

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”

Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

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

Júlia Borin Fioravante

Nutricionista

Pelotas, 2015

JÚLIA BORIN FIORAVANTE

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

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pelotas, como parte das exigências do programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências e Tecnologia de alimentos.

Comitê de orientação: Prof.^a Dr.^a Angelita da Silveira Moreira

Prof.^a Dr.^a Claire Tondo Vendruscolo

Prof.^a Dr.^a Rosane da Silva Rodrigues

Pelotas, 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

F518t Fioravante, Julia Borin

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 / Julia Borin Fioravante ; Angelita da Silveira Moreira, orientadora ; Claire Tondo Vendruscolo, Rosane da Silva Rodrigues, coorientadores. — Pelotas, 2015.

104 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Polpa de fruta. 2. Frutas de clima temperado. 3. Estabilizante. 4. Néctar. 5. Pequenas frutas. I. Moreira, Angelita da Silveira, orient. II. Vendruscolo, Claire Tondo, coorient. III. Rodrigues, Rosane da Silva, coorient. IV. Título.

CDD : 664.7

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Rosane da Silva Rodrigues

Prof.^a Dr.^a Patrícia Diaz de Oliveira

Prof.^a Dr.^a Josiane Freitas Chim

*“Ando devagar porque já tive pressa
E levo esse sorriso porque já chorei demais;
Cada um de nós compõe a sua história,
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz
E ser feliz.”*

Almir Sater

Aos meus pais Marinês e Luiz Fernando;

Minha família e meus amigos;

Dedico.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo fomento ao projeto de pesquisa e a CAPES pela bolsa concedida.

A minha orientadora Angelita, que me acolheu, pela amizade e compreensão.

A professora Claire, que com suas ideias proporcionou o desenvolvimento deste trabalho.

A professora Rosane, pela amizade e paciência; e grande ajuda na elaboração e execução deste trabalho, muito obrigada.

A professora Bilica, pela ajuda e motivação, o mundo precisa de mais pessoas como você.

As queridas colegas do Laboratório de Biopolímeros: Amanda, Karine, Mariane, Andiará, Paula, Lúcia e Maria. A caminhada se torna mais fácil com vocês ao meu lado, obrigada pela amizade, pela companhia e pela alegria proporcionada.

Ao IFSul- CAVG pela cedência do espaço, em especial aos funcionários Mariza e Firmino pela grande ajuda na parte prática.

Ao CDTec pelo acolhimento e disponibilização de equipamentos.

Aos amigos e colegas do PPGCTA, especialmente a Gabriela, Bianca, Jéssica, Lisiane, Simone. E aos professores pela experiência compartilhada.

Aos estagiários que passaram ao longo destes dois anos no Laboratório de Biopolímeros, sem vocês nada acontece! Muito obrigada! Dener, Karol, Carol, Letícia, Natiele, Tayla, Emilyn, Andrey, Paulo e todos os outros! E a estagiária “emprestada” Sophia. Em especial a Vanessa que me ajudou grandemente na execução deste trabalho.

Mauricio meu querido, obrigada pela força, amor e compreensão.

Ao meu pai Luiz Fernando e a minha mãe Marinês, pelo apoio diário, mesmo que distante, o amor de vocês fez com que eu chegasse até aqui. Sinceros agradecimentos.

Ao meu amado irmão Gabriel e a pequena Maria pela alegria e motivação.

Aos meus tios Zé e Sélia e meu primo Paulinho pelo acolhimento nesta cidade até então desconhecida, e pelo amor compartilhado.

Goiaba, Ísis, Salomão e Paloma alegrias da minha vida!

A Deus, pela força que é me concedida nos momentos difíceis, pela paz no meu coração e me proporcionar viver com os que amo.

FIORAVANTE, Júlia Borin. **Estratégias para a preservação de compostos bioativos em polpa de mirtilo: tratamento térmico e adição de xantana pruni**. 2015. 99 Fls. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Este trabalho teve por objetivo desenvolver polpa e pré-mix de mirtilo (*Vaccinium ashei* reade) com elevada preservação de compostos bioativos polifenólicos e ação antioxidante, com qualidade tecnológica e sensorial para aplicação em bebidas. Utilizou-se -se um *blend* comercial de mirtilos (*Vaccinium ashei* Reade) das cultivares Powerblue, Clímax e Bluegen I e xantana pruni, produzida no Laboratório de Biopolímeros do CDTec - UFPel. As frutas, adicionadas de 0,08% de ácido cítrico, foram processadas termicamente até 95°C, por aquecimento direto em tacho, com e sem adição de 0,1% de xantana pruni), e por aplicação direta de vapor, também com e sem adição de xantana pruni. As quatro polpas foram avaliadas até 90 dias de armazenamento sob congelamento, quanto à atividade antioxidante, teor de fenóis, flavonoides e antocianinas monoméricas totais, além dos parâmetros acidez titulável, pH e sólidos solúveis totais. Com exceção dos fenóis totais, o tratamento térmico com aplicação direta de vapor e a adição de xantana favoreceram a preservação dos bioativos. A associação de xantana pruni com a adição direta de vapor favoreceu a estabilização do teor de flavonoides durante o armazenamento. Esses fatores, isoladamente, parecem influenciar positivamente a estabilidade das antocianinas durante o armazenamento congelado por 90 dias. Existe correlação entre a atividade antioxidante das polpas e os diferentes compostos bioativos ao longo do armazenamento. Houve efeito positivo do tratamento térmico com vapor na capacidade de sequestro dos radicais livres apenas quando verificado pelo método ABTS, durante todo o período. A adição de xantana favoreceu a preservação da atividade antioxidante, verificada por ABTS e DPPH, para ambos os tratamentos térmicos. De modo geral, os resultados mais favoráveis foram obtidos pela associação da adição de xantana pruni e vapor. As adições de ácido cítrico e xantana foram realizadas através de delineamento experimental 2², algumas análises foram realizadas ao tempo inicial e após 30 dias. As variáveis resposta pH e acidez sofreram influencia positiva e significativa em relação a adição de xantana e ácido cítrico no tempo inicial. Para as antocianinas, nenhum parâmetro exerceu influencia sobre as mesmas. Os flavonoides totais no tempo inicial tiveram interação, onde o mesmo se eleva com o aumento do ácido cítrico e xantana, mas o modelo não foi preditivo. Referente à análise sensorial dos néctares desenvolvidos a partir dos pré-mixes, todos foram avaliados como gostei e gostei, demonstrando potencial para o desenvolvimento de bebidas.

