

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**



Dissertação

**Tratamento térmico com vapor e adição de xantana para preservação de compostos bioativos fenólicos e da atividade antioxidante de polpas de mirtilo**

**Vanessa Rodrigues Duarte de Souza**  
Tecnóloga em Alimentos

Pelotas, 2017

**Vanessa Rodrigues Duarte de Souza**

**Tratamento térmico com vapor e adição de xantana para preservação de compostos bioativos fenólicos e da atividade antioxidante de polpas de mirtilo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Angelita da Silveira Moreira

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosane da Silva Rodrigues

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

S719t Souza, Vanessa Rodrigues Duarte de

Tratamento térmico com vapor e adição de xantana para preservação de compostos bioativos fenólicos e da atividade antioxidante de polpas de mirtilo / Vanessa Rodrigues Duarte de Souza ; Angelita da Silveira Moreira, orientadora ; Rosane da Silva Rodrigues, coorientadora. — Pelotas, 2017.

87 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Vaccinium ashei Reade. 2. Polpa de fruta. 3. Fenóis. 4. Aquecimento. 5. Estabilizante. I. Moreira, Angelita da Silveira, orient. II. Rodrigues, Rosane da Silva, coorient. III. Título.

CDD : 664

**Vanessa Rodrigues Duarte de Souza**

**Tratamento térmico com vapor e adição de xantana para preservação de compostos bioativos fenólicos e da atividade antioxidante de polpas de mirtilo**

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 25 de abril de 2017.

Banca Examinadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Angelita da Silveira Moreira (Orientadora). Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Diaz de Oliveira. Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Josiane Freitas Chim. Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas.

Dr.<sup>a</sup>. Ana Cristina Richter Krolow. Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas.

*“Sê forte e corajoso; não temas nem te espante, porque o Senhor, teu Deus, é contigo por onde quer que andares.” Josué 1:9*

Dedico à:

Carla Duarte (*in memoriam*)

Paulo Duarte

Jane Duarte

Pablo Duarte

Gabrielle Duarte

Jociel Souza

## **Agradecimentos**

A Deus, pelo dom da vida, por guiar os meus caminhos e por me dar forças para concluir este trabalho;

Aos meus pais, Paulo e Jane, pelo amor incondicional, ensinamentos, apoio e incentivo em todos os momentos;

Aos meus queridos irmãos, Pablo e Gabrielle pela amizade, amor e alegria;

Ao meu querido marido, Jociel, por todo amor, companheirismo, compreensão, incentivo e conselhos;

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização do mestrado;

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Angelita da Silveira Moreira, por todos os ensinamentos, conselhos, orientação e amizade;

À minha co-orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosane da Silva Rodrigues, pelos ensinamentos, gentilezas, pela disposição em ajudar, co-orientação e amizade;

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Diaz de Oliveira, pela motivação, ajuda na tradução e formatação do artigo;

À banca examinadora, pelas contribuições e sugestões para melhoria do trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo auxílio financeiro;

Ao IFSul-CAVG, pela cedência da planta industrial para realização do trabalho;

Ao CDTec, pelo acolhimento e disponibilização de equipamentos;

A todos os professores, funcionários, amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos;

Aos amigos do laboratório de Biopolímeros, Júlia, Victoria, Andiara, Marisa, Maria, Karine, Mariane, Dener, Eliane, Izadora, Matheus, Camila, Leonardo, Ana Cláudia, pelo apoio, amizade e ajuda nos experimentos;

A todos, que de alguma forma, mesmo que indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

## Resumo

SOUZA, Vanessa Rodrigues Duarte de. **Tratamento térmico com vapor e adição de xantana para preservação de compostos bioativos fenólicos e da atividade antioxidante de polpas de mirtilo**. 2017. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

O mirtilo é considerado uma das frutas mais ricas em antioxidantes, cuja atividade está relacionada à presença de compostos bioativos. A polpa deste fruto possui grande importância, pois é utilizada na elaboração de diversos outros produtos. A utilização de novas tecnologias de aplicação de calor e utilização de estabilizantes vêm contribuindo para a redução de perdas de compostos bioativos. Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do tratamento térmico por adição direta de vapor e adição do estabilizante xantana, previamente ao despulpamento, sobre o conteúdo de compostos bioativos fenólicos e atividade antioxidante (método ABTS e DPPH) em polpas de mirtilo. Utilizaram-se mirtilos (*Vaccinium ashei* Reade) da cultivar Powderblue e os frutos, adicionados de 0,08% de ácido cítrico, foram processados termicamente até 90 °C, por aplicação direta de vapor em autoclave vertical analógica, com e sem adição de 0,1 % e 0,5 % de xantana, e por aquecimento direto em tacho aberto, com adição de 0,5 % de xantana. As quatro polpas foram avaliadas até 90 dias de armazenamento sob congelamento, quanto às características tecnológicas de acidez total, pH, sólidos solúveis totais, cor e concentração dos compostos bioativos (fenois e flavonoides totais, antocianinas monoméricas, taninos hidrolisáveis e condensados, fenois individuais, antocianinas individuais) e atividade antioxidante (métodos ABTS e DPPH). A atividade da enzima polifenoloxidase foi avaliada nos frutos e polpas de mirtilo no tempo inicial. O tratamento térmico realizado nas polpas desativou a enzima polifenoloxidase. Verificou-se nas polpas elaboradas com tratamento térmico por adição direta de vapor maiores concentrações de compostos fenólicos e flavonoides totais, antocianinas monoméricas, taninos condensados, flavonoides individuais, ácidos fenólicos individuais e atividade antioxidante pelos dois métodos de avaliação, ao longo do armazenamento, comparativamente ao tratamento térmico em tacho aberto. A associação com xantana especialmente quando em concentração maior, resultou em maiores teores de antocianinas monoméricas e individuais, de taninos hidrolisáveis, dos ácidos gálico e clorogênico e da quercetina nas polpas, em todos os tempos de armazenamento. Os compostos bioativos fenólicos tiveram correlação positiva para os dois métodos de atividade antioxidante (ABTS e DPPH), exceto os taninos hidrolisáveis que tiveram apenas para o método ABTS.

**Palavras-chave:** *Vaccinium ashei* Reade; polpa de fruta; fenois; aquecimento; estabilizante.

## Abstract

SOUZA, Vanessa Rodrigues Duarte de. **Heat treatment with steam and addition of xanthan for the preservation of bioactive phenolic compounds and the antioxidant activity of blueberry pulps**. 2017. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Blueberry is considered one of the richest fruits in antioxidants, whose activity is related to the presence of bioactive compounds. The pulp of this fruit has great importance, since it is used in the elaboration of several other products. The use of new technologies of heat application and use of stabilizers have contributed to the reduction of losses of bioactive compounds. The objective of this work was to evaluate the effects of heat treatment by direct addition of steam and addition of the xanthan stabilizer, before pulping, on the content of phenolic bioactive compounds and antioxidant activity (ABTS and DPPH method) in blueberry pulp. Blueberries (*Vaccinium ashei* Reade) of the cultivar Powderblue were used and the fruits, added with 0.08% of citric acid, were thermally processed to 90 ° C by direct application of steam in an analogue vertical autoclave, with and without addition of 0.1% and 0.5% xanthan, and by direct heating in an open pan, with addition of 0.5% xanthan. The four pulps were evaluated for up to 90 days of storage under freezing, for the technological characteristics of total acidity, pH, total soluble solids, color and concentration of the bioactive compounds (total phenols and flavonoids, monomeric anthocyanins, hydrolyzable and condensed tannins, Anthocyanins) and antioxidant activity (ABTS and DPPH methods). The activity of the polyphenoloxidase enzyme in fruits and blueberry pulp at the initial time was evaluated. The heat treatment performed on the pulps deactivated the polyphenoloxidase enzyme. High concentrations of phenolic compounds and total flavonoids, monomeric anthocyanins, condensed tannins, individual flavonoids, individual phenolic acids and antioxidant activity by the two methods of evaluation were verified throughout the storage in the pulps heat treated by direct addition of steam. To the heat treatment in open pan. The association with xanthan, especially when in a higher concentration, resulted in higher levels of monomeric and individual anthocyanins, hydrolyzable tannins, gallic and chlorogenic acids and quercetin in pulps at all storage times. The phenolic bioactive compounds had positive correlation for the two methods of antioxidant activity (ABTS and DPPH), except the hydrolysable tannins that had only for the ABTS method.

**Keywords:** *Vaccinium ashei* Reade; fruit pulp; phenols; heating; stabilizing.

## Lista de Figuras

Figura 1. Mirtilheiro e mirtilos.....	19
Figura 2. Estrutura química da goma xantana.....	23
Figura 3. Estrutura química do ácido cítrico.....	24
Figura 4. Estrutura básica dos flavonoides.....	27
Figura 5. Estrutura de alguns dos principais flavonoides encontrados no mirtilo...	28
Figura 6. Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos (a) e hidroxicinâmicos (b).....	29
Figura 7. Estrutura genérica das antocianinas.....	30
Figura 8. Estrutura das antocianidinas.....	31
Figura 9. Estrutura química de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol.....	32
Figura 10. Fluxograma do processamento de polpas de mirtilo com tratamento térmico dos frutos pela aplicação de vapor e em tacho aberto.....	38
Figura 11. Processamento das polpas de mirtilo; a) aditivação; b) esmagamentomanual dos frutos; c) aquecimento em tacho aberto à vapor; d) aquecimento em autoclave adaptada; e) despulpamento; f) polpas acondicionadas.....	39

## Lista de equações

Equação 1. Neutralização de radicais livres.....	26
Equação 2. Cálculo da absorbância das antocianinas monoméricas.....	43
Equação 3. Concentração das antocianinas monoméricas.....	43

## Lista de tabelas

Tabela 1. Atividade enzimática da polifenoloxidase UAE/min/g no mirtilo <sup>+</sup> , mirtilo tratado termicamente (até atingir 50, 70 e 90°C) e nas diferentes formulações de polpas.....	46
Tabela 2. Acidez total titulável (% ácido cítrico), pH e sólidos solúveis totais (°Brix) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)..	48
Tabela 3. Cor em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	51
Tabela 4. Compostos fenólicos totais (mg ácido gálico 100g <sup>-1</sup> ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	53
Tabela 5. Flavonoides totais (mg catequina 100g <sup>-1</sup> ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	54
Tabela 6. Antocianinas monoméricas (mg cianidina-3-glicosídeo 100g <sup>-1</sup> ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	55
Tabela 7. Taninos hidrolisáveis (mg ácido gálico 100g <sup>-1</sup> ) e taninos condensados (mg catequina 100g <sup>-1</sup> ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	57
Tabela 8. Perfil qualitativo por CLAE-EM dos ácidos fenólicos identificados em mirtilos e polpas de mirtilo.....	58
Tabela 9. Ácidos fenólicos individuais (µg g <sup>-1</sup> ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	59
Tabela 10. Perfil qualitativo por CLAE-EM dos flavonoides identificados em frutos e polpas de mirtilo.....	61
Tabela 11. Flavonoides individuais (µg g <sup>-1</sup> ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	63
Tabela 12. Perfil qualitativo por CLAE-EM de antocianinas identificadas em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	65
Tabela 13. Antocianinas individuais (µg g <sup>-1</sup> ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).....	67
Tabela 14. Atividade antioxidante pelo radical ABTS•+ (mM Trolox g <sup>-1</sup> ) e pelo radical DPPH• (mM Trolox g <sup>-1</sup> ) nos frutos e polpas de mirtilo durante	

armazenamento congelado (-20°C).....	70
--------------------------------------	----

## Sumário

1. Introdução.....	17
1.1 Hipótese.....	18
1.2 Objetivos.....	18
2. Revisão de literatura.....	19
2.1 Mirtilo.....	19
2.2 Processamento térmico de frutos de mirtilo.....	21
2.3 Estabilizante xantana.....	22
2.4 Acidulante ácido cítrico.....	24
2.5 Compostos bioativos.....	24
2.5.1 Compostos fenólicos.....	25
2.5.1.1 Flavonoides.....	26
2.5.1.2 Ácidos fenólicos.....	28
2.5.1.3 Antocianinas.....	30
2.5.1.4 Taninos.....	31
2.5.2 Estabilidade de compostos fenólicos.....	33
2.6 Polifenoxidase.....	34
3. Material e métodos.....	36
3.1 Frutos.....	36
3.2 Produção de polpas.....	36
3.3 Determinação da atividade enzimática da polifenoxidase.....	39
3.4 Caracterização tecnológica do fruto e polpas.....	40
3.5 Extração dos compostos bioativos fenólicos.....	41
3.6 Determinação dos fenois totais.....	42
3.7 Determinação dos flavonoides totais.....	42
3.8 Determinação das antocianinas monoméricas.....	42
3.9 Determinação dos taninos hidrolisáveis e condensados.....	43
3.10 Determinação dos fenois individuais.....	44
3.11 Determinação das antocianinas individuais.....	44
3.12 Determinação da atividade antioxidante.....	45
3.13 Tratamento estatístico.....	45
4. Resultados e discussão.....	46
4.1 Atividade polifenoxidase.....	46

4.2 Caracterização tecnológica do fruto e polpas.....	47
4.2.1 Acidez, pH e sólidos solúveis totais.....	47
4.2.2 Cor.....	48
4.3 Compostos fenólicos bioativos.....	52
4.3.1 Fenois totais.....	52
4.3.2 Flavonoides totais.....	53
4.3.3 Antocianinas monoméricas.....	54
4.3.4 Taninos hidrolisáveis e condensados.....	55
4.3.5 Compostos fenólicos individuais.....	57
4.3.5.1 Ácidos fenólicos individuais.....	57
4.3.5.2 Flavonoides individuais.....	61
4.3.5.3 Antocianinas individuais.....	65
4.4 Atividade antioxidante.....	69
5. Conclusão.....	73
6. Referências bibliográficas.....	74

## 1. Introdução

O mirtilo é considerado uma das frutas mais ricas em antioxidantes (WOLFE et al., 2008), cuja atividade está relacionada à presença de compostos bioativos, como compostos fenólicos, flavonoides (em especial as antocianinas), folatos e vitamina C (WANG et al., 2017). Estudos sugerem que os diferentes polifenóis presentes no mirtilo podem apresentar efeitos benéficos à saúde (BASU; RHONE; LYONS, 2010; HOWARD et al., 2012), o que tem estimulado o consumo deste fruto em todo o mundo (SINELLI et al., 2008).

O beneficiamento do fruto do mirtilheiro permite a disponibilização durante a entressafra, aumenta o valor agregado, incentiva o cultivo dessa fruta e motiva a pesquisa em novas tecnologias de processamento (ZHAO et al., 2017; SKREDE; WROLSTED; DURST, 2000; KUCK, 2012).

A polpa de mirtilo é um importante produto intermediário, utilizada na elaboração de alimentos e bebidas como iogurtes, néctares, *frozen yogurts*, geleias, dentre outros (MIOR; NOVELLO; DINON, 2016; MORAES et al., 2007; DE OLIVEIRA et al., 2015; PELEGRINE et al., 2012).

Na produção de polpas de frutas, o processamento térmico é o método mais comumente utilizado para o controle microbiológico e inativação enzimática. Os tratamentos térmicos convencionais são capazes de garantir a segurança do produto, porém as temperaturas utilizadas podem trazer alterações sensoriais e degradar alguns nutrientes. A transferência de calor ocorre principalmente por condução e convecção, onde a transferência de calor normalmente não é homogênea e, além disso, o contato direto do produto com a superfície aquecida gera superaquecimento. Portanto, a preservação da qualidade de frutas tratadas termicamente representa um grande desafio para as técnicas tradicionais de processamento de polpas de frutas e outros produtos (SARKIS et al., 2013).

A utilização de novas tecnologias de aplicação de calor e utilização de estabilizantes vêm contribuído para a redução de perdas de compostos bioativos. A utilização de vapor em substituição ao aquecimento por condução preserva e facilita a extração de compostos bioativos, mantém a temperatura uniforme, evita pontos de superaquecimento que promovem redução de compostos termolábeis e formação de sabores indesejáveis na polpa (FIORAVANTE et al., no prelo). Em trabalhos anteriores, com aquecimento prévio ao despulpamento realizado em tacho (KUCK, 2012) e com aplicação direta de vapor (FIORAVANTE et al., no prelo) associados à

adição de 0,08 % (m/m) de ácido cítrico e 0,1% (m/m) de xantana, foi demonstrada a importância desses estabilizantes químicos na preservação da cor e do teor de antocianinas, respectivamente. É sabido que a xantana apresenta ação encapsuladora sobre compostos corantes e aromatizantes (GUICHARD, 2002) e recentemente tem sido divulgada sua ação antioxidante (XIONG et al., 2014).

### **1.1 Hipótese**

Tratamento térmico por adição direta de vapor com temperatura controlada e uso de xantana em concentração de 0,5% preserva os compostos bioativos polifenólicos e a ação antioxidante em polpa de mirtilo.

### **1.2 Objetivos**

#### **Geral**

Desenvolver polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) com elevada preservação de compostos bioativos polifenólicos e ação antioxidante.

#### **Específicos**

Avaliar a influência do tratamento térmico de aquecimento por adição direta de vapor em comparação com o aquecimento em tacho aberto na extração de compostos bioativos fenólicos dos frutos, na obtenção das polpas, e na preservação dos mesmos, durante o armazenamento das polpas de mirtilo.

Avaliar a influência da adição de xantana na extração de compostos bioativos fenólicos dos frutos, na obtenção das polpas, e na preservação dos mesmos, durante o armazenamento, das polpas de mirtilo.

## 2. Revisão de literatura

### 2.1 Mirtilo

O mirtilo é a fruta do mirtilheiro (figura 1), que é membro da família *Ericaceae*, subfamília *Vaccinoideae* e gênero *Vaccinium*. É nativo da América do Norte (Estados Unidos e Canadá), onde é denominado *blueberry*. Muito apreciado por seu sabor exótico, valor econômico e especialmente por suas características benéficas à saúde, tem despertado interesse de produção no Brasil (RASEIRA; ANTUNES, 2004).



**Figura 1.** Mirtilheiro e mirtilos.  
**Fonte:** o autor (2017).

Atualmente, a produção comercial de mirtilos ocorre principalmente na América do Norte (EUA e Canadá), na Europa (Polônia, Alemanha) e também em países do Hemisfério Sul (Chile, Argentina, Uruguai, Austrália). Em todas as regiões, a produção de mirtilos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos (BRAZELTON, 2013; FAO, 2013), devido ao maior consumo de mirtilos no Hemisfério Norte, impulsionado pela crescente demanda de alimentos com alto valor nutritivo e nutracêutico (CANTUARIAS-AVILÉS et al., 2014).

No Brasil os primeiros experimentos com cultivo do mirtilo datam de 1983, realizados pela Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS). Foram introduzidas cultivares com baixa exigência ao frio como as do grupo *Rabbiteye*, oriunda da Universidade da Flórida (Estados Unidos), sendo o plantio comercial iniciado em 1990 na cidade de Vacaria (RS) (RASEIRA; ANTUNES, 2004). Atualmente, as plantações de mirtilo estão concentradas nos Estados do Rio Grande de Sul, Santa Catarina, e também no Paraná, São Paulo e Minas Gerais. Apesar de não existirem estatísticas oficiais atualizadas, estima-se que a área plantada com mirtilos no Brasil

seja de 400 hectares aproximadamente (CANTUARIAS-AVILÉS et al., 2014). Como a entressafra da produção do mirtilo nos maiores países produtores coincidi com a safra do hemisfério sul, existe uma grande oportunidade de participação da produção brasileira no comércio da fruta (FISCHER et al., 2008).

Os mirtilos são divididos em 5 grandes grupos: *Highbush* (*V. corymbosum*), *Half-high* (*Vaccinium Angustifolium* Aiton), *Southern highbush* (*V. corymbosum*), *Lowbush* (*V. augustifolium*) e o *Rabbiteye* (*Vaccinium ashei* Reade). No Brasil o grupo *Rabbiteye* predomina, sendo a espécie *Vaccinium ashei* Reade a mais importante (GALLETTA; BALLINGTON 1996). Essa espécie é muito difundida na região sul do Brasil (ANTUNES et al., 2008). Uma das cultivares que fazem parte do grupo *Rabbiteye* é a *Powderblue*. Os frutos desta cultivar apresentam tamanho médio, com sabor doce-ácido equilibrado. O diâmetro e o peso médio dos frutos variam respectivamente entre 1,2 e 1,5 cm e 1,2 a 1,9 g e o teor de sólidos solúveis, 11° a 11,7 °Brix. Esta cultivar originou-se em Beltsville, Maryland, de um cruzamento entre *Tifblue* e *Menditoo*, realizado por G. M. Darrow, Agricultural Research Service. É considerada resistente a doenças, sendo as plantas produtivas e vigorosas (RASEIRA; ANTUNES, 2004).

O mirtilo possui altas concentrações de compostos bioativos, como antocianinas, flavonoides, taninos, ácidos fenólicos, bem como vitaminas C, B, E e A. Esse fruto também é conhecido por possuir ação anticancerígena, anti-inflamatória e antidiabética devido a presença destes compostos (CASTAGNINI et al., 2015; STULL; CASH, 2015).

