejo e condições de armazenamento) (WANG et al., 2008; GIOVANELLI e BURATTI, 2009). Além disso, fatores como a complexidade desse grupo de compostos, métodos de extração e quantificação também podem afetar a composição deste grupo de compostos.

A produção de mirtilo (*Vaccinium* sp.) no Brasil é ainda recente e pouco conhecida, localizada majoritariamente nas regiões Sul e Sudeste do país (SANTOS, 2004). A maior parte da produção é destinada ao mercado externo e a pequenos mercados finos do país. A literatura destaca pesquisas sobre a composição fenólica e a atividade antioxidante do mirtilo produzido em diversos países, porém pesquisas sobre o mirtilo cultivado no Brasil são raras. O

presente trabalho teve por objetivo a caracterização e avaliação das propriedades físico-químicas e bioativas da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) da variedade Bluegem.

## **1.2 – MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido em laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, localizada em Viçosa-MG, Brasil.

### **1.2.1 – Matéria - prima**

Foi utilizada a espécie de mirtilo *Vaccinium ashei* grupo Rabbiteye, variedade “Bluegem”, produzida no Município de Antônio Carlos/MG, safra 2007/2008.

### **1.2.2 – Elaboração da polpa e extrato**

As frutas foram obtidas diretamente do produtor na forma congelada, em embalagens à vácuo de filme de multicamada, contendo 1 Kg e armazenados em freezer convencional à temperatura de -18 °C até o momento da condução das análises.

A matéria-prima (500 g) foi descongelada em temperatura ambiente e colocada em água a 90 °C por um minuto para inativação enzimática (branqueamento), sendo posteriormente encaminhada para a etapa de separação da polpa e casca por centrifugação. Para a extração da polpa foi utilizada processador doméstico Walita, modelo R1-1861.

Em seguida a polpa foi filtrada em tecido fino e posteriormente passou por nova filtração em papel Whatman n° 1 a vácuo, em funil de Buchner. O armazenamento da polpa foi feito em frascos âmbar. As polpas foram congeladas a temperatura de -18 °C em freezer convencional para utilização nas análises posteriores.

Para a obtenção do extrato, 500 g de mirtilo foram pesados, triturados em liquidificador e deixados em repouso em ausência de luz por 24 h sob refrigeração, com 860 mL de etanol 70 % (v/v) acidificado com HCl a pH 2,0.

Após 24 h as amostras foram filtradas em tecido fino e novamente em papel Whatman n° 1 a vácuo, em funil de Buchner. Para a evaporação do etanol, a amostra foi concentrada em evaporador a vácuo a 40 °C. Para extração do material lipídico foi utilizado funil de separação, e éter etílico: éter de petróleo (1:1) v/v para lavagem do extrato (3 lavagens utilizando 10 mL para cada lavagem).

### **1.2.3 – Composição centesimal da polpa e casca de mirtilo**

Foram realizadas análises de umidade, proteínas, lipídios e cinzas segundo metodologia proposta pelo Instituto ADOLFO LUTZ (2005). O teor de carboidratos foi determinado por diferença.

### **1.2.4 – Determinação de sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável**

Foram realizadas as avaliações de sólidos solúveis totais (SST), pH e acidez total titulável (titulação potenciométrica) expressa em ácido cítrico, segundo método da AOAC (1997). A determinação de SST foi realizada por refratômetro manual, RTS-101-ATC/Instrutemp, com compensação de temperatura, sendo os resultados expressos em graus Brix. O pH foi determinado por via direta, em equipamento digital, Digimed DM-20.

### **1.2.5 – Caracterização colorimétrica**

A coloração da polpa e extrato foi determinada por colorimetria em colorímetro Color Quest II Spera (Hunter Lab, Reston, VA), com leitura direta dos valores de **L\*** (luminosidade), **a\*** (contribuição do vermelho) e **b\*** (contribuição do amarelo). Os índices de tonalidade (**h\***) e saturação (**C\***) foram calculados a partir dos valores de **a\*** e **b\***, conforme as equações 1 e 2. Para efetuar a leitura, empregou-se uma cubeta de quartzo com capacidade de 50 mL.

$$h^* = \arctang(b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$C^* = [(a^*) + (b^*)]^{-1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

### **1.2.6 – Determinação de polifenóis totais**

As análises de polifenóis totais na polpa e extrato foram realizadas segundo metodologia citada por Shahidi e Naczki (1995), que utilizou o reagente de Folin-Denis. Em tubo de ensaio foram adicionados os seguintes componentes, em ordem: 1,0 mL da amostra, 7,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin Denis, sendo o tubo agitado vigorosamente. Os tubos foram deixados em repouso por três minutos, quando 1,0 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada foi adicionada. Os tubos permaneceram em repouso por mais uma hora ao abrigo da luz e temperatura ambiente, e a leitura espectrofotométrica da solução final foi feita a 725 nm contra um “branco”. A solução branco foi preparado nas mesmas condições que a amostra, contanto que o volume da amostra foi substituído por 1,0 mL do solvente na qual esta foi preparada (etanol 70%). A quantidade de polifenóis totais foi calculada com base na curva analítica de ácido gálico P.A. preparada com concentrações variando entre 0 e 180 mg/L. O conteúdo fenólico total foi expresso em AGE (ácido gálico equivalente) e obtido pela equação da curva analítica.

Todas as leituras espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro UV-1601 PC Shimadzu.

### **1.2.7 – Determinação de antocianinas totais**

O teor de antocianinas totais da polpa e extrato foi determinado por espectrofotometria de acordo com LEES e FRANCIS (1972).

Para a determinação da concentração de antocianinas da polpa foi utilizado 0,5 mL da amostra diluída (0,5:10) v/v com etanol:HCl 1,5 N (85:15) v/v e levada à leitura espectrofotométrica da absorbância em comprimento de onda de 535 nm.

Para a determinação da concentração de antocianinas no extrato uma pequena alíquota foi diluída em etanol:HCl 1,5 N (85:15) v/v e levada à leitura espectrofotométrica da absorbância, no comprimento de onda de 535 nm.

### **1.2.8 – Análise qualitativa das antocianinas por CLAE**

As análises foram realizadas no laboratório de vitaminas, Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa. O sistema de cromatografia líquida de alta eficiência foi composto de bomba de alta pressão, modelo LC-10AT VP; injetor automático com “loop” de 20 µl, modelo SIL-10AF e detector de arranjo de diodos UV-visível, modelo SPD-M10A. O sistema foi controlado pelo software Multi System, Class Vp 6.12. As condições para análise foram: coluna cromatográfica RP-18 MERCK (Li Chrospher 100, partículas de 5 µm de diâmetro, 250 x 4 mm); detector espectrofotométrico de arranjos de diodos, operando com comprimento de onda 530 nm, fase móvel composta de água-metanol (6:4 v/v) com 2 mol.L<sup>-1</sup> HCl até atingir pH 2,5, com fluxo de 0,5 mL/min, tempo de corrida de 30 min. As amostras foram filtradas em membrana FH 1.300, Millipore, com diâmetro do poro de 0,45 µm e imediatamente injetada no sistema CLAE. Os espectros foram adquiridos no comprimento de onda de 530 nm, de acordo com Vendramini e Trugo (2004), e Stringheta (1991). Todos os reagentes empregados na fase móvel foram filtrados em sistema Millipore de filtração a

vácuo e a seguir degaseificado em sistema de ultrasom (Ultrasonic Cleaner T-14 Odontobrás).

O extrato de antocianinas foi preparado de acordo com Lees e Francis (1972). Para a obtenção do extrato, 500 g de mirtilo foram pesados, triturados em liquidificador e deixados em repouso em ausência de luz por 24 h, sob refrigeração com 860 mL de etanol 70 % (v/v) acidificado com HCl a pH 2,0. Após 24h as amostras foram filtradas em tecido fino e posteriormente em papel Whatman n° 1 a vácuo, em funil de Buchner. Para a evaporação do etanol, a amostra foi concentrada em evaporador a vácuo a 40 °C. Para extração do material lipídico foi utilizado funil de separação e éter etílico: éter de petróleo (1:1) para lavagem do extrato (3 lavagens utilizando 10 mL para cada lavagem). A extração foi realizada em triplicata e injetada duas vezes no cromatógrafo.

### **1.2.9 – Determinação de açúcares**

Para determinação de açúcares redutores e totais foi utilizada a metodologia proposta por Somogyi-Nelson (1945).

#### **1.2.9.1– Determinação de açúcares redutores**

Em um tubo de ensaio adicionou-se 1 mL da polpa de mirtilo e 1 mL de reativo de Somogy, sendo a mistura fervida durante 10 minutos e resfriada. Em seguida foi adicionado 1 mL de reativo de Nelson completando-se o volume para 12,5 mL. A solução “branco” foi preparada nas mesmas condições que a amostra, contanto que o volume da amostra foi substituído por 1,0 mL de água destilada. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV-1601 PC Shimadzu a 520 nm.

### **1.2.9.2– Determinação de açúcares totais**

A inversão da sacarose foi realizada por hidrólise ácida utilizando-se 25 mL da polpa de mirtilo, completando o volume final para 100 mL com água destilada. A solução diluída e aquecida a 67-70 °C foi adicionada de 5 mL de HCl e permaneceu em banho-maria por 5 minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, adicionou-se 10 mL de solução de hidróxido de sódio 30%, onde ocorreu a mudança de pH. A solução foi transferida para balão volumétrico de 200 mL, completando-se o volume com água destilada. Uma alíquota de 1 mL foi retirada e diluída para a determinação, conforme descrito anteriormente no item 1.2.9.1.

A quantidade de açúcares redutores solúveis e totais foi calculada com base na curva analítica partir de uma solução de glicose (200 µg/mL), com concentrações variando entre 0 e 160 µg/mL.

### **1.2.10 – Determinação da atividade antioxidante**

A determinação da atividade antioxidante foi realizada seguindo a metodologia de avaliação da capacidade sequestrante de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH<sup>\*</sup>), descrita por Espín et al. (2000) e Pukalskas et al. (2002) com modificações, sendo analisada a porcentagem de moléculas do radical DPPH sequestrado após determinado tempo.

O método da determinação do potencial antioxidante foi baseado no descoloramento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH de cor violeta quando há adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio. Ou seja, o princípio do método é a transferência de elétrons de um composto antioxidante para o radical livre, o DPPH, que ao se reduzir perde sua coloração (DUARTE-ALMEIDA, 2006).

Foi previamente preparada uma solução etanólica 95% de DPPH (0,1 mM) e misturada em cubeta de vidro com extratos fenólicos do extrato de mirtilo nas proporções de 3,5 para 0,5 mL, respectivamente, em temperatura



ambiente e polpa de mirtilo nas proporções de 3,9 para 0,1 mL, respectivamente. Foram então realizadas leituras de absorvância no comprimento de onda de 517 nm em espectrofotômetro UV-1601 PC Shimadzu, no tempo zero e após 4 minutos de reação no escuro à temperatura ambiente.

Uma solução “branco” foi preparada contendo as mesmas concentrações de todos os componentes, substituindo 3,5 mL de radical DPPH por 3,5 mL de etanol 95% no extrato. Para a polpa, a amostra em branco foi preparada substituindo 3,9 mL de radical DPPH por 3,9 mL de etanol 95%. A quantificação foi realizada de acordo com a Equação 3, onde  $(DPPH')^f$  é a absorvância medida no tempo 4 minutos e  $(DPPH')^o$  a absorvância medida no tempo zero.

$$\% \text{ atividade sequestrante} = [1 - (DPPH')^f / (DPPH')^o] \times 100 \quad (\text{Eq.3})$$

### **1.2.11 – Análise estatística**

Foi feita uma análise descritiva dos dados para caracterização e avaliação das propriedades físico-químicas e bioativas da polpa e extrato de mirtilo

## **1.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **1.3.1 – Composição centesimal das frações da polpa e casca de mirtilo**

A Tabela 2 indica os valores médios da composição centesimal, realizada nas frações da polpa e casca de mirtilo, bem como estimativa do conteúdo no fruto integral, obtida a partir da média ponderada dos valores observados para polpa e casca.

**Tabela 2:** Média dos valores e desvio padrão da composição centesimal das frações da polpa e casca de mirtilo (g/100 g) e estimativa da participação na composição do fruto inteiro.

<b>Componentes (%)</b>	<b>Polpa</b>	<b>Casca</b>	<b>Fruto fresco</b>
Umidade	87,75 ± 0,63	70,58 ± 1,18	84,43
Proteínas	0,44 ± 0,08	1,43 ± 0,27	0,63
Cinzas	0,17 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,19
Lipídios	0,02 ± 0,00	0,25 ± 0,06	0,06
Carboidratos	12,07 ± 0,64	28,9 ± 1,16	15,32
Rendimento da extração	80,70%	19,30%	

Boari Lima et al. (2008) analisaram as frações da polpa e casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) variedade Paulista, com teores de 83,90 e 75,84% de umidade, respectivamente. Quanto ao teor de proteínas, a jabuticaba variedade Paulista, apresentou valores semelhantes 0,44% na polpa e 1,10% na casca. O teor de cinzas em jabuticaba apresentou valores superiores 2,90 e 2,88% respectivamente.

Moraes et al. (2007) analisaram quatro variedades de mirtilo (Delite, Bluebelle, Woodard e Flórida), e encontraram teores de lipídios entre 0,26 e 0,28% para todas as variedades, valores semelhantes ao encontrado no presente estudo para a casca de mirtilo (0,25%).

Considerando as composições das frações e o rendimento de extração do mirtilo, a composição do fruto fresco pode ser estimada através da média ponderada dos valores observados para polpa e casca: umidade 84,43%, proteínas 0,63%, cinzas 0,19%, lipídios 0,06% e carboidratos 15,32% (Tabela 2). O teor de umidade estimado no mirtilo fresco foi semelhante aos 84% para o grupo *Highbush* encontrados pela USDA (2009). O jambolão é uma fruta semelhante ao mirtilo. É um fruto pequeno e, devido ao alto teor de pigmentos antociânicos, possui a mesma coloração característica, e também tem despertado interesse pelos seus efeitos nutricionais, terapêuticos e ação antioxidante. O valor da umidade no jambolão foi de 87,75% (BRAVO, 1988).