Palavras-chave: polpa de fruta, estabilizante, pequenas frutas, fruto de clima temperado, néctar.

Abstract

FIORAVANTE, Júlia Borin. **Strategies for the preservation of bioactive compounds in blueberry pulp: heat treatment and addition of xanthan pruni**. 2015. 99 Fls. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

This work aimed to develop pulp and blueberry pre-mix (*Vaccinium ashei* reade) with high preservation of polyphenolic bioactive compounds and antioxidant action, with technological and sensory quality for use in beverages. -If We used a commercial blend of blueberries (*Vaccinium ashei* Reade) of Powerblue cultivars, Climax and Bluegen le xanthan pruni, produced in Biopolymers Laboratory of CDTec - UFPel. The fruit added 0.08% citric acid, were thermally processed to 95 °C by heating in a direct saucepan with and without addition of 0.1% xanthan pruni) and by direct application of steam, also with or without addition of xanthan pruni. The four pulps were evaluated up to 90 days of storage in a freezer, for antioxidant activity, total phenols, flavonoids and anthocyanins total monomer, in addition to acidity parameters, pH and total soluble solids. With the exception of total phenols, heat treatment with direct application of steam and the addition of xanthan favored the preservation of bioactive. Xanthan pruni association with direct addition of steam favors the stabilization of the flavonoid content during storage. These factors alone seem to positively influence the stability of anthocyanins during frozen storage for 90 days. There is a correlation between the antioxidant activity of the pulps and different bioactive compounds during storage. There was a positive effect of heat treatment with steam in the scavenging capacity of free radicals observed only when the ABTS method, for the entire period. The addition of xanthan favored to preserve antioxidant activity, ABTS and verified by DPPH to both thermal treatments. In general, the most favorable results were obtained by adding pruni combination steam and xanthan. The additions of citric acid and xanthan were made using 22 experimental design, some analyzes were performed at the initial time and after 30 days. The response variables pH and acidity suffered significant positive influence regarding the addition of xanthan gum and citric acid at the initial time. To anthocyanins, no parameter influences exerted on them. The total flavonoids at the initial time interaction was observed, where it rises with the increase of citric acid and xanthan, but was not predictive model. On the sensory analysis of nectars developed from pre-mixes, all were evaluated as liked and enjoyed, showing potential for the development of drinks.

Keywords: fruit pulp, stabilizer, small fruits, temperate fruit, nectar.

Lista de figuras

Figura 1: Mirtilos em cortes transversais	17
Figura 2: Processamento de mirtilo em tacho aberto.	25
Figura 3: Fórmula estrutural do ácido cítrico	29
Figura 4: Estrutura primária de goma xantana	31
Figura 5: Biossíntese dos flavonoides	34
Figura 6: Principais classes de flavonoides	35
Figura 7: Esqueleto primário da estrutura das antocianinas	37
Figura 8: Estrutura genérica das antocianinas a partir do esqueleto das antocianidinas.	38
Figura 9: Mudanças estruturais das antocianinas conforme o pH.	39

Artigo 2 - Elaboração e caracterização de pré-mixes e néctar de mirtilo por delineamento experimental adicionados de xantana pruni e ácido cítrico.

Figura 1- Superfícies de resposta referente à variável pH nos pré-mixes de mirtilo formulados com xantana e ácido cítrico no tempo inicial (superior) e após 30 dias (inferior).....	75
Figura 2- Superfície de resposta referente à variável acidez nos pré-mixes de mirtilo formulados com xantana e ácido cítrico no período inicial (superior) e após 30 dias (inferior).....	76
Figura 3: Gráfico de viscosidade de pré-mixes de mirtilo.....	82

Listas de tabelas

Artigo 1 - Estratégias de preservação de compostos bioativos fenólicos em polpa de mirtilo - tratamento térmico por adição direta de vapor e adição de xantana pruni.

Tabela 1 Compostos fenólicos totais (mg.L^{-1} . EAG) em mirtilo e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C). 60

Tabela 2 Flavonoides totais ($\text{mg catequina.100 g}^{-1}$) em mirtilo e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C) 61

Tabela 3 Antocianinas monoméricas totais ($\text{mg cianidina-3-glicosideo.100g}^{-1}$) em mirtilo e polpas durante armazenamento (-20°C). 62

Tabela 4 Atividade antioxidante pelo radical ABTS e DPPH ($\text{m.eq. Trolox. g}^{-1}$) em mirtilo e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)..... 63

Artigo 2 - Elaboração e caracterização de pré-mixes e néctar de mirtilo por delineamento experimental adicionados de xantana pruni e ácido cítrico.