Roopchand et al. (2013) observaram que os polifenóis do mirtilo podem ser utilizados em dietas para diabéticos, pois diminuíram os níveis de glicose no sangue, reduziram o colesterol e contribuíram para a redução do ganho de peso em ratos. Duffy e colaboradores (2007) mostram em seu estudo melhoria da qualidade cognitiva em ratos alimentados com frutos de mirtilo, evidenciando a sua potencialidade no combate de doenças neurodegenerativas, devido a sua alta capacidade antioxidante. Os compostos flavonoídicos, que incluem as antocianinas, exibem alta capacidade antioxidante e estão presentes em várias frutas que apresentam essa característica, dentre elas o mirtilo se destaca. As descobertas envolvendo esta propriedade conduziram ao maior desenvolvimento de produtos comerciais que contenham estes compostos bioativos (PRIOR et al., 1998).

## 2.2 Processamento térmico de frutos de mirtilo

O processamento de frutas, quando baseado em demandas do mercado, pode se tornar uma grande ferramenta para aproveitamento da potencialidade resultante da fruticultura, podendo transformar produtos perecíveis em produtos armazenáveis. A conservação das frutas na forma de polpas, sucos e néctares, além de aumentar a oferta de frutas pode viabilizar a utilização dos excedentes da produção (SOUZA, 2008).

O beneficiamento do fruto do mirtilheiro permite a disponibilização durante a entressafra, aumenta o valor agregado, incentiva o cultivo dessa fruta e motiva a pesquisa em novas tecnologias de processamento (ZHAO et al., 2017; SKREDE; WROLSTED; DURST, 2000; KUCK, 2012).

Embora Rodrigues (2006), Rodrigues (2010), Kuck (2012) e Fioravante (2015), pertencentes ao nosso grupo de trabalho, já tenham estudado e desenvolvido o processamento de produtos de mirtilo, ainda assim, como dito por Hasler em 1998, há lacunas nas tecnologias de processamento de frutas, principalmente sobre as perdas de substâncias bioativas presentes nesses alimentos.

Na produção de polpas de frutas, o processamento térmico é o método mais comumente utilizado para o controle microbiológico e inativação enzimática. Os tratamentos térmicos convencionais são capazes de garantir a segurança do produto, porém as temperaturas utilizadas podem trazer alterações sensoriais e degradar alguns nutrientes. A transferência de calor ocorre principalmente por condução e convecção, onde a transferência de calor normalmente não é homogênea e, além disso, o contato direto do produto com a superfície aquecida gera superaquecimento. Portanto, a preservação da qualidade de frutas tratadas termicamente representa um grande desafio para as técnicas tradicionais de processamento de polpas de frutas e outros produtos (SARKIS et al., 2013).

Os tratamentos térmicos podem ser feitos em tacho aberto, pasteurizador tubular ou trocadores de calor (TORALLES; VENDRUSCOLO, 2007; RODRIGUES; SAINZ; FERRI, 2009; KUCK, 2012). Após o aquecimento, a polpa pode ser obtida por prensagem ou por despulpadeira mecânica, que consiste de agitação tangencial onde os frutos são prensados contra uma malha fina, onde ficam as sementes e a casca (TORALLES; VENDRUSCOLO, 2007). Para o mirtilo, uma alternativa para o

aquecimento é a utilização de vapor de água prévio ao despulpamento (KECHINSCKI, 2011).

A utilização de novas tecnologias de aplicação de calor e utilização de estabilizantes vêm contribuído para a redução de perdas de compostos bioativos. A utilização de vapor em substituição ao aquecimento por condução preserva e facilita a extração de compostos bioativos, mantém a temperatura uniforme, evita pontos de superaquecimento que promovem redução de compostos termolábeis e formação de sabores indesejáveis na polpa (FIORAVANTE et al., no prelo).

Em trabalhos anteriores, com aquecimento prévio ao despulpamento realizado em tacho aberto (KUCK, 2012) e com aplicação direta de vapor (FIORAVANTE et al., no prelo) associados à adição de 0,08 % (m/m) de ácido cítrico e 0,1% (m/m) de xantana, foi demonstrada a importância desses estabilizantes químicos na preservação da cor e do teor de antocianinas, respectivamente.

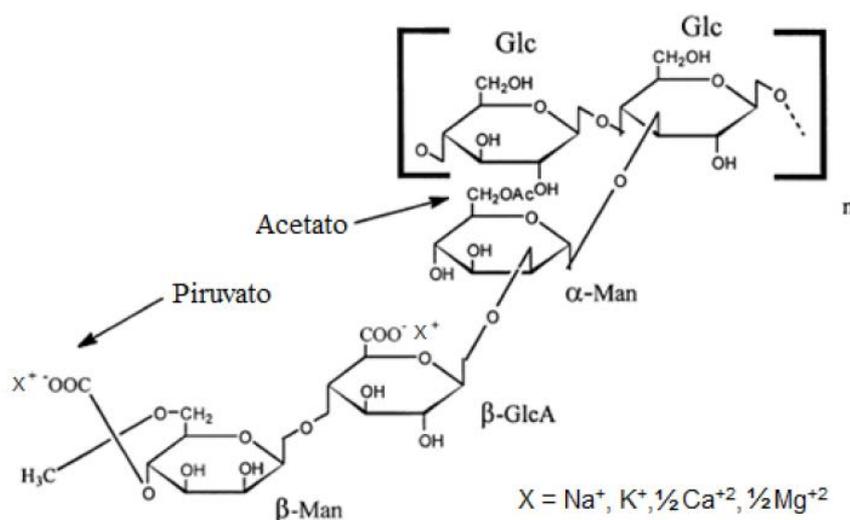
### **2.3 Estabilizante xantana**

Estabilizantes são substâncias que tornam possível a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis em um alimento (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A xantana é um hidrocolóide polissacarídico, produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas* (SUTHERLAND, 1993). É amplamente utilizada na indústria de alimentos, devido às importantes propriedades que possui e a sua ótima compatibilidade com diversos ingredientes alimentares e aditivos.

Quimicamente, a goma xantana é composta por unidades pentassacarídicas, de modo que a cadeia principal do polímero é constituída por unidades de D-glicose unidas entre si por ligações  $\beta$  1-4, e a cadeia lateral apresenta resíduos de D-manose e ácido D-glicurônico dispostos alternadamente entre si, na proporção 2:1 (figura 2). Grupos acetil apresentam-se ligados à manose interna, enquanto na manose terminal ocorre a ligação de grupos piruvato (CADMUS et al., 1976; JANSSON; KENNE; LINDBERG, 1975; SLONEKER; JEANES, 1962). A estes resíduos de ácido pirúvico podem se ligar sais, oriundos ou do meio de produção ou de modificações pós-fermentação, contribuindo para o aumento da viscosidade do polímero. A presença dos ácidos acético e pirúvico confere caráter aniônico ao polímero (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

As principais características da goma xantana são as seguintes: ser solúvel em água (independentemente da temperatura), possuir alta viscosidade, mesmo em baixas concentrações; não ocorrerem mudanças perceptíveis na viscosidade da solução em ampla faixa de temperatura (0 a 100°C), quando em solução adicionada de 1% de KCl; ser estável em uma ampla faixa de pH, inclusive em soluções ácidas; possuir boa compatibilidade com sais, ser excelente estabilizante de suspensões e emulsões; conferir estabilidade aos produtos na qual é aplicada frente ao congelamento e descongelamento; ser altamente pseudoplástica e pouco interfere no sabor dos alimentos ao qual é aplicada (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; SUTHERLAND, 1993). Recentemente, tem sido divulgada sua ação antioxidante (XIONG et al., 2014). Além disso, apresenta ação encapsuladora sobre aromas, corantes, saborizantes, vitaminas e outros compostos bioativos, preservando por longos períodos sua atividade e reduzindo danos proporcionados por calor, frio, variações de pH, atividade de água, entre outros (SUTHERLAND, 1993), propriedades estas que são fundamentais na elaboração de polpa. A ação encapsuladora da xantana sobre compostos está relacionada com mecanismos que envolvem interações moleculares específicas que promovem adsorção, retenção em microrregiões, complexação, encapsulação e formação de pontes de hidrogênio (GODSHALL, 1997; KINSELLA, 1989). O item encapsulação de vitaminas e corantes é o fundamento da utilização da xantana na formulação proposta, que tem por objetivo a preservação destas características.

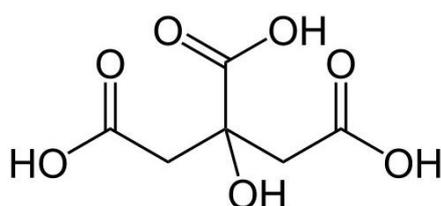


**Figura 2.** Estrutura química da goma xantana.  
**Fonte:** Adaptado de Viebke (2004) por Klaic (2012).

## 2.4 Acidulante ácido cítrico

Acidulantes são substâncias que aumentam a acidez ou conferem um sabor ácido aos alimentos, dentre estas são de maior emprego os ácidos orgânicos, tais como: o ácido cítrico, tartárico, láctico, fumárico e málico; além do ácido fosfórico, que é inorgânico. Estes ácidos também podem ser utilizados como reguladores de acidez, substâncias que alteram ou controlam a acidez ou a alcalinidade dos alimentos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

O ácido cítrico (figura 3) é um ácido orgânico fraco, tricarboxílico presente na maioria das frutas, sobretudo em cítricas, e sua fórmula química é  $C_6H_8O_7$  (BURDOCK, 1996). Possui alta solubilidade em água, sabor agradável, é facilmente assimilável pelo organismo humano e possui baixa toxicidade; confere efeito sequestrante e excelente efeito tamponante (WONG, 1995).



**Figura 3.** Estrutura química do ácido cítrico.  
**Fonte:** Chemistryland, 2017.

A utilização do ácido cítrico em polpas de mirtilo proporciona além de conservação, maior estabilidade as antocianinas e outros polifenóis, que mantêm mais elevada a sua atividade antioxidante do que em pH mais elevados (KALT; MCDONALD; DONNER, 2000). Rodrigues et al. (2010) observou maior teor de antocianinas em *topping* de mirtilo formulado com xantana e ácido cítrico no tempo inicial e após 120 dias de armazenamento.

## 2.5 Compostos bioativos

Segundo Roberfroid (2002), alimentos funcionais devem ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde, além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental. De acordo com Lajolo (2005), as substâncias ativas presentes nos alimentos, responsáveis por tais ações biológicas, são chamadas de fitoquímicos ou

compostos bioativos. Exemplos desses componentes são flavonoides (como quercetina, catequina e antocianinas), ácidos fenólicos (como ácido gálico, ácido clorogênico e cafeico), carotenoides (licopeno, luteína,  $\beta$ -caroteno), fotosteróis e ácidos graxos.

As substâncias ou compostos bioativos são constituintes extranutricionais, que ocorrem em alimentos de origem vegetal, com atividades biológicas ditas promotoras da saúde, tais como atividades antioxidantes, anti-inflamatória e hipocolesterolêmica (KRIS-ETHERTON et al., 2002; PINTO, 2008). O mirtilo possui elevadas concentrações destes compostos bioativos (ZHAO et al., 2017).

### **2.5.1 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo especializado de plantas, desempenhando funções de defesa contra herbívoros e patógenos, e também papel importante na proteção contra radiação ultravioleta (TAIZ; ZEIGER, 2009). Correspondem a uma ampla faixa de substâncias, desde fenóis simples, ácidos fenólicos e flavonoides. São normalmente encontrados em folhas, sementes e frutos, em concentrações variadas com o órgão, com as cultivares e espécies (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Estes compostos constituem um grupo diversificado de fitoquímicos derivados da fenilalanina e tirosina (SHAHIDI; NACZK, 2004). Possuem ao menos um anel aromático, com um ou mais grupamentos hidroxila, muitas vezes ligados a açúcares, tendendo, dessa forma, à solubilidade em água (CROFT, 1998).

A síntese destes compostos ocorre a partir de duas vias distintas: a rota do ácido chiquímico, pela qual ocorre a biossíntese da maioria dos fenóis vegetais, e do ácido malônico, a qual é mais significativa para produção de compostos fenólicos em fungos e bactérias. Na rota do ácido chiquímico ocorre a conversão de precursores de carboidratos derivados da glicólise e da rota da pentose fosfato em aminoácidos aromáticos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os principais compostos fenólicos comumente encontrados em vegetais podem ser classificados em várias classes de acordo com o tipo e o número de anéis fenólicos, e em subclasses de acordo com substituições específicas na estrutura básica, associações com carboidratos e formas polimerizadas. Os compostos fenólicos podem ser classificados em compostos flavonoides e não flavonoides (VOLP et al., 2008).

O potencial antioxidante dos compostos fenólicos vêm sendo relacionado à presença de grupos altamente reativos na sua estrutura química, as hidroxilas. Tal fator é considerado crítico para a captura e neutralização de radicais livres (ELISIA; POPOVICH; KITTS, 2007) os quais são neutralizados conforme a equação 1, onde R é o radical livre e F-OH é o composto fenólico.



**Equação 1.** Neutralização de radicais livres.

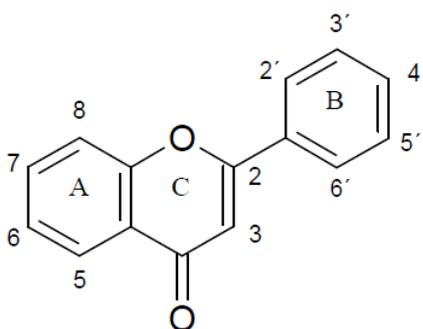
**Fonte:** Couto, 2012.

Na ligação O-H o hidrogênio é facilmente liberado uma vez que o oxigênio é bem mais eletronegativo que o hidrogênio, possuindo em sua última camada pares de elétrons isolados que projetam-se no espaço, longe do núcleo carregado positivamente, favorecendo a separação de cargas (McMURRY, 2006). Assim, o grupamento hidroxila cede um átomo de hidrogênio e um elétron para o radical livre, estabilizando-o. Devido à capacidade do grupo aromático presente na estrutura dos compostos fenólicos em se reestruturar frente ao desapareamento de elétrons, a estrutura do mesmo se mantém estável (KUSKOSKI et al., 2004) sem que seja formado um novo radical livre na célula.

Os fenóis são os compostos bioativos predominantes no mirtilo (ZHAO et al., 2017). Wang et al. (2017), determinando os compostos fenólicos totais em 14 variedades de mirtilo na China, encontraram valores que variaram de  $460,40 \pm 3,30$  a  $206,20 \pm 3,90$  mg ácido gálico  $100\text{g}^{-1}$ . Moreno et al. (2016) encontraram uma concentração de  $845,00 \pm 89,00$  mg ácido gálico  $100\text{g}^{-1}$  em variedade de mirtilo Tifblue produzida no Chile.

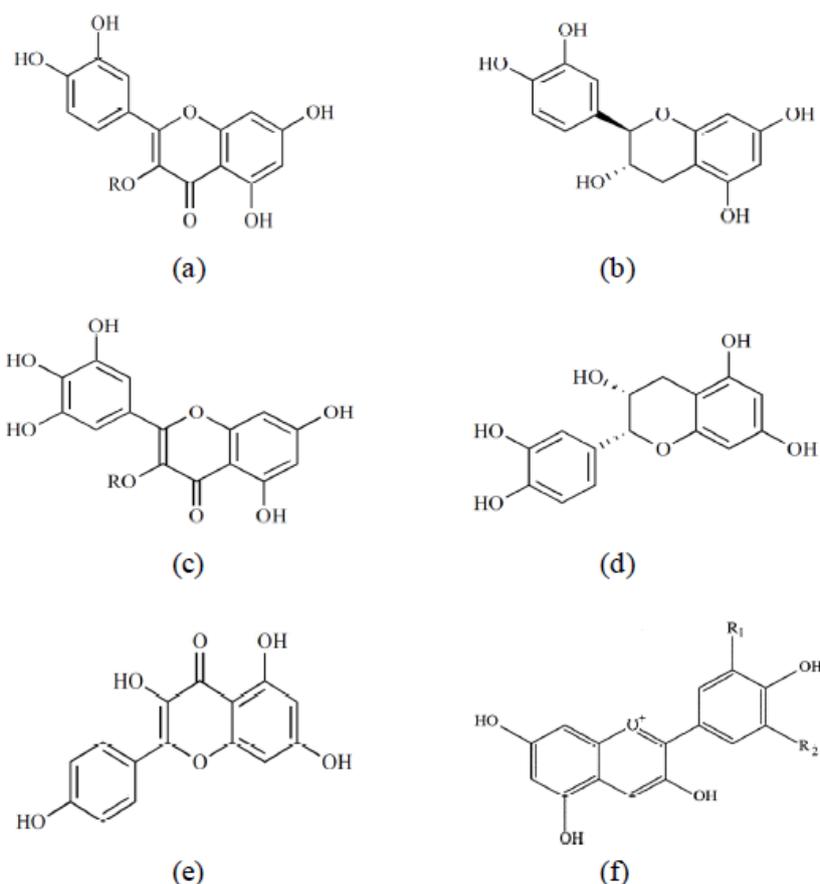
### 2.5.1.1 Flavonoides

Os flavonoides consistem de um esqueleto de difenil propano (C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>) com dois anéis benzênicos (A e B) ligados a um anel pirano (C) (figura 4) (BEHLING et al., 2004).



**Figura 4.** Estrutura básica dos flavonoides.  
**Fonte:** Behling et al., 2004.

Os flavonoides têm em sua estrutura 15 carbonos, dispostos em três anéis: C6-C3-C6 (denominados A, B e C). Os dois anéis de seis carbonos são aromáticos (FRAGA, 2009; PIETTA, 2000). As classes de flavonóides são diferenciadas entre si devido ao nível de oxidação e ao padrão da substituição do anel C; já os compostos individuais, dentro de cada uma das classes, diferem entre si devido ao padrão de substituição dos anéis A e B (PIETTA, 2000). Na figura 5 está representado as estruturas químicas de alguns dos principais flavonoides encontrados no mirtilo.



**Figura 5.** Estrutura de alguns dos principais flavonoides encontrados no mirtilo. (a) quercetina, (b) catequina, (c) miricetina, (d) epicatequina, (e) caempferol, (f) antocianidina; R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> na figura (f) podem ser H, OH ou OCH<sub>3</sub> dependendo da antocianidina.

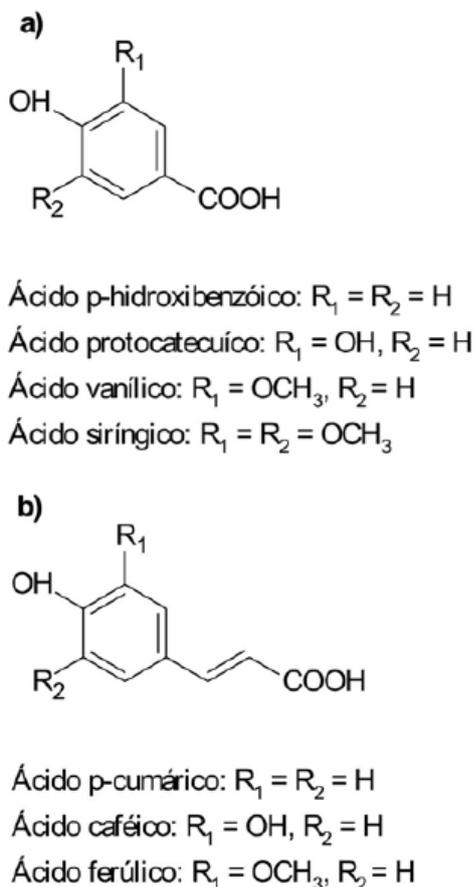
**Fonte:** Konda, 2014.

Wang et al. (2017), ao determinarem flavonoides totais em 14 variedades de mirtilo na China, obtiveram valores que variaram de  $88,1 \pm 17,1$  a  $254,7 \pm 16,2$  mg catequina  $100g^{-1}$ . Os mesmos autores nas 14 cultivares de mirtilheiros analisadas encontraram resultados que variaram de  $1,80 \pm 0,01$  a  $3,38 \pm 0,01$   $\mu g g^{-1}$  de catequina e  $2,66 \pm 0,01$  a  $2,02 \pm 0,01$   $\mu g g^{-1}$  de quercetina.

### 2.5.1.2 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes para os vegetais (SOARES, 2002). Os ácidos fenólicos predominantes nas pequenas frutas são os ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos (Figura 6), dos compostos fenólicos analisados

por Castrejon et al. (2008) os ácidos hidroxicinâmicos foram o principal grupo encontrado em mirtilos.



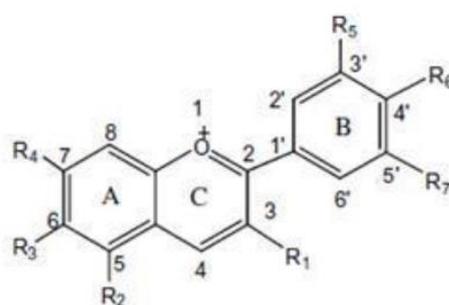
**Figura 6.** Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinâmicos (b).  
**Fonte:** Ângelo; Jorge, 2007.