Com relação ao teor de proteínas, o valor estimado para o fruto inteiro foi de 0,63%. Os estudos da USDA (2009) encontraram valor ao redor de

0,74% para o grupo *Highbush*. O teor de proteínas no fruto de jambolão é de, aproximadamente, 0,67% (GOMES et al., 2006). Santos et al. (2005) mostraram que o conteúdo de proteínas em frutos de acerola estão ao redor de 0,68%.

O valor referido de cinzas no mirtilo foi de 0,19%, inferiores aos valores encontrados pelo USDA (2009) que quantificou 0,24%. Segundo Wang e Zheng (2003), o teor cinzas pode ser considerado como medida geral de qualidade nos alimentos, uma vez que maiores teores de cinza retratam também maiores teores de cálcio, magnésio, ferro, fósforo, sódio e outros componentes minerais nos frutos.

A quantidade de lipídios estimado no mirtilo foi de 0,06%, inferiores aos valores encontrados pela pesquisa do USDA (2009), onde o valor constatado foi de 0,33% de lipídios, enquanto que no estudo de Gomes et al. (2006) o jambolão apresentou teores similares. Esta diferença quanto ao conteúdo de lipídios entre o observado pelo USDA e neste trabalho pode estar relacionada a variedade analisada e ao ambiente de cultivo.

O valor de carboidratos foi de 15,32%, enquanto que nas análises do USDA (2009) o valor foi de 14,49%. Na pesquisa de Gomes et al. (2006) constatou-se que o teor no jambolão foi de 10,07%. Desta forma, pode-se aferir que o mirtilo seja uma fruta de gosto mais doce que o jambolão, e portanto agradar mais ao paladar dos consumidores.

A amora preta (*Rubus sp.*), também classificada como pequena fruta, apresenta características semelhantes ao mirtilo (HARBONE e WILLIAMS, 2000). Estes autores ressaltam que além dos nutrientes básicos, esta fruta possui teores consideráveis de micronutrientes essenciais como minerais, fibras, vitaminas e diversos compostos secundários de natureza fenólica. Provavelmente o mirtilo também apresente teores consideráveis destes nutrientes, como normalmente observado para outras pequenas frutas.

Em estudo realizado por Facco et al. (2008) quanto a composição centesimal de diferentes variedades de amora preta, o conteúdo de água variou entre 84,76 e 90,32%, semelhante ao valor estimado para a variedade de mirtilo Bluegem no presente estudo (84,43%). O teor de proteínas foi baixo,

variando de 0,09 a 0,14% e o teor de cinzas encontrado variou entre 0,27 a 0,49%, valores maiores do que encontrados neste trabalho que foi de 0,19%.

A uva (*Vitis vinífera* L.), também semelhante ao mirtilo quanto ao tamanho e coloração, apresenta segundo a tabela da Taco (2006), valores semelhantes ao estimado para o mirtilo, com relação aos conteúdos de proteínas (0,6%), lipídios (0,2%) e carboidratos (12,7%).

### 1.3.2 – Análises Físico - Químicas

A Tabela 3 indica os valores da caracterização físico-química na polpa e extrato de mirtilo.

**Tabela 3:** Média dos valores e desvio padrão das variáveis SST, ATT expressa em % de ácido cítrico, pH, açúcares totais e redutores.

Análises	Polpa	Extrato
SST (° Brix)	11,1 ± 0,77	11,7 ± 1,79
ATT % (m/v) de ácido cítrico	0,42 ± 0,05	-
pH	3,3 ± 0,03	3,27 ± 0,08
Açúcares totais (g/100mL)	6,44 ± 0,34	-
Açúcares redutores (g/100mL)	0,51 ± 0,04	-

Os teores de sólidos solúveis totais (SST), da acidez total titulável (ATT) e pH são mostrados na Tabela 3. A acidez da polpa de mirtilo foi expressa em termos de ácido cítrico, pois é o ácido orgânico presente em maior quantidade. A polpa e o extrato apresentaram valores semelhantes em relação ao pH e sólidos solúveis.

As determinações de pH, acidez e o teor de sólidos solúveis, contribuem para a apreciação objetiva do sabor dos frutos. O pH, geralmente inferior a 4,5 aumenta no decorrer do amadurecimento e influencia as características sensoriais e a capacidade de conservação dos frutos. É um parâmetro importante na determinação do potencial de crescimento de microrganismos capazes de provocar deterioração e também no crescimento de microrganismos patogênicos. Embora baixo, o pH do mirtilo, ainda possibilita o crescimento de algumas leveduras e bolores tolerantes aos ácidos (SOUSA et al., 2007).

Os SST representam o conteúdo de açúcares solúveis, ácidos orgânicos e outros constituintes menores (HOBSON et al. 1993). A concentração desses sólidos constitui-se em uma das variáveis mais importantes para medir a qualidade de frutos, como o grau de maturação.

Segundo Eck (1988), a acidez total das frutas de mirtilo no momento da colheita deve estar entre 0,3 e 1,3% de ácido cítrico, o pH em torno de  $3,75 \pm 0,5$  e o teor de SST acima de 10%. Arsego et al. (2003) mostraram que o pH da fruta *in natura* é importante na retenção de antocianinas, uma vez que em  $\text{pH} < 3,0$  estes componentes são mais estáveis frente a fatores que aceleram sua decomposição.

Os dados obtidos estão próximos aos relatados por Rodrigues et al. (2007), que detectaram teores de sólidos solúveis totais de 12,2 °Brix para a mesma variedade estudada neste trabalho, e acidez titulável de 0,45 (% ácido cítrico). Ristow et al. (2004) e Machado (2004) verificaram teor de sólidos solúveis totais de 14,46 °Brix, acidez titulável 0,78 e pH 3,02 em mirtilos da cultivar Woodard; na cultivar Bluegem os valores foram de 14,46 °Brix, 1,07% de ácido cítrico e pH 2,97.

Os açúcares são os principais componentes solúveis e representam cerca de 80% da matéria seca. A glucose e a frutose são os principais açúcares existentes no mirtilo e os seus teores influenciam o sabor (SOUSA et al., 2007).

O método de análise de açúcares de Somogyi (1945), modificado por Nelson (1950), fundamenta-se na quantificação dos glicídios redutores aquecidos em meio alcalino, transformando-se em enodióis que reduzem o íon cúprico presente a cuproso. O óxido cuproso assim formado reduz a reação arsênio-molibdídico a óxido de molibdênio, de coloração azul, cuja intensidade da cor é proporcional a quantidade de açúcares redutores existentes na amostra (SILVA et al., 2003). Os monossacarídeos glucose e frutose são açúcares redutores por possuírem grupo carbonílico e cetônico livres, capazes de se oxidar na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas. Os dissacarídeos que não possuem essa característica, sem sofrerem hidrólise da ligação glicosídica, são denominados de açúcares não redutores (SILVA et al., 2003).

Os valores de açúcares totais e redutores encontrados na polpa de mirtilo da variedade Bluegem, neste trabalho, foram de 6,44 e 0,51 g/100 mL, respectivamente. De acordo com o USDA (2009), para o grupo *Highbush*, o conteúdo de açúcares totais (glicose, frutose e sucrose) encontrado no fruto foi de 9,96 g/100 g, sendo que o teor encontrado para a glicose foi de 4,88, frutose 4,97 e sucrose 0,11 g/100 g.

Demiate et al. (2002) avaliaram três marcas de suco de maçã, e o teor de açúcares totais variou entre 11,50 e 12,68 g/100 mL. Corrêa et al. (2000) avaliaram a polpa de fruto-de-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) por período de 20 dias durante a maturação à temperatura ambiente. O teor médio de açúcares redutores foi de 1,23%, não havendo diferença significativa durante o armazenamento. Entretanto, Vila et al. (2007) estudaram frutos de goiaba durante período de armazenamento de 20 dias sob refrigeração e atmosfera modificada, e verificaram aumento na concentração de açúcares redutores. Wills et al. (1983) citam que o aumento nos teores de açúcares em frutos durante a maturação, deve-se principalmente à perda de água e à hidrólise de polissacarídeos, hemicelulose e substâncias pécticas da parede celular, comuns no processo de amadurecimento.

### 1.3.3 – Análises dos teores dos compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante

Os teores dos compostos fenólicos, antocianinas e percentual da atividade antioxidante estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Teores médios de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo.

Análises	Polpa	Extrato
Polifenóis totais (mgAGE/100g)	317,6 ± 15,53	2007 ± 194,1
Antocianinas totais (mg/100g)	58,95 ± 13,27	1182 ± 102,1
% Atividade antioxidante	32,5 ± 4,56	42,88 ± 6,97

O método mais empregado para a quantificação de polifenóis totais em mirtilo é o Folin-Ciocalteu; no entanto, este é mais suscetível a interferências que o método de Folin-Denis, mas é mais fácil de ser conduzido. Neste trabalho o método de Folin-Denis foi adotado, pois segundo Shahidi e Nacz (1995), não há influência de interferentes como proteínas, açúcares ou outras substâncias redutoras que não sejam polifenóis, e portanto, os resultados são mais exatos.

De acordo com a Tabela 4, os valores médios de polifenóis totais encontrados na polpa e extrato de mirtilo foram de 317,6 e 2007 mg AGE/100g, respectivamente. Silva (2003) analisando os teores em polpa de uva das variedades Riesling Itálico e Cabernet Sauvignon, encontrou valores menores de polifenóis totais, 168,62 e 216,62 (mg/100 g) respectivamente.

Manhães (2007) encontrou, em 100 g de polpa de buriti, 9,46 mg de polifenóis totais, valor maior do que o encontrado na literatura para cenoura (*Daucus carota* – 0,17 mg/100 g) e couve (*Brassica oleracea* – 0,51 g/100 g) (CUNHA, 2005).

Boari Lima (2008) ao estudar as variedades de polpa de jabuticaba Paulista e Sabará, encontrou valores de 450 e 490 mg/100 g de polifenóis totais, valores semelhantes aos encontrados na polpa de mirtilo (Tabela 4).

Os teores de antocianinas encontrados no mirtilo foram de 58,95 e 1182 mg de cianidina-3-glicosídeo/100 g para polpa e extrato, respectivamente. Estudos indicam ampla variação no teor total de antocianinas no fruto de mirtilo em função da variedade, do ambiente de cultivo, grau de maturação no momento da colheita, condições de estocagem pós-colheita e pelo processamento (EHLENFELDT, 2001).

O resultado encontrado para o extrato analisado neste trabalho foi inferior ao encontrado por Severo et al. (2009), onde o teor de antocianinas da variedade Bluegem foi de 1958 mg/100 g.

Oliveira et al. (2006) avaliaram seis cultivares de mirtilo (Woodard, Powder Blue, Briteblue, Delite, Bluebelle e Bluegem), e observaram variação significativa no teor de antocianinas totais entre frutos de diferentes cultivares. A cultivar Powder Blue apresentou os maiores teores de antocianinas, seguido

pelas variedades Delite, Bluebelle, Bluegem, Woodard e Briteblue (157,4; 131,0; 130,5; 128,3; 125,0; 124,0 mg/100 g, respectivamente). Jacques et al. (2009) encontraram valores menores de antocianinas nas cultivares Powder Blue e Delite (128 e 72 mg/100 g, respectivamente).

Ballinger et al. (2004) informaram que o teor de antocianinas em mirtilos do grupo Rabbiteye foram muito influenciados pelo estágio de maturação, e analisando a cultivar Bluegem verificaram a presença de 272 mg/100 g destes componentes. Teores de antocianinas variando entre 89 e 331 mg/100 g foram detectados em mirtilo de 87 cultivares por EHLENFELDT (2001).

De acordo com trabalhos citados por Falcão et al. (2007), as antocianinas presentes em uvas estão concentradas principalmente na casca, com exceção de poucas variedades, cuja polpa também é pigmentada (Pastrana-Bonilla et al., 2003). Os pigmentos antociânicos majoritários foram malvidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo (Kelebek et al., 2006); podendo alcançar até 750 mg/100 g de fruta madura (MALLACRIDA e MOTTA, 2006).

Teixeira et al. (2008) estudaram 10 fontes potenciais de antocianinas: casca de berinjela (*Solanum melongena*), jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*), polpa de repolho roxo (*Brassica oleraceae*), casca e polpa de sabugueiro (*Sambucus negra*), morango (*Fragaria ssp*), maria-pretinha (*Solanum americanum*), açaí (*Euterpe oleracea*), romã (*Punica granatum*), pétalas de hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis*) e inflorescência de capim-gordura (*Melinis minutiflora*). As maiores concentrações de antocianinas foram verificadas na casca de jaboticaba, pétalas de hibisco e casca e polpa de sabugueiro, com teores superiores a 200 mg/100 g. Para a polpa de repolho roxo o valor encontrado foi 24,36 mg/100 g, menor do que o encontrado no presente estudo para a polpa de mirtilo (58,95 mg/100 g). Pertuzatti et al. (2007) encontraram concentrações maiores de antocianinas na polpa de mirtilo da variedade Delite (80,9 mg/100 g) enquanto na variedade Powder Blue os teores foram de 2,7 mg/100 g. Isto deve-se em parte ao fato da polpa de Delite possuir coloração avermelhada, enquanto Powder Blue possui polpa de coloração amarelada.