Tabela 1 Delineamento experimental fatorial completo para a formulação de pré-mix de mirtilo estabilizado por xantana e ácido cítrico.....69

Tabela 2 Matriz do planejamento experimental tipo DCCR com valores codificados e reais e variáveis resposta para pré-mix de mirtilo.....74

Tabela 3 Avaliação reológica dos pré-mixes elaborados no tempo inicial (dia 1)..... 79

Tabela 4 Médias de notas da análise sensorial de néctar de mirtilo elaborado a partir dos pré-mixes resultante do delineamento experimental.....83

Sumário

1. Introdução geral	13
2. Hipótese	15
3. Objetivos	15
3.1 Objetivo geral	15
3.1.2 Objetivos específicos	15
4. Revisão bibliográfica	16
4.1 Mirtilo	17
4.1.1 Processamento térmico de produtos à base de mirtilo	18
4.2 Pré-mix e néctar	26
4.2.1 Aditivos ácido cítrico e xantana	28
4.5 Compostos bioativos	32
4.51 Compostos polifenólicos	33
4.5.2 Flavonóides	33
4.5.3 Antocianinas	36
Artigo 1	41
Artigo 2	64
Conclusão geral	89
Referencias gerais	90
Apêndice	97

1. Introdução geral

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). O cultivo comercial do mirtilo já está em franca expansão em países da América do Sul como o Chile, Argentina e Uruguai, com produção de 6.500 hectares/ano (ANTUNES et al., 2008).

Como a entressafra da produção do mirtilo nos maiores países produtores não coincide com a safra do hemisfério sul existe uma grande oportunidade de participação da produção brasileira no comércio da fruta (FISCHER et al., 2008).

No Brasil os primeiros experimentos com cultivo do mirtilo datam de 1983, realizados pela Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS). Foram introduzidos cultivares com baixa exigência ao frio como as do grupo *rabbyleye*, oriunda da Universidade da Flórida (Estados Unidos), sendo o plantio iniciado em 1990 na cidade de Vacaria (RS) (RASEIRA & ANTUNES, 2004).

Em estudo de avaliação dos compostos fenólicos de atividade antioxidante em cultivares brasileiras de mirtilo identificou-se que cerca de 54% dos compostos fenólicos totais eram da classe das antocianinas, sendo esses flavonoides responsáveis pela alta atividade antioxidante desta fruta (RODRIGUES et al.; 2011).

Duffy e colaboradores (2007) mostram em seu estudo melhoria da qualidade cognitiva em ratos alimentados com frutos de mirtilo, evidenciando sua potencialidade no combate de doenças neurodegenerativas, devido a alta capacidade antioxidante. Os flavonoides, que incluem as antocianinas, exibem elevada atividade antioxidante, o que pode ser determinado através da capacidade de absorção de oxigênio *singlet* em ensaios *in vivo* e *in vitro*. As descobertas, como as citadas anteriormente, envolvendo esta propriedade conduziram ao maior desenvolvimento de produtos comerciais que contenham esses compostos bioativos (PRIOR; CAO, 2009).

O processamento de frutas é bastante impactante sob o ponto de vista nutricional, a sua elaboração pode preservar os compostos bioativos

naturalmente presentes nas frutas; outro aspecto que se deve considerar é a efetividade do método utilizado, a fim de se obter maior rendimento de extração do suco. Para o mirtilo, algumas das alternativas utilizadas são o aquecimento ou a utilização de vapor de água prévio ao despulpamento. O aquecimento durante o processamento bem como a estocagem, reduzem o teor original de antocianinas. Muitos estudos demonstraram uma relação logarítmica entre a destruição das antocianinas e o aumento aritmético da temperatura. Processos que utilizam baixo tempo em alta temperatura têm sido recomendados para a melhor retenção de seus pigmentos (KECHINSCKI, 2011).

A xantana é utilizada em uma ampla variedade de alimentos por diversas razões importantes, incluindo a capacidade de espessamento de produtos diversos e estabilização de emulsões, suspensões e sistemas aerados, que se mantêm em ampla faixa de temperatura e pH, além de ser compatível com outros ingredientes alimentares e suas propriedades. Em polpas, mixes, e *toppings* utilizam-se pequenas concentrações, entre 0,05-0,2% (m/m), que já são capazes de conferir boas características de estabilidade e viscosidade (GARCÍA-OCHOA, et al., 2000). Também apresenta solubilidade em água fria ou quente, ação encapsuladora de aromas, corantes, saborizantes e vitaminas (KATZBAUER, 1998), propriedades estas que são fundamentais na elaboração de pré-mix e néctar.

O item encapsulação de vitaminas e corantes é a motivação da adição de xantana, em resultados anteriores em polpa de mirtilo obtida em tacho aberto, a mesma foi avaliada durante 90 dias de armazenamento em temperatura ambiente encontrando teores de antocianinas totais e individuais próximos ao inicial (50%), evidenciando o efeito protetor e estabilizante da xantana sobre as características físico-químicas como a cor das polpas (KUCK, 2012). Este grupo de pesquisa possui experiência no desenvolvimento de polpas, pré-mixes e néctares de framboesa e mirtilo, sendo este estudo uma continuidade de trabalhos anteriores, onde este explora novas técnicas de aplicação de calor e novos percentuais de adição de xantana pruni.

2. Hipóteses

Tratamento térmico por adição direta de vapor e uso de xantana pruni preserva compostos bioativos polifenólicos e a ação antioxidante em polpa de mirtilo pré-mixes.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Desenvolver polpa e pré-mix de mirtilo (*Vaccinium ashei reade*) com elevada preservação de compostos bioativos polifenólicos e ação antioxidante, com qualidade tecnológica e sensorial para aplicação em bebidas.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar a influencia dos tratamentos térmicos de aquecimento por condução em tacho aberto e adição direta de vapor na extração, durante a obtenção, e preservação, durante o armazenamento, de compostos bioativos fenólicos em polpas de mirtilo.

Avaliar a influência da adição de xantana pruni na extração, durante a obtenção, e preservação, durante o armazenamento, de compostos bioativos fenólicos em polpas de mirtilo.

Desenvolver, pré-mixes com diferentes concentrações adicionais de xantana pruni e ácido cítrico.

Avaliar a influência da concentração de xantana pruni e ácido cítrico na estabilidade física, química (compostos bioativos fenólicos) e atividade antioxidante dos pré-mixes preparados, durante o armazenamento.