Alguns dos ácidos encontrados em mirtilo são o ácido gálico, clorogênico, hidroxibenzoico, cafeico e ferúlico (KONDA, 2014; PERTUZATTI et al., 2012; YI et al., 2005). Nas 14 cultivares de mirtilo analisadas Wang et al. (2017) encontraram resultados que variaram de  $0,004 \pm 0,00$  a  $0,34 \pm 0,00 \mu\text{g g}^{-1}$  para o ácido cafeico e  $0,26 \pm 0,01$  a  $1,85 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$  para o ácido ferúlico. Figueira et al. (2016) alcançaram resultados de  $17,00 \pm 0,20 \mu\text{g g}^{-1}$  de ácido cafeico e de  $1019,00 \pm 2,00 \mu\text{g g}^{-1}$  de ácido clorogênico, na cultivar de mirtilo produzida em Portugal. Moreno et al. (2016) encontraram uma concentração de  $1687 \pm 5,00 \mu\text{g g}^{-1}$  de ácido gálico em mirtilos Tifblue produzidos no Chile.

### 2.5.1.3 Antocianinas

As antocianinas são difundidas em todo reino vegetal, e são responsáveis pela coloração atraente de diversas flores e frutas. Seu espectro de cor pode variar de salmão, rosa, vermelho, magenta, violeta, roxo e azul (CISSE et al., 2009).

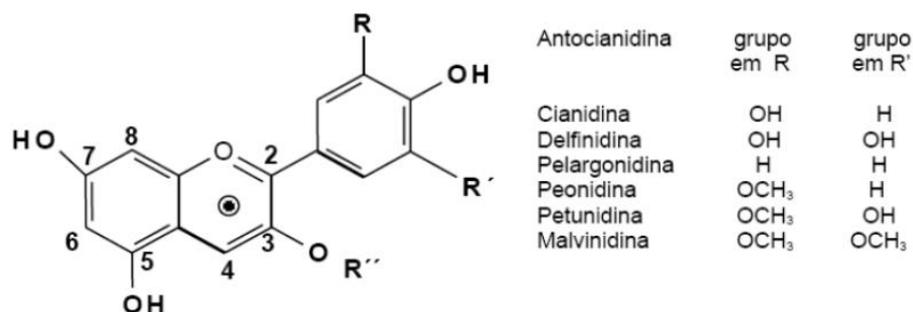
A molécula de antocianina (figura 7) contém o íon flavílium ou 2-fenilbenzopirílium, que consiste em dois anéis aromáticos unidos por três unidades de carbono condensados por um oxigênio e encontra-se glicosilada, ou seja, ligada a moléculas de açúcar (FRANCIS, 1989).



**Figura 7.** Estrutura genérica das antocianinas.  
**Fonte:** Castaneda-Ovando et al., 2009.

As moléculas de antocianina consistem em uma antocianidina, ou aglicona, um grupo de ácidos orgânicos e um grupo açúcar, geralmente glicose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose, os quais ocorrem como mono, di ou triglicosídeos (FRANCIS, 1989), sendo a posição 3 o sítio mais comum de glicosilação, e a posição 7 o menos freqüente (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

Dentre as antocianidinas conhecidas, apenas seis estão presentes em alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina, que se distinguem entre si pelo número de hidroxilas e pelo grau de metoxilação no anel B, conforme apresentado na figura 8 (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000; LIMA; GUERRA, 2003).



**Figura 8.** Estrutura das antocianidinas.

**Fonte:** Fuleki; Francis, 2000.

As antocianinas são o principal grupo de polifenóis presentes em mirtilos (ZHAO et al., 2017). Os mirtilos têm o mais complexo perfil de antocianinas entre as frutas de bagas mais comuns, contendo 25 antocianinas individuais, e são únicas em comparação com outros frutos de bagas em que três unidades de açúcar, glicose, galactose e arabinose, encontram-se ligadas a cinco antocianidinas, delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina, além dos derivados acilados (HOWARD et al., 2012).

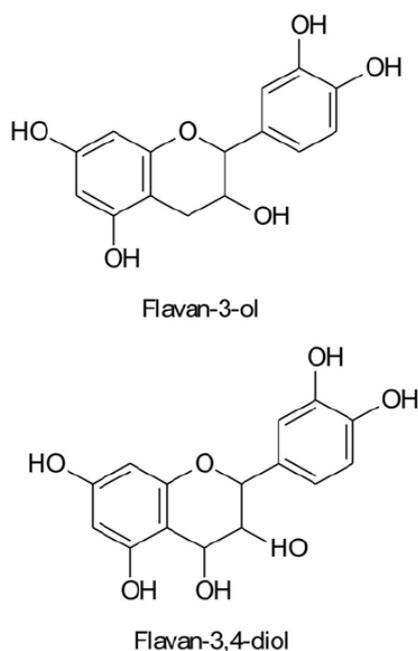
Em trabalho recente, Wang et al. (2017) identificaram e quantificaram antocianinas em catorze cultivares de mirtilo produzidas na China, as antocianinas e concentrações encontradas foram: delfinidina  $3,30 \pm 0,60$  a  $69,70 \pm 0,50 \mu\text{g g}^{-1}$ , cianidina  $154,50 \pm 0,40$  a  $1001,00 \pm 1,00 \mu\text{g g}^{-1}$ , petunidina  $5,60 \pm 0,50$  a  $51,90 \pm 1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ , peonidina  $4,00 \pm 0,70$  a  $164,30 \pm 1,40 \mu\text{g g}^{-1}$  e malvidina  $3,00 \pm 0,60$  a  $55,80 \pm 0,70 \mu\text{g g}^{-1}$ . Li, Meng e Li (2016) também identificaram e quantificaram antocianinas em seis cultivares de mirtilo produzidas em diversas regiões China: delfinidina  $306,00 \pm 2,00$  a  $1050,00 \pm 24,10 \mu\text{g g}^{-1}$ , cianidina  $68,00 \pm 0,00$  a  $279,00 \pm 5,00 \mu\text{g g}^{-1}$ , petunidina  $153,00 \pm 1,00$  a  $617,00 \pm 9,0 \mu\text{g g}^{-1}$ , peonidina  $12,00 \pm 0,00$  a  $66,00 \pm 0,00 \mu\text{g g}^{-1}$  e malvidina  $387,00 \pm 4,00$  a  $1188,00 \pm 17,00 \mu\text{g g}^{-1}$ .

#### 2.5.1.4 Taninos

Os taninos são encontrados em muitas frutas, sendo caracterizados como compostos fenólicos de alto peso molecular, que precipitam proteínas, incluindo proteínas salivares da cavidade oral (ROCHA et al., 2011). Segundo a estrutura química, os taninos podem ser classificados em hidrolisáveis e condensados (OSZMIANSKI et al., 2007).

Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácidos gálico e elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato, onde os grupos hidroxilas do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos. Os taninos elágicos são muito mais freqüentes que os gálicos (KING; YOUNG, 1999; BURNS et al., 2000).

Os taninos condensados, denominados proantocianidinas, são oligômeros e polímeros de flavan-3-ol (catequina) e/ou flavan-3,4-diol (leucocianidina), (figura 9) produtos do metabolismo do fenilpropanol. As proantocianidinas, assim denominadas, provavelmente pelo fato de apresentarem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, como cianidina e delphinidina, apresentam uma rica diversidade estrutural, resultante de padrões de substituições entre unidades flavânicas, diversidade de posições entre suas ligações e estereoquímica de seus compostos (MONTEIRO et al., 2005).



**Figura 9.** Estrutura química de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol.  
**Fonte:** Angelo; Jorge, 2007.

Os mirtilos contêm uma variedade de proantocianidinas variando de flavanóis monoméricos e oligômeros a polímeros de alto peso molecular (GU et al., 2004), mas são desprovidos de elagitaninos (HOWARD et al., 2012). Porém no estudo de Pertuzatti (2009) foi relatado concentrações de 0,92 mg ácido gálico 100g<sup>-1</sup> de taninos hidrolisáveis e 194,37 mg catequina 100g<sup>-1</sup> de taninos condensados em mirtilo da variedade Powderblue cultivado na região de Pelotas - RS.

### 2.5.2 Estabilidade de compostos fenólicos

Durante o processamento e armazenamento de frutos, os compostos fenólicos presentes nos mesmos são propensos a processos de oxidação, degradação e polimerização. Nos últimos anos várias pesquisas estão sendo realizadas para preservar estes compostos da deterioração durante o processamento (HOWARD et al., 2012).

No estudo recente realizado por Zhao et al. (2017) em mirtilos submetidos a diferentes métodos de aquecimento (em forno, ebulição em água e microondas), o ácido cafeoilquínico, a catequina e os glicosídeos de quercetina foram os compostos mais estáveis em comparação a outros polifenóis submetidos aos diferentes tratamentos térmicos.

Rodriguez-Mateos et al. (2013) observou o conteúdo de polifenóis em pães assados com mirtilo e verificou que procianidinas, flavonóis e ácidos fenólicos foram mais estáveis do que as antocianinas durante as diferentes fases de processamento dos pães. Neste trabalho, a quantidade total de procianidinas, quercetina, ácido ferúlico e ácido cafeico permaneceram constantes durante o processamento, enquanto que o ácido clorogênico aumentou significativamente após o processamento dos pães com mirtilo.

As antocianinas possuem baixa estabilidade, que é relacionada a diversos fatores, como a complexidade da sua estrutura química, a concentração em que estão presentes, a composição do meio (variações de pH, presença de metais, copigmentos, radicais livres, ácido ascórbico, dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), açúcares e seus produtos de degradação e enzimas) e condições ambientais (variações de temperatura, presença de oxigênio e de luz). Dentre todos estes fatores frente aos quais as antocianinas são instáveis, os aspectos mais importantes a serem observados quando a fruta é destinada ao processamento e consequente elaboração de produtos é a variação de temperatura, pH, presença de luz e oxigênio (KUCK, 2012).

Trost et al. (2008) quantificaram antocianinas em néctar de mirtilo em 207 dias de armazenamento e obtiveram uma ordem de classificação da estabilidade das agliconas presentes e também dos glicosídeos de mais a menos estável, tiveram a seguinte ordem: Cianidina>Peonidina>Petunidina>Malvidina=Delfinidina.

Em relação aos açúcares, a ordem de classificação foi glicose>galactose>arabinose.

## 2.6 Polifenoloxidase

As polifenoloxidases são enzimas responsáveis pela oxidação de compostos fenólicos em presença de oxigênio, levando à formação de quinonas, as quais posteriormente se polimerizam originando compostos escurecidos, chamados de melaninas (DUANGMAL; APENTEN, 1999; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Nas plantas, as PPOs localizam-se principalmente nos plastídeos e cloroplastos das células intactas (CONCELLÓN; AÑÓN; CHAVES, 2004; RAPEANU et al., 2006). Quando as células são rompidas ocorre um contato maior das enzimas com os substratos, iniciando-se rapidamente as reações oxidativas.

A PPO tem como característica a capacidade de catalisar duas reações, ambas com utilização de oxigênio: a hidroxilação de monofenóis a *o*-difenois, pela ação da cresolase ou monofenoloxidase; e a oxidação de *o*-difenois a *o*-quinonas, pela atuação da catecolase ou difenoloxidase (MARTINEZ; WHITAKER, 1995; KAVRAYAN; AYDEMIR, 2001). É o íon cobre que a PPO possui no seu sítio ativo que se oxida na etapa de hidroxilação e posteriormente se reduz na etapa de oxidação (SOUZA, 2009). As *o*-quinonas formadas pela ação da enzima são instáveis e rapidamente polimerizam dando origem a pigmentos escuros denominados melanoidinas (CONCELLÓN; AÑÓN; CHAVES, 2004; SERRADELL et al., 2000; TAYLOR; CLYLESDALE, 1987).

Estudos estão sendo feitos para avaliar a degradação das antocianinas pela presença de polifenoloxidase nativa, principalmente nos produtos a base de frutas, tais como polpas, sucos, néctares, pois é após o processamento e conseqüente rompimento das células que ocorrem as reações oxidativas em maior intensidade (KUCK, 2012).

As PPO não podem degradar diretamente as antocianinas, pois necessitam da presença de outros substratos, tais como o ácido caféico, ácido clorogênico ou ácido gálico. Todos esses ácidos são considerados *o*-difenois e estão envolvidos na primeira etapa da oxidação, descrita acima. O ácido então, oxidado a uma *o*-quinona, como a 4-metilcatecol *o*-quinona, acelera o processo de formação de antocianidinas a partir das antocianinas por enzimas como as  $\beta$ -glicosidases. A PPO pode então oxidar as antocianidinas, resultando na formação de pigmentos escuros

(FANG et al., 2007; JIANG et al., 2004; OREN-SHAMIR, 2009; WELCH; WU; SIMON, 2008).

Skrede, Wrolstad e Durst (2000) provaram que ocorrem perdas significativas de compostos fenólicos durante o processamento de suco de mirtilo, principalmente durante a desintegração dos frutos, devido a presença de PPO. Uma maneira de evitar estas reações é através da inativação das enzimas, utilizando-se tratamentos térmicos. Kuck (2012) ao elaborar polpas de mirtilo com aquecimento prévio ao despulpamento em tacho aberto obteve polpas de boa qualidade, com preservação de compostos antocianínicos e da cor. Na elaboração de polpas de mirtilo com aquecimento prévio ao despulpamento com aplicação de vapor, Fioravante et al. (no prelo) obtiveram polpas com preservação das antocianinas e da cor.

### 3. Material e métodos

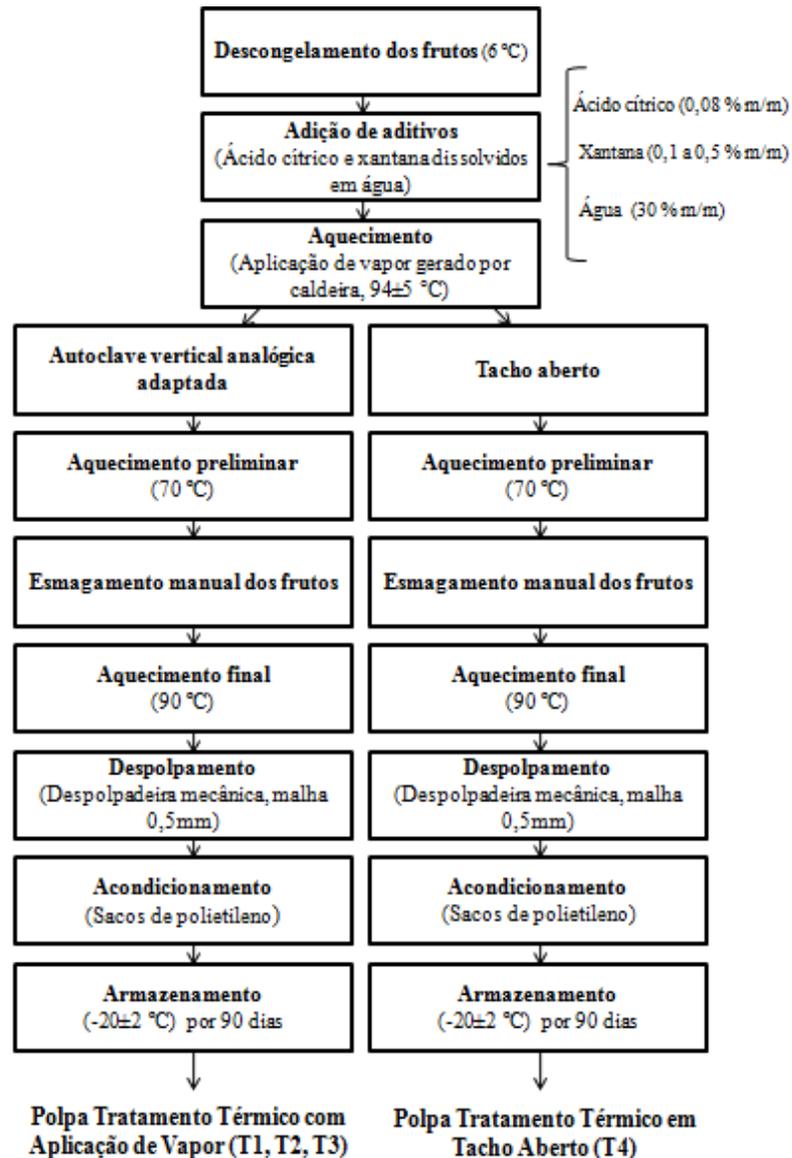
#### 3.1 Frutos

Utilizaram-se mirtilos (*Vaccinium ashei* Reade) cultivar Powderblue, cultivados em Morro Redondo - RS (latitude 31 ° 46' 19"; longitude 52 ° 20' 33"), safra 2015/2016. Após seleção, fez-se sanitização dos frutos em solução clorada (100 ppm cloro livre) por 10 min, enxágue, drenagem, acondicionamento em sacos de polietileno (6 micra) e congelamento em *freezer* (-20±2 °C) por 4 dias.

#### 3.2 Produção das polpas

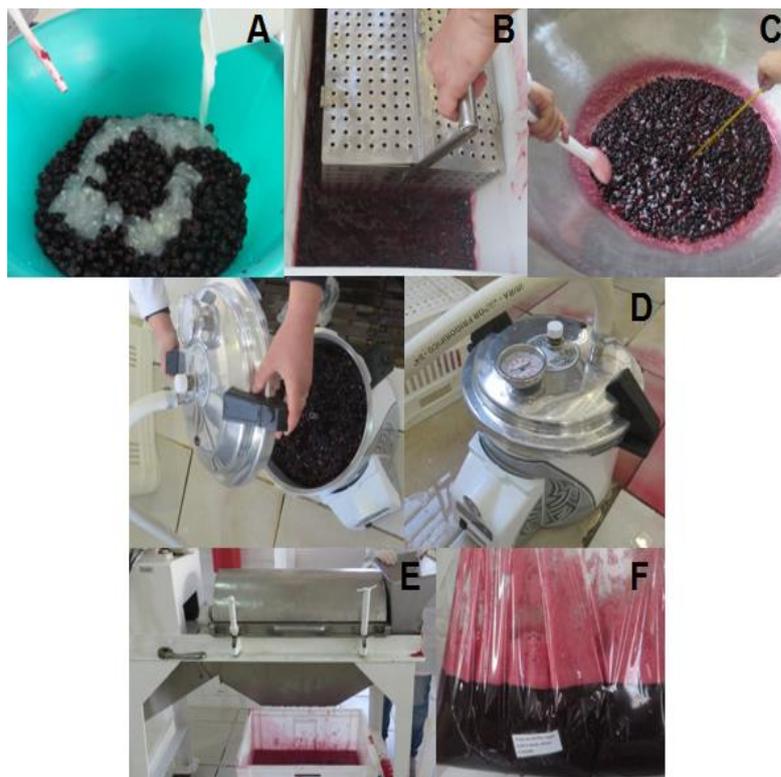
Elaboraram-se quatro formulações de polpas (Fig. 1), diferenciadas quanto ao tratamento térmico da fruta e concentração de xantana (Fufeng®, distribuída por Farmaquímica®) utilizada previamente ao despulpamento: 1) apenas vapor; 2) vapor e xantana (0,1 % m/m); 3) vapor e xantana (0,5 % m/m); 4) tacho e xantana (0,5 % m/m). Em todos os tratamentos foram utilizados 4 Kg de frutas, descongeladas em temperatura ambiente (6°C), as quais foram adicionadas 0,08 % (m/m) de ácido cítrico PA (Synth®). A xantana e o ácido foram adicionados dissolvidos em 1,2 L de água (30% em relação à massa de frutas). O tratamento térmico das frutas por aplicação direta de vapor foi realizado em equipamento tipo autoclave vertical analógica, com capacidade para 14 litros, adaptada (sem resistência elétrica). As frutas foram dispostas sobre um suporte tipo grade em aço inoxidável. A inserção do vapor (gerado em caldeira térmica, com pressão de saída de 2 kgF<sup>-1</sup>, a 94±5 °C) foi realizada com o auxílio de mangueira metálica ligada em conector localizado na parte superior da tampa do equipamento. Ao conector ligou-se uma cânula inoxidável cujo comprimento permite a distribuição do vapor a partir do fundo. O controle da temperatura interna foi através de sensor tipo haste adaptado na parte interna da tampa da autoclave (em contato com os frutos), com o mostrador fixado à parte externa. O tratamento térmico das frutas em tacho aberto foi realizado em equipamento de aço inoxidável com haste rotatória e camisa de vapor gerado em caldeira térmica. Em todos os tratamentos, o aquecimento preliminar dos frutos foi até a temperatura de 70 °C, para amolecimento dos tecidos e inativação das enzimas. O tempo necessário para atingir esta temperatura foi de 8,00 a 9,50 minutos para T1, T2 e T3 e 2 minutos para T4. A esta temperatura as frutas foram colocadas em caixas e comprimidas com instrumento de aço inoxidável com

superfície plana perfurada (20x 35 cm) até o rompimento das bagas. Na sequência o aquecimento final foi realizado até que os frutos atingissem 90 °C. O tempo necessário para atingir esta temperatura foi de 2,34 a 5,32 minutos para T1, T2 e T3 e 2 minutos para T4 (na autoclave ou no tacho, conforme tratamento). Concluído o aquecimento, as frutas foram desintegradas em despulpadeira mecânica horizontal marca Kirckfeld® POB 4626, de simples estágio, com malha de 0,5 mm e as polpas envasadas em sacos de polietileno (6 micra) e armazenadas, sob congelamento (-20±2 °C), por 90 dias. As temperaturas utilizadas para o aquecimento dos frutos, o esmagamento manual dos mesmos e os percentuais de água e ácido cítrico adicionados foram de acordo com o estudo de Fioravante et al. (no prelo). A água utilizada para geração do vapor no processamento das polpas foi analisada por espectroscopia atômica quanto a alguns metais como Fe, Pb e Sn, os resultados foram abaixo do nível de quantificação desses elementos químicos.