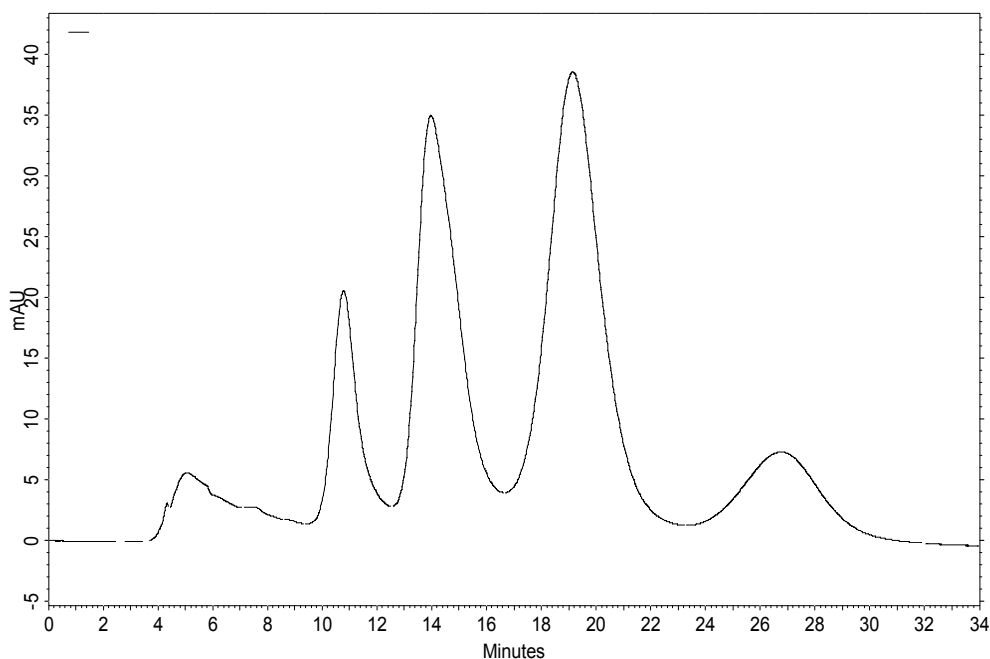


A atividade antioxidante de certa substância corresponde à quantidade de DPPH consumida por esta substância, durante determinado tempo. A quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente ( $EC_{50}$ ), também chamada de concentração inibitória ( $CI_{50}$ ). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua  $EC_{50}$  e maior a atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007). O  $EC_{50}$  da polpa e extrato do mirtilo, foi determinado em 4 minutos.

Em estudos envolvendo outras frutas, polpas de acerola e uva se destacaram na avaliação da atividade antioxidante, com mais de 90% de seqüestro de radical DPPH após 30 minutos (VARGAS et al., 2008). Duarte-Almeida et al. (2006) encontraram elevada atividade antioxidante no extrato de acerola, seguido pelos extratos de amora, açaí e morango. Os valores médios encontrados para a atividade antioxidante de mirtilo foram de 32 e 43%, respectivamente para polpa e extrato, indicando moderado poder antioxidante no tempo de 4 minutos.

#### **1.3.4 – Análise qualitativa das antocianinas por CLAE**

Na Figura 6 é mostrado o perfil cromatográfico das antocianinas encontradas no extrato de mirtilo. Os espectros foram adquiridos no comprimento de onda de 530 nm.



**Figura 6** – Perfil cromatográfico do extrato de mirtilo a 530 nm, fase móvel composta de água-metanol (6:4 v/v) com 2 mol.L<sup>-1</sup> HCl (pH 2,5), com fluxo de 0,5 mL/min, tempo de corrida de 30 min.

A partir do espectro de absorção adquirido no equipamento, pode-se observar o espectro característico de uma antocianina (BURDULIS et al., 2007), com absorvância máxima em 530 nm. Verifica-se no cromatograma bom desempenho de separação dos pigmentos antocianínicos por CLAE. Burdulis et al. (2007) estudando mirtilos de diferentes regiões, encontraram 14 antocianinas, sendo a delphinidina-3-galactosídeo e a delphinidina 3-glucosídeo as predominantes.

### 1.3.5 – Análise colorimétrica

Na Tabela 5 são apresentados os valores médios e desvios padrão da análise colorimétrica de polpa e extrato de mirtilo.

**Tabela 5:** Coordenadas de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), tonalidade (hue) e chroma da polpa e extrato de mirtilo.

Amostra	Coordenadas de cor			Tonalidade	Saturação
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Hue (rad)	Chroma
Polpa	$24,55 \pm 0,82$	$2,23 \pm 0,12$	$-0,54 \pm 0,08$	$-0,24 \pm 0,04$	$2,29 \pm 0,04$
Extrato	$24,18 \pm 0,05$	$0,36 \pm 0,05$	$-1,04 \pm 0,02$	$-1,24 \pm 0,04$	$1,10 \pm 0,05$

(rad) radianos.

A primeira característica observada em um alimento   a cor, e essa pr -determina expectativas de sabor e qualidade (Henry, 1996). A qualidade de uma cor   obtida pela tonalidade ( $h^*$ ), satura o ( $C^*$ ) e luminosidade ( $L^*$ ). A tonalidade   uma grandeza que caracteriza a qualidade da cor, como vermelho, verde e azul, por exemplo, permitindo que elas sejam diferenciadas. A satura o, também chamada de pureza, descreve a intensidade ou quantidade de uma tonalidade, indicando a propor o em que ela está misturada com o preto, branco ou cinza; permitindo diferenciar cores fortes de fracas. Luminosidade   a qualidade que caracteriza o grau de claridade da cor, indicando se as cores são claras ou escuras ( $L^* = 0$ , preto a 100, branco) (PONTES, 2004; RAMOS e GOMIDE, 2007).

O mirtilo apresenta-se na forma de bagas pequenas, com sementes e apresenta, em geral, cor azul com tonalidades variando de mais claro a mais escuro e intenso. A cor do mirtilo   influenciada pela presença de cera epicuticular que produz o efeito responsável pela cor azul t pica dos frutos. A cor da epiderme e da polpa   conferida pela presença de antocianinas. As antocianinas encontram-se normalmente no interior dos vacúolos das células da epiderme do fruto, dissolvidas em meio aquoso ácido, sendo o maior grupo de pigmentos solúveis em  gua (SOUSA, et al., 2007).

Em estudo analisando as coordenadas de cor ( $L^*$   $a^*$   $b^*$ ) da variedade de mirtilo "Jubilee", cultivado no sudoeste de Portugal, verificou-se que na Luminosidade ( $L^*$ ), que traduz o brilho ou a intensidade luminosa, os valores variaram de 31,0 no início a 28,5 no fim de 30 dias de conserva o. Os valores da satura o, que representam a pureza da cor, situaram-se entre 4,23 e 5,46 no início e no fim deste período, respectivamente. A tonalidade ( $h$ ), que mede o

tipo de cor, foi a coordenada em que se verificou modificações mais modestas ao longo do tempo de conservação, de -1,00 para -0,98, consideradas não relevantes.

Os autores concluíram através das informações obtidas das coordenadas de cor  $L^*$   $a^*$   $b^*$  que o lote de mirtilos da variedade Jubilee apresentou frutos de cor azul escura homogênea, e que estas características se mantiveram relativamente inalteradas durante a conservação. É interessante citar que a literatura refere que no Mississipi a variedade Jubilee apresenta cor azul clara (SPIERS, et al., 2004), enquanto em Portugal é de cor azul escura. Como já salientado, sabe-se que além das características genéticas, intrínsecas a cada cultivar, o meio ambiente em que os frutos se desenvolvem também afeta sua coloração (SOUSA et al., 2007).

A coloração da polpa e extrato de mirtilo observados neste estudo apresentaram valores semelhantes em relação a coordenada  $L^*$  (24,55 e 24,18), valores que indicam pouca luminosidade.

A polpa e o extrato, respectivamente, apresentaram maiores valores de  $a^*$  (2,23 e 0,36), tendendo para o vermelho, enquanto que para a coordenada  $b^*$  os valores ficaram entre -0,54 e -1,04, tendendo para o azul. Visualmente a coloração da polpa e do extrato de mirtilo apresentaram tonalidade de cor avermelhada e azulada, respectivamente.

Os valores de  $h^*$ , que representam a tonalidade da cor, obtidos para a polpa e extrato de mirtilo, foram de -0,24 e -1,24 respectivamente, indicando que o menor ângulo representa a maior intensidade, faixa de cor entre vermelho e azul representando o roxo. Para saturação, que representa a intensidade da tonalidade os valores situaram-se ao redor de 2,29 para a polpa com intensidade de tonalidade para o vermelho e de 1,10 para o extrato com intensidade de tonalidade para o azul.

## **1.4 – CONCLUSÕES**

O mirtilo da variedade Bluegem produzido na região Sudeste do Brasil (Antônio Carlos-MG) possui características de coloração e atributos físico-químicos com potencial para produção de polpas e extratos para aplicação em alimentos.

Frutos da variedade estudada são ricos em compostos fenólicos e antocianinas, além de possuir boa atividade antioxidante.

## 1.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**. 16. ed. Washington: AOAC, v. 2, 1997.

ALMEIDA, M. E. M. Processamento de Frutas. In: ALMEIDA, M. E. M.; SCHMIDT, F. L.; GASPARINO FILHO, J. **Processamento de compotas, doces em pasta e geléias: fundamentos básicos**. Campinas: ITAL, 1999. p.13-36 (Manual Técnico n.16).

ARSEGO, J. L.; CAPEL, L. S.; MARASCHIN, R. P.; IANSSEN, C.; ABREU, M. F.; VENDRUSCULO, L. F.; PEDROTTI, Ê. L.; MARASCHIN, M. . Cinética da extração de antocianinas em frutos de framboesa (*Rubus idaeus*) e amora preta (*Rubus fruticosus*). In: **XVI Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 2002, Belém. In: Anais do XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura. Belém : Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2002.

BALLINGER, W. E., KUSHMAN, L. J. Relationship of Stage of Ripeness to Composition and Keeping Quality of Highbush Blueberries. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 95, p. 239-242, 2004.

BARREIROS, A. L. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, 113-123, 2006.

BOARI LIMA, A. J.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P. DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, v. 58, n. 4, p. 416 – 421, 2008.

BURDULIS, D.; IVANAUSKAS, L.; DIRSE, V.; KAZLAUSKAS, S.; RAZUKAS, A. Study of diversity of anthocyanin composition in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruits. **Medicina (Kaunas)**, v. 43, n. 12, 2007.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, New York, v. 56, n.11, p. 317-333, 1988.

CAMIRE, M. E.; CHAOVANALIKIT, A.; DOUGHERTY, M. P.; BRIGGS, J. Blueberry and grape anthocyanins as breakfast cereal colorants. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 438-431, 2002.

CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D.; RIBEIRO, L. J. Constituintes químicos da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante a maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 1, p. 130-135, 2000.

CUNHA, A. L. P. **Determinação da composição centesimal, fibra insolúvel e polifenóis em hortaliças antes e após diferentes processamentos térmicos**. Rio de Janeiro, 2005. 78 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humanas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G.; CZELUSNIAK, C.; NOGUEIRA, A. Determinação de açúcares redutores e totais em alimentos. Comparação entre método colorimétrico e titulométrico. **Agrarian Sciences and Engineering**, v. 8, p. 65-78, 2002.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema b-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, 2006.

EHLENFELDT, M. K.; PRIOR, R. L. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Phenolic and Anthocyanin Concentrations in Fruit and Leaf Tissues of Highbush Blueberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 49, p. 2222-2227, 2001.

ESPÍN, J.C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H.J.; GARCÍA-VIGERA, C. Anthocyanin-Based Natural Colorants: A New Source of Antiradical Activity for Foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 48, p. 1588-1592, 2000.

ECK, P. **Blueberry Science**. Rutgers Press, Brunswick, N. J. 1988.

FACCO, E. M. P. ; HIRSCH, G. E. ; BAGETTI, M. ; EMANUELLI, T. . Estudo da composição centesimal e valor nutricional de diferentes variedades de amora preta (*Rubus* sp.). In: **XV Seminário Latino americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2008, Belo Horizonte. Anais do XV Seminário Latino americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2008.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R., FALCÃO, D. L e BORDIGNON – LUIZ, T. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 637-642, 2007.

GIOVANELLI, G.; BURATTI, S. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. **Food Chemistry**, v. 112, p. 903-908, 2009.

GOMES, E.; LAGO, E. S.; SILVA, R. Produção de geléia de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 847-852, 2006.

HARBONE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HENRY, B. S. Natural food colours. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**, 2. ed. Great Britain: Chapman e Hall, 1996. p. 40 – 79.

HOBSON, G. E.; GRIERSON, D. TOMATO. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (ed) **Biochemistry of fruits ripening**, London: Champman e Hall, cap. 13, p. 405 - 442. 1993.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, v.1, 3.ed. São Paulo: Inst. AdolfoLutz, 2005. 533p.

JACQUES, A. C.; PERTUZATTI, P. B.; BARCIA, M. T.; ZAMBAZI, R. C. Nota científica: compostos bioativos em pequenas frutas cultivadas na região Sul do estado do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 123-127, 2009.

KELEBEK, H.; CANBAS, A.; SELLI, S.; SAUCIER, C.; JOUDES, M. e GLORIES, Y. Influence of different maceration times on the anthocyanins composition of wines made from *Vitis vinifera* L. cvs. Bogazkere and Okuzgozu **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 1012 – 1017, 2006.

LESS, D. H.; FRANCIS, F. J. **Standardization of pigment analyis**. 1972.

MACHADO, N. P.; FRANCHINI, E. R.; RISTOW, N. C.; COUTINHO, E. F.; CANTILLANO, F. R. F.; MALGARIN, M. B. **Conservação pós-colheita de mirtilos Flórida, Woodard e Bluegem em atmosfera com oxigênio ionizado**. II Simpósio Nacional do Morango e I Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul. p. 300-304. 2004.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Total phenolics and anthocyanins in grape juice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, 2005.

MANHÃES, L. R. T. **Caracterização da polpa de buriti (*Mauritia Flexuosa*, Mart.): um potente alimento funcional**. Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, IT/UFRJ, 2007.

MATISSEK, R.; SCHENEPEL, F. M.; STEINER, G. **Analisis de los alimentos: Fundamentos, métodos, aplicaciones**. Editorial Acribia, S.A – España, 1998.

MORAES, J. O.; PERTUZATTI, P. B.; CORRÊA, F. V.; Mercedes SALAS-MELLADO, M. M. Estudo do mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) no processamento de produtos alimentícios. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 18-22, 2007.

MOYER, R. A.; HUMMER, K. E.; FINN, C. E.; FREI, B.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 519-525, 2002.

NELSON, N. A fotometric adaptacion of Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 153, p. 375-380, 1944.

OLIVEIRA, M. E. B.; BASTOS, M. S. R.; FEITOSA, T. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-química de polpa congelada de acerola, cajá e caju. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 269-332. 1999.

OLIVEIRA, M. G.; RODRIGUES, S. A.; VENDRUSCOLO, C. T. **Teor de Antocianinas em Frutas de Seis Cultivares de Mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade)**. In: XV Congresso de Iniciação Científica e VIII Encontro de Pós- Graduação, 2006, Pelotas. XV Congresso de Iniciação Científica e VIII Encontro de Pós- Graduação, 2006.