Avaliar, sob aspectos sensoriais e tecnológicos, o efeito das concentrações de xantana e ácido cítrico em néctares desenvolvidos com pré-mixes selecionados.

4. Revisão Bibliográfica

4.1 Mirtilo

As pequenas frutas vermelhas ou “*berry fruits*” possuem grande apreço culinário da alta gastronomia, pelas suas cores vermelhas, azuis e roxas. Dentre elas, destacam-se amoras (*Rubus L.* híbridos), *blackberrys* (*Ribes nigrum L.*) e o mirtilo (*Vaccinium L.* espécies) (MOYER et al., 2002).

Os frutos do mirtilheiro são consumidos pelo homem desde a pré-história, e os vestígios mais antigos datam de escavações na Dinamarca, onde se encontraram potes de barro que continham uma “papa” que, ao ser analisada, verificou-se ser composta por mirtilo, uvas, mel, farinha e outros. A abundância de espécies, larga distribuição geográfica e a importância que possuíam na alimentação dos povos nativos da América do Norte (Inuítes e Índios) estão na origem da popularidade desta fruta nos Estados Unidos e Canadá (FONSECA; OLIVEIRA, 2007; GAO; MAZZA, 1995).

O mirtilo pertence à família *Ericaceae*, subfamília *Vaccinoideae* e gênero *Vaccinium*. É nativo da América do Norte (Estados Unidos e Canadá), onde é denominado *blueberry* (RASEIRA; ANTUNES, 2004). Os mirtilos são frutos do tipo baga, de coloração azul-escura, formato achatado, coroada pelos lóbulos persistentes do cálice. Sua polpa possui coloração esbranquiçada, conforme figura 1, seu sabor é doce-ácido e na sua cutícula possuem uma camada cerosa chamada pruína (KLUGE; HOFFMANN; BILHALVA, 1994). A pruína é uma camada cerosa epicuticular que constitui uma barreira importante à perda de água, impedindo o emurchecimento do fruto (BARRETO, 2007).

A cor da epiderme, mais intensa, e da polpa do mirtilo é conferida, principalmente, pela presença de pigmentos denominados antocianinas, maior grupo de pigmentos solúveis em água. Essas encontram-se normalmente no interior dos vacúolos das células da epiderme do fruto, dissolvidas em meio aquoso ligeiramente ácido. A coloração escura é modificada pela maior ou menor presença de pruína. A pruína é que produz o efeito glauco responsável pela cor azul típica dos mirtilos (BARRETO, 2007).



Figura 1: Mirtilos em cortes transversais.

Fonte: o autor (2013).

O gênero *Vaccinium* inclui cerca de 450 espécies, das quais 40% se encontram na Ásia e no Pacífico, 26% na América do Norte e 6% na Europa. Na América Central e do Sul encontram-se 47 espécies, cerca de 10%. No Brasil o cultivo está em expansão, com uma gama ampla de variedades que se adaptam às horas de frio de cada região, com pomares comerciais no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e São Paulo, sendo esses dois últimos em menor escala e localizados em regiões mais altas devido à demanda de frio (GOUGH 1994; RASEIRA et al.,2004; TREHANE 2004; FONSECA; OLIVEIRA, 2007).

As plantas de mirtilo se classificam em 3 grandes grupos conforme suas características botânicas, como porte, tamanho de frutos e exigências ao frio. O *Highbush* (arbusto alto) caracteriza-se por plantas de dois ou mais metros de altura. A necessidade em frio hibernal das plantas desse grupo está geralmente entre 650 e 850 horas, predomina a espécie *V. corymbosum*. O grupo *Half-high* (arbusto de médio porte) possui plantas de 0,5 a 1,0 m de altura e tem menor exigência em frio do que o grupo anterior predomina *Vaccinium Angustifolium Aiton*. *Southern highbush* (arbusto de porte alto, proveniente do sul dos Estados Unidos) é conhecido também como *highbush* de baixa necessidade em frio, predomina a espécie *V. corymbosum*. O grupo *Lowbush* são de plantas com tamanhos inferiores e não ultrapassam 0,5m de altura, pertencem a este grupo *V. augustifolium*. No Brasil o grupo *rabbiteye* predomina o *Vaccinium ashei Reade* (GALLETTA; BALLINGTON 1996)

Algumas das características da espécie *V. ashei* são: vigor, longevidade, produtividade, tolerância ao calor e à seca, problemas com fungos e variações

de solo, baixa necessidade em frio, produzindo frutos ácidos, firmes e de longa conservação. Essa espécie é muito difundida na região sul do Brasil (ANTUNES, 2008). Nos mirtilos da espécie *V. ashei* Read cultivados na Flórida e na Geórgia foram observados os níveis mais elevados de antocianinas do que as demais frutas estudadas na região, demonstrando a influência dos fatores edafoclimáticos sobre a qualidade dos frutos (SU; CHIEN, 2006).

Por se tratar de planta arbustiva, o mirtilo necessita de boa disponibilidade de água. Para isto, é necessária irrigação, principalmente nas áreas mais secas da região Sul ou onde o solo seja muito raso ou muito arenoso. Para um bom teor de açúcar na fruta, o mirtilo requer até 50 mm de água, semanalmente, durante o período de desenvolvimento das frutas (MORAES et al., 2007).

Os fatores climáticos atuam de maneira diferenciada conforme o estágio de desenvolvimento; o frio é fator determinante para a produção do mesmo. Na fase vegetativa, temperatura, precipitação e radiação solar são determinantes para o potencial produtivo. (RASEIRA et al., 2004).