**Figura 10.** Fluxograma do processamento de polpas de mirtilo com tratamento térmico dos frutos pela aplicação de vapor e em tacho aberto. Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

**Fonte:** o autor (2017).



**Figura 11.** Processamento das polpas de mirtilo; a) aditivação; b) esmagamento manual dos frutos; c) aquecimento em tacho aberto à vapor; d) aquecimento em autoclave adaptada; e) despulpamento; f) polpas acondicionadas.

**Fonte:** o autor (2017).

### 3.3 Determinação da atividade enzimática da polifenoloxidase

As amostras analisadas consistiram de mirtilo, armazenados congelados (-80 °C) durante 120 dias, submetidos a tratamento térmico em diferentes temperaturas (50, 70 e 90 °C) e não submetidos a tratamento térmico (controle), além das diferentes formulações de polpas de mirtilo. Frutos de mirtilo foram submetidos a tratamento térmico em diferentes temperaturas (o aquecimento foi realizado até os frutos atingirem as temperaturas de 50, 70 e 90 °C), logo após estes frutos que foram tratados termicamente e os frutos que não receberam tratamento térmico foram triturados em mixer (Philips Walita®) alternando com resfriamento em banhos de gelo para não elevar a temperatura das amostras. A enzima polifenoloxidase (PPO) foi determinada de acordo com Terefe et al. (2015) com algumas modificações em relação à extração. Para a preparação do extrato enzimático 10 g de amostra foram homogeneizadas por 30 minutos em 12,5 mL de solução de fosfato de potássio 0,2M (pH 6,5) contendo 4% de PVPP (polivinilpirrolidona). Após centrifugou-se (11.000 x g) por 15 minutos a 4°C (centrífuga Eppendorf®), o

precipitado foi descartado e o sobrenadante (extrato enzimático) armazenado a 4 °C até o momento da análise. A reação para a determinação da atividade enzimática consistiu de 10 µL de extrato enzimático e 290 µL de catecol 0,07M em solução de fosfato de potássio (pH 5,5) e o branco consistiu da mesma reação, porém utilizando 10 µL de solução de fosfato de potássio (pH 3,6) em substituição ao extrato enzimático. As leituras das reações foram realizadas em leitora de microplacas (Spectra Max 190, Molecular Devices®) a 420 nm a 25 °C, com leituras a cada 30 segundos, por 10 minutos. Os resultados da atividade enzimática foram expressos em unidade de atividade enzimática UAE/min/g de amostra.

### 3.4 Caracterização tecnológica do fruto e polpas

A caracterização das propriedades de maior importância tecnológica nas polpas deu-se pela determinação da acidez total, potencial hidrogeniônico, teor de sólidos solúveis totais e cor, nos diferentes tempos de armazenamento (1, 30, 60 e 90 dias).

Determinou-se a acidez total titulável (% de ácido cítrico) por alcalinização até pH 8,1, medido com potenciômetro (Hanna® HI 2221) (312/IV); o potencial hidrogeniônico (pH) à temperatura de 20 °C através de método eletrométrico em potenciômetro (Hanna® HI 2221) (017/IV); e o teor de sólidos solúveis totais por refratometria à temperatura de 20°C (315/IV) com refratômetro manual (Instruterm®, 0°- 38°) e os resultados expressos em graus Brix (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Analisou-se a cor em colorímetro (Minolta® CR-300), utilizando fonte de luz em espaço de cor  $L^*a^*b^*$  do sistema CIE  $L^*a^*b^*$ , proposto por *Commission Internationale de l'Eclairage*, 1978, onde:  $L^*$  indica luminosidade (0=preto e 100=branco);  $a^*$  e  $b^*$  representam as coordenadas de cromaticidade ( $+a^*$ =vermelho e  $-a^*$ =verde;  $+b^*$ =amarelo e  $-b^*$ =azul), em triplicata, obtendo-se diretamente as coordenadas do espaço CIE  $L^*a^*b^*$ , (CIE), que permitem medir a intensidade de absorção na região visível. O ângulo Hue, que representa a tonalidade da cor (0°=vermelho, 90°=amarelo, 180°=verde, 360°=azul), foi calculado a partir das coordenadas de cromaticidade pela fórmula:  $[\arcsin(b^*/a^*)]$ . A diferença de cor total ( $\Delta E$ ) foi calculada pela equação  $\Delta E = [\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2]^{1/2}$  que expressa a diferença entre a cor das polpas no período inicial de análise e após 90 dias de armazenamento.

### 3.5 Extração dos compostos bioativos fenólicos

Para a determinação dos compostos bioativos fenólicos (compostos fenólicos totais, flavonoides totais e antocianinas monoméricas) e da atividade antioxidante, preparou-se extratos a partir de amostras dos mirtilos congelados e das polpas de cada tratamento ao longo do armazenamento (1, 30, 60 e 90 dias), conforme Giusti e Worlstad (2001), com algumas adaptações em relação a extração inicial. Utilizou-se o metanol acidificado (HCl 1 N, pH 1,0) como solução extratora. Pesou-se 1 g de amostra em tubo Falcon de 50 mL e diluiu-se em 25 mL de solução extratora, agitou-se em agitador vortex (Vixar® VM3000) e centrifugou-se (10.000 x *g*) por 15 minutos a 4°C (centrífuga Eppendorf®). Após, retirou-se o sobrenadante e o *pellet* foi ressuspenso na solução. Realizou-se esta etapa por três vezes. Os sobrenadantes foram reunidos e concentrados em evaporador rotativo (Heidolph®) a 40 °C por 5 minutos, até aproximadamente 5mL e para obtenção de volume conhecido, avolumou-se as amostras com a solução extratora em balão volumétrico de 25 mL. Cada extrato foi armazenado em tubo Falcon de 50 mL em *freezer* (-20°C). O mesmo procedimento foi realizado para a preparação dos extratos utilizados para a determinação de compostos fenólicos individuais e antocianinas individuais, porém utilizando reagentes de grau cromatográfico e os extratos previamente filtrados em filtros de seringa de *nylon* (13 mm diâmetro do filtro e 0,22 µm diâmetro do poro, Analítica®) antes da injeção no equipamento.

Para a determinação dos taninos hidrolisáveis preparou-se um extrato metanólico a partir de amostras dos mirtilos congelados e das polpas de cada tratamento ao longo do armazenamento (1, 30, 60 e 90 dias), conforme Price, Scoyoc e Butler (1978), com adaptações, em relação ao tempo de agitação do extrato e usando metanol como solução extratora. Pesou-se 1 g de amostra em béquer de 50 mL e diluiu-se em 25 mL de solução extratora, após agitou-se por 10 minutos, seguido de repouso por 1 hora e subsequente filtração. Para obtenção de volume conhecido, avolumou-se as amostras com a solução extratora em balão volumétrico de 25 mL. Para a determinação dos taninos condensados preparou-se um extrato metanólico a partir de amostras dos mirtilos congelados e das polpas de cada tratamento ao longo do armazenamento (1, 30, 60 e 90 dias), conforme Price, Scoyoc e Butler (1978), com modificações, em relação ao tempo de agitação e usando metanol como solução extratora. Pesou-se 1 g de amostra em béquer de 50 mL e diluiu-se em 25 mL de solução extratora, após agitou-se por 1 hora, e filtrou-se.

Para obtenção de volume conhecido, avolumou-se as amostras com a solução extratora em balão volumétrico de 25 mL.

### **3.6 Determinação dos fenóis totais**

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado colorimetricamente, de acordo com o método proposto por Roesler (2007), através de reações das amostras com soluções de Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio, seguidas de leitura de absorbância em espectrofotômetro (Jenway® – single cellholder) a 760 nm após 2 horas. A quantificação de fenóis totais da amostra foi realizada por meio de uma curva padrão preparada com ácido gálico, com 8 pontos de concentrações variando entre 10-100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , e expressa como equivalente de ácido gálico (EAG). O resultado final foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g de amostra (mg ácido gálico  $100\text{g}^{-1}$ ). Equação da curva de calibração:  $y=0,008x-0,062$  ( $R^2=0,954$ ).

### **3.7 Determinação dos flavonoides totais**

O teor de flavonoides totais foi determinado colorimetricamente, de acordo com o método proposto por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999), através de reações das amostras com soluções de nitrito de sódio, cloreto de alumínio e hidróxido de sódio, seguidas de leitura de absorbância em espectrofotômetro (Jenway® – single cellholder) a 510 nm, após 20 minutos. A quantificação de flavonoides totais da amostra foi realizada por meio de curva padrão de catequina com 8 pontos, com concentrações variando entre 10-175  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e expressa como equivalentes de catequina. O resultado final foi expresso em mg de equivalente de catequina por 100 g de amostra (mg catequina  $100\text{g}^{-1}$ ). Equação da curva de calibração:  $y=0,002x+0,004$  ( $R^2=0,994$ ).

### **3.8 Determinação das antocianinas monoméricas**

O teor de antocianinas monoméricas totais foi determinado pelo método de pH-diferencial, conforme Lee, Durst e Wrolstad (2005), com a amostra dividida em duas alíquotas às quais foram adicionadas, separadamente, soluções tampão a pH 1 (cloreto de potássio 0,025 M) e a pH 4,5 (acetato de sódio 0,4 M). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro (Jenway® – single cellholder) a

520 e 700 nm após 15 minutos. Utilizou-se a equação 2 para o cálculo da absorbância.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

**Equação 2.** Cálculo da absorbância das antocianinas monoméricas

O resultado das antocianinas monoméricas foi expresso em mg de cianidina-3-glicosídeo por 100g da amostra (equação 3).

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/100g)} = A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100 / (\epsilon \times 1)$$

**Equação 3.** Concentração das antocianinas monoméricas

Onde:

A= Absorbância (equação 2);

PM= Peso molecular da cianidina-3-glicosídeo (449,2);

FD= Fator de diluição;

$\epsilon$ = Coeficiente de absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo, cujo valor é de 26.900 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>.

### 3.9 Determinação dos taninos hidrolisáveis condensados

O teor de taninos hidrolisáveis foi determinado colorimetricamente, de acordo com o método proposto por Brune, Hallberg e Skånberg (1991) com modificações, utilizando gelatina em substituição à goma arábica e utilizando padrão de ácido gálico em substituição ao ácido tânico. Foram feitas reações das amostras com o FAS-reagente (89 % tampão acetato 0,1M a pH 4,4, 10 % de solução de gelatina 0,5 % e 1 % de sulfato férrico de amônio, 5 % de sulfato férrico de amônio em HCl 1M) seguidas de leitura de absorbância em espectrofotômetro (Jenway® – single cellholder) a 578 nm após 15 minutos. A quantificação dos taninos hidrolisáveis da amostra foi realizada por meio de uma curva padrão preparada com ácido gálico, o resultado final foi expresso em mg ácido gálico por 100 g de amostra (mg ácido gálico 100g<sup>-1</sup>). Equação da curva de calibração:  $y=0,00004x+0,07935$  ( $R^2=0,97446$ ). O teor de taninos condensados foi determinado colorimetricamente, de acordo com o método proposto por Price, Scoyoc e Butler (1978) com adaptações, em relação a concentração de ácido clorídrico utilizado. Foram feitas reações das amostras com solução 1:1 de vanilina 1 % em metanol e ácido clorídrico 4 % em metanol, seguidas

de leitura de absorvância em espectrofotômetro (Jenway® – single cellholder) a 500 nm após 15 minutos. A quantificação de taninos condensados da amostra foi realizada por meio de uma curva padrão preparada com catequina, o resultado final foi expresso em mg de catequina por 100 g de amostra (mg catequina 100g<sup>-1</sup>). Equação da curva de calibração:  $y=0,0002x+0,0625$  ( $R^2=0,9788$ ).

### 3.10 Determinação dos fenóis individuais

Os compostos fenólicos individuais foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CLAE-EM) de acordo com Rebello et al. (2013). Utilizou-se cromatógrafo líquido (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Os compostos fenólicos foram caracterizados pelo espectro no UV/Vis (210-800 nm), espectro de massas e fragmentação MS<sub>n</sub> comparados com os dados da biblioteca do equipamento e bases de dados (Metlin, MassBank, KeggCompounds, ChemSpider). Para quantificação preparou-se curvas de calibração externa com padrões de ácido gálico ( $y=75,61x-2090$ ;  $R^2=0,999$ ), catequina ( $y=54,33x+325,4$ ;  $R^2=0,998$ ), ácido clorogênico ( $y=200,7x-54699$ ;  $R^2=0,997$ ), ácido hidroxibenzoico ( $y=42,70x+92,15$ ;  $R^2=0,998$ ), epicatequina ( $y=27,48x+206,4$ ;  $R^2=0,994$ ), ácido cafeico ( $y=94,9773x-6154,3318$ ;  $R^2=0,9996$ ), ácido siríngico ( $y=8,533x+174,5$ ;  $R^2=0,999$ ), ácido ferúlico ( $y=24,16x-6,053$ ;  $R^2=0,999$ ), miricetina ( $y=71,62x-5309$ ;  $R^2=0,999$ ), quercetina ( $y=42,85x-2853$ ;  $R^2=0,998$ ), caempferol ( $y=335,3x-66,45$ ;  $R^2=0,998$ ) 39-5000 ng mL<sup>-1</sup>.

### 3.11 Determinação das antocianinas individuais

As antocianinas individuais foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CLAE-EM) conforme Rebello et al. (2013). Utilizou-se cromatógrafo líquido (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). As antocianinas foram caracterizadas pelo espectro no UV/Vis (210-800 nm), espectro de massas e fragmentação MS<sub>n</sub> comparados com os dados da biblioteca do equipamento e bases de dados (Metlin, MassBank, KeggCompounds, ChemSpider). A quantificação foi relativa ao padrão interno adicionado, reserpina.

### 3.12 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos mirtilos congelados e das polpas foi avaliada pelos métodos espectrofotométricos de sequestro de radicais ABTS<sup>•+</sup> e DPPH<sup>•</sup>. No método ABTS, a atividade antioxidante total foi determinada através do ensaio com ABTS<sup>•+</sup>(2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido-sulfônico), que foi obtido pela reação de 5 mL de ABTS (7 mM) com 88 µl de persulfato de potássio 140 mM (concentração final de 2,45 mM), conforme método descrito por Re et al. (1999). O sistema foi mantido em repouso de 12 horas, à temperatura ambiente, em ausência de luz. Uma vez formado o ABTS<sup>•+</sup>, o mesmo foi diluído com água destilada até valor de absorvância de  $0,7000 \pm 0,02$  a 734 nm.

Para a determinação da atividade antioxidante total pelo método DPPH foi utilizada a metodologia de Roesler (2007). Este método é baseado na captura do radical livre DPPH<sup>•</sup> (2,2 difenil 1 picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância a 517 nm, a leitura foi efetuada após 1,5 horas de reação (período em que ocorreu a extinção completa da coloração roxa obtida na reação). Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em mM Trolox g<sup>-1</sup>. Equação da curva de calibração do radical ABTS<sup>•+</sup>:  $y=0,002x-0,000$  ( $R^2=0,999$ ). Equação da curva de calibração do radical DPPH<sup>•</sup>:  $y=0,001x+0,050$  ( $R^2=0,998$ ).

### 3.13 Tratamento estatístico

Para análise espectrométrica, todas as reações, bem como a leitura, foram feitas em triplicata, totalizando a aquisição de nove resultados para cada amostra. Outras análises foram feitas em triplicata e a análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA), teste F, seguido pelo teste de Tukey para comparação de médias significativas, a 5 % de probabilidade, em software *Statistix* versão 8.0. Realizou-se também correlação de Pearson para determinar a correlação entre os componentes bioativos e a atividade antioxidante, a 5 % de probabilidade, utilizando-se o software *Statistica* versão 7.0.

## 4. Resultados e discussão

### 4.1 Atividade polifenoloxidase

Os resultados da atividade da enzima PPO estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Atividade enzimática da polifenoloxidase UAE/min/g no mirtilo<sup>+</sup>, mirtilo tratado termicamente (até atingir 50, 70 e 90°C) e nas diferentes formulações de polpas

Mirtilo	2045,63±123,31
Mirtilo 50°C	1697,48±628,75
Mirtilo 70°C	00,00*
Mirtilo 90°C	00,00*
Polpa Vapor	00,00*
Polpa Vapor 0,1% xantana	00,00*
Polpa Vapor 0,5% xantana	00,00*
Polpa Tacho 0,5% xantana	00,00*

Médias (n=3) ± desvio padrão \*atividade da enzima não significativa. \*após armazenamento congelado (-80°C) por 120 dias.

Observou-se nas amostras submetidas a temperaturas a partir de 70 °C valores nulos de atividade enzimática, compatíveis com inativação. Kechinski (2011) também encontrou valores zerados de atividade enzimática nas polpas de mirtilo tratadas termicamente nas temperaturas de 80 a 88 °C. Kechinski et al. (2010) demonstraram em seus estudos que as antocianinas presentes no mirtilo se degradam a altas temperaturas, por isso o uso de temperaturas moderadas ou um curto tempo a altas temperaturas é recomendado para o processamento de produtos de mirtilo, como por exemplo, nas polpas do presente trabalho. Em estudo recente realizado por Siddiq e Dolan (2017), a enzima polifenoloxidase em mirtilo teve sua atividade significativamente reduzida em pH abaixo de 4,5; demonstrando que a degradação das antocianinas induzidas por PPO, que resulta na perda de cor, pode ser controlada por acidificação de produtos de mirtilo. Os mesmos autores concluíram que a atividade da PPO pode ser efetivamente controlada por um tratamento térmico de curta duração a 85 °C. Salienta-se que as polpas obtidas no presente estudo são adicionadas de ácido cítrico, proporcionando a acidificação do meio, e tratadas termicamente com temperaturas de até 90 °C, resultando em polpas com inativação da enzima PPO (tabela 1). Ndiaye, Xu e Wang (2009), ao tratarem termicamente mangas por branqueamento à temperatura de 94±1 °C por 7 minutos,

conseguiram inativar completamente a enzima PPO. Resultado semelhante foi obtido no presente estudo, já que as polpas tratadas termicamente com aplicação de vapor e condução em tacho a 90 °C tiveram a enzima PPO totalmente inativada.

## **4.2 Caracterização tecnológica do fruto e polpas**

### **4.2.1 Acidez, pH e teor de sólidos solúveis totais**

As determinações de acidez, pH e o teor de sólidos solúveis, contribuem para a apreciação objetiva do sabor dos frutos (SOUSA et al., 2007). Os valores obtidos de acidez total, pH e sólidos solúveis totais estão apresentados na tabela 2. As polpas obtiveram valores inferiores de acidez, pH e sólidos solúveis em comparação aos resultados obtidos pelo fruto. A menor acidez nas polpas em comparação ao fruto pode estar relacionada à degradação dos ácidos durante os tratamentos térmicos (FIORAVANTE et al., no prelo) e à diluição pela adição de água no processamento. Observou-se maior acidez durante todo o período de armazenamento nas polpas 2 (vapor e xantana 0,1 % m/m) e 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m), ambas com adição de xantana. Da Rocha Concenço et al. (2014) obtiveram resultados semelhantes de acidez ( $0,42 \pm 0,05$ ) em polpas de mirtilo tratadas por branqueamento a 90 °C durante 1 minuto, comparadas com as polpas obtidas neste trabalho, pH ( $3,30 \pm 0,03$ ) e sólidos solúveis ( $11,1 \pm 0,77$ ). Observou-se maior teor de sólidos solúveis totais nas polpas 2 (vapor e xantana 0,1 % m/m) e 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m), durante todo o armazenamento, ambas as polpas tratadas termicamente com vapor e adicionadas de xantana. De forma geral as polpas não diferiram quanto ao teor de sólidos solúveis totais durante o tempo de armazenamento, exceto o tratamento 3, que obteve uma pequena variação, aumentando nos 90 dias de armazenamento.