PASTRANA-BONILLA, E. et al. Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Muscadine Grapes. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5497-5503, 2003.

[PERTUZATTI, P. B.; JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C. Relação de fitoquímicos na casca e polpa de mirtilo \(\*Vaccinium ashei\* Reade\)](#). XVI Congresso de Iniciação Científica, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, novembro de 2007.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PONTES, L. V. **Avaliação sensorial e instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais**. Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, DTA/UFV, 2004.

PUKALSKAS, A.; BEEK, T. A. V.; VENSKUTONIS, R. P.; LINSSEN, J. P. H.; VELDHUIZEN, A. V.; De GROOT, A. Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochioe odorata*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, n. 50, p. 2914 – 2919, 2002.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. Avaliação Objetiva da Cor. In: **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Cap.7, ed. UFV, Viçosa-MG, p. 287-370, 2007.

RISTOW, N.C.; FRANCHINI, E.R.; COUTINHO, E.F.; CANTILLANO, F.R.F.; MACHADO, N.P.; MALGARIN, M.B. Associação de refrigeração com oxigênio ionizado na conservação pós-colheita de mirtilo cv. **II Simpósio Nacional do Morango e I Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul**. p. 288 - 293. 2004.



RODRIGUES, S. A.; GULARTE, M. A. PEREIRA, E. R. B.; BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C.T. Influência da cultivar nas características físicas, químicas e sensoriais de topping de mirtilo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 1, n.1: p. 9- 29, 2007.

SANTOS, A. M. Situação e perspectiva do mirtilo no Brasil. Embrapa Clima Temperado Pelotas, RS. **Série Documentos**, n. 134, p. 282-285, 2004.

SANTOS et al. Elaboração e análise sensorial do fermentado de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, 2005.

SEERAM, N. P.; NAIR, M. G. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5308-5312, 2002.

SEVERO, J.; GALARÇA, S. P.; AIRES, R. F.; CANTILLANO, R. F. F. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2009.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. 1. ed. Lancaster: Technomic Publishing Co, Inc., 1995. 331p.

SILVA, P. C. F. **Propriedades antioxidantes *in vitro* de uva branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados**. Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, DTA/UFV, 2003.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3. p. 337-341, 2003.

SOMOGYI, M. A. New Reagent for Determination of Sugars. **A new Sugar Reagent**, May, p. 61-68, 1945.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351 - 355, 2007.

SOUSA, M. B.; CURADO, T.; VASCONCELLOS, F. N.; TRIGO, M. J. **Mirtilo – qualidade pós-colheita**. Folhas de Divulgação AGRO 556, n. 8, 2007, 30p.

SPIERS, J. M., MARSHALL, D. A., SMITH, B. J.; BRASWELL, J. H. Method to determine chilling requirement in Blueberries. **Acta Horticulturae**, v. 715, p. 105-110, 2004.

STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv)**. Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos, UNICAMP, 1991.

TACO - Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP.- Versão II. - 2. ed. - Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006. 113p. Disponível em: <[http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco\\_versao2.pdf](http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf)>. Acesso em: 11/08/2009.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Ceres**, v. 54, n. 4. p. 297-304. 2008.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURAL. National Nutrient Database For Standard Reference. Release 19. **Blueberries health**. 2006. Disponível em: [www.blueberry.org/nutrition.htm](http://www.blueberry.org/nutrition.htm). Acesso em: 23 de agosto 2009.

USDA US Department of Agriculture National Nutrient Database Standard Reference, Release 20 (2007). **Nutrient content charts for frozen and canned blueberries are also available at this website.** <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/index.htm>. Acesso em: 15/08/2009.

VARGAS, P. N.; HOELZEL, S. C.; ROSA, C. S. Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 11-15, jan./mar. 2008.

VILA, M. T. R.; OLIVEIRA LIMA, L. C. O.; VILAS BOAS, E. V. B.; DOLL HOJO, E. T.; RODRIGUES, L. J.; FERREIRA DE PAULA, N. R. Caracterização química e bioquímica de goiabas armazenadas sob refrigeração e atmosfera modificada. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, 2007.

VENDRAMINI, A.L.A.; TRUGO, L.C. Phenolic Compounds in Acerola Fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664-668, 2004.

WANG, S.Y.; ZHENG, W. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 2, p.873-878, 2003.

WANG, S. Y.; CHEN, C-T; SCJARAPPA, W.; WANG, C. Y.; CAMP, M. J. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56 , p. 5788-5794, 2008.

WILLS, R. B. H.; MULHOLLAND, E. E.; BROWN, B. I. Storage of two new cultivars of guava fruit of processing. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v. 60, n. 3, p. 175-178, 1983.

WU, X.; BEECHER, G. R.; HOLDEN, J. M.; HAYTOWITZ, D. B.; GEBHARDT, S. E.; PRIOR, R. L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the united states. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4026-4037, 2004.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, 502-509, 2003.

## CAPÍTULO 2

### DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA POLPA E EXTRATO DE MIRTILO (*Vaccinium myrtillus*) EM PÓ

#### RESUMO

Objetivou-se com este trabalho obter corante natural, na forma de pó, a partir do extrato e da polpa de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*), bem como estudar as propriedades físico-químicas dos compostos bioativos dos produtos finais. As amostras da polpa e extrato de mirtilo em pó foram preparadas com maltodextrina 10 DE (20%), e desidratadas por dois métodos de secagem (atomização e liofilização). Foram avaliados antocianinas totais por espectrofotometria e CLAE, polifenóis, atividade antioxidante por 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), açúcares totais e redutores, umidade, atividade da água (Aa), além de dados colorimétricos de  $h^*$  (tonalidade) e  $C^*$  (saturação). Não houve efeito dos métodos de secagem utilizado para as variáveis polifenóis totais, percentagem de atividade sequestrante por DPPH, saturação, tonalidade e umidade para a polpa de mirtilo em pó. O teor de antocianinas e polifenóis foi superior no extrato em pó quando a secagem foi realizada em liofilizador, com 2938,94 mg/100g de antocianinas e 7680 mg AGE/100g de polifenóis. A percentagem da atividade antioxidante por DPPH do extrato foi superior quando a secagem foi realizada em atomização, com 74,9% de capacidade sequestrante. A saturação foi diferenciada entre os métodos de secagem, sendo de 7,74 quando o extrato foi desidratado por liofilização, e de 30,51 na secagem por atomização. Esta diferença resulta em maior intensidade da cor vermelha para o extrato atomizado; para os valores de  $h^*$  não houve diferença entre os métodos de secagem. Os resultados de Aa encontrados neste trabalho permitem inferir que, embora a Aa da amostra seca em liofilizador tenha sido muito superior a observada na amostra obtida por atomização, esta se encontra abaixo do mínimo a partir do qual se considera o risco de atividade microbiana ( $Aa \geq 0,6$ ) e portanto ambos os métodos de secagem resultam em um produto seguro quanto a esta variável.

Palavras-chave: secagem, corante natural, antocianinas.

## ABSTRACT

The objective of this work was to obtain a natural dye, in powder form, from the extract and the pulp of blueberry (*Vaccinium myrtillus*), and study the physical and chemical properties of bioactive compounds on finished products. The formulations of blueberry pulp and extract in powder were prepared with maltodextrin 10 DE (20%), and dried by two drying methods (atomização and lyophilization). The following evaluations were made: anthocyanins by spectrophotometry and HPLC, polyphenols, antioxidant activity by DPPH, total and reducing sugars, moisture, water activity (Aa), as well as colorimetric data of h\* (hue) and C\* (saturation). There was no effect of used drying methods for the variables total polyphenols, sequestrant activity percentage, saturation, hue and moisture to the blueberry pulp powder. The content of anthocyanins and polyphenols was higher in the extract powder when the operations were performed on lyophilizer, with 2938,94 mg/100 g of anthocyanins and 7680 mgAGE/100g of polyphenols. The percentage of antioxidant activity by DPPH on the extract was higher when the drying was performed in a atomização, with 74.9% of sequestrant capacity. Saturation differed between drying methods, being 7,74 when the extract was dried by lyophilization, and 30,51 by spray-drying. This difference results in higher intensity of red for the atomized extract; for the values of h\*, there was no difference between drying methods. The results of Aa found in this study allow us to conclude that although the Aa from the lyophilizer dried sample was much higher than that observed in the sample obtained by a atomização, it is below the threshold above which is considered the risk of microbial activity ( $Aa \geq 0.6$ ) and, therefore, both drying methods result in a safe product on this aspect.

Keywords: drying, natural colorant, anthocianins.

## 2.1 – INTRODUÇÃO

A preferência do consumidor por alimentos naturais e saudáveis é crescente em todo o mundo. A literatura científica aponta cuidados com a ingestão dos corantes sintéticos, a respeito do grande uso deles pelas indústrias de alimentos e bebidas.

A toxicidade apresentada por vários corantes artificiais utilizados por longo período, fez destes pigmentos uma espécie de aditivo indesejável ao consumidor. O uso dos corantes naturais, pode aumentar o custo final dos alimentos processados, em contrapartida pode oferecer produtos mais saudáveis (CARVALHO, 1992).

As pesquisas, além de definir limites de tolerância para corantes artificiais permitidos, já contribuíram para a proibição do uso de vários compostos em muitos países (CONSTANT, 2003). Foram proibidos, por exemplo, amarelo sólido, até então muito empregado em gelatinas; laranja GGN, usado em pós para sorvetes; vermelho sólido, para recheios e revestimentos de biscoitos; azul de alizarina, corante em óleos emulsionados e gelatinas; e o escarlate GN, com uso em recheios de confeitarias (CORANTES NATURAIS, 1997).

A substituição dos corantes artificiais por naturais ainda apresenta dificuldades em virtude de questões relacionadas à estabilidade. O sucesso para o emprego de corantes naturais reside em saber como controlar e processar a matéria-prima nas etapas de extração, purificação e formulação do corante, para obter alto rendimento e qualidade do produto final (FALCÃO et al., 2003).

Domingues et al. (2002) já relatava a crescente utilização de alimentos desidratados. A desidratação, tanto por atomização como por liofilização, gera produtos de maior valor nutritivo, estáveis e versáteis, podendo ser utilizados como aromatizantes, corantes, edulcorantes, vitaminas, minerais, acidulantes, temperos e medicamentos.

A secagem por atomização e por liofilização ocasionam pequenas perdas do pigmento antociânico, não sendo detectada presença do composto degradado no produto em pó (CONSTANT, 2003). Além disso, a armazenagem

do produto na forma de pó é mais conveniente que na forma líquida, pois é de fácil manuseio, possui vida útil mais longa, ocasiona redução de custos no transporte e proporciona disponibilidade durante o ano inteiro.

O Mirtilo (*Vaccinium myrtillus*), é uma pequena fruta rica em compostos antociânicos, que vem sendo associado à ingestão de uma dieta saudável, devido também em parte às propriedades funcionais dos compostos que possui. Uma alternativa para a preservação do mirtilo é a sua desidratação pelo processo de atomização (spray drying) ou por liofilização, que permitem a obtenção de polpa e extrato de mirtilo desidratado com elevado teor de compostos bioativos. A desidratação, além de ser utilizada como método de conservação, objetiva também o refinamento do alimento resultando na oferta de um novo produto no mercado.

Nesse contexto objetivou-se, com este trabalho, obter o corante natural em pó, a partir do mirtilo variedade Bluegem, utilizando-se como fonte o extrato e a polpa deste fruto, e avaliar o efeito dos processos de secagem por atomização por atomização e liofilização, nas amostras obtidas.

## **2.2 – MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pigmentos Naturais e Secagem da Universidade Federal de Viçosa, localizada na cidade de Viçosa-MG, Brasil.

### **2.2.1 – Matéria-prima**

Foi utilizada polpa e extrato de mirtilo, grupo Rabbiteye, variedade “Bluegem”, produzida no Município de Antônio Carlos/MG, safra 2007/2008.

Foi utilizada maltodextrina na forma de pó branco como estabilizante, devido a fácil dissolução com dextrose equivalente 10 (DE) e sabor levemente doce. Embalagens de polietileno de alta densidade foram utilizadas para o acondicionamento das amostras obtidas.

## **2.2.2 – Obtenção da polpa**

Para a preparação da polpa, 2 Kg de mirtilo foram pesados e colocados diretamente em água a 90 °C e mantidos por um minuto para inativação enzimática (branqueamento), sendo posteriormente encaminhada para a etapa de separação da polpa e casca por centrifugação. Para a preparação da polpa foi utilizado processador doméstico Walita, modelo R1-1861. Em seguida a polpa foi filtrada em tecido fino e posteriormente em papel Whatman n° 1 a vácuo, em funil de Buchner. O armazenamento foi feito em frascos âmbar. As polpas foram congeladas a temperatura de -18 °C em freezer convencional para utilização durante os métodos de secagem.

## **2.2.3 – Obtenção do extrato**

Para a obtenção do extrato, 2,4 Kg de mirtilo foram pesados, triturados em liquidificador e deixados em repouso em ausência de luz por 24 h sob refrigeração, juntamente com 4.120 mL de etanol 70 % (v/v) acidificado com HCl 1,5 N até pH 2,0.

Após 24 h as amostras foram filtradas em tecido fino e novamente em papel Whatman n° 1 a vácuo, em funil de Buchner. Para a evaporação do etanol a amostra foi concentrada em evaporador a vácuo a  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ . Para extração do material lipídico, três lavagens com 10 mL da mistura éter etílico: éter de petróleo (1:1) foram realizadas em funil de separação. O armazenamento foi feito em frascos âmbar, e os extratos congelados a temperatura de -18 °C em freezer convencional.