O mirtilo apresenta fatores climáticos que atuam negativamente sobre a cultura que é a geada na floração e na fase vegetativa a falta de água e a temperatura elevada prejudicam sensivelmente o cultivo. A falta de água pode ser atenuada através da implantação de um sistema de irrigação e a geada na floração através da locação da cultura em estufas, o que encarece o cultivo. Já temperaturas elevadas são mais difíceis de controlar. O mirtilo é uma cultura de foto período longo e de noites de temperatura frescas durante a maturação. O condicionamento ambiental pode ser determinante para o conteúdo de compostos bioativos, uma vez que os mesmos fazem parte do metabolismo secundário das plantas, e atuam como sistema de defesa. A alta incidência solar pode acarretar em frutos mais escuros e mais doces (SANTOS; 2002).

As cultivares da espécie *V. ashei* utilizadas como materiais vegetais neste trabalho são robustas, e que se adaptaram ao clima do estado do Rio Grande do Sul (Brasil). A cultivar *Powderblue*, do grupo *Rabbiteye* apresenta tamanho de frutos médio (entre 1,3 a 1,6 cm de diâmetro) com sabor doce-ácido equilibrado. É uma das cultivares com maior quantidade de pruína na película. O diâmetro e o peso médio dos frutos variam respectivamente entre 1,2 cm 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 *Mendito*, realizado por G.M. Darrow, do *Agricultural Research Service*. É considerada resistente a doenças, sendo as plantas produtivas e vigorosas. Foi a cultivar de maior produtividade na coleção da Embrapa, safra 2002/2003 (6,100g/planta) (RASEIRA, 2007).

A cultivar *Bluegem*, do grupo *Rabbiteye* é originária de Gainesville, Flórida, de polinização livre de uma seleção chamada *Tifton 31*. Os frutos têm bom sabor e a película é rica em pruína. O teor de sólidos solúveis tem sido entre 10,5 e 12,8°Brix. O diâmetro dos frutos está entre 1,0cm e 1,6cm e o peso médio em torno de 1,3 g (RASEIRA, 2007).

A cultivar *Clímax* do grupo *Rabbiteye* é originária de Tifton, Geórgia, desenvolvida pela *Coastal Plain Experimental Station* e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, proveniente de um cruzamento entre *Callaway* e *Ethe*. Os frutos podem ser considerados de tamanho médio, com película de coloração azul-escura e polpa saborosa. Amadurece de maneira relativamente uniforme, a película apresenta-se coberta com alto teor de pruína, camada cerosa que recobre os frutos, dando o aspecto bem azulado à mesma e o sabor é doce ácido. Em Pelotas, nas safras 2002/2003 o diâmetro e o peso médio dos frutos variou respectivamente de 1,0 a 1,7 cm, e 1,8 g. o teor de sólidos solúveis variou entre 10° e 12,4° Brix (RASEIRA, 2007).

Dentre muitas características peculiares, o apelo nutricional é extensamente estudado, as frutas no geral contêm substâncias com potencial de inibição de radicais livres, nocivos à saúde humana e precursores do desenvolvimento de doenças crônicas (SMITH et al., 2000; SEERAM, 2008). Estas pesquisas incluem benefícios contra doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e outras doenças ligadas ao envelhecimento, obesidade, e também certos tipos de câncer, como o de esôfago e gastrointestinais, melhora dos sintomas da síndrome metabólica e diabetes (SEERAM, 2008).

Em investigação *in vitro* foi demonstrado que existem variações no teor de compostos bioativos encontrados no mirtilo, framboesa e outras frutas conforme o seu ponto de maturação, espécie e o tipo de processamento empregado, portanto é de suma importância, em termos nutricionais, pesquisar estes aspectos (PRIOR et al. 1998; PRIOR; CAO, 1999).

Francis e colaboradores (1966) foram pioneiros na investigação do potencial dos frutos de mirtilheiro, desenvolvendo metodologias de avaliação do seu potencial antioxidante. Duffy e colaboradores (2007) investigaram o seu potencial frente aos efeitos protetores à oxidação celular e melhora cognitiva em ratos. Também já foi demonstrada em outros modelos animais, no caso cães da raça *Husky*, a associação do consumo de mirtilo à diminuição de fadiga muscular após corrida de longas distancias (DUNLAP et al., 2006).

Em modelos humanos, é sabida a influência positiva do consumo de vegetais e frutas, especialmente as “frutas vermelhas” na proteção contra doenças crônicas não transmissíveis (NATELLA et al., 2002; OROZCO; WANG; KEEN, 2003). Pesquisadores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) comprovaram que o mirtilo produzido no Brasil tem as mesmas características do *blueberry* – a versão original da fruta, cultivada nos Estados Unidos e na Europa – e possui a mesma quantidade de pigmentos antocianos. É este pigmento que age de maneira benéfica em nosso organismo: combate os radicais livres, é anti-inflamatório, melhora a circulação e reduz o colesterol ruim. Outro benefício comprovado do mirtilo está ligado à saúde dos olhos (FACHINELO, 2008).

4.1.2 Processamento térmico de produtos à base de mirtilo

O crescente interesse no papel dos antioxidantes na saúde humana tem provocado intensas pesquisas no campo das ciências agrônômicas e de alimentos. Recentemente, estudos têm se dedicado à determinação do conteúdo e da atividade destes compostos e se esse pode ser mantido ou melhorado através do desenvolvimento de cultivares, práticas de produção, armazenamento pós-colheita, e processamento (GUERRERO et al., 2010).