Tabela 2. Acidez total titulável (% ácido cítrico), pH e sólidos solúveis totais (°Brix) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)			
	Acidez Total Titulável			
	1	30	60	90
Polpa T1	0,32±0,00 <sup>aD</sup>	0,33±0,01 <sup>aC</sup>	0,29±0,00 <sup>bC</sup>	0,32±0,00 <sup>aB</sup>
Polpa T2	0,38±0,01 <sup>bcC</sup>	0,39±0,00 <sup>bB</sup>	0,37±0,01 <sup>cB</sup>	0,41±0,00 <sup>aA</sup>
Polpa T3	0,41±0,00 <sup>aB</sup>	0,43±0,01 <sup>aA</sup>	0,41±0,01 <sup>aA</sup>	0,42±0,02 <sup>aA</sup>
Polpa T4	0,31±0,01 <sup>bD</sup>	0,31±0,01 <sup>bC</sup>	0,30±0,01 <sup>bC</sup>	0,34±0,01 <sup>aB</sup>
Mirtilo	0,68±0,01 <sup>A</sup>	-	-	-
	pH			
Polpa T1	3,15±0,00 <sup>aB</sup>	3,02±0,00 <sup>cA</sup>	3,04±0,00 <sup>bB</sup>	3,04±0,01 <sup>bB</sup>
Polpa T2	3,15±0,02 <sup>aB</sup>	3,02±0,01 <sup>bA</sup>	3,04±0,02 <sup>bB</sup>	3,04±0,01 <sup>bB</sup>
Polpa T3	3,18±0,02 <sup>aB</sup>	3,04±0,02 <sup>cA</sup>	3,07±0,02 <sup>bcAB</sup>	3,10±0,01 <sup>bA</sup>
Polpa T4	3,16±0,02 <sup>aB</sup>	3,03±0,01 <sup>cA</sup>	3,09±0,01 <sup>bA</sup>	3,09±0,01 <sup>bA</sup>
Mirtilo	3,27±0,02 <sup>A</sup>	-	-	-
	Sólidos Solúveis Totais			
Polpa T1	5,70±0,00 <sup>aC</sup>	5,70±0,20 <sup>aC</sup>	5,70±0,00 <sup>aB</sup>	5,90±0,00 <sup>aB</sup>
Polpa T2	7,00±0,00 <sup>aB</sup>	7,00±0,00 <sup>aB</sup>	7,00±0,00 <sup>aA</sup>	7,5±0,50 <sup>aA</sup>
Polpa T3	7,00±0,00 <sup>bB</sup>	8,00±0,00 <sup>aA</sup>	7,00±0,50 <sup>bA</sup>	8,00±0,00 <sup>aA</sup>
Polpa T4	5,70±0,00 <sup>aC</sup>	5,70±0,00 <sup>aC</sup>	5,70±0,00 <sup>aB</sup>	5,80±0,90 <sup>aB</sup>
Mirtilo	12,27±0,68 <sup>A</sup>	-	-	-

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

#### 4.2.2 Cor

Os resultados da cor estão apresentados na tabela 3. Os valores de cor L (luminosidade) das polpas e do fruto de mirtilo foram baixos, indicando pouca luminosidade e, conseqüentemente, cor mais escura, devido ao tipo de pigmento antociânico presente. As polpas com presença de xantana na sua formulação (2, 3 e 4) apresentaram-se mais claras que a formulação 1 (sem adição de xantana). As polpas (2 e 3) com maiores teores de xantana mantiveram-se mais estáveis ao longo do período de armazenamento em relação a esse parâmetro. Com relação aos valores do ângulo Hue, pode-se observar que tanto o fruto quanto as polpas de

mirtilo obtiveram valores variando do rosa ao vermelho. A formulação 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) apresentou os maiores valores do ângulo Hue no armazenamento (exceto para os 60 dias), indicando predomínio da tonalidade vermelha. Embora o mirtilo se caracterize pela cor azulada da sua epiderme, a desintegração de seus tecidos e a adição de ácidos na elaboração de produtos como polpas, ocasiona a mudança de coloração. As antocianinas em pH mais elevado tendem aos tons azuis e, nessa condição, são menos estáveis, degradando-se e originando pigmentos amarronzados. Em pH mais reduzidos a cor tende ao vermelho e estas substâncias tornam-se mais estáveis (KUCK, 2012). Portanto, a acidificação é positiva sob o aspecto de manutenção do potencial antioxidante e de cores mais atrativas (DE SOUZA et al., 2013). A variação de pH exerce influência não apenas na cor das antocianinas, mas também na sua estabilidade (MARKAKIS, 1982). O parâmetro de cor  $a^*$  do fruto foi inferior aos valores obtidos das polpas, a polpa 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) apresentou os maiores valores da coordenada  $a^*$  durante o armazenamento, exceto para os 60 dias, resultando em uma tonalidade próxima ao vermelho. O parâmetro de cor  $b^*$  no fruto e nas polpas de mirtilo indicam baixa saturação de cor.

Da Rocha Concenção et al. (2014) em polpas de mirtilo tratadas por branqueamento a 90 °C durante 1 minuto encontraram resultados semelhantes quanto à luminosidade ( $24,55 \pm 0,82$ ), resultados próximos quanto ao parâmetro  $b^*$  ( $-0,54 \pm 0,08$ ) quando comparados com as polpas 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) e 4 (tacho e xantana 0,5 % m/m) e inferiores em relação ao parâmetro  $a^*$  ( $2,23 \pm 0,12$ ). Aos 28 dias de armazenamento de polpa de mirtilo tratada termicamente à 90°C por 10 minutos durante o processo de pasteurização, De Oliveira et al. (2015) obtiveram resultados semelhantes de luminosidade (20,83) às polpas deste trabalho no período de 30 dias de armazenamento, valores inferiores em relação à coordenada  $a^*$  (4,74) e superiores em relação a coordenada  $b^*$  (3,17). As coordenadas colorimétricas destes mesmos autores apresentaram uma degradação significativa ao longo do período de armazenamento (1 a 36 dias) diferentemente do presente estudo. Zambiasi et al. (2016), em *toppings* de mirtilo com adição de mel, encontraram valores semelhantes às polpas deste trabalho em relação aos parâmetros de cor:  $L^*$  (19,46 a 22,52), Hue (341,05 a 353,17),  $a^*$  (12,06 a 15,73) e  $b^*$  (-4,14 a -1,78). Em relação ao parâmetro diferença de cor total ( $\Delta E$ ), os resultados obtidos foram semelhantes entre os tratamentos, não

apresentando diferença estatística. Em polpas de mirtilo adicionadas de xantana e ácido cítrico, tratadas termicamente em tacho aberto, Kuck (2012) encontrou valores superiores de diferença de cor (10,80 a 13,79) em comparação ao presente estudo.

Tabela 3. Cor em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (20°C)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)			
	Luminosidade			
	1	30	60	90
Polpa T1	16,99±0,27 <sup>abC</sup>	18,20±0,44 <sup>aC</sup>	16,63±0,92 <sup>bB</sup>	14,70±0,27 <sup>cC</sup>
Polpa T2	18,66±0,07 <sup>cB</sup>	18,67±0,15 <sup>cC</sup>	21,77±0,25 <sup>aA</sup>	19,38±0,09 <sup>bB</sup>
Polpa T3	22,26±0,30 <sup>aA</sup>	23,28±0,61 <sup>aB</sup>	22,69±0,62 <sup>aA</sup>	20,45±0,01 <sup>bB</sup>
Polpa T4	23,32±0,55 <sup>aA</sup>	24,45±0,21 <sup>aA</sup>	22,58±0,75 <sup>aA</sup>	23,94±1,13 <sup>aA</sup>
Mirtilo	22,52±0,68 <sup>A</sup>	-	-	-
Amostras	Ângulo Hue			
	Luminosidade			
	1	30	60	90
Polpa T1	345,62±0,22 <sup>bB</sup>	345,67±0,34 <sup>bB</sup>	355,97±3,06 <sup>aA</sup>	346,62±0,62 <sup>bB</sup>
Polpa T2	345,69±0,23 <sup>cB</sup>	345,68±0,34 <sup>cB</sup>	352,57±0,07 <sup>aA</sup>	346,75±0,67 <sup>bB</sup>
Polpa T3	359,02±0,84 <sup>aA</sup>	357,29±0,59 <sup>abA</sup>	355,62±1,26 <sup>bA</sup>	356,89±0,53 <sup>abA</sup>
Polpa T4	345,45±0,27 <sup>bB</sup>	345,25±0,33 <sup>bB</sup>	352,52±0,10 <sup>aA</sup>	346,33±0,72 <sup>bB</sup>
Mirtilo	334,69±2,45 <sup>C</sup>	-	-	-
Amostras	Coordenada a*			
	Luminosidade			
	1	30	60	90
Polpa T1	11,52±0,12 <sup>bB</sup>	12,29±0,24 <sup>bB</sup>	23,97±2,88 <sup>aA</sup>	11,67±0,10 <sup>bBC</sup>
Polpa T2	11,53±0,13 <sup>cB</sup>	12,33±0,26 <sup>abB</sup>	12,38±0,19 <sup>aB</sup>	11,88±0,13 <sup>bcB</sup>
Polpa T3	15,64±0,22 <sup>aA</sup>	15,31±0,35 <sup>abA</sup>	14,09 ±0,23 <sup>cB</sup>	14,66±0,34 <sup>bcA</sup>
Polpa T4	10,63±0,12 <sup>bC</sup>	10,61±0,54 <sup>bC</sup>	12,08±0,06 <sup>aB</sup>	11,00±0,41 <sup>bC</sup>
Mirtilo	8,54±0,16 <sup>D</sup>	-	-	-
Amostras	Coordenada b*			
	Luminosidade			
	1	30	60	90
Polpa T1	-4,92±0,51 <sup>bD</sup>	-3,65±0,13 <sup>abD</sup>	-2,35±1,22 <sup>aA</sup>	-5,18±0,44 <sup>bD</sup>
Polpa T2	-2,94±0,08 <sup>bcB</sup>	-3,15±0,03 <sup>cC</sup>	-1,61±0,04 <sup>aA</sup>	-2,80±0,16 <sup>bC</sup>
Polpa T3	-0,27±0,22 <sup>aA</sup>	-0,72±0,14 <sup>abB</sup>	-1,08±0,30 <sup>bA</sup>	-0,79±0,12 <sup>abB</sup>
Polpa T4	-0,60±0,17 <sup>aA</sup>	-0,14±0,07 <sup>aA</sup>	-0,70±0,74 <sup>aA</sup>	-0,04±0,04 <sup>aA</sup>
Mirtilo	-4,04±0,37 <sup>C</sup>	-	-	-
Diferença de cor ( $\Delta E$ )				
Polpa T1	Polpa T2	Polpa T3	Polpa T4	
2,42±0,58 <sup>A</sup>	0,85±0,18 <sup>A</sup>	2,14±0,48 <sup>A</sup>	1,43±0,96 <sup>A</sup>	

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p≤0,05). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

### 4.3 Compostos fenólicos bioativos

#### 4.3.1 Fenóis totais

Os resultados de compostos fenólicos totais estão apresentados na tabela 4. Zambiasi et al. (2016) ao determinarem os compostos fenólicos totais em mirtilos cultivados na cidade de Morro Redondo-RS, mesmo local de cultivo dos mirtilos utilizados neste estudo, obtiveram uma concentração de 1529,13 mg ácido gálico 100g<sup>-1</sup>. Pertuzatti (2009) encontrou valores de 876,53 mg ácido gálico 100g<sup>-1</sup> em mirtilos da variedade Powderblue cultivados na região de Pelotas. As concentrações destes compostos em frutas podem variar de acordo com a espécie, cultivar, local de cultivo e estação do ano (CHITARRA; CHITARRA, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2004). Na tabela 4 observa-se que, relativamente aos compostos fenólicos totais, as polpas obtidas com aquecimento prévio com vapor tiveram, em todos os tempos, maiores concentrações, provavelmente pela ação extrativa do vapor, uma vez que os tempos e as temperaturas dos tratamentos foram semelhantes. Todas as polpas tiveram elevados percentuais de retenção dos compostos fenólicos em função do período de armazenamento. Apenas a partir dos 60 dias de armazenamento observou-se diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos com aplicação de vapor, sendo a formulação com maior teor de xantana a que promoveu maior retenção desses compostos. Isso se deve à ação encapsuladora (SUTHERLAND, 1993) e antioxidante da xantana (XIONG et al., 2014).

Tabela 4. Compostos fenólicos totais (mg ácido gálico 100g<sup>-1</sup>) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				Retenção (%)
	1	30	60	90	
Polpa T1	518,90±16,74 <sup>aB</sup>	486,73±13,47 <sup>aA</sup>	465,92±15,65 <sup>aB</sup>	493,89±30,64 <sup>aAB</sup>	95,33±8,11 <sup>A</sup>
Polpa T2	486,72±13,23 <sup>aB</sup>	452,78±3,07 <sup>bA</sup>	441,40±3,34 <sup>bB</sup>	484,78±10,15 <sup>aB</sup>	99,67±4,26 <sup>A</sup>
Polpa T3	530,44±2,30 <sup>aB</sup>	493,90±27,00 <sup>aA</sup>	515,34±27,97 <sup>aA</sup>	539,69±7,32 <sup>aA</sup>	101,74±0,95 <sup>A</sup>
Polpa T4	256,01±2,45 <sup>aC</sup>	226,32±17,25 <sup>aB</sup>	224,67±12,91 <sup>aC</sup>	231,16±16,31 <sup>aC</sup>	90,34±7,13 <sup>A</sup>
Mirtilo	615,74±38,09 <sup>A</sup>	-	-	-	

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p≤0,05). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

#### 4.3.2 Flavonoides totais

Os resultados de flavonoides totais estão apresentados na tabela 5. Zambiasi et al. (2016) e Fioravante et al. (no prelo), encontraram uma concentração de 264,05 mg quercetina 100g<sup>-1</sup> e 115,66±4,16 mg catequina 100g<sup>-1</sup> de flavonoides totais, respectivamente, em mirtilos cultivados na cidade de Morro Redondo-RS, mesmo local de cultivo dos mirtilos utilizados neste estudo. Os flavonoides totais demonstraram comportamento semelhante aos compostos fenólicos, pois as polpas obtidas com aquecimento prévio com vapor tiveram também, em todos os tempos, maiores concentrações, evidenciando que o método pode evitar a degradação desses compostos. A polpa 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) apresentou a maior concentração de flavonoides no tempo inicial e 60 dias, demonstrando que a xantana pode minimizar a perda destes compostos. Todas as polpas tiveram elevados percentuais de retenção dos flavonoides em função do período de armazenamento. Estudos relatam que a xantana possui ação encapsuladora sobre compostos corantes e aromatizantes (GUICHARD, 2002). Fioravante et al. (no prelo), ao elaborar polpas de mirtilo com aquecimento prévio dos frutos com vapor, obteve um teor de retenção de flavonoides totais próximo aos 60 % no tempo inicial de armazenamento em relação ao fruto. Neste estudo obteve-se um percentual de

retenção acima de 70 % no tempo inicial em comparação ao fruto para as polpas obtidas com tratamento térmico com vapor, evidenciando que a utilização do equipamento com fechamento hermético para a aplicação de vapor preserva os compostos sensíveis a temperaturas mais elevadas e auxilia a sua extração.

Tabela 5. Flavonoides totais (mg catequina 100g<sup>-1</sup>) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				Retenção (%)
	1	30	60	90	
Polpa T1	320,88±17,61 <sup>abB</sup>	290,76±8,49 <sup>bA</sup>	304,92±30,01 <sup>abB</sup>	362,99±26,58 <sup>aA</sup>	113,65±20,37 <sup>A</sup>
Polpa T2	327,62±8,13 <sup>bB</sup>	293,59±6,87 <sup>cA</sup>	287,64±4,34 <sup>cB</sup>	353,11±1,44 <sup>aA</sup>	107,82±2,69 <sup>AB</sup>
Polpa T3	425,97±10,86 <sup>Aa</sup>	332,70±25,26 <sup>bA</sup>	379,77±30,03 <sup>abA</sup>	381,07±25,46 <sup>abA</sup>	89,53±6,81 <sup>B</sup>
Polpa T4	177,16±6,40 <sup>aC</sup>	152,76±17,43 <sup>aB</sup>	165,25±9,95 <sup>aC</sup>	157,96±10,94 <sup>aB</sup>	89,11±3,69 <sup>B</sup>
Mirtilo	458,33±36,44 <sup>A</sup>	-	-	-	

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p≤0,05). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

### 4.3.3 Antocianinas monoméricas

As antocianinas monoméricas estão apresentadas na tabela 6. Rodrigues (2010) encontrou um teor de 15,47 mg cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> de antocianinas monoméricas para a cultivar Powderblue. Fioravante et al. (no prelo) obteve uma concentração de 20,68 mg cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup> em uma mistura comercial de mirtilos constituído pelas cultivares Powderblue, Clímax e Bluegen, cultivados em Morro Redondo - RS. Ambos os autores utilizando o método de pH diferencial e obtiveram resultados próximos ao encontrado neste estudo. O tratamento 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) foi o que apresentou maiores valores de antocianinas monoméricas ao longo do período de armazenamento, demonstrando a eficiência do tratamento térmico com vapor associado a adição de xantana. Todos os tratamentos apresentaram elevados percentuais de retenção de antocianinas em função do período de armazenamento. A xantana possui ação encapsuladora sobre compostos, relaciona-se esta retenção com mecanismos que envolvem interações

moleculares específicas que promovem adsorção, retenção em microrregiões, complexação, encapsulação e formação de pontes de hidrogênio (GODSHALL, 1997; KINSELLA, 1989).

Ao elaborar polpa de mirtilos com aquecimento prévio dos frutos com vapor e adição de 0,1% de xantana, Fioravante et al. (no prelo) obteve um teor de retenção de antocianinas monoméricas totais de 47,15 % no tempo inicial de armazenamento em relação ao fruto; no presente estudo obteve-se um percentual de retenção de 58,07 % no tempo inicial em comparação ao fruto, evidenciando que a utilização de equipamento adaptado com fechamento hermético para a aplicação de vapor associado a uma maior concentração de xantana, proporciona uma maior preservação destes compostos durante o processamento e também ao longo do armazenamento do produto. Maior teor de antocianinas também foi observado por Rodrigues et al. (2010) no tempo inicial e após 120 dias de armazenamento de *topping* de mirtilo formulado com xantana e ácido cítrico.

Tabela 6. Antocianinas monoméricas (mg cianidina-3-glicosídeo 100g<sup>-1</sup>) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				Retenção (%)
	1	30	60	90	
Polpa T1	5,31±0,31 <sup>Abc</sup>	3,31±0,04 <sup>bAB</sup>	4,95±0,14 <sup>aB</sup>	5,26±0,22 <sup>aB</sup>	99,42±8,55 <sup>A</sup>
Polpa T2	5,99±0,15 <sup>aB</sup>	3,55±0,28 <sup>cAB</sup>	5,23±0,04 <sup>bB</sup>	5,84±0,21 <sup>aAB</sup>	97,40±2,95 <sup>A</sup>
Polpa T3	6,55±0,13 <sup>aB</sup>	4,18±0,69 <sup>bA</sup>	6,53±0,55 <sup>aA</sup>	6,65±0,22 <sup>aA</sup>	101,62±2,43 <sup>A</sup>
Polpa T4	3,79±0,04 <sup>aC</sup>	2,66±0,19 <sup>bB</sup>	3,09±0,28 <sup>abC</sup>	3,19±0,51 <sup>abC</sup>	84,11±13,66 <sup>A</sup>
Mirtilo	11,28±1,40 <sup>A</sup>	-	-	-	

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p≤0,05). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

#### 4.3.4 Taninos hidrolisáveis e condensados

A polpa 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m), foi a que apresentou os valores mais elevados de taninos hidrolisáveis (tabela 7) durante o armazenamento.

Semelhantemente aos taninos condensados, os maiores valores de retenção foram observados nos tratamentos adicionados de xantana, com destaque para o tratamento 2 (vapor e xantana 0,1 % m/m). Os maiores valores de taninos condensados (tabela 7) foram encontrados nos tratamentos T2 (vapor e xantana 0,1 % m/m) e 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m), ambos utilizando vapor no tratamento térmico associados à adição de xantana. Todas as polpas que foram adicionadas de xantana tiveram elevados percentuais de retenção dos taninos condensados em função do período de armazenamento. É possível observar uma maior concentração de taninos condensados nas polpas do que de taninos hidrolisáveis, sensorialmente um aspecto positivo pois, segundo Pertuzatti (2009), os taninos condensados apresentam baixa capacidade de complexação com proteínas do que os taninos hidrolisáveis, resultando em menor adstringência. Pertuzatti (2009) obteve os resultados de 194,37 mg catequina 100g<sup>-1</sup> de taninos condensados e 0,92 mg ácido gálico 100g<sup>-1</sup> de taninos hidrolisáveis em mirtilo da cultivar Powderblue, a mesma cultivar utilizada neste estudo, porém obteve resultados inferiores.