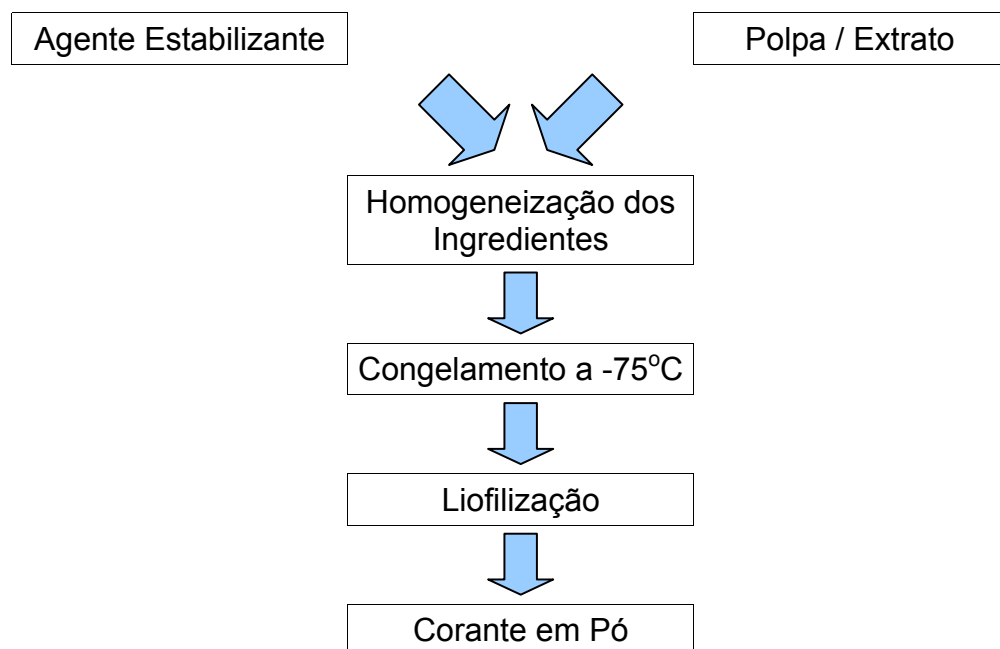
## 2.2.4 – Secagem da polpa e extrato de mirtilo

### Liofilização

Foram utilizados 45 mL de polpa e do extrato para cada repetição de secagem no liofilizador, sendo adicionados 20% de maltodextrina (agente estabilizante) 10 DE (dextrose equivalente). As condições de secagem por liofilização foram: pressão 4,2 mm Hg, temperatura de congelamento  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ , temperatura do condensador de  $-40 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  e temperatura de trabalho  $-30 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O tempo de processo foi de aproximadamente sete horas. O material se encontrava congelado em camadas finas de 5 mm, em placas de vidro com diâmetro de 10 cm.

Os produtos foram recolhidos na forma de pó e acondicionados em recipientes de polietileno para acondicionamento sob refrigeração, em temperatura de  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises.

Um resumo do processo utilizado para obtenção do material em pó por desidratação em liofilizador é apresentado no fluxograma a seguir:



**Figura 7:** Fluxograma de obtenção do corante em pó.



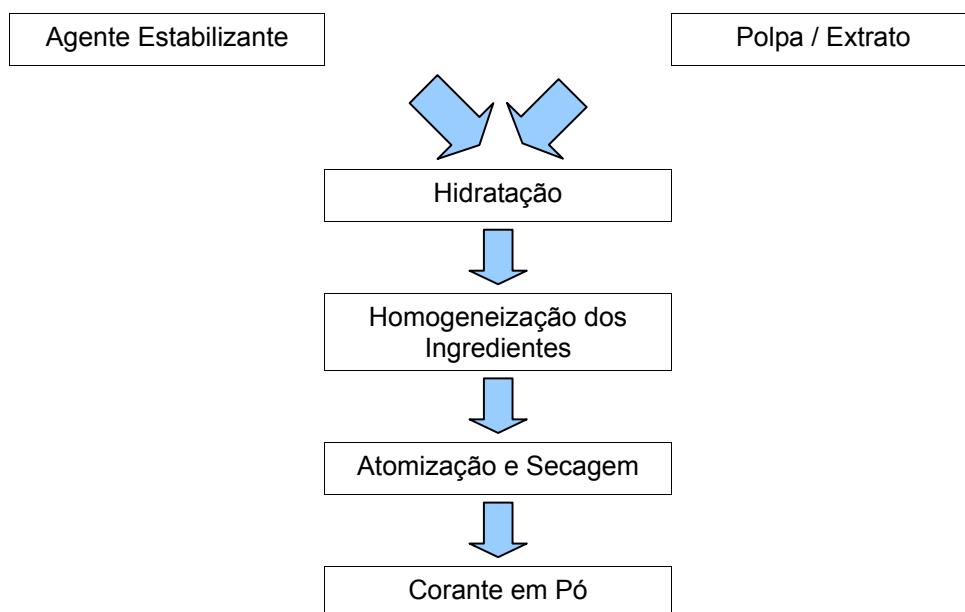
## Atomização

A polpa e o extrato de mirtilo foram utilizados como núcleo a ser encapsulado e a maltodextrina como agente encapsulante. Foram preparadas emulsões com as amostras com hidratação do agente encapsulante, adição do material a ser encapsulado e homogeneização da emulsão por cerca de 20 minutos em agitador magnético.

Foram utilizados 50 mL de polpa e extrato para cada repetição de secagem no atomizador, adicionados 20% de maltodextrina 10 DE (dextrose equivalente) como estabilizante e 50 mL de água destilada a esta mistura.

As amostras foram submetidas à secagem em atomização Büchi 190. As condições de secagem por atomização foram: temperatura do ar de entrada de  $170 \pm 10$  °C; temperatura do ar de exaustão  $90 \pm 5$  °C. A quantidade de amostra atomizada para cada repetição foi em média de 100 mL, e o tempo de secagem foi em torno de 15 a 20 minutos. Os produtos foram recolhidos na forma de pó e acondicionados em recipientes de polietileno armazenados sob refrigeração à temperatura de 8 °C para posteriores análises.

Um resumo do processo de secagem das amostras atomizadas é apresentado no fluxograma a seguir:



**Figura 8:** Fluxograma de obtenção do corante em pó.

### **2.2.5 – Determinação de antocianinas totais**

O teor de antocianinas totais, tanto na polpa como no extrato em pó, foi determinado por espectrofotometria de acordo com Lees e Francis (1972). Inicialmente 0,5 g do extrato foi diluída em 10 mL de etanol:HCl 1,5 N (85:15 v/v) e a solução levada à leitura espectrofotométrica de absorvância no comprimento de onda de 535 nm. Para a determinação da concentração de antocianinas da polpa, 1 g da amostra foi diluída em 2,0 mL de etanol 70% acidificado com HCl. Após esta etapa, 1 mL da amostra foi diluída com 10 mL de etanol:HCl (85:15 v/v) e levada à leitura espectrofotométrica da absorvância em comprimento de onda de 535 nm.

### **2.2.6 – Análise qualitativa das antocianinas por CLAE**

As análises foram realizadas no laboratório de vitaminas, do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa. O sistema de cromatografia líquida de alta eficiência foi composto de bomba de alta pressão, modelo LC-10AT VP; injetor automático com “loop” de 20µl, modelo SIL-10AF e detector de arranjo de diodos UV-visível, modelo SPD-M10A. O sistema foi controlado pelo software Multi System, Class Vp 6.12. As condições para análise foram: coluna cromatográfica RP-18 MERCK (Li Chrospher 100, partículas de 5 µm de diâmetro, 250 x 4 mm); detector espectrofotométrico de arranjos de diodos, operando com comprimento de onda 530 nm, fase móvel composta de água-metanol (6:4 v/v) com 2 mol.L<sup>-1</sup> HCl até atingir pH 2,5, com fluxo de 0,5 mL/min e tempo de corrida de 30 min.

Para as amostras do extrato em pó foi utilizado 0,1 g de amostra ressuspendida em 5 mL da fase móvel acidificada com HCl. Para as amostras da polpa em pó foram utilizadas 1 g do pó ressuspendido em 2 mL de etanol 70% acidificado com HCl, para a extração do pigmento. Uma alíquota de 1 mL da polpa foi diluída em 5 mL da fase móvel acidificada e as amostras foram filtradas em membrana FH 1.300, Millipore, com diâmetro do poro de 0,45 µ e imediatamente injetada no sistema CLAE. Os espectros foram adquiridos no

comprimento de onda de 530 nm, de acordo com Vendramini e Trugo (2004), e Stringheta (1991). Todos os reagentes empregados na fase móvel foram filtrados em sistema Millipore de filtração a vácuo e a seguir degaseificado em sistema de ultrassom (Ultrasonic Cleaner T-14 Odontobrás).

### **2.2.7 – Determinação de polifenóis totais**

As análises de polifenóis totais na polpa e extrato em pó foram realizadas segundo metodologia citada por Shahidi e Naczk (1995), que utilizou o reagente de Folin-Denis. Após as diluições dos pós, em tubo de ensaio foram adicionados os seguintes componentes, em ordem: 1,0 mL da amostra, 7,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Denis, sendo o tubo agitado vigorosamente. Os tubos foram deixados em repouso por três minutos, quando 1,0 mL de solução de bicarbonato de sódio saturada foi adicionado. Os tubos permaneceram em repouso por mais uma hora ao abrigo da luz sob temperatura ambiente, e a leitura espectrofotométrica da solução final foi feita a 725 nm contra um “branco”. O “branco” foi preparado nas mesmas condições que a amostra, contanto que o volume da amostra foi substituído por 1,0 mL do solvente na qual esta foi preparada (etanol 70%). A quantidade de polifenóis totais foi calculada com base na curva analítica de ácido gálico, preparada com concentrações variando entre 0 e 100 mg/L. O conteúdo fenólico total foi expresso em AGE (ácido gálico equivalente) e obtido pela equação da curva analítica.

Todas as leituras espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro UV-1601 PC Shimadzu.

### **2.2.8 – Determinação da atividade antioxidante**

O método da determinação do potencial antioxidante foi baseado no descoloramento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH<sup>•</sup> de cor violeta quando há adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio. O princípio do método é a transferência de elétrons de um

composto antioxidante para um radical livre, o DPPH<sup>•</sup>, que ao se reduzir perde sua coloração púrpura (DUARTE-ALMEIDA, 2006).

A determinação da atividade antioxidante foi realizada seguindo a metodologia de avaliação da capacidade sequestrante de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>), descrita por Espín et al. (2000) e Pukalskas et al. (2002) com modificações, sendo analisada a porcentagem de moléculas do radical DPPH seqüestrado após determinado tempo. Foi utilizado 0,5 g do extrato em pó, ressuspenso em 10 mL de etanol 70%. Previamente foi preparada uma solução etanólica 95% de DPPH (0,1mM) e misturada em cubeta de vidro com amostra do extrato nas proporções de 1,0 (extrato) para 3,0 mL (DPPH), em temperatura ambiente. Para a polpa de mirtilo foi utilizado 1 g do pó ressuspenso em 2 mL de etanol 70% acidificado com HCl para a extração do pigmento. Uma alíquota de 1 mL da polpa foi diluída em 5 mL de etanol 70% e misturada em cubeta de vidro nas proporções de 1,0 (polpa) para 3,0 mL (DPPH). Foram então realizadas leituras de absorvância no comprimento de onda de 517 nm em espectrofotômetro UV-1601 PC Shimadzu, no tempo zero e após 4 minutos de reação no escuro à temperatura ambiente.

Uma solução “branco” foi preparada contendo as mesmas concentrações de todos os componentes, substituindo 3,0 mL do radical DPPH por 3,0 mL de etanol 95%. A quantificação foi realizada de acordo com a Equação 1, onde (DPPH<sup>•</sup>)<sup>f</sup> é a absorvância medida no tempo 4 minutos e (DPPH<sup>•</sup>)<sup>o</sup> a absorvância medida no tempo zero.

$$\% \text{ atividade sequestrante} = [1 - (\text{DPPH}^{\bullet})^f / (\text{DPPH}^{\bullet})^o] \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

### **2.2.9 – Determinação de açúcares**

Para determinação de açúcares redutores e totais foi utilizada a metodologia proposta por Somogyi-Nelson (1945).

### **2.2.9.1 – Determinação de açúcares redutores**

Para a determinação de açúcares redutores foi utilizado 0,5 g de polpa e extrato em pó e todos os reagentes foram reduzidos em 50%. Em um tubo de ensaio adicionou-se 0,5 g da polpa e extrato de mirtilo e 0,5 mL do reativo de Somogyi, sendo a mistura fervida durante 10 minutos e resfriada. Foi adicionado 0,5 mL do reativo de Nelson completando-se o volume para 6,25 mL. A solução “branco” foi preparada nas mesmas condições que a amostra, contanto que o volume da amostra foi substituído por 0,5 mL de água destilada. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV-1601 PC Shimadzu a 520 nm.

### **2.2.9.2 – Determinação de açúcares totais**

Para esta análise todos os reagentes foram reduzidos em 20 vezes. A inversão da sacarose foi realizada por hidrólise ácida utilizando-se 1,25 g da polpa ou do extrato do mirtilo, completando o volume final para 5 mL com água destilada. A solução diluída e aquecida a 67-70 °C foi adicionada de 0,25 mL de HCl e permaneceu em banho-maria por 5 minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, adicionou-se 0,5 mL de solução de hidróxido de sódio 30%. A solução foi transferida para balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com água destilada. Uma alíquota de 1 mL foi retirada e diluída para a determinação conforme descrito anteriormente (item A).

A quantidade de açúcares redutores solúveis e totais foi calculada com base na curva analítica a partir de uma solução de glicose (400 µg/mL) com concentrações variando entre 0 e 360 µg/mL.

### **2.2.10 – Análise colorimétrica**

A coloração da polpa e extrato em pó foi determinada em colorímetro Color Quest II Spera (Hunter Lab, Reston, VA), com leitura direta dos valores de **L\*** (luminosidade), **a\*** (contribuição do vermelho) e **b\*** (contribuição do amarelo). Os parâmetros de tonalidade (**h\***) e saturação (**C\***) foram calculados a partir dos valores de **a\*** e **b\***, conforme as equações 2 e 3. Para efetuar a leitura, empregou-se uma cubeta de quartzo com capacidade de 50 mL.

$$h^* = \arctang(b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 2})$$

$$C^* = [(a^*) + (b^*)]^{-1/2} \quad (\text{Eq. 3})$$

### **2.2.11 – Umidade**

A determinação de umidade foi realizada por método gravimétrico a  $105 \pm 0,5$  °C, até peso constante, proposto pelo Instituto ADOLFO LUTZ (2005).

### **2.2.12– Determinação de Atividade de Água (Aa)**

Foi realizada em determinador de atividade de água, AG 650 - Testo, com leitura direta da amostra à temperatura ambiente ( $T = 24,8$  °C).