O processamento de frutas, quando baseado em demandas do mercado, pode se tornar uma grande ferramenta para aproveitamento da potencialidade da fruticultura, transformando 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). 2001; BARBOZA, et al 2008; RODRIGUES

2011; KUCK et al, 2011; KUCK 2011; KUCK, 2012; RODRIGUES et al 2012; já tenham estudados e desenvolvido o processamento de produtos de mirtilo, ainda assim; como dito por HASLER em 1998; há lacunas nas tecnologias de processamento dessa. O beneficiamento de frutas do mirtilheiro agrega valor comercial ao produto e permite o aproveitamento das frutas pequenas, inadequadas à comercialização *in natura*, incentivando o cultivo e motivando a pesquisa em novas tecnologias de processamento. Embora VENTURINI et al., fruta, principalmente sobre as perdas de suas substâncias bioativas durante o processamento bem como no armazenamento dos produtos finais. Dos trabalhos dos pesquisadores mencionados, a grande maioria está relacionada à obtenção de produtos atrativos e de boa aceitabilidade pelo consumidor. No entanto, seu foco principal não tem sido a conservação das substâncias bioativas.

O processamento de polpa de mirtilo em tacho aberto realizado por Kuck (2012) motivou esta pesquisa, onde o conhecimento da adição prévia dos aditivos ácido cítrico e xantana, bem como as quantidades iniciais para adição. A inclusão de novas faixas de adição de aditivos deste trabalho, e também na aplicação do tratamento térmico é o diferencial deste trabalho.

O mirtilo, muitas vezes, é transformado em produtos, pois mesmo utilizando métodos de conservação pós-colheita, que aumentem sua vida de prateleira, não é possível dispor de frutas *in natura* durante todo o ano. Além disso, a elaboração de produtos agrega valor ao mesmo, visto que são utilizadas frutas de todos os tamanhos ou avariadas que não são bem aceitas pelo consumidor (KUCK, 2012).

Dentre os produtos mais comuns processados de mirtilo são geleias, sucos, fermentados, purês, *toppings*, sorvetes, tortas (RODRIGUES 2006; KUCK, 2011; GARCIA-DIAZ et al. (2014)). O mirtilo é uma excelente matéria-prima para elaboração de diversos alimentos processados, principalmente devido a sua cor característica, que confere aos produtos uma coloração atraente ao consumidor.

Outros produtos com apelo a saudabilidade foram desenvolvidos como a mousse de mirtilo (*Vaccinium ashei* reade) para população portadora de intolerância à lactose ou alérgica a proteínas de origem animal KUCK et al 2011; e as bala de goma de arroz e xantana, sabor mirtilo: desenvolvimento,

aceitação sensorial e intenção de compra (RODRIGUES et al. 2012). Embora o objetivo principal não tenha sido a preservação das substâncias bioativas, estes produtos de mirtilo tiveram boa aceitação e são produtos para consumidores de necessidades especiais como portadores de alergias.

O processo de inovação na obtenção de polpas constitui uma ação necessária à abertura, conquista e manutenção de novos mercados consumidores (VENTURINI et al., 2001). Os sucos e néctares também representam uma solução para o incremento do consumo de frutas e melhora da condição e oferta de micronutrientes. O processamento possibilita a distribuição de frutas de cultivo regional para as mais diferentes regiões, evitando problemas comuns como podridão e perdas durante o transporte (RIBEIRO, 2005).

A aplicação de calor torna-se um processo crítico dentro da indústria, pois envolve planejamento e altos custos. A maioria dos produtos processados à base de fruta sofre um decréscimo importante no teor de compostos benéficos e de cor. A aplicação do mesmo interfere severamente nas condições de armazenamento e na vida de prateleira (KHANAL; HOWARD; PRIOR, 2010; HAMAUZU, KUME, YASUI, & FUJITA, 2007; RODRIGUES 2010).

A aplicação de tratamentos térmicos tem como principais funções a inativação de enzimas responsáveis por perdas nutricionais, destacando-se as polifenoloxidasas, poligalacturonases e clorofilases e a destruição de micro-organismos. Esses tratamentos também contribuem para a estabilização de textura e qualidade (BAHÇEÇI et al., 2005 AURELIO et al., 2008 DAMODARAN- FENEMA, 2010).

O mirtilo possui a grande maioria dos seus pigmentos concentrados na casca e, dessa forma, quando é submetido a um tratamento térmico previamente ao despulpamento, ocorre uma migração dos pigmentos da casca para o núcleo do fruto, reduzindo a perda de pigmentos no resíduo (BRAMBILLA; MAFFI; RIZZOLO, 2011). Entretanto, sua polpa contém um grande percentual de material mucilaginoso, que dificulta seu processamento (FRAGA, 2009).

O aquecimento prévio ao processamento final (despulpamento, por exemplo) ou armazenamento de determinadas frutas, como uvas (BRESOLIN;

GULARTE; MANFROI; 2013), maracujá (AMARO; BONILHA MONTEIRO, 2002), laranjas e limas (KLUGE et al., 2006) apresentam vantagens como abrandar os tecidos vegetais, inativar enzimas, aumentar o rendimento e a extração dos compostos fixos. A correta do binômio tempo/temperatura é um importante fator, que afeta a qualidade, não só nos aspectos nutricionais, mas também no que diz respeito à qualidade sensorial e segurança da polpa obtida. Caso o aquecimento seja demasiado pode resultar em um suco/polpa com “sabor de cozido”; em caso contrário, pode-se obter produto sem segurança microbiológica se o binômio for insuficiente ou pela temperatura ou pelo tempo para inativar os microrganismos. Geralmente, melhores resultados são obtidos quando utilizadas altas temperaturas por um menor período de tempo (SOUZA, 2008; TOLENTINO; GOMES, 2009).

Os tratamentos térmicos podem ser feitos em tacho aberto, pasteurizador tubular ou trocadores de calor (TORALLES, VENDRUSCOLO 2005; 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, VENDRUCOLO, 2007).