Tabela 7. Taninos hidrolisáveis (mg ácido gálico 100g<sup>-1</sup>) e taninos condensados (mg catequina 100g<sup>-1</sup>) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				
	Taninos hidrolisáveis				
	1	30	60	90	Retenção (%)
Polpa T1	380,55±37,56 <sup>bE</sup>	1101,73±12,48 <sup>aB</sup>	390,54±66,02 <sup>bD</sup>	356,90±28,79 <sup>bD</sup>	94,30±10,39 <sup>C</sup>
Polpa T2	1427,57±55,08 <sup>bcC</sup>	1171,62±9,03 <sup>cB</sup>	1529,37±196,05 <sup>bbB</sup>	2222,23±29,35 <sup>aB</sup>	155,86±7,57 <sup>A</sup>
Polpa T3	1822,55±25,05 <sup>cB</sup>	1695,32±165,62 <sup>caA</sup>	2766,92±42,14 <sup>aA</sup>	2478,70±21,29 <sup>baA</sup>	136,03±2,84 <sup>AB</sup>
Polpa T4	960,34±78,57 <sup>cD</sup>	1265,57±54,82 <sup>aB</sup>	1110,66±52,90 <sup>bC</sup>	1183,59±32,27 <sup>abC</sup>	123,84±11,21 <sup>B</sup>
Mirtilo	5869,15±41,94 <sup>A</sup>	-	-	-	
Taninos condensados					
Polpa T1	1918,66±54,77 <sup>aC</sup>	1968,38±107,99 <sup>aB</sup>	1635,82±140,57 <sup>bC</sup>	1541,12±6,55 <sup>bB</sup>	80,36±1,99 <sup>B</sup>
Polpa T2	2859,33±158,85 <sup>bbB</sup>	2655,11±43,81 <sup>baA</sup>	2658,87±158,45 <sup>bbB</sup>	3273,73±169,46 <sup>aA</sup>	114,80±9,88 <sup>A</sup>
Polpa T3	3187,38±33,01 <sup>aB</sup>	2411,77±165,73 <sup>baA</sup>	3307,57±190,61 <sup>aA</sup>	3236,34±61,60 <sup>aA</sup>	101,55±2,79 <sup>A</sup>
Polpa T4	1503,18±19,32 <sup>aC</sup>	1671,16±123,71 <sup>aB</sup>	1635,80±74,85 <sup>aC</sup>	1561,14±33,95 <sup>aB</sup>	103,86±1,78 <sup>A</sup>
Mirtilo	5180,00±304,74 <sup>A</sup>	-	-	-	

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p≤0,05). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

### 4.3.5 Compostos fenólicos individuais

No mirtilo e nas polpas foram identificados ácidos fenólicos simples, flavonoides não antociânicos e antocianinas.

#### 4.3.5.1 Ácidos fenólicos individuais

O perfil qualitativo dos ácidos gálico, clorogênico, hidroxibenzoico, cafeico, siríngico e ferúlico obtido por CLAE – EM pode ser observado na tabela 8.

Tabela 8. Perfil qualitativo por CLAE-EM dos ácidos fenólicos identificados em mirtilos e polpas de mirtilo

Tempo de retenção (min)	Composto	m/z experimental [M-H] <sup>-</sup>	m/z teórica	Erro (ppm)	Fórmula molecular [M-H] <sup>-</sup>
2,83	Ácido gálico	169.0132	169.0142	10.7	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>5</sub>
5,75	Ácido clorogênico	353.0876	353.0878	0.5	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>
5,92	Ácido hidroxibenzoico	137.0236	137.0244	5.6	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub>
6,28	Ácido cafeico	179.0338	179.0350	1.3	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> O <sub>4</sub>
6,49	Ácido siríngico	197.0445	197.0455	4.7	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O <sub>5</sub>
7,67	Ácido ferúlico	193.0495	193.0506	3.4	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub>

CLAE-EM = cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas.

Os ácidos fenólicos são caracterizados por possuírem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes para os vegetais (Soares, 2002).

Os ácidos identificados no presente trabalho já tiveram anteriormente relatada sua presença em mirtilos da variedade Powderblue (KONDA, 2014; PERTUZATTI et al., 2012; YI et al., 2005), exceto o ácido siríngico. A tabela 9 contém a concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) dos ácidos fenólicos identificados no mirtilo e nas polpas produzidas pelos diferentes tratamentos.

Tabela 9. Ácidos fenólicos individuais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado ( $-20^{\circ}\text{C}$ )

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				Retenção (%)
	Ácido gálico				
	1	30	60	90	
Polpa T1	2,85±0,04 <sup>aA</sup>	2,80±0,03 <sup>abA</sup>	2,71±0,03 <sup>cB</sup>	2,73±0,03 <sup>bcB</sup>	96,03±1,59 <sup>C</sup>
Polpa T2	2,18±0,02 <sup>bB</sup>	2,12±0,04 <sup>Bb</sup>	2,12±0,01 <sup>bC</sup>	2,30±0,04 <sup>aC</sup>	105,65±1,01 <sup>AB</sup>
Polpa T3	2,82±0,02 <sup>bA</sup>	2,82±0,06 <sup>Ba</sup>	2,99±0,08 <sup>aA</sup>	2,92±0,02 <sup>abA</sup>	103,67±0,74 <sup>B</sup>
Polpa T4	0,85±0,00 <sup>dD</sup>	0,97±0,01 <sup>aC</sup>	0,95±0,00 <sup>bD</sup>	0,92±0,01 <sup>cD</sup>	108,24±0,00 <sup>A</sup>
Mirtilo	1,47±0,00 <sup>C</sup>	-	-	-	
Ácido cafeico					
Polpa T1	3,07±0,16 <sup>aA</sup>	2,94±0,09 <sup>abA</sup>	2,73±0,13 <sup>ba</sup>	2,91±0,05 <sup>abA</sup>	95,53±6,02 <sup>B</sup>
Polpa T2	2,41±0,03 <sup>bC</sup>	2,33±0,02 <sup>Cc</sup>	2,37±0,02 <sup>bcB</sup>	2,60±0,02 <sup>abB</sup>	107,91±2,32 <sup>A</sup>
Polpa T3	2,67±0,04 <sup>bB</sup>	2,69±0,05 <sup>Bb</sup>	2,88±0,03 <sup>aA</sup>	2,65±0,02 <sup>bB</sup>	99,40±2,51 <sup>AB</sup>
Polpa T4	1,23±0,01 <sup>dE</sup>	1,47±0,03 <sup>aD</sup>	1,38±0,01 <sup>bC</sup>	1,29±0,04 <sup>cC</sup>	105,45±3,33 <sup>AB</sup>
Mirtilo	1,71±0,05 <sup>D</sup>	-	-	-	
Ácido ferúlico					
Polpa T1	2,69±0,07 <sup>ba</sup>	2,65±0,04 <sup>Ba</sup>	2,88±0,05 <sup>aA</sup>	2,67±0,12 <sup>ba</sup>	100,52±4,56 <sup>A</sup>
Polpa T2	2,58±0,09 <sup>aAB</sup>	1,97±0,10 <sup>cB</sup>	2,07±0,12 <sup>bcC</sup>	2,29±0,04 <sup>bbB</sup>	88,98±4,84 <sup>B</sup>
Polpa T3	2,34±0,11 <sup>aC</sup>	2,53±0,05 <sup>aA</sup>	2,32±0,12 <sup>aB</sup>	2,40±0,05 <sup>aB</sup>	102,66±3,27 <sup>A</sup>
Polpa T4	0,94±0,06 <sup>aD</sup>	0,90±0,11 <sup>aC</sup>	1,06±0,03 <sup>aD</sup>	1,00±0,04 <sup>aC</sup>	106,46±2,54 <sup>A</sup>
Mirtilo	2,45±0,05 <sup>BC</sup>	-	-	-	
Ácido siríngico					
Polpa T1	3,06±0,35 <sup>aA</sup>	2,79±0,10 <sup>aA</sup>	3,31±0,42 <sup>aA</sup>	3,03±0,24 <sup>aA</sup>	97,36±13,27 <sup>A</sup>
Polpa T2	2,10±0,03 <sup>aB</sup>	2,06±0,06 <sup>aB</sup>	2,00±0,09 <sup>aB</sup>	2,00±0,13 <sup>aB</sup>	95,25±6,72 <sup>A</sup>
Polpa T3	2,16±0,14 <sup>abB</sup>	2,11±0,15 <sup>abB</sup>	2,43±0,42 <sup>abB</sup>	2,20±0,06 <sup>abB</sup>	102,08±5,78 <sup>A</sup>
Polpa T4	0,90±0,04 <sup>aC</sup>	1,02±0,04 <sup>aC</sup>	0,85±0,04 <sup>aC</sup>	1,00±0,13 <sup>aC</sup>	111,61±18,55 <sup>A</sup>
Mirtilo	2,81±0,51 <sup>AB</sup>	-	-	-	

(continuação)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				Retenção (%)		
	Ácido clorogênico						
	1	30	60	90			
Polpa T1	230,90±9,12 <sup>abA</sup>	238,25±7,93 <sup>aAB</sup>	153,13±3,64 <sup>cC</sup>	218,25±1,60 <sup>bC</sup>	94,41±3,38 <sup>C</sup>		
Polpa T2	233,25±2,71 <sup>bA</sup>	231,40±3,12 <sup>bB</sup>	228,85±2,81 <sup>bB</sup>	243,91±0,55 <sup>aB</sup>	104,58±1,39 <sup>B</sup>		
Polpa T3	224,49±4,26 <sup>cA</sup>	250,77±2,86 <sup>bA</sup>	266,90±2,29 <sup>aA</sup>	260,86±1,76 <sup>aA</sup>	116,24±2,62 <sup>A</sup>		
Polpa T4	133,25±0,33 <sup>bB</sup>	152,43±5,63 <sup>aC</sup>	150,32±1,33 <sup>aC</sup>	147,97±1,90 <sup>aD</sup>	111,05±1,50 <sup>A</sup>		
Mirtilo	239,53±24,46 <sup>A</sup>	-	-	-			
Amostras	Ácido hidroxibenzoico				Retenção (%)		
	Polpa T1	4,08±0,17 <sup>aA</sup>	3,91±0,08 <sup>aA</sup>	3,95±0,23 <sup>aA</sup>		4,24±0,03 <sup>aA</sup>	103,78±3,87 <sup>B</sup>
	Polpa T2	2,93±0,17 <sup>bB</sup>	3,13±0,13 <sup>bB</sup>	3,14±0,23 <sup>bB</sup>		3,99±0,15 <sup>aA</sup>	136,04±3,69 <sup>A</sup>
	Polpa T3	3,18±0,06 <sup>cB</sup>	3,65±0,18 <sup>bcA</sup>	3,99±0,34 <sup>abA</sup>		4,33±0,34 <sup>aA</sup>	136,46±13,03 <sup>A</sup>
	Polpa T4	1,52±0,07 <sup>bC</sup>	1,64±0,11 <sup>abC</sup>	1,83±0,02 <sup>aC</sup>		1,53±0,08 <sup>bB</sup>	100,46±3,90 <sup>B</sup>
	Mirtilo	3,86±0,26 <sup>A</sup>	-	-		-	

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p≤0,05). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

Como esperado, dos ácidos fenólicos individuais (tabela 9), o clorogênico foi encontrado em maior quantidade nas amostras, pois segundo Rodriguez-Mateos et al. (2012) e Wang et al. (2012), o ácido clorogênico é o ácido hidroxicinâmico predominante em mirtilos. Skrede, Wrolstad e Durst (2000) encontraram resultados próximos ao presente estudo em mirtilos frescos (270 µg g<sup>-1</sup>). De acordo com o estudo de Konda (2014), a cultivar Powderblue está entre as cultivares com maior teor de ácido clorogênico. Wang et al. (2017) obtiveram resultados inferiores dos ácidos cafeico e ferúlico em comparação ao mirtilo deste trabalho; nas 14 cultivares de mirtilo analisadas encontraram resultados que variaram de 0,004±0,00 a 0,34±0,00 µg g<sup>-1</sup> para o ácido cafeico e 0,26±0,01 a 1,85±0,01 µg g<sup>-1</sup> para o ácido ferúlico. Figueira et al. (2016) alcançaram resultados superiores aos ácidos cafeico e clorogênico, em comparação ao mirtilo deste estudo, na cultivar de mirtilo produzida em Portugal; tiveram resultados de

17,00±0,20 µg g<sup>-1</sup> e 1019,00±2,00 µg g<sup>-1</sup>, respectivamente. Moreno et al. (2016) encontraram uma concentração 1687±5,00 µg g<sup>-1</sup> de ácido gálico em mirtilos Tifblue produzidos no Chile, valor superior ao presente estudo. Pertuzatti et al. (2012) obtiveram concentrações de 2940,90 µg g<sup>-1</sup> de ácido gálico, 1351,50 µg g<sup>-1</sup> de ácido hidroxibenzoico e 4,80 µg g<sup>-1</sup> de ácido ferúlico em mirtilos da variedade Powderblue cultivados na região de Pelotas. A polpa 3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) foi a que apresentou os maiores valores de ácido gálico e clorogênico ao longo do período de armazenamento e as maiores concentrações do ácido hidroxibenzoico a partir dos 60 dias, evidenciando a importância do tratamento térmico associado a maior concentração de xantana para estes compostos. De forma geral, todos os ácidos fenólicos individuais encontrados nas polpas tiveram elevados valores de retenção ao longo do armazenamento. Possivelmente pela ação extrativa do vapor, as polpas obtidas com aquecimento prévio com vapor tiveram, em todos os tempos, maiores concentrações dos flavonoides individuais (tabela 11) e ácidos fenólicos individuais (tabela 9), com exceção do T1 (apenas vapor) aos 60 dias em relação ao ácido clorogênico, confirmando os resultados obtidos de compostos fenólicos totais (tabela 4).

#### 4.3.5.2 Flavonoides individuais

Na tabela 10 está disposto o perfil qualitativo dos flavonoides catequina, epicatequina, miricetina, quercetina e caempferol obtido por CLAE-EM.

Tabela 10. Perfil qualitativo por CLAE-EM dos flavonoides identificados em frutos e polpas de mirtilo

Tempo de retenção (min)	Composto	m/z experimental [M-H] <sup>-</sup>	m/z teórica	Erro (ppm)	Fórmula molecular [M-H] <sup>-</sup>
5,68	Catequina	289.0707	289.0718	2.6	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> O <sub>6</sub>
6,18	Epicatequina	289.0707	289.0718	2.9	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> O <sub>6</sub>
8,22	Miricetina	317.0284	317.0303	6.1	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>8</sub>
9,24	Quercetina	301.0343	301.0340	-1.0	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>7</sub>
10,21	Caempferol	285.0393	285.0405	3.8	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub>

CLAE-EM = cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas.

Os flavonoides são uma classe de compostos fenólicos que diferem entre si pela sua estrutura química e características particulares, estando presentes em

diversos vegetais (NIJVELDT et al., 2001). Possuem uma estrutura básica formada por C6-C3-C6, sendo os compostos mais diversificados do reino vegetal (SOARES, 2002).

Os flavonoides aqui relatados já foram anteriormente identificados em mirtilos da variedade Powderblue (KONDA, 2014; PERTUZATTI et al., 2012; YI et al., 2005), exceto a epicatequina. Na tabela 11 estão dispostas as concentrações ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) dos flavonoides identificados.

Tabela 11. Flavonoides individuais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado ( $-20^{\circ}\text{C}$ )

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				
	Catequina				
	1	30	60	90	Retenção (%)
Polpa T1	22,88±0,83 <sup>aA</sup>	19,89±0,33 <sup>abA</sup>	18,23±1,71 <sup>ba</sup>	17,95±1,50 <sup>ba</sup>	76,46±3,86 <sup>B</sup>
Polpa T2	15,42±0,20 <sup>Abc</sup>	13,88±0,84 <sup>bB</sup>	12,97±0,27 <sup>bB</sup>	15,67±0,38 <sup>aB</sup>	101,64±3,14 <sup>A</sup>
Polpa T3	13,89±1,17 <sup>aC</sup>	12,81±0,79 <sup>aB</sup>	13,80±0,15 <sup>aB</sup>	13,72±0,15 <sup>aB</sup>	99,26±8,68 <sup>A</sup>
Polpa T4	5,63±0,09 <sup>bD</sup>	6,48±0,17 <sup>aC</sup>	6,23±0,12 <sup>aC</sup>	5,99±0,35 <sup>abC</sup>	106,42±4,94 <sup>A</sup>
Mirtilo	17,13±0,50 <sup>B</sup>	-	-	-	
Epicatequina					
Polpa T1	3,46±0,24 <sup>aA</sup>	2,82±0,08 <sup>abA</sup>	2,70±0,42 <sup>ba</sup>	3,08±0,06 <sup>abA</sup>	88,89±5,88 <sup>A</sup>
Polpa T2	2,83±0,09 <sup>aB</sup>	2,29±0,03 <sup>bB</sup>	2,19±0,09 <sup>ba</sup>	2,74±0,24 <sup>aB</sup>	97,06±11,40 <sup>A</sup>
Polpa T3	2,79±0,35 <sup>aB</sup>	2,40±0,06 <sup>aB</sup>	2,39±0,19 <sup>aA</sup>	2,68±0,04 <sup>aB</sup>	97,16±13,37 <sup>A</sup>
Polpa T4	1,06±0,01 <sup>abC</sup>	1,12±0,09 <sup>abC</sup>	1,24±0,09 <sup>aB</sup>	1,03±0,09 <sup>bC</sup>	97,45±8,28 <sup>A</sup>
Mirtilo	3,53±0,23 <sup>A</sup>	-	-	-	
Quercetina					
Polpa T1	1,23±0,08 <sup>aB</sup>	1,25±0,13 <sup>aB</sup>	1,30±0,06 <sup>aB</sup>	1,28±0,13 <sup>aC</sup>	106,88±9,95 <sup>B</sup>
Polpa T2	1,24±0,06 <sup>bB</sup>	1,19±0,04 <sup>bB</sup>	1,30±0,03 <sup>bB</sup>	1,61±0,14 <sup>aB</sup>	129,70±7,50 <sup>A</sup>
Polpa T3	2,00±0,04 <sup>ba</sup>	1,92±0,07 <sup>ba</sup>	2,31 ±0,09 <sup>aA</sup>	2,19±0,06 <sup>aA</sup>	109,71±3,95 <sup>AB</sup>
Polpa T4	0,49±0,02 <sup>aD</sup>	0,58±0,03 <sup>aC</sup>	0,57±0,07 <sup>aC</sup>	0,48±0,04 <sup>aD</sup>	99,49±10,01 <sup>B</sup>
Mirtilo	0,76±0,07 <sup>C</sup>	-	-	-	

(continuação)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				Retenção (%)
	Miricetina				
	1	30	60	90	
Polpa T1	7,10±0,13 <sup>aA</sup>	7,10±0,05 <sup>aA</sup>	6,90±0,03 <sup>bA</sup>	6,91±0,02 <sup>bA</sup>	97,44±1,85 <sup>B</sup>
Polpa T2	5,27±0,14 <sup>abC</sup>	5,16±0,06 <sup>b</sup> c	5,24±0,02 <sup>abC</sup>	5,43±0,08 <sup>aC</sup>	103,06±1,38 <sup>A</sup>
Polpa T3	5,64±0,11 <sup>aB</sup>	5,57±0,10 <sup>aB</sup>	5,65±0,06 <sup>aB</sup>	5,72±0,12 <sup>aB</sup>	101,54±1,29 <sup>A</sup>
Polpa T4	2,35±0,01 <sup>cD</sup>	2,51±0,06 <sup>a</sup> D	2,48±0,07 <sup>abD</sup>	2,36±0,01 <sup>bcD</sup>	100,29±0,65 <sup>AB</sup>
Mirtilo	5,07±0,05 <sup>C</sup>	-	-	-	
Caempferol					
Polpa T1	0,24±0,01 <sup>aA</sup>	0,24±0,00 <sup>aA</sup>	0,22±0,00 <sup>bA</sup>	0,24±0,00 <sup>Aa</sup>	100,12±4,18 <sup>A</sup>
Polpa T2	0,17±0,00 <sup>bB</sup>	0,17±0,00 <sup>bB</sup>	0,17±0,00 <sup>bC</sup>	0,18±0,00 <sup>aB</sup>	104,41±2,94 <sup>A</sup>
Polpa T3	0,18±0,00 <sup>aB</sup>	0,18±0,01 <sup>aB</sup>	0,19±0,01 <sup>aB</sup>	0,18±0,00 <sup>Ab</sup>	102,86±3,30 <sup>A</sup>
Polpa T4	0,07±0,01 <sup>aC</sup>	0,07±0,01 <sup>a</sup> c	0,07±0,01 <sup>aD</sup>	0,07±0,01 <sup>Ac</sup>	100,45±10,9 <sup>A</sup>
Mirtilo	0,17±0,01 <sup>B</sup>	-	-	-	

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p≤0,05). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

Dentre os flavonoides individuais (tabela 11) encontrados nas amostras de frutas e polpas de mirtilo, a catequina foi o composto encontrado em maior abundância, confirmando os elevados resultados obtidos de taninos condensados (tabela 7), já que esses tipos de taninos são formados pela polimerização de unidades de flavonoides, predominantemente a catequina (TAIZ; ZEIGER, 2004). Wang et al. (2017) obtiveram resultados inferiores de catequina e superiores de quercetina em comparação ao mirtilo deste trabalho; nas 14 cultivares de mirtilos analisadas obtiveram resultados que variaram de 1,80±0,01 a 3,38±0,01 µg g<sup>-1</sup> de

catequina e  $2,66 \pm 0,01$  a  $2,02 \pm 0,01$   $\mu\text{g g}^{-1}$  de quercetina. Pertuzatti et al. (2012) obtiveram concentrações de  $817,50$   $\mu\text{g g}^{-1}$  de miricetina,  $70,40$   $\mu\text{g g}^{-1}$  de quercetina,  $408,3$   $\mu\text{g g}^{-1}$  de caempferol e  $25,9$   $\mu\text{g g}^{-1}$  de catequina em mirtilos da variedade Powderblue cultivados na região de Pelotas. Zhao et al. (2017), ao tratarem termicamente frutos de mirtilheiro por ebulição em água durante os tempos de 1, 3 e 10 minutos, obtiveram percentuais de retenção de 92,9, 92,4 e 91,9 % de catequina, respectivamente. Nas polpas de mirtilo do presente estudo, no tempo inicial, verificou-se uma variação da retenção de catequina de 32,87 a 133,57 %, em comparação ao fruto, sendo que as polpas tratadas termicamente com vapor tiveram teores de retenção acima de 80 %, demonstrando a eficiência do tratamento com aplicação de vapor na preservação deste composto. A polpa do T3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) foi a que apresentou os maiores teores de quercetina ao longo do período de armazenamento, confirmando a eficiência do tratamento térmico com vapor e ressaltando a importância da xantana para este composto. De forma geral, todos os flavonoides individuais encontrados nas polpas tiveram elevada retenção ao longo do armazenamento, corroborando, dessa maneira, os valores obtidos para flavonoides totais (tabela 5).