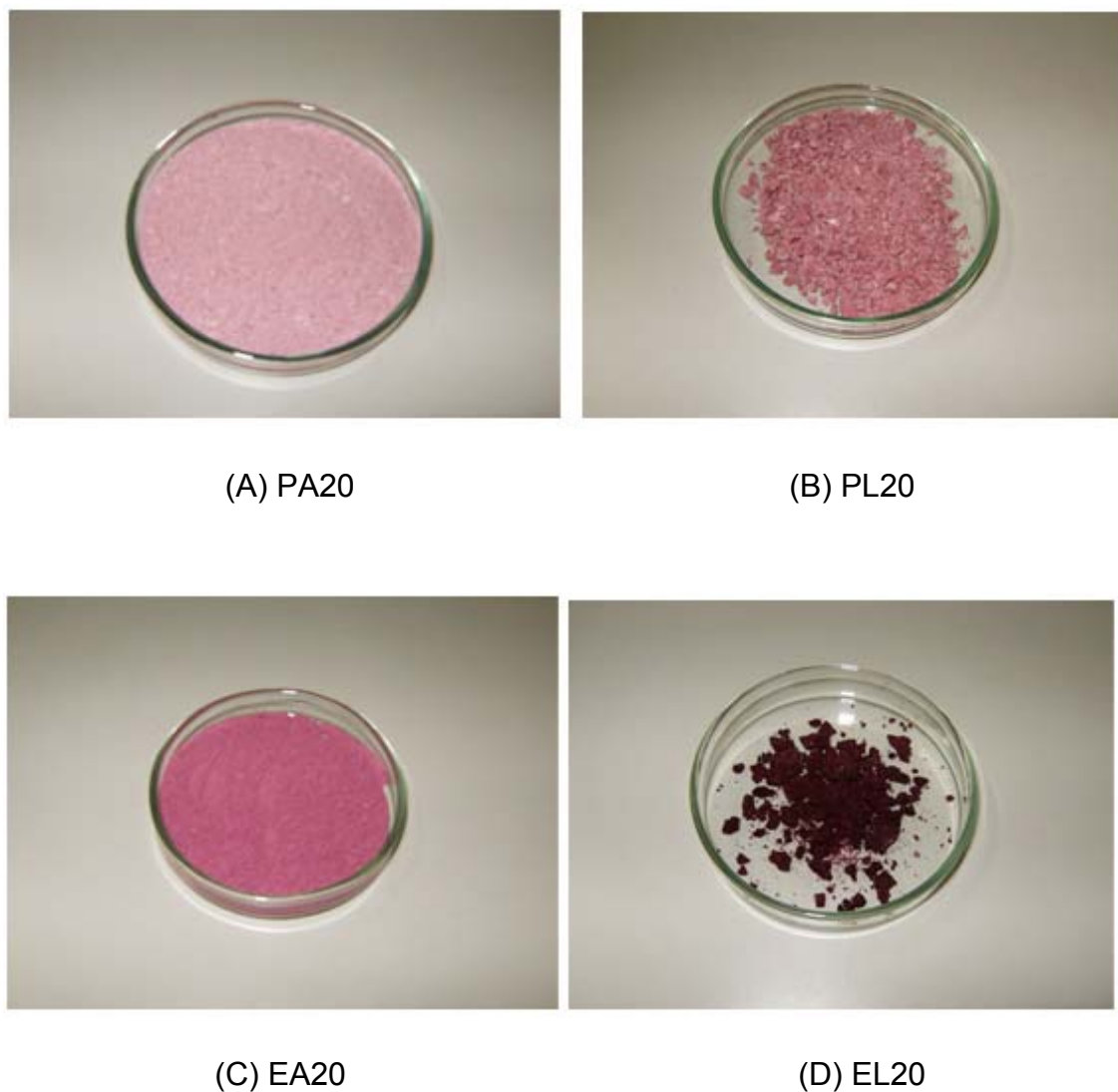
### **2.2.13 – Análise Estatística**

O delineamento experimental foi disposto no inteiramente casualizado com 5 repetições, e análise feita em triplicata tendo como fonte de variação os métodos de secagem para amostra de polpa e extrato de mirtilo.

Para avaliação da qualidade da polpa e extrato de mirtilo em pó, os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade, e as médias foram comparadas pelo teste t. O programa utilizado foi o Statistical Analysis System (SAS®) versão 9.1 licenciado para a UFV.

## 2.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

As polpas e extratos de mirtilo em pó obtidas de acordo com os métodos de secagem estão apresentados na Figura 9.



**Figura 9** – Fotos das polpas e extratos de mirtilo em pó em função dos tratamentos, (A) polpa atomizada; (B) polpa liofilizada; (C) extrato atomizado e (D) extrato liofilizado.

### 2.3.1 – Análise dos teores de antocianinas totais, polifenóis totais, percentagem da atividade antioxidante, açúcares totais e redutores, chroma, hue, Aa e umidade das amostras da polpa e extrato de mirtilo em pó

Na Tabela 6 encontra-se o efeito dos métodos de secagem nos teores de antocianinas totais, polifenóis totais, percentagem da atividade sequestrante por DPPH, açúcares totais e redutores, chroma, hue, Aa, umidade e desvio padrão da polpa de mirtilo em pó.

**Tabela 6** – Valores (médios  $\pm$  desvio padrão) dos teores de antocianinas totais, polifenóis totais, percentagem da atividade sequestrante por DPPH, açúcares totais e redutores, chroma, hue, Aa e umidade para obtenção da polpa de mirtilo em pó submetido a dois métodos de secagem.

Análises	Métodos de Secagem	
	Liofilização	atomização
<b>Antocianinas totais<sup>1</sup> (mg/100g)</b>	967,63 $\pm$ 93,05 <sup>a</sup>	714,79 $\pm$ 184,9 <sup>b</sup>
<b>Polifenóis totais<sup>1</sup> (mg AGE/100g)</b>	3210 $\pm$ 1,52 <sup>a</sup>	3300 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>
<b>% Atividade sequestrante (DPPH)</b>	32,46 $\pm$ 6,76 <sup>a</sup>	29,66 $\pm$ 6,46 <sup>a</sup>
<b>Açúcares totais<sup>1</sup> (g/100g)</b>	5,08 $\pm$ 0,88 <sup>b</sup>	11,68 $\pm$ 1,78 <sup>a</sup>
<b>Açúcares redutores<sup>1</sup> (g/100g)</b>	3,44 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>	1,75 $\pm$ 0,42 <sup>b</sup>
<b>Chroma</b>	12,88 $\pm$ 5,59 <sup>a</sup>	10,59 $\pm$ 9,86 <sup>a</sup>
<b>Hue</b>	- 0,03 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,13 $\pm$ 1,10 <sup>a</sup>
<b>Aa (T= 24,8 °C)</b>	0,43 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,22 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
<b>Umidade</b>	8,88 $\pm$ 1,12 <sup>a</sup>	8,33 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> Base seca

Aa - atividade de água

Hue - tonalidade

$\pm$  desvio padrão

Não houve efeito dos métodos de secagem ( $p > 0,05$ ) utilizado para as variáveis polifenóis totais, percentagem de atividade sequestrante por DPPH, índice de saturação, ângulo de tonalidade e umidade para a polpa de mirtilo em



pó.

O teor de antocianinas na polpa foi influenciado pelo método de secagem, sendo que polpa liofilizada apresentou 967,63 mg/100g de antocianinas, enquanto a secagem por atomização resultou em 714,79 mg de antocianinas por 100g de polpa desidratada (Tabela 6).

A liofilização é uma técnica que resulta em produtos desidratados de alta qualidade devido à ausência de água líquida e das baixas temperaturas exigidas no processo. O estado sólido da água durante a secagem por liofilização também protege a estrutura primária e minimiza mudanças na forma do produto (RATTI, 2001), contribuindo para preservar componentes como os pigmentos naturais (GEORGE e DATTA, 2002). Como consequência, a secagem em liofilizador mostrou uma concentração de antocianinas no produto final desidratado ao redor de 35% superior ao obtido quando a secagem foi realizada por atomização.

Embora eficiente, a secagem por liofilização tem seu custo mais elevado e varia dependendo do tipo de matéria-prima, produto, embalagem, capacidade da planta e duração do ciclo. Em comparação com secagem de ar quente, dependendo do produto, os custos de liofilização são entre 4 e 8 vezes maiores (RATTI, 2001). Em virtude disso, sua utilização normalmente é mais adequada no processamento de produtos mais nobres ou de maior valor agregado. Embora tecnicamente superior, a viabilidade de sua aplicação no processamento de frutos de mirtilo para obtenção de corantes naturais deve ser avaliada quanto ao custo final do produto.

Na secagem em atomização, com a adição de maltodextrina, os produtos sofrem uma microencapsulação. Esta técnica é relativamente recente e tem a função de proteger o material encapsulado de fatores que possam vir a causar sua deterioração, tais como oxigênio, luz ou umidade. A técnica de microencapsulação mais utilizada na indústria de alimentos é a secagem por atomização, por ser considerado processo econômico e flexível, realizado em equipamento de fácil acesso, com menor custo que a liofilização, e que resulta em partículas de boa qualidade (GHARSALLAOUOUI, 2007).

A microencapsulação é utilizada para produtos que tenham em sua

composição compostos sensíveis (DIB TAXI et al., 2003) aumentando a estabilidade do produto, como é o caso do suco de açaí em pó (TONON et al. 2009). Considerando-se que o açaí, semelhantemente ao mirtilo, apresenta grande quantidade de antocianinas e conseqüentemente elevada atividade antioxidante, e também que antocianinas são pigmentos instáveis frente a agentes como luz, oxigênio, metais e variações de pH, a microencapsulação é promissora no sentido de aumentar a estabilidade destes pigmentos.

Tonon et al. (2009) avaliaram a retenção de antocianinas na polpa de açaí em pó e verificaram que esta variável foi influenciada apenas pela temperatura do ar de secagem. O aumento da temperatura levou a maiores perdas de antocianinas. Embora o processo de secagem em atomização exponha o produto por pouco tempo a alta temperatura (170 °C), os autores ressaltam a influência da temperatura de saída do produto na retenção destes compostos. As temperaturas mais elevadas utilizadas na secagem em atomização em comparação com a liofilização provavelmente contribuíram para a menor concentração de antocianinas em comparação ao observado nas amostras liofilizadas.

Embora neste experimento a liofilização tenha produzido uma polpa desidratada com concentração mais elevada de antocianinas (Tabela 6), resultados comparáveis entre métodos de secagem são constatados em várias situações. Resultados positivos estão normalmente associados a adição de algum agente que atue como estabilizador no processo, sendo que o agente mais adequado varia em função das características da matéria prima e também das particularidades do processo de secagem empregado. Duangmal et al. (2008), por exemplo, conseguiram retardar a degradação de antocianinas ao adicionar maltodextrina e trealose ao liofilizar extrato de *Hibiscus sabdriffa* L. Wagner e Wathesen (1995) encapsularam por secagem em atomização, carotenóides de suco de cenoura com amidos hidrolisados e constataram que amidos de maior DE (dextrose) proporcionaram maior retenção de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno. Barbosa et al. (2005) encapsularam bixina com goma arábica ou maltodextrina na secagem em atomização, concluindo que a goma arábica proporcionou maior retenção deste pigmento.

Não houve efeito dos métodos de secagem ( $p > 0,05$ ) utilizado para as variáveis polifenóis totais<sup>1</sup> e % da atividade sequestrante por DPPH. Bora et al. (2005) determinaram a concentração de polifenóis do extrato em pó de folhas de *Dicksonia sellowiana*, popularmente conhecida como xaxim, e demonstraram que a concentração de polifenóis nas amostras aumenta proporcionalmente ao aumento da concentração da fonte do pigmento nessas amostras, e que o método de secagem por atomização utilizado não proporcionou perdas significativas nos teores de polifenóis.

Inversamente ao teor de antocianinas, os açúcares totais foram mais concentrados quando a secagem foi realizada em atomizador. Quando comparado ao método de secagem em liofilizador, os açúcares redutores, no entanto, foram superiores, onde o teor foi de 3,44g de açúcares redutores por 100g de polpa desidratada. Isto representa ao redor de 96% a mais deste componente quando comparado ao obtido com secagem em atomização.

Não houve efeito do método de secagem ( $p > 0,05$ ) utilizado no índice de saturação e na tonalidade para a polpa de mirtilo em pó. Para saturação, que representa a intensidade da tonalidade, os valores situaram-se ao redor de  $12,88 \pm 5,59$  para a polpa liofilizada e  $10,59 \pm 9,86$  para polpa atomizada ambas com tonalidade direcionadas para o vermelho. Valores semelhantes foram encontrados por Tonon et al. (2009) para polpa de açaí em pó atomizada. A saturação foi de  $10,22 \pm 0,06$  e o ângulo de tonalidade foi 0,24, utilizando temperatura de 170 °C e 20% de maltodextrina. Os valores de  $h^*$ , que representam a tonalidade da cor, obtidos para a polpa liofilizada e atomizada de mirtilo em pó, foram de -0,03 e 0,13, respectivamente, indicando uma maior intensidade de cor para o menor ângulo, com tonalidade de cor na faixa do vermelho.

A atividade da água foi maior na polpa desidratada por liofilização, com valor de 0,43 contra 0,22 observado quando a polpa foi desidratada em atomização. Este maior conteúdo de atividade de água por liofilização deve-se a particularidades deste método de secagem, onde a amostra é desidratada em baixas temperaturas.

Segundo Labuza (1977) a atividade de água é uma das propriedades

mais importantes para o processamento, conservação e armazenamento de alimentos. A disponibilidade de água é um dos principais fatores determinantes da vida de prateleira de um alimento, sendo aferida pela atividade de água deste alimento. Quase toda a atividade microbiana é inibida abaixo de  $A_w$  0,6 e a maioria dos fungos, leveduras e bactérias é inibida, respectivamente, abaixo de 0,7, 0,8 e 0,9 (FELLOWS, 2006).

Assim, os resultados de atividade de água encontrados neste trabalho permitem inferir que, embora a amostra seca em liofilizador tenha sido muito superior a observada na amostra obtida por atomização, esta se encontra abaixo do mínimo a partir do qual se considera o risco de atividade microbiana ( $A_w \geq 0,6$ ) e portanto ambos os métodos de secagem resultam em um produto seguro quanto a esta variável.