Outra tecnologia largamente empregada para obtenção de sucos através do calor é a de arraste à vapor, comumente utilizado em uvas, ele é derivado do método *Welch*, considerado o primeiro processo de extração através do calor. O Método *Welch* foi desenvolvido em 1869, quando um dentista, Dr. Thomas Welch, cozinhou uvas da cultivar *Concord* e utilizou sacos de pano para extrair o suco, após engarrafou e utilizou a pasteurização para a conservação (MARZAROTTO, 2010). O conjunto extrator é formado por um depósito de água, que é aquecido para geração do vapor, sobre ele é colocado um recipiente com abertura cônica no centro para passagem do vapor e uma abertura lateral para escoamento do suco e acima é sobreposto um recipiente perfurado onde as uvas são colocadas, este método possui um inconveniente, pois o binômio tempo/ temperatura é longo, o que proporciona a degradação dos compostos bioativos e aparecimento de *off-flavors* (PINHEIRO, 2008).

A utilização de novas formas de aplicação de calor vem ao encontro da redução de perdas de compostos bioativos, inativação de enzimas e controle microbiológico, além de melhorar aspectos sensoriais como cor e sabor.

A aplicação de vapor diretamente sobre os frutos torna-se atraente, pois preserva compostos termolábeis e auxilia na extração de pigmentos na casca. A vigorosa agitação pelo borbulhamento da massa de frutos auxilia a manter a temperatura uniforme, evitando pontos de superaquecimento, maléfico ao processo, pois pode trazer sabores estranhos à polpa preparada (RIBEIRO, 2005). O vapor é, normalmente, gerado por meio de fornalhas de uma caldeira onde o calor é decorrente da transformação da energia química contida no combustível, em energia térmica utilizada para o processamento. No vapor saturado, a sua temperatura se mantém constante sob pressão constante e é esta característica que lhe confere maior facilidade no controle de temperatura dos processos (FILHO, 2011). As transformações que ocorrem durante o processamento com vapor, necessitam de maiores estudos, a fim de minimizar perdas por meio da otimização dos parâmetros das etapas de processamento, armazenamento e a utilização do binômio tempo e temperatura (YANG; ATALLAH 1985).

O tratamento térmico prévio ao despulpamento do mirtilo é importante, pois determina o aumento da permeabilidade das células do pericarpo, onde estão armazenados os pigmentos. Kuck (2012) desenvolveu técnica em tacho aberto, como na figura 2, otimizando as condições desse processo. A suplementação com aditivos estabilizantes, xantana e ácido cítrico, previamente ao processamento proporcionou melhor preservação da cor das polpas obtidas. O presente estudo dá continuidade a esse trabalho, mediante a utilização de diferentes formas de aquecimento e concentrações dos aditivos estabilizantes.



Figura 2: Processamento de mirtilo em tacho aberto.

Fonte: o autor (2013).

Rossi et al. (2003) realizaram branqueamento prévio à elaboração de suco de mirtilo e esse tratamento demonstrou ser extremamente eficaz na redução da atividade de polifenoloxidasas e, conseqüentemente, na manutenção das antocianinas e da cor do suco.

Reque et al.(2014), para elaboração de suco, não utilizou processamento térmico, utilizando apenas centrifuga de suco comercial. O suco foi armazenado sob refrigeração durante 10 dias, sendo avaliado a cada dois dias. Os autores relataram valores de atividade antioxidante na fruta *in natura* de 29,20 mM TE/g pelo método ABTS, e 33,23 mg.g⁻¹ trolox, o suco perdeu cerca de 40% da sua atividade antioxidante durante o armazenamento, provavelmente devido à ação de polifenoloxidasas, responsáveis pela degradação de compostos fenólicos. Estes resultados demonstraram que apenas a baixa temperatura de armazenamento do suco de mirtilo não é eficaz para manter suas propriedades bioativas estáveis por período maior que 6 dias.

Pertuzzati (2006) e colaboradores, para elaboração do néctar de mirtilo da CV. *Bluebelle* congelados, também não utilizaram tratamento térmico prévio para obtenção de polpas em liquidificador de facas duplas, com adição de 50% de água, e posterior centrifugação a 3500 rpm durante 30 min e pasteurização a 90° C por 1 min. A polpa obtida, foi envasada em vidros e armazenada a 7°C, e 64,3% de compostos fenólicos, devido à remoção da casca, polpa, entre outros compostos, que representou uma perda de 21,8% de atividade antioxidante, referente ao fruto de mirtilo.

Outros tipos de processamentos, como a fermentação, também proporcionam a manutenção da atividade antioxidante do mirtilo, conforme relatado no estudo realizado por Garcia-Diaz et al. (2014), que desenvolveram fermentados com *Saccharomyces bayanus* de blendas das cultivares de mirtilo *highbush* (*V. corymbosum*) e amoras (*Rubus spp.*). Os autores investigaram a ação antioxidante em células, onde a fruta *in natura*, o fermentado e suas frações isoladas se mostraram eficientes na capacidade de inibir a adipogênese, condição esta que proporciona o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis.

Kechinski (2011) avaliou processo de extração a quente de suco de mirtilo, utilizando equipamento doméstico denominado de “panela extratora” que utiliza como princípio a destilação por arraste de vapor, durante 2 h seguido de filtragem a vácuo. O índice total de antocianinas monoméricas dos sucos obtidos foi determinado utilizando-se o método de pH diferencial. Os resultados mostraram que o método de arraste de vapor apresentou maior rendimento de suco, mas menores teores de antocianinas comparados com os métodos tradicionais.

4.2 Pré-mix e néctar

As transformações do mercado brasileiro de bebidas que vêm ocorrendo desde o início dos anos 90, cita-se a abertura a novos mercados, ampliando as possibilidades de importação e exportação. Com isso surgiram novas tendências no setor de alimentos e bebidas, que provocaram impacto positivo na indústria, com a modernização dos equipamentos e aditivos utilizados (FILHO, 2011). O aumento da capacidade de compra da população brasileira também proporcionou grandes mudanças, sendo que o consumo de bebidas não alcoólicas no ano de 2009 no Brasil chegou a 11L/ per capita (FILHO, 2011).