#### 4.3.5.3 Antocianinas individuais

A tabela 12 contém o perfil qualitativo das antocianinas identificadas por CLAE-EM no mirtilo e polpas obtidas mediante os diferentes tratamentos.

Tabela 12. Perfil qualitativo por CLAE-EM de antocianinas identificadas em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado ( $-20^{\circ}\text{C}$ )

TR [min]	$m/z$ Experimental [M+H] <sup>+</sup>	$m/z$ teórica [M+H] <sup>+</sup>	Erro [ppm]	$m/z$ fragmentação	Energia de colisão (eV)	Fórmula molecular	$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	Identificação
5.23	465.1032	465.1028	-0.9	303.0502	33.3	$\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_{12}$	523	Delfinidina-3-O-galactosídeo
5.43	449.1075	449.1078	0.6	287.0552	32.5	$\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_{11}$	518	Cianidina-3-O-monoglicosídeo
5.53	479.1183	479.1184	0.2	317.0657	34.0	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{O}_{12}$	518	Petunidina-3-O-monoglicosídeo
6.09	463.1237	463.1235	-0.5	301.0711	33.2	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{O}_{11}$	523	Peonidina-3-O-monoglicosídeo
5.96	493.1344	493.1341	-0.7	331.0816	34.7	$\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_{12}$	523	Malvidina-3-O-monoglicosídeo

TR = tempo de retenção; CLAE-EM = cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas.

As antocianinas são o subgrupo dos flavonoides mais amplamente distribuído na natureza, sendo especialmente abundantes em pequenas frutas vermelhas, roxas e azuis, dentre elas o mirtilo (NILE; PARK, 2014).

Todas as antocianinas aqui relatadas já foram anteriormente identificadas em mirtilos da variedade Powderblue (KONDA, 2014; LOHACHOOMPOL et al., 2008). As concentrações ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de antocianinas individuais estão agrupadas na tabela 13.

Tabela 13. Antocianinas individuais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado ( $-20^{\circ}\text{C}$ )

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				Retenção (%)
	Delfinidina-3-O-galactosídeo				
	1	30	60	90	
Polpa T1	899,41±90,56 <sup>bd</sup>	1063,91±1,55 <sup>ab</sup>	885,98±17,97 <sup>bc</sup>	849,07±46,76 <sup>bc</sup>	95,12±11,78 <sup>B</sup>
Polpa T2	1188,86±85,56 <sup>abC</sup>	911,06±17,27 <sup>cC</sup>	1158,84±22,35 <sup>bb</sup>	1304,55±10,45 <sup>ab</sup>	110,17±9,18 <sup>AB</sup>
Polpa T3	1637,74±72,89 <sup>ab</sup>	1446,70±66,18 <sup>aA</sup>	1747,28±175,75 <sup>aA</sup>	1525,26±159,75 <sup>aA</sup>	93,13±8,56 <sup>B</sup>
Polpa T4	619,39±7,03 <sup>bE</sup>	703,00±74,44 <sup>abd</sup>	739,11±3,68 <sup>aC</sup>	732,04±9,82 <sup>aC</sup>	118,19±1,39 <sup>A</sup>
Mirtilo	1934,11±91,43 <sup>A</sup>	-	-	-	
Cianidina-3-O-mnoglicosídeo					
Polpa T1	2106,22±127,96 <sup>bc</sup>	2469,58±5,72 <sup>ab</sup>	2171,81±59,95 <sup>bb</sup>	2178,76±50,11 <sup>bc</sup>	103,78±8,35 <sup>A</sup>
Polpa T2	2299,56±180,39 <sup>bc</sup>	1951,43±33,34 <sup>cC</sup>	2425,40±33,52 <sup>abB</sup>	2560,86±19,31 <sup>ab</sup>	111,82±8,71 <sup>A</sup>
Polpa T3	2849,55±103,33 <sup>ab</sup>	2695,12±94,27 <sup>aA</sup>	3211,35±298,76 <sup>aA</sup>	3064,01±272,28 <sup>aA</sup>	107,56±9,52 <sup>A</sup>
Polpa T4	1199,56±6,40 <sup>bd</sup>	1346,61±134,10 <sup>abd</sup>	1450,04±13,68 <sup>aC</sup>	1440,95±10,09 <sup>ad</sup>	120,13±1,47 <sup>A</sup>
Mirtilo	5062,14±135,91 <sup>A</sup>	-	-	-	
Petunidina-3-O-mnoglicosídeo					
Polpa T1	1010,78±61,97 <sup>bc</sup>	1121,63±3,00 <sup>ab</sup>	936,53±14,16 <sup>bb</sup>	936,68±16,80 <sup>bc</sup>	92,97±7,42 <sup>B</sup>
Polpa T2	1159,25±82,78 <sup>abC</sup>	916,86±4,97 <sup>cC</sup>	1094,99±18,90 <sup>bb</sup>	1222,54±19,39 <sup>ab</sup>	105,88±8,86 <sup>AB</sup>
Polpa T3	1443,26±87,94 <sup>ab</sup>	1341,47±45,18 <sup>aA</sup>	1605,76±158,82 <sup>aA</sup>	1416,62±143,34 <sup>aA</sup>	98,59±13,92 <sup>AB</sup>
Polpa T4	580,28±2,79 <sup>bd</sup>	643,81±67,28 <sup>abd</sup>	691,77±4,17 <sup>aC</sup>	684,67±4,83 <sup>ad</sup>	117,99±1,40 <sup>A</sup>
Mirtilo	2133,27±66,23 <sup>A</sup>	-	-	-	
Peonidina-3-O-mnoglicosídeo					
Polpa T1	2160,44±133,70 <sup>bc</sup>	2501,82±3,92 <sup>ab</sup>	2130,37±54,84 <sup>bb</sup>	2160,56±49,01 <sup>bc</sup>	100,17±4,08 <sup>C</sup>
Polpa T2	2396,47±134,37 <sup>bc</sup>	2081,08±57,75 <sup>cC</sup>	2542,80±11,13 <sup>abB</sup>	2706,51±13,55 <sup>ab</sup>	113,15±5,78 <sup>AB</sup>
Polpa T3	3168,55±101,54 <sup>ab</sup>	2899,53±85,60 <sup>aA</sup>	3449,59±326,28 <sup>aA</sup>	3263,84±297,94 <sup>aA</sup>	102,88±6,25 <sup>BC</sup>
Polpa T4	1347,29±9,83 <sup>bd</sup>	1495,21±157,97 <sup>abd</sup>	1646,73±41,66 <sup>aC</sup>	1568,23±11,87 <sup>ad</sup>	116,41±1,71 <sup>A</sup>
Mirtilo	5610,84±283,28 <sup>A</sup>	-	-	-	

(continuação)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)				Retenção (%)
	Malvidina-3-O-monoglicosídeo				
	1	30	60	90	
Polpa T1	2340,95±105,16 <sup>bC</sup>	2783,74±12,92 <sup>aB</sup>	2365,59±69,30 <sup>bB</sup>	2357,72±53,36 <sup>bC</sup>	100,80±2,86 <sup>A</sup>
Polpa T2	2711,04±175,14 <sup>aC</sup>	2315,21±62,41 <sup>bC</sup>	2827,63±30,76 <sup>aB</sup>	2931,36±26,95 <sup>aB</sup>	108,42±6,90 <sup>A</sup>
Polpa T3	3501,62±143,59 <sup>aB</sup>	3229,69±103,38 <sup>aA</sup>	3785,29±350,86 <sup>aA</sup>	3618,09±304,45 <sup>aA</sup>	103,55±11,29 <sup>A</sup>
Polpa T4	1435,73±6,93 <sup>bD</sup>	1575,85±154,97 <sup>abD</sup>	1707,57±31,20 <sup>aC</sup>	1692,24±5,43 <sup>aD</sup>	117,87±0,75 <sup>A</sup>
Mirtilo	5544,56±213,39 <sup>A</sup>	-	-	-	

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

Em trabalho recente, Wang et al. (2017) identificaram e quantificaram antocianinas em catorze cultivares de mirtilo produzidas na China, os resultados obtidos foram inferiores ao do mirtilo deste trabalho: delfinidina  $3,30 \pm 0,60$  a  $69,70 \pm 0,50 \mu\text{g g}^{-1}$ , cianidina  $154,50 \pm 0,40$  a  $1001,00 \pm 1,00 \mu\text{g g}^{-1}$ , petunidina  $5,60 \pm 0,50$  a  $51,90 \pm 1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ , peonidina  $4,00 \pm 0,70$  a  $164,30 \pm 1,40 \mu\text{g g}^{-1}$  e malvidina  $3,00 \pm 0,60$  a  $55,80 \pm 0,70 \mu\text{g g}^{-1}$ . Li, Meng e Li (2016) também identificaram e quantificaram antocianinas em seis cultivares de mirtilo produzidas em diversas regiões China: delfinidina  $306,00 \pm 2,00$  a  $1050,00 \pm 24,10 \mu\text{g g}^{-1}$ , cianidina  $68,00 \pm 0,00$  a  $279,00 \pm 5,00 \mu\text{g g}^{-1}$ , petunidina  $153,00 \pm 1,00$  a  $617,00 \pm 9,0 \mu\text{g g}^{-1}$ , peonidina  $12,00 \pm 0,00$  a  $66,00 \pm 0,00 \mu\text{g g}^{-1}$  e malvidina  $387,00 \pm 4,00$  a  $1188,00 \pm 17,00 \mu\text{g g}^{-1}$ . Pertuzatti (2009) encontrou uma concentração de malvidina de  $380,30 \mu\text{g g}^{-1}$  em mirtilos da variedade Powderblue cultivados na região de Pelotas. Zhao et al. (2017), ao tratarem termicamente frutos de mirtilo por ebulição em água durante os tempos de 1, 3 e 10 minutos, obtiveram teores de retenção de 83,8, 80,8 e 79,0 % da malvidina-3-O-glicosídeo em comparação ao fruto fresco. No presente estudo, as polpas de mirtilo tiveram um percentual de retenção da malvidina-3-O-monoglicosídeo que variou de 25,89 a 63,15 % no tempo inicial, em comparação ao fruto. Para a petunidina-3-O-glicosídeo, Zhao et al. (2017) encontraram valores de retenção de 74,7, 73,0 e 71,0 % para os tempos de ebulição dos frutos de 1, 3 e 10

minutos, respectivamente, em comparação ao fruto fresco. Neste estudo, as polpas de mirtilo tiveram um percentual de retenção da petunidina-3-O-monoglicosídeo que variou de 27,20 a 67,65% no tempo inicial em comparação ao fruto. Em relação à antocianina delfinidina-3-O-galactosídeo, Zhao et al. (2017) obtiveram teores de retenção de 73,1, 72,7 e 58,2 % para os tempos de ebulição dos frutos de 1, 3 e 10 minutos, respectivamente. Os mesmos autores observaram perdas significativas para este composto aos 10 minutos de ebulição, evidenciando que esta antocianina é mais suscetível à degradação em aquecimento prolongado em comparação com a petunidina e malvidina. No presente estudo, as polpas de mirtilo apresentaram um percentual de retenção da delfinidina-3-O-galactosídeo que variou de 32,02 a 84,68 % no tempo inicial em comparação ao fruto. Sendo que a polpa T3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) teve maior retenção, em comparação com estes autores nos três tempos de ebulição. No presente trabalho, as polpas de mirtilo apresentaram um percentual de retenção da Cianidina-3-O-monoglicosídeo que variou de 23,70 a 56,29 % e da Peonidina-3-O-monoglicosídeo de 24,01 a 56,47 % no tempo inicial em comparação ao fruto, resultados inferiores em relação às demais antocianinas individuais encontradas. O T3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) foi o que apresentou os maiores valores em todas as antocianinas individuais ao longo do período de armazenamento, confirmando, desta forma, os dados obtidos para antocianinas monoméricas (tabela 6). Todos os tratamentos apresentaram elevados percentuais de retenção de antocianinas durante o armazenamento.

#### **4.4 Atividade antioxidante**

As polpas para as quais utilizou-se tratamentos com vapor (T1, T2 e T3) resultaram em maior atividade antioxidante (tabela 14), com valores muito próximos àquele do mirtilo. Pelo método ABTS, a polpa T1 (apenas vapor) e a polpa T3 (vapor e xantana 0,5 % m/m) apresentaram valores mais elevados em comparação à polpa T2 (vapor e xantana 0,1 % m/m) no tempo inicial. Pelo método DPPH, verificou-se que as polpas T2 e T3 (ambas com vapor e xantana) diferiram ( $p \leq 0,05$ ) do fruto, apresentando menor atividade antioxidante. Ao longo do período de armazenamento, a polpa T1 (apenas vapor, sem a adição de xantana) teve os maiores valores de atividade antioxidante.

Tabela 14. Atividade antioxidante pelo radical ABTS•+ (mM Trolox g<sup>-1</sup>) e pelo radical DPPH• (mM Trolox g<sup>-1</sup>) nos frutos e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)					Retenção (%) da atividade
	Atividade Antioxidante (ABTS•+)					
	1	30	60	90		
Polpa T1	0,28±0,01 <sup>ba</sup>	0,23±0,02 <sup>ca</sup>	0,33±0,02 <sup>aAB</sup>	0,21±0,01 <sup>cC</sup>		74,73±3,18 <sup>B</sup>
Polpa T2	0,25±0,01 <sup>bB</sup>	0,22±0,02 <sup>ca</sup>	0,30±0,01 <sup>aB</sup>	0,24±0,01 <sup>bcB</sup>		96,10±3,85 <sup>A</sup>
Polpa T3	0,28±0,00 <sup>ba</sup>	0,25±0,01 <sup>ca</sup>	0,35±0,01 <sup>aA</sup>	0,27±0,02 <sup>ba</sup>		97,62±5,45 <sup>A</sup>
Polpa T4	0,12±0,00 <sup>bc</sup>	0,11±0,01 <sup>bB</sup>	0,15±0,01 <sup>aC</sup>	0,12±0,00 <sup>bD</sup>		100,00±0,00 <sup>A</sup>
Mirtilo	0,27±0,01 <sup>AB</sup>	-	-	-		-
Atividade Antioxidante (DPPH•)						
Polpa T1	0,68±0,02 <sup>aAB</sup>	0,39±0,00 <sup>ba</sup>	0,37±0,02 <sup>ba</sup>	0,67±0,02 <sup>aA</sup>		99,53±1,72 <sup>A</sup>
Polpa T2	0,62±0,03 <sup>aB</sup>	0,32±0,01 <sup>cC</sup>	0,38±0,03 <sup>ba</sup>	0,58±0,01 <sup>aB</sup>		94,22±5,43 <sup>A</sup>
Polpa T3	0,61±0,00 <sup>aB</sup>	0,36±0,02 <sup>cb</sup>	0,44±0,03 <sup>ba</sup>	0,61±0,01 <sup>aB</sup>		99,45±0,95 <sup>A</sup>
Polpa T4	0,29±0,01 <sup>aC</sup>	0,15±0,01 <sup>cD</sup>	0,22±0,04 <sup>bb</sup>	0,26±0,02 <sup>abC</sup>		92,06±8,36 <sup>A</sup>
Mirtilo	0,73±0,06 <sup>A</sup>	-	-	-		-

Médias (n=3) ± desvio padrão seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos, médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p≤0,05). Onde: T1: Apenas vapor; T2: Vapor e xantana (0,1 % m/m); T3: Vapor e xantana (0,5 % m/m); T4: Tacho e xantana (0,5 % m/m).

As polpas tratadas termicamente com vapor apresentaram maior atividade antioxidante, possivelmente devido à ação extrativa do vapor, que solubilizou mais os compostos com características antioxidantes e também à uniformidade da temperatura na polpa, que evitou a degradação/transformação destes compostos pelo calor. Segundo Fioravante et al. (no prelo), a intensa movimentação pelo borbulhamento da massa de frutos auxilia a manter a temperatura uniforme, evitando pontos de superaquecimento. O tratamento sem a adição de xantana (T1) resultou em maiores valores de atividade antioxidante nos dois métodos analisados (ABTS e DPPH) durante todo o período de armazenamento. A ausência da xantana

nesta formulação pode ter permitido uma maior reação de sequestro dos radicais pelos compostos antioxidantes, mas não significa que eles foram preservados em maior quantidade (KUCK, 2012). Pois as polpas T2 e T3, ambas com adição de xantana, apresentaram maiores concentrações de alguns dos principais compostos com atividade antioxidante, como flavonoides, antocianinas e taninos (tabelas 5, 6 e 7).

Pertuzatti et al. (2012), determinando a atividade antioxidante pelo método DPPH em frutos de mirtilheiro da cultivar Powderblue, encontraram uma concentração de 1,78 mM Trolox g<sup>-1</sup>. Kuck (2012) obteve um valor de 2,61 mM Trolox g<sup>-1</sup> de atividade antioxidante em frutos de mirtilo da cultivar Clímax pelo mesmo método. O mesmo autor encontrou valores de atividade antioxidante em polpas de mirtilo que variou de 2,34 a 2,70 mM Trolox g<sup>-1</sup>, valores superiores ao presente estudo. Reque et al. (2014) determinando a atividade antioxidante pelo método ABTS em mirtilo encontraram uma concentração de 0,0292 mM Trolox g<sup>-1</sup>. De Souza et al. (2014) obtiveram um valor de 0,00588 mM Trolox g<sup>-1</sup> de atividade antioxidante em frutos de mirtilheiro pelo mesmo método, valores inferiores ao presente trabalho.

Observou-se valores mais elevados de atividade antioxidante utilizando o método DPPH em comparação ao método ABTS, possivelmente devido ao elevado teor de compostos fenólicos presentes no mirtilo. A atividade antioxidante está diretamente relacionada ao tipo e concentração dos compostos antioxidantes presentes e, em frutos como o mirtilo, a atividade antioxidante está relacionada, não só, mas principalmente, aos compostos fenólicos totais do que às antocianinas exclusivamente (PRIOR et al., 1998). Efetivamente, o método DPPH tem sido o mais utilizado para determinar atividade antioxidante em extratos e substâncias hidrossolúveis, sendo o mais indicado para as substâncias fenólicas (SOUSA et al., 2007). O método utilizando radical ABTS, por sua vez, permite medir tanto a atividade de compostos de natureza hidrofílica quanto lipofílica (KUSKOSKI et al., 2005). Entre os compostos lipofílicos, normalmente presentes em mirtilo, pode-se citar os carotenoides luteína, β-criptoxantina e β-caroteno (MARINOVA; RIBAROVA, 2007; BUNEA et al., 2012; PERTUZATTI et al., 2012), cuja presença pode ter influenciado nas diferentes respostas encontradas.

Os compostos fenólicos totais e os flavonoides totais apresentaram correlação de Pearson positiva para os dois métodos de atividade antioxidante (ABTS e DPPH) em todos os períodos de armazenamento (tempo inicial, 30, 60 e 90

dias), com valores de correlação próximos a 0,9 ( $p \leq 0,05$ ). As antocianinas monoméricas também apresentaram correlação positiva com os dois métodos de avaliação da atividade antioxidante, em todos os períodos de armazenamento, exceto para o método DPPH aos 30 dias. Os taninos condensados apresentaram correlação positiva com ambos os métodos de análise da atividade antioxidante, em todos os períodos de armazenamento, exceto para o método DPPH aos 30 e 90 dias. Os taninos hidrolisáveis apresentaram correlação positiva apenas para o método ABTS aos 90 dias de armazenamento ( $r=0,6$ ,  $p \leq 0,05$ ).