Na Tabela 7 encontra-se o efeito dos métodos de secagem nos teores de antocianinas totais, polifenóis totais, percentagem da atividade sequestrante por DPPH, açúcares totais e redutores, chroma, hue,  $A_w$ , umidade e desvio padrão no extrato de mirtilo em pó.

Não houve efeito dos métodos de secagem ( $p > 0,05$ ) utilizado para as variáveis açúcares redutores e ângulo de tonalidade para o extrato de mirtilo em pó.

O teor de antocianinas no extrato em pó foi superior quando a secagem foi realizada em liofilizador em relação a desidratação em atomização (Tabela 7).

Constant (2003) avaliou a estabilidade das antocianinas do extrato de açaí em pó, e concluiu que as desidratações por atomização ou por liofilização das amostras não contribuíram para a formação de complexos entre a antocianina e o carboidrato em uso, não sendo observada presença significativa de corante degradado no produto em pó. Os valores encontrados para as amostras de açaí em pó foram 29,4 e 32,9 mg/100mL, para o extrato com maltodextrina atomizado e liofilizado respectivamente, 22,4 e 23,4 mg/100mL para o extrato com maltodextrina e beta-ciclodextrina atomizado e liofilizado respectivamente.

**Tabela 7** – Valores (médios  $\pm$  desvio padrão) dos teores de antocianinas totais, polifenóis totais, percentagem da atividade sequestrante por DPPH, açúcares totais e redutores, chroma, hue, Aa e umidade para obtenção de extrato de mirtilo em pó submetido a dois métodos de secagem.

Análises	Métodos de Secagem	
	Liofilização	atomização
<b>Antocianinas totais<sup>1</sup></b> (mg/100g)	2938,94 $\pm$ 165,43 <sup>a</sup>	2162,51 $\pm$ 160,76 <sup>b</sup>
<b>Polifenóis totais<sup>1</sup></b> (mgAGE/100g)	7680 $\pm$ 1,19 <sup>a</sup>	6040 $\pm$ 0,82 <sup>b</sup>
<b>% Atividade sequestrante</b> (DPPH)	57,95 $\pm$ 8,47 <sup>b</sup>	74,90 $\pm$ 2,54 <sup>a</sup>
<b>Açúcares totais<sup>1</sup></b> (g/100g)	4,97 $\pm$ 1,17 <sup>b</sup>	8,24 $\pm$ 2,93 <sup>a</sup>
<b>Açúcares redutores<sup>1</sup></b> (g/100g)	3,55 $\pm$ 1,37 <sup>a</sup>	3,76 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>
<b>Chroma</b>	7,74 $\pm$ 2,90 <sup>b</sup>	30,51 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>
<b>Hue</b>	- 0,01 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	- 0,02 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
<b>Aa</b>	0,49 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,26 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>
<b>Umidade</b>	8,29 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	3,66 $\pm$ 0,97 <sup>b</sup>

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> Base seca

Aa - atividade de água

Hue - tonalidade

$\pm$  desvio padrão

Ersus e Yurdagel (2007) estudaram a microencapsulação por atomização de antocianinas extraídas de black carrot (*Daucus carota* L.), utilizando diferentes temperaturas de secagem (160 - 200 °C) e maltodextrinas com diferentes DEs (10 - 30%), e observaram que para as maltodextrinas de maior DE, os ensaios realizados a 160 °C apresentaram maior retenção de antocianinas do que os demais. O conteúdo de antocianinas (mg/100g) para as amostras microencapsuladas com maltodextrina (10, 20 e 30) DEs e temperatura de 160 °C foi de 499,39, 630,92 e 482,96 mg/100g.

Valduga et al. (2008) avaliaram antocianinas extraídas do bagaço de uva da cultivar Isabel (*Vitis labrusca*). A melhor condição para o encapsulamento e a secagem foi quando proporções iguais de maltodextrina e goma arábica foram utilizadas, obtendo 95 mg de antocianinas /100g, valor inferior quando

comparado ao do presente estudo em extrato de frutos de mirtilo, com teor de 2162,51 (mg/100g).

O teor de polifenóis também diferiu entre métodos de secagem, resultando em 7680 mg de AGE por 100g de extrato desidratado em liofilizador, e 6040 mg/100g com secagem em atomização (Tabela 7). Chan et al. (2009) estudaram diferentes métodos de secagem de folhas de *Alpinia zerumbet*, *Etltingera elatior*, e *Kaempferia galanga*. Todos os métodos que envolveram calor (microondas, forno e secagem ao sol) resultaram em queda drástica no teor de polifenóis totais. O processo de secagem por liofilização não provocou queda significativa na concentração de polifenóis totais para as folhas de *A. Zerumbet*, apresentando concentração de 2550 mg AGE/100g e *E. Elatior* com 3050 mg AGE/100g.

A percentagem da atividade antioxidante por DPPH do extrato liofilizado foi de 57,95% e de 74,9% com secagem em atomização (Tabela 7). Ersus e Yurdagel (2007) avaliaram a capacidade antioxidante dos extratos em pó de black carrot (*Daucus carota* L.) e verificaram que os extratos atomizados com maltodextrinas de 10 e 30 DEs não apresentaram diferença significativa na capacidade antioxidante apresentando 22,68 e 23,64 g/100 g respectivamente. Pesquisas anteriores (Camire et al., 2002, Moyer et al., 2002 e Wang et al., 1997) relataram que a atividade antioxidante tem alta correlação com a composição de antocianinas e polifenóis totais presentes em alimentos. As amostras do extrato de mirtilo em pó apresentaram uma concentração elevada de polifenóis e uma boa capacidade antioxidante.

O teor de açúcares totais foi superior quando a atomização foi utilizada como método de desidratação (Tabela 9), com 8,24g de açúcares totais por 100g de extrato desidratado e 4,97g/100g com desidratação em liofilizador. Devido o efeito do calor usado no método de secagem por atomização, o que pode ocasionar caramelização dos açúcares, seria esperado maiores teores de açúcares redutores e totais, na secagem por liofilização. No entanto, em todas as cinco repetições de cada tratamento, cada uma conduzida em triplicada, a atomização resultou em maiores teores de açúcares totais no produto final. Provavelmente, pela alta temperatura, pode ter ocorrido liberação de açúcares

das moléculas de maltodextrina.

O índice de saturação foi altamente diferenciado entre os métodos de secagem, sendo de 7,74 quando o extrato foi desidratado por liofilização, e de 30,51 na secagem por atomização. Esta diferença resulta em maior intensidade da cor para o extrato atomizado, mas ambas as amostras tenderam para o vermelho.

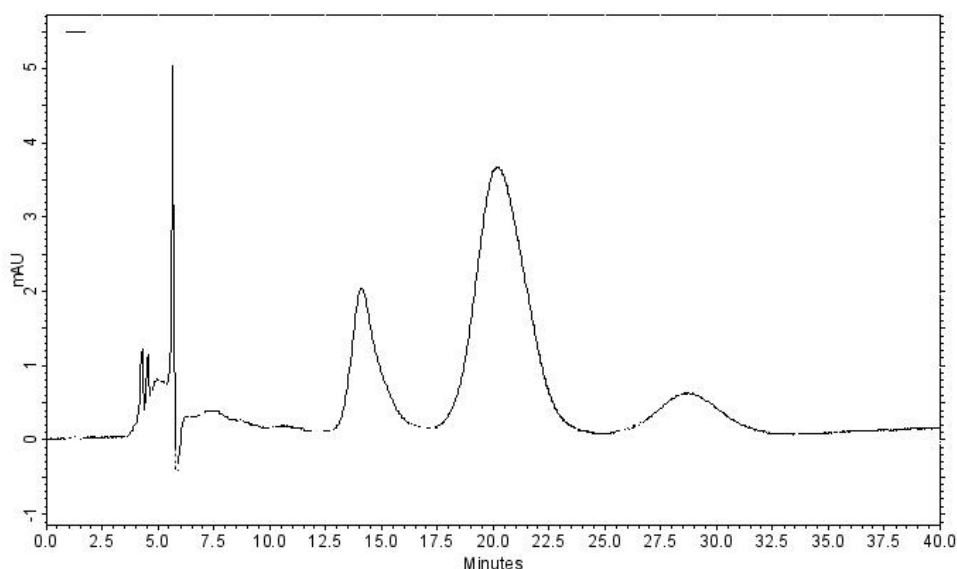
A atividade de água foi de 0,49 no produto final desidratado em liofilizador, e de 0,26 por atomização (Tabela 9). Segundo Singh e Heldman (1993), valores de atividade de água entre 0,20 e 0,40 asseguram estabilidade do produto contra reações de escurecimento, atividade enzimática e inibem o crescimento microbiano durante o armazenamento. De acordo com Marques et al. (2007), frutos de acerola congelados com nitrogênio e liofilizados apresentaram redução na atividade de água para valores ao redor de 0,20 após 6 horas de liofilização, situando-se na faixa recomendada para armazenamento. Para alcançar atividade de água ao redor de 0,20 para as amostras congeladas em freezer, cerca de 8 horas foram necessárias. Essa diferença na taxa de diminuição da  $A_w$  ocorre porque o congelamento dos diferentes processos resulta em produtos com distintas estruturas porosas devido ao tempo diferencial para ocorrer o congelamento.

A desidratação foi eficiente na preservação do mirtilo (variedade Bluegem), permitindo a obtenção de polpa e extrato com elevado teor de compostos bioativos. Além de ser utilizada como método de conservação, a desidratação objetiva também o refinamento do alimento, resultando na oferta de um novo produto no mercado e a disponibilidade em época de entressafra, onde não há a fruta no mercado. Além disso, a amostra em pó pode ser adicionada a produtos como iogurtes, sorvetes, gelatinas, bebidas isotônicas e sucos, com as finalidades tanto de atuar como corante natural, como de proporcionar propriedades funcionais a estes produtos.

### 2.3.2 – Análise qualitativa das antocianinas por CLAE das amostras da polpa e extrato de mirtilo em pó

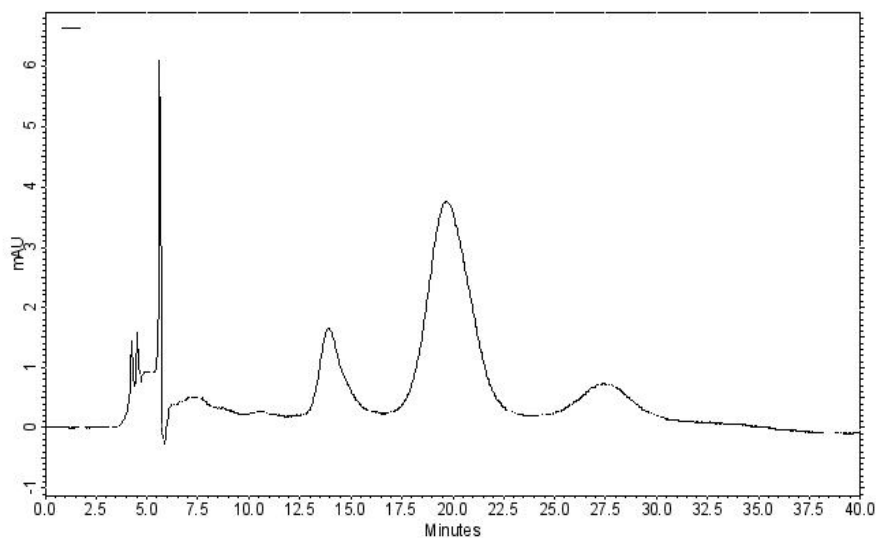
Nas Figuras 10 e 11 são mostrados os perfis cromatográficos das antocianinas nas amostras da polpa atomizada e liofilizada de mirtilo em pó com 20% de maltodextrina. Nas figuras 12 e 13 são mostrados os perfis cromatográficos do extrato atomizado e liofilizado de mirtilo em pó com 20% de maltodextrina. Os espectros foram adquiridos no comprimento de onda de 530 nm.

Verifica-se nos cromatogramas bom desempenho de separação dos pigmentos antociânicos por CLAE.

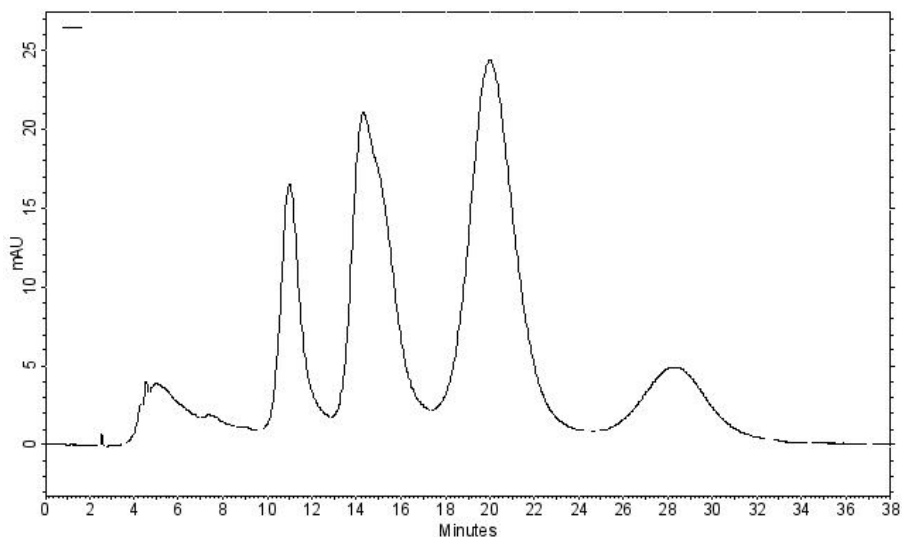


**Figura 10** – Perfil cromatográfico da polpa atomizada de mirtilo em pó a 530 nm, fase móvel composta de água-metanol (6:4 v/v) com 2 mol.L<sup>-1</sup> HCl (pH 2,5), com fluxo de 0,5 mL/min e tempo de corrida de 30 min.