E esse é um mercado em franca expansão, a busca por uma vida mais saudável, com a prática de exercícios físicos, vem abrindo espaço para os sucos em néctares e isotônicos. No ano de 2014, consumo de suco de frutas pronto para consumo aumentou 9,9% (ABRAS, 2014). A procura de alimentos e bebidas funcionais, para dietas e controle do peso, e até de itens naturais,

ligados ao conceito de saúde e bem estar, origina-se em fatores como o envelhecimento das populações, mostra outra pesquisa, do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), em parceria com a Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (Fiesp) no âmbito do projeto Brasil Food Trends (BFT) 2020. Descobertas científicas que vinculam determinadas dietas a doenças, bem como a renda e a vida nas grandes cidades, também influenciam a busca de um estilo de vida mais saudável e o consumo desse perfil de produto (BFT, 2010).

Conforme o Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pré-mix é o preparado líquido ou concentrado líquido para bebida, ou pré-mix, é o produto que contém suco, polpa ou extrato vegetal adicionado de água potável e, adicionado ou não de açúcar, preparado através de processo tecnológico adequado que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. Conforme o mesmo decreto néctar é a bebida não fermentada obtida pela diluição da polpa ou extrato da fruta em água e adicionada de açúcar, destinada ao consumo direto decreto (MAPA), (BRASIL, 2009).

Em muitas regiões, os xaropes, pré-mixes e pós para bebidas são uma parte relevante do mercado de bebidas, mesmo quando o consumo per capita registra variações enormes de país para país. Nesse sentido diversas empresas desenvolvem conceitos de produtos inovadores, com os mais diversos sabores, colocando o enfoque no desejo de maior individualização dos consumidores (DOELHER, 2015).

Os pré-mixes, ou polpas concentradas, são amplamente utilizados nas indústrias de bebidas, principalmente, na elaboração de refrigerantes, também são utilizados em serviços de alimentação e nutrição, onde se precisa de agilidade no processo para a produção de alimentos em grandes quantidades, devido à facilidade de utilização, conferindo menor tempo de elaboração destes produtos, garantia de padronização, e, especialmente, por disponibilizar a fruta durante qualquer período do ano, facilidade no transporte e armazenamento, ampla distribuição geográfica de frutas regionais.

Dentre as bebidas de frutas, os néctares estão entre as mais comercializadas, pois disponibilizam um produto pronto para beber, com adequada proporção dos ingredientes permitidos. Aos néctares, cabe ressaltar

que devem apresentar concentrações de polpa adequadas à intensidade do sabor da fruta. A legislação prevê mínimos específicos para alguns frutos, e o mirtilo não está citado individualmente; assim, se enquadra nos demais frutos no qual o percentual de adição fica entre 20% para frutos de acidez elevada e 30% para os demais (BRASIL, 2003).

A procura por alimentos funcionais também auxilia e impulsiona o mercado de sucos e néctares, que tem crescido cinco vezes mais que a produção de refrigerantes (FILHO, 2011). A mudança no interesse dos consumidores quando ao acesso da informação à saúde tem elevado a procura por produtos que apresentem características nutricionais diferenciadas; o mirtilo, por ser rico em antocianinas e outros compostos funcionais vem de encontro a esta tendência.

A inclusão de néctares diferenciados, com cor e/ou sabor exóticos como o de mirtilo, deve ser feita a fim de romper barreiras culturais, demográficas e de renda que possam restringir o consumo da fruta *in natura*. (COUTO, 2012).

4.2.1 Aditivos ácido cítrico e xantana

A FAO/WHO *Expert Committee on Food Additives* (JECFA) define aditivo alimentar como qualquer substância se utiliza como ingrediente em alimentos, tendo ou não valor nutritivo, e cuja adição intencional ao alimento se faz com fins de preservação ou tecnológicos (incluindo os sensoriais) em suas diversas fases de fabricação, elaboração, preparação, tratamento, envasamento, empacotamento, transporte ou armazenamento, resulte ou possa preservar razoavelmente por si, ou seus subprodutos, em um componente do alimento ou um elemento que afete suas características (FAO, 1995).

Segundo a legislação brasileira, aditivo alimentar é “qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas” (BRASIL, 1997).

No Brasil, a ANVISA legisla sobre os aditivos que podem ser adicionados nas diversas categorias de alimentos. O uso de aditivos em

bebidas não alcoólicas é regulado pela RDC Resolução RDC nº 25, de 15 de fevereiro de 2005 da ANVISA. Entre os aditivos mais utilizados em bebidas encontram-se os acidulantes. A utilização de acidulantes melhora e equilibra o sabor, acentuando o sabor agridoce e atenuando o gosto doce; sendo os ácidos orgânicos os mais empregados (EVANGELISTA, 2000).

O ácido cítrico (INS 330) (figura 3) é um sólido cristalino, de cor branca ou incolor, muito solúvel em água, levemente solúvel em álcool. É o ácido mais comum em frutas e sucos, sendo considerado um dos melhores para uso em alimentos (FDA, 2013). É muito usado para ajustar a acidez, realçar o sabor, sinergista para antioxidante e prover certo grau de estabilidade ao produto e exercer ação conservante. Muitos estudos têm indicado que a atividade antimicrobiana do ácido cítrico é devido à quelação de íons de metais essenciais para o crescimento microbiano (GEISE, 1995; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA; 2010).

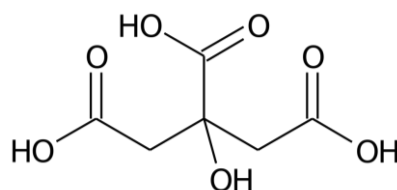


Figura 3: Fórmula estrutural do ácido cítrico

Fonte: GEISE (1995).

Em 1974, a FAO (*Food and Agriculture Organization*) concluiu que