De acordo com Borges et al. (2010) o mirtilo possui elevada capacidade antioxidante devido principalmente a alta quantidade de antocianinas presente na fruta, responsáveis por 84% da capacidade antioxidante. Dentre as antocianinas presentes no mirtilo os mesmos autores verificaram que as principais responsáveis pela capacidade antioxidante são delphinidina-3-galactosídeo, cianidina-3-galactosídeo + delphinidina-3-arabinosídeo, petunidina-3-galactosídeo e malvidina-3-galactosídeo. Outro composto que contribui para a atividade antioxidante do mirtilo é o ácido clorogênico, por ser o principal ácido fenólico encontrado neste fruto (DASTMALCHI et al., 2011).

## **5. Conclusão**

Mirtilos submetidos a tratamento térmico por adição direta de vapor resultaram em polpas com maiores concentrações de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, antocianinas monoméricas, ácidos fenólicos individuais e flavonoides individuais ao longo do armazenamento, comparativamente ao tratamento térmico por condução em tacho aberto. Também verificou-se maior atividade antioxidante, sendo que a determinação pelo método DPPH resultou em maiores valores, confirmando a natureza hidrofílica dos compostos presentes nas amostras. A associação com xantana na concentração de 0,5 % (m/m) resultou em maiores teores de antocianinas monoméricas e individuais, de taninos hidrolisáveis, dos ácidos gálico e clorogênico e da quercetina nas polpas, ao longo do período de armazenamento.

## 6. Referências bibliográficas

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.

ANTUNES, L. E. C.; GONÇALVES, E. D.; RISTOW, N. C.; CARPENEDO, S.; TREVISAN, R. Fenologia, produção e qualidade de frutos de mirtilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1011-1015, 2008.

BASU, A.; RHONE, M.; LYONS, T. J. Berries: emerging impact on cardiovascular health. **Nutrition Reviews**, v. 68, n. 3, p. 168-177, 2010.

BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BORGES, G.; DEGENEVE, A.; MULLEN, W.; GROZIER, A. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 3901-3909, 2009.

BRAZELTON, CORT. World blueberry acreage e production. North American Blueberry Council. Disponível em: <[http://www.chilealimentos.com/2013/phocadownload/Aprocesados\\_congelados/nab\\_c\\_2012-world-blueberry-acreage-production.pdf](http://www.chilealimentos.com/2013/phocadownload/Aprocesados_congelados/nab_c_2012-world-blueberry-acreage-production.pdf)>. Acesso em: 4 Mai. 2015.

BRUNE, M.; HALLBERG, L.; SKÅNBERG, A. B. Determination of iron-binding phenolic groups in foods. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 1, p. 128-131, 1991.

BUNEA, A.; RUGINA, D.; PINTEA, A.; ANDREI, S.; BUNEA, C.; POP, R.; BELE, C. Carotenoid and fatty acid profiles of bilberries and cultivated blueberries from Romania. **Chemical Papers**, v. 66, n. 10, p. 935-939, 2012.

BURDOCK, G.A. **Enciclopédia of Food and Color Aditivies**. CRC Press, 1996. 1059p.

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; O'NEIL, J.; CRAWFORD, S.; MORECROFT, I.; McPHAIL, D. B.; LISTER, C.; MATTHEWS, D.; MACLEAN, M. R.; LEAN, M. E. J.; DUTHIE, G. G.; CROZIER, A. Relationship among antioxidant activity, vasodilation

capacity, and phenolic content of red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 220-230, 2000.

CADMUS, M. C.; ROGOVIN, S. P.; BURTON, K. A.; PITTSLEY, J. E.; KNUTSON, C. A.; JEANES, A. Colonial variation in *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 and characterization of the polysaccharide from a variant strain. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, n. 7, p. 942-948, 1976.

CANTUARIAS-AVILÉS, T.; SILVA, S. R.; MEDINA, R. B.; MORAES, A. F. G.; ALBERTI, M. F. Cultivo do mirtilo: atualizações e desempenho inicial de variedades de baixa exigência em frio no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 139-147, 2014.

CASTAGNINI, J. M.; BETORET, N.; BETORET, E.; FITO, P. Vacuum impregnation and air drying temperature effect on individual anthocyanins and antiradical capacity of blueberry juice included into an apple matrix. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1289-1296, 2015.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.

CASTREJÓN, A. D. R.; EICHHOLZ, I., ROHN, S.; KROH, L. W.; HUYSKENS-KEIL, S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, n. 3, p. 564-572, 2008.

CHEMISTRYLAND. Ácido Cítrico. Disponível em:  
<<http://www.chemistryland.com/CHM151W/04-Solutions/acids/CitricAcid.jpg>>. Acesso em: 18 abr. 2017.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CIE. (1978). Recommendations of uniform color spaces-color difference equations psychometric color terms. Commission international of l'Eclairage, Paris. Supplement No. 2 to CIE Publication No. 15 (E-1.3.1) 1971-(TC-1.3).

CISSE, M.; VAILLANT, F.; ACOSTA, O.; DHUIQUE-MAYER, C.; DORNIER, M. Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and

roselle using the arrhenius, eyring, and ball models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6285-6291, 2009.

CONCELLÓN, A.; AÑÓN, M. C.; CHAVES, A. R. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. **Food Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 17-24, 2004.

CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v. 854, p.435-442, 1998.

DA ROCHA CONCENÇO, F. I. G.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; DE OLIVEIRA, I. H. T.; DE SOUZA LEONE, R. Caracterização e Avaliação das Propriedades Físico-químicas da Polpa, Casca e Extrato de Mirtilo (*Vaccinium Myrtillus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 1177-1187, 2014.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, 900p.

DE SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; DA SILVA, T. L. T.; DE OLIVEIRA LIMA, L. C.; PIO, R.; QUEIROZ, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. **Food Chemistry**, v. 156, p. 362-368, 2014.

DASTMALCHI, K.; FLORES, G.; PETROVA, V.; PEDRAZA-PEÑALOSA, P.; KENNELLY, E. J. Edible neotropical blueberries: antioxidant and compositional fingerprint analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 3020-3026, 2011.

De SOUZA, V. R. D.; FIORAVANTE, J. B.; DOS SANTOS, J. L.; DA SILVEIRA MOREIRA, A.; VENDRUSCOLO, C. T. Desenvolvimento de geleia tradicional de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade). In: *Simpósio de Alimentos*, 8º, 2013, Passo Fundo, RS. **Anais...**Passo Fundo, RS: Universidade de Passo Fundo, 2013, 6p.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 351-359, 1999.

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, n. 11, p. 1680-1689, 2008.

ELISIA, I.; HU, C.; POPOVICH, D. G.; KITTS, D. D. Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1052-1058, 2007.

FANG, Z.; ZHANG, M.; SUN, Y.; SUN, J. Polyphenol oxidase from bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) and its role in anthocyanin degradation. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 268-273, 2007.

FAO. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 13 maio 2013.

FIGUEIRA, M. E.; OLIVEIRA, M.; DIREITO, R.; ROCHA, J.; ALVES, P.; SERRA, A. T.; DUARTE, C.; BRONZE, R.; FERNANDES, A.; BRITES, D.; FREITAS, M.; FERNANDES, E.; SEPODES, B. Protective effects of a blueberry extract in acute inflammation and collagen-induced arthritis in the rat. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 83, p. 1191-1202, 2016.

FIORAVANTE, J. B.; DE SOUZA, V. R. D.; DA SILVA RODRIGUES, R.; DE OLIVEIRA DIAZ, P.; DA SILVEIRA MOREIRA, A. (no prelo). Tratamento térmico por adição direta de vapor e adição de xantana pruni como estratégias de preservação de compostos bioativos fenólicos em polpa de mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**.

FIORAVANTE, J. B. **Tratamento térmico por adição direta de vapor e de xantana pruni como estratégia para preservação de polifenólicos e atividade antioxidante em polpa e pré-mix de mirtilo**. 2015. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

FISCHER, D. L. O.; FACHINELLO, J. C.; ANTUNES, L. E. C.; TOMAZ, Z. F. P.; GIACOBBO, C. L. Propagação de mirtilheiro por estacas lenhosas. Embrapa Clima Temperado. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 2008, 25p.

FRAGA, C. G. **Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition and pharmacology**. New Jersey: Wiley & Sons, 2009. 593p.

FRANCIS, F. J.; MARKAKIS, P. C. Food colorants: anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, 2001.

GODSHALL, M. A. How carbohydrates influence food flavor. **Food Technology**, Chicago, v. 1, n. 51, p.63-67, 1997.

GUICHARD, E. Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. **Food Reviews International**, v. 18, n. 1, p. 49-70, 2002.

GU, L.; KELM, M. A.; HAMMERSTONE, J. F.; BEECHER, G.; HOLDEN, J.; HAYTOWITZ, D.; GEBHARDT, S.; PRIOR, R. L. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 3, p. 613-617, 2004.

HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology-Champaign Then Chicago**, v. 52, p. 63-147, 1998.

HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L.; LIYANAGE, R.; LAY, J. O. Processing and storage effect on berry polyphenols: challenges and implications for bioactive properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 27, p. 6678-6693, 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. 1º ed. digital. São Paulo. **Instituto Adolfo Lutz**, 2008. 1020p.

JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**, v. 45, n. 1, p. 275-282, 1975.

JIANG, Y.; DUAN, X.; JOYCE, D.; ZHANG, Z.; LI, J. Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. **Food Chemistry**, v. 88, n. 3, p. 443-446, 2004.

KALT, W.; MCDONALD, J. E.; DONNER, H. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 390-393, 2000.

KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). **Food Chemistry**, v.74, n. 2, p. 147-154, 2001.

KECHINSKI, C. P.; GUIMARÃES, P. V. R.; NOREÑA, C. P. Z.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 2, p. C173-C176, 2010.

KECHINSKI, C. P. **Estudo de diferentes formas de processamento de suco de mirtilo visando a preservação dos compostos antocianicos**. 2011. 320f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of The American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.

KINSELLA, J. E. Flavour perception and binding to food components. In: MIN, D. B.; SMASSE, T. M. (Ed.). **Flavor Chemistry of Lipids Foods**, Champaign, Illinois, 1989, 450 p.

KONDA, P. B. P. **Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em espécies de mirtilo produzidas no Brasil**. 2014. 146f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; ETHERTON, T. D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71-88, 2002.

KUCK, L. S. **Desenvolvimento de polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) e preservação das suas antocianinas para elaboração em alimentos**. 2012. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; GARCÍA-PARILLA, M. C.; TRONCOSO, A.M.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 691-693, 2004.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LAJOLO, F. M. Alimentos funcionais: uma visão geral. **A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativa**. 2<sup>o</sup> ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 175-181, 2005.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

LI, D.; MENG, X.; LI, B. Profiling of anthocyanins from blueberries produced in China using HPLC-DAD-MS and exploratory analysis by principal component analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 47, p. 1-7, 2016.

LIMA, V. L. A. G.; GUERRA, N. B. Antocianinas: Atividade Antioxidante e Biodisponibilidade. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 37, p.121-128, 2003.

LOHACHOOMPOL, V.; MULHOLLAND, M.; SRZEDNICKI, G.; CRASKE, J. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**, v. 111, n. 1, p. 249-254, 2008.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F. HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 5, p. 370-374, 2007.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: **Anthocyanins as Food Colors**, New: York: Academic Press Inc., p.163-178, 1982.

MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science e Technology**, v. 6, n. 6, p. 195-200, 1995.

McMURRY, J. **Química Orgânica**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, v. 1, 6. ed. 2006, 925p.

MIOR, J.; NOVELLO, Z.; DINON, A. Z. Caracterização de iogurte de leite de ovelha in natura e saborizado com mirtilo (*Vaccinium myrtillus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 10, n. 1, p. 2004-2021, 2016.

MONTEIRO, J. M.; DE ALBUQUERQUE, U. P.; DE LIMA ARAÚJO, E. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

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

MORENO, J.; GONZALES, M.; ZÚÑIGA, P.; PETZOLD, G.; MELLA, K.; MUÑOZ, O. Ohmic heating and pulsed vacuum effect on dehydration processes and polyphenol component retention of osmodehydrated blueberries (cv. Tifblue). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 36, p. 112-119, 2016.

NDIAYE, C.; XU, S.; WANG, Z. Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. **Food Chemistry**, v. 113, n. 1, p. 92-95, 2009.

NIJVELDT, R. J.; VAN NOOD, E. L. S.; VAN HOORN, D. E.; BOELEN, P. G.; VAN NORREN, K.; VAN LEEUWEN, P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418-425, 2001.

NILE, S. H.; PARK, S. W. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v. 30, n. 2, p. 134-144, 2014.

DE OLIVEIRA, T. P.; PANTE, G. C.; TOSONI, N. F.; SEREIA, M. J.; JÚNIOR, B. D. Caracterização e aplicação da polpa de mirtilo (*Vaccinium* sp.) in natura e em pó em frozen yogurt. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 6, n. 3, p. 23-31, 2015.

OREN-SHAMIR, M. Does anthocyanin degradation play a significant role in determining pigment concentration in plants?. **Plant Science**, v. 177, n. 4, p. 310-316, 2009.

OSZMIANSKI, J.; WOJDYLO, A.; LAMER-ZARAWSKA, E.; SWIADER, K. Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 579-583, 2007.

PELEGRINE, D. H. G.; ALVES, G. L.; QUERIDO, A. F.; CARVALHO, J. G. Geleia de mirtilo elaborada com frutas da variedade climax: desenvolvimento e análise dos parâmetros sensoriais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, n. 3, p. 225-231, 2012.

PERTUZATTI, P. B.; BARCIA, M. T.; JACQUES, A. C.; VIZZOTTO, M.; GODOY, H. T.; ZAMBIAZI, R. C. Quantification of several bioactive compounds and antioxidant activities of six cultivars of Brazilian blueberry. **The Natural Products Journal**, v. 2, n. 3, p. 188-195, 2012.

PERTUZATTI, P. B. **Compostos bioativos em diferentes cultivares de mirtilo (Vaccinium ashei Reade)**. 2009. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p.1035-1042, 2000.

PINTO, M. S. **Compostos bioativos de cultivares brasileiras de morango (Fragaria x ananassa Duch.): caracterização e estudo da biodisponibilidade dos derivados de ácido elágico**. 2008. 117f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

PRICE, M. L.; SCOYOC, S. V.; BUTLER, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 1214-1218, 1978.

PRIOR, R. L.; CAO, G.; 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 Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2686-2693, 1998.

RAPEANU, G.; LOEY, A. V.; SMOUT, C.; HENDRICKX, M. Biochemical characterization and process stability of polyphenoloxidase extracted from Victoria grape (*Vitis vinifera* ssp. *Sativa*). **Food Chemistry**, v. 94, n. 2, p. 253-261, 2006.

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

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999.

REBELLO, L. P. G.; LAGO-VANZELA, E. S.; BARCIA, M. T.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubra × IAC 1398-21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 354-366, 2013.

REQUE, P. M.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; FLÔRES, S. H.; RIOS, A. O.; DE JONG, E. V. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, n. 1, p. 111-116, 2014.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, Suppl. 2, p. 105-110, 2002.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; DA SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; DA SILVA, J. P.; DA SILVEIRA AGOSTINI-COSTA, T. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

RODRIGUES, R. S.; SAINZ, R. L.; FERRI, V. C. Tecnologia de Frutas e Hortaliças Módulo IV: **Tecnologia de Polpas e Sucos de Frutas e Hortaliças**. Pelotas: Editora Universitária UFPel, 2009. 69p.

RODRIGUES, S. A. **Efeito de acidulantes, espessantes e cultivares nas características físico-químicas e estruturais de topping de mirtilo**. 2006. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

RODRIGUES, S. A. **Estabilidade de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante em topping de mirtilo**. 2010. 112 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

RODRIGUES, S. A.; RODRIGUES, A. A.; VENDRUSCOLO, C. T. Efeito de acidulantes e espessantes nas características físico-químicas e estruturais de topping de mirtilo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, p. 56-63, 2010.

RODRIGUEZ-MATEOS, A.; CIFUENTES-GOMEZ, T.; TABATABAEE, S.; LECRAS, C.; SPENCER, J. P. E. Procyanidin, anthocyanin, and chlorogenic acid contents of highbush and lowbush blueberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5772-5778, 2012.

RODRIGUEZ-MATEOS, A.; CIFUENTES-GOMEZ, T.; GEORGE, T. W.; SPENCER, J. P. E. Impact of cooking, proving, and baking on the (poly) phenol content of wild blueberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 18, p. 3979-3986, 2013.

ROESLER, R. **Estudo de frutas do cerrado brasileiro para avaliação de propriedade funcional com foco na atividade antioxidante**. 2007. 208f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ROOPCHAND, D. E.; KUHN, P.; ROJO, L. E.; LILA, M. A.; RASKIN, I. Blueberry polyphenol-enriched soybean flour reduces hyperglycemia, body weight gain and serum cholesterol in mice. **Pharmacological Research**, v. 68, n. 1, p. 59-67, 2013.

SARKIS, J. R.; JAESCHKE, D. P.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F. Effects of ohmic and conventional heating on anthocyanin degradation during the processing of blueberry pulp. **LWT-Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 79-85, 2013.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 8, p. 2073S-2085S, 2000.

SERRADELL, M. A.; ROZENFELD, P. A.; MARTÍNEZ, G. A.; CIVELLO, P. M.; CHAVES, A. R.; AÑÓN, M. C. Polyphenoloxidase activity from strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*, Duch., cv Selva): characterisation and partial purification. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 9, p. 1421-1427, 2000.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**, CRC Press, Boca Raton, FL, 2004. 576p.

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

SINELLI, N.; SPINARD, A.; EGIDIO, V. D.; MIGNANI, I.; CASIRAGHI, E. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p. 31-36, 2008.

SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 357-364, 2000.

SLONEKER, J. H.; JEANES, A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459: Part I. Constitution. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2066-2071, 1962.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; DA 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.

SOUZA, D. **Estudo das propriedades físicas de polpas e néctares de pequenos frutos**. 2008. 171f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

STULL, A.; CASH, K.; CHAMPAGNE, C.; GUPTA, A.; BOSTON, R.; BEYL, R.; JOHNSON, W.; CEFALU, W. Blueberry bioactives improve endothelial function in adults with metabolic syndrome. **The FASEB Journal**, v. 29, n. 1 Supplement, p. 923.17, 2015.

SUTHERLAND, I. W. Xanthan. In: SWINGS, J. G.; CIVEROLO, E. L. **Xanthomonas**. London: Chapman & Hall, p.363-388, 1993.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3º ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4<sup>o</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 820p.

TAYLOR, A. J.; CLYDESDALE, F. M. Potential of oxidised phenolics as food colourants. **Food Chemistry**, v. 24, n. 4, p. 301-313, 1987.

TEREFE, N. S.; DELON, A.; BUCKOW, R.; VERSTEEG, C. Blueberry polyphenol oxidase: Characterization and the kinetics of thermal and high pressure activation and inactivation. **Food Chemistry**, v. 188, p. 193-200, 2015.

TORALLES, R. P.; VENDRUSCOLO, J. L. S. **Processamento do purê e néctar de pêssego**. Comunicado Técnico 159, Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 8p.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.

WANG, H.; GUO, X.; HU, X.; LI, T.; FU, X.; LIU, R. H. Comparison of phytochemical profiles, antioxidant and cellular antioxidant activities of different varieties of blueberry (*Vaccinium* spp.). **Food Chemistry**, v. 217, p. 773-781, 2017.

WANG, S. Y.; CHEN, H.; CAMP, M. J.; EHLENFELDT, M. K. Flavonoid constituents and their contribution to antioxidant activity in cultivars and hybrids of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). **Food Chemistry**, v. 132, n. 2, p. 855-864, 2012.

WELCH, C. R.; WU, Q.; SIMON, J. E. Recent advances in anthocyanin analysis and characterization. **Current Analytical Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 75-101, 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, n. 18, p. 8418-8426, 2008.

WONG, D. W. S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**. Zaragoza: Acribia, 1995. 476p.

XIONG, X.; LI, M.; XIE, J.; XUE, B.; SUN, T. Preparation and antioxidant activity of xanthan oligosaccharides derivatives with similar substituting degrees. **Food Chemistry**, v. 164, p. 7-11, 2014.

YI, W.; FISCHER, J.; KREWER, G.; AKOH, C. C. Phenolic compounds from blueberries can inhibit colon cancer cell proliferation and induce apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 18, p. 7320-7329, 2005.

ZAMBLAZI, R. C.; JANSEN, C.; BUENO-COSTA, F. M.; SILVA, S. S. D.; HARTWIG, N. Bioactive compounds and antioxidant activity of blueberry toppings with honey. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 6, p. 2375-2383, 2016.

ZHAO, Y.; WU, X.; YU, L.; CHEN, P. Retention of polyphenols in blueberries (*Vaccinium corymbosum*) after different cooking methods, using UHPLC–DAD–MS based metabolomics. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 56, p. 55-66, 2017.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.