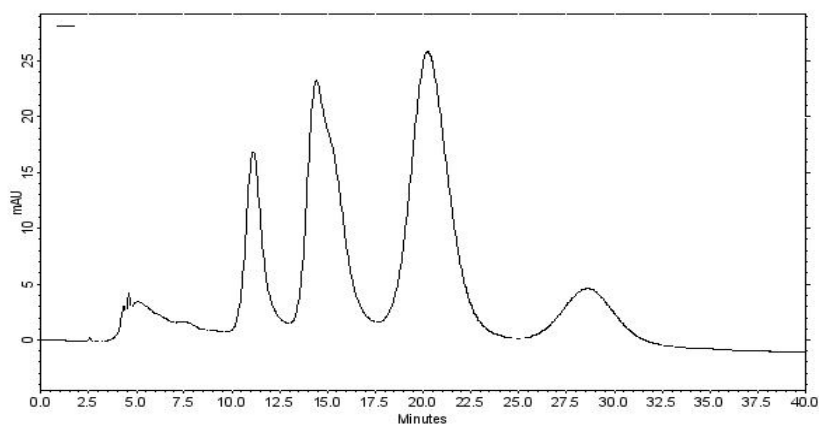




**Figura 11** – Perfil cromatográfico da polpa liofilizada de mirtilo em pó a 530 nm, fase móvel composta de água-metanol (6:4 v/v) com 2 mol.L<sup>-1</sup> HCl (pH 2,5), com fluxo de 0,5 mL/min e tempo de corrida de 30 min.



**Figura 12** – Perfil cromatográfico do extrato atomizado de mirtilo em pó a 530 nm, fase móvel composta de água-metanol (6:4 v/v) com 2 mol.L<sup>-1</sup> HCl (pH 2,5), com fluxo de 0,5 mL/min e tempo de corrida de 30 min.



**Figura 13** – Perfil cromatográfico do extrato liofilizado de mirtilo em pó a 530 nm, fase móvel composta de água-metanol (6:4 v/v) com 2 mol.L<sup>-1</sup> HCl (pH 2,5), com fluxo de 0,5 mL/min e tempo de corrida de 30 min.

## **2.4 – CONCLUSÕES**

O corante natural extraído do mirtilo apresentou propriedades físico-químicas diferenciadas em função da parte do fruto do qual foi extraído (polpa ou extrato). Estas diferenças também foram observadas em função do método de secagem empregado.

Ambos os métodos de secagem utilizados foram eficientes para manter a qualidade das amostras em pó, quanto a retenção de antocianinas e polifenóis. O processo de atomização apresentou produtos em pó de melhor qualidade, com relação a aparência geral e solubilidade.

## 2.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, M. I. M. J.; BORSARELLI, C. D.; MERCADANTE, A. Z. Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. **Food Research International, Madison**, v. 38, p. 989-994, 2005.

BORA, K.; MIGUEL, O. G.; ANDRADE, C. A.; OLIVEIRA, A. O. T. Determinação da concentração de polifenóis e do potencial antioxidante das diferentes frações do extrato de folhas de *dicksonia sellowiana*. **Visão Acadêmica**, v. 6, n. 2, p. 6 – 14, 2005.

CAMIRE, M. E.; CHAOVANALIKIT, A.; DOUGHERTY, M. P.; BRIGGS, J. Blueberry and grape antocyanins as breakfast cereal colorants. **Journal of Food Science**, v. 67, 2002.

CARVALHO, P. R. N. Potencialidade dos Corantes Naturais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 1, n. 1, p. 244 – 245, 1992.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (Euterpe oleralea, M.)**. Tese (doutorado). Brasil: Universidade Federal de Viçosa, 2003, 183f.

CORANTES NATURAIS: várias tonalidades, várias aplicações. Equipe técnica Chr. Hansen. **Revista Engenharia de Alimentos**, Julho, 1997 – n. 14. Editora RPA. São Paulo, SP.

CHAN, E. W. C.; LIM, Y. Y.; WONG, S. K.; LIM, K. K.; TAN, S. P.; LIANTO, F. S.; YONG, M. Y. Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. **Food Chemistry**, v. 113, p.166 – 172, 2009.

DIB TAXI, C. M. A.; MENEZES, H. C.; SANTOS, A. B.; GROSSO C. R. F. Study of the microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. **Journal of Microencapsulation**, v. 20, n. 4, p. 443-448, 2003.

DUANGMAL, K.; SAICHEUA, B.; SUEEPRASAN, S. Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. **Food Science and Technology**, n. 41, p. 1437–1445, 2008.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema b-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, 2006.

DOMINGUES, A. et al. Caracterização das propriedades físicas do suco de abacaxi (*Ananás comosus*) em pó desidratado por atomização otimizado através de análise de suporte de superfície de resposta. In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 18., 2002, Porto Alegre, p. 1717 – 1720.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 805–812, 2007.

ESPÍN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H. J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1588-1592, 2000.

FALCÃO, L. D., BARROS, D. M., GAUCHE, C., BORDIGNON LUIZ, M. T. Copigmentação intra e intermolecular de antocianinas: uma revisão. **Boletim do CEPPA**, v. 21, n. 2, p. 351-366, 2003.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602p.

- GEORGE, J. P.; DATTA, A. K., Development and validation of heat and mass transfer models for freeze-drying of vegetable slices, **Journal of Food Engineering**, n. 52, p. 89 – 93, 2002.
- GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, v. 1, 3.ed. São Paulo: Inst. Adolfo Lutz, 2005. 533p.
- LABUZA, T. P. The properties of water in relationship to water binding in food: a review. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 1, n. 2, p. 167 - 190, 1977.
- LESS, D. H.; FRANCIS, F. J. **Standardization of pigment analysis**. 1972.
- MARQUES, L. G.; FERREIRA, M. C.; FREIRE, J.T. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, p. 451 – 457, 2007.
- MOYER, R. A. ; HUMMER, K. E.; FINN, C. E.; FREI, B.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50 , p. 519 – 525, 2002.
- PUKALSKAS, A.; BEEK, T. A. V.; VENSKUTONIS, R. P.; LINSSEN, J. P. H.; VELDHUIZEN, A. V.; De GROOT, A. Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochioe odorata*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 50, p. 2914 – 2919, 2002.
- RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high – value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 311-319, 2001.
- SHAHIDI, F; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. 1. ed. Lancaster: Technomic Publishing Co, Inc., 1995. 331p.
- SINGH, R. P.; HELDMAN, D. R. **Introduction to Food Engineering**. 2nd ed. Academic Press, Inc., San Diego, 1993, p. 139–141 (Chapter 4).
- STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv)**. Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos, UNICAMP, 1991.
- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p. 444 - 450, 2009.
- VALDUGA, E.; LIMA, L. ; PRADO, R. ; PADILHA, F. F.; TREICHEL, H. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva isabel (*vitis labrusca*). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1568 - 1574, 2008.
- VENDRAMINI, A.L.A.; TRUGO, L.C. Phenolic Compounds in Acerola Fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664 - 668, 2004.
- WAGNER, L. A.; WATHESEN, J. J. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotene. **Journal of Food Science**, London, v. 60, n. 5, p. 1048-1053, 1995.
- WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 701–705, 1997.

## CONCLUSÕES GERAIS

O mirtilo da variedade Bluegem produzido na região Sudeste do Brasil (Antônio Carlos-MG) possui características de coloração e atributos físico-químicos com potencial para produção de polpas e extratos para aplicação em alimentos.

Frutos da variedade estudada são ricos em compostos fenólicos e antocianinas, além de possuir boa atividade antioxidante.

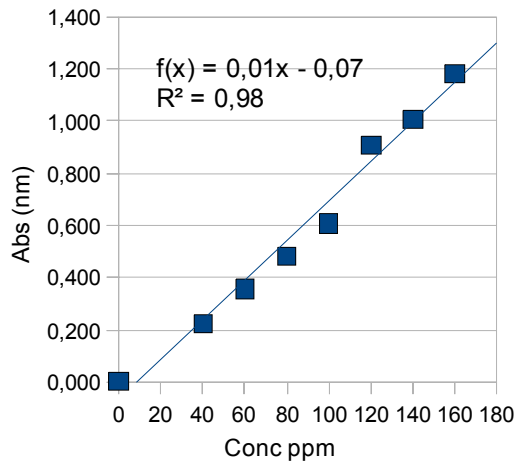
O corante natural extraído do mirtilo apresentou propriedades físico-químicas diferenciadas em função da parte do fruto do qual foi extraído (polpa ou extrato). Estas diferenças também foram observadas em função do método de secagem empregado.

Ambos os métodos de secagem utilizados foram eficientes para manter a qualidade das amostras em pó, quanto a retenção de antocianinas e polifenóis. O processo de atomização apresentou produtos em pó de melhor qualidade, com relação a aparência geral e solubilidade.

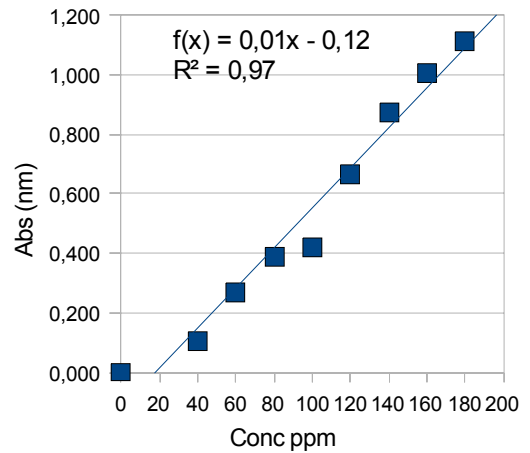
A desidratação provou ser eficiente na preservação do mirtilo, permitindo a obtenção de polpa e extrato com elevado teor de compostos bioativos. Além de ser utilizada como método de conservação, a desidratação objetiva também o refinamento do alimento, resultando na oferta de um novo produto no mercado e a disponibilidade em época de entressafra, onde não há a fruta no mercado.

## APÊNDICE

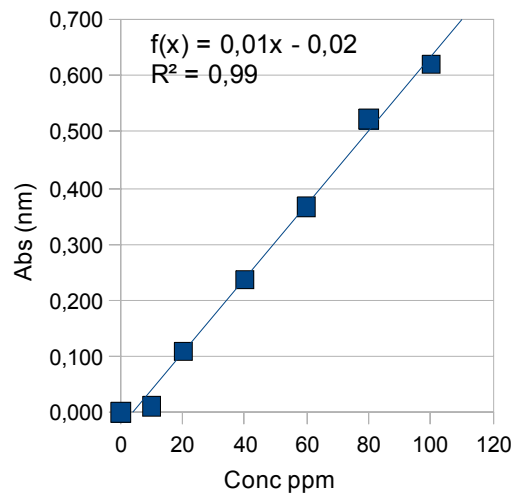
Curva analítica de ácido gálico (extrato)



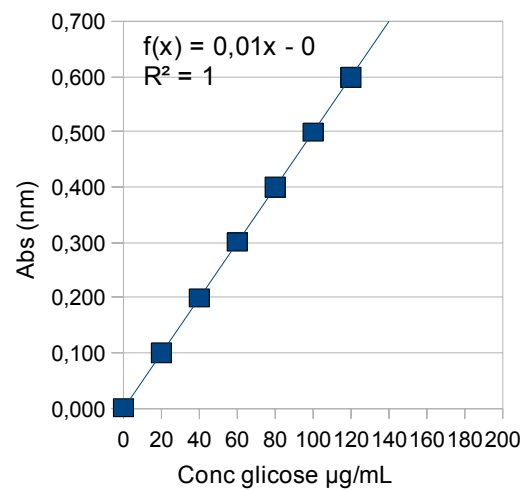
Curva analítica de ácido gálico (polpa)



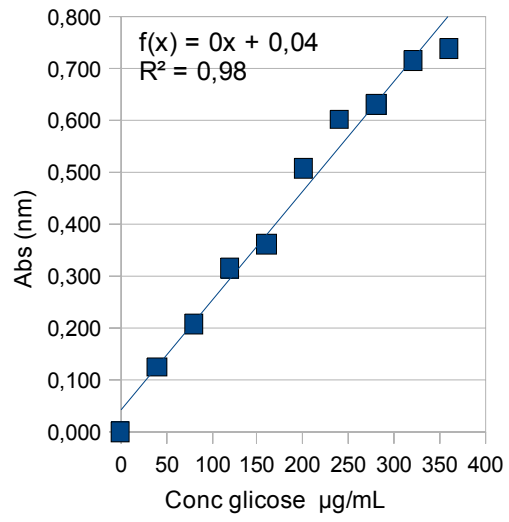
Curva analítica de ácido gálico (amostras em pó)



Curva analítica de glicose 01



## Curva analítica de glicose 02





**Quadro 1.** Resumo da análise de variância para as variáveis Antocianinas Totais (Ant.), Polifenóis Totais (Pol.), Açúcares totais (A.T.), Açúcares redutores (A.R.), Atividade sequestrante (DPPH), Cromo, Hue, Atividade de água (Aa) e Umidade (Umid.) para métodos de secagem (SEC) na polpa de mirtilo em pó .

<b>Quadrados Médios</b>										
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Ant.</b>	<b>Pol.</b>	<b>A.T.</b>	<b>A.R.</b>	<b>DPPH</b>	<b>Chroma</b>	<b>Hue</b>	<b>Aa</b>	<b>Umid.</b>
<b>MÉTODO DE SECAGEM</b>	1	159825,2*	0,02025ns	108,8340*	7,1910 *	19,6280 ns	13,1332 ns	0,0593 ns	0,1109*	0,7673 ns
<b>RESÍDUO</b>	8	21423,91	1,173295	1,9764	0,2243	43,7517	64,1791	0,6093	0,0010	0,9575

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

ns não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

**Quadro 2.** Resumo da análise de variância para as variáveis Antocianinas Totais (Ant.), Polifenóis Totais (Pol.), Açúcares totais (A.T.), Açúcares redutores (A.R.), Atividade sequestrante (DPPH), Cromo, Hue, Atividade de água (Aa) e Umidade (Umid.) para métodos de secagem (SEC) no extrato de mirtilo em pó .

<b>Quadrados Médios</b>										
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Ant.</b>	<b>Pol.</b>	<b>A.T.</b>	<b>A.R.</b>	<b>DPPH</b>	<b>Chroma</b>	<b>Hue</b>	<b>Aa</b>	<b>Umid.</b>
<b>MÉTODO DE SECAGEM</b>	1	1507132*	6,67489*	26,6669 *	0,1082 ns	718,0868 *	1295,9546 *	0,0006 ns	0,1288 *	53,6386 *
<b>RESÍDUO</b>	8	26603,83	1,04525	4,9810	0,9705	39,0903	4,4338	0,0083	0,0009	0,5027

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

ns não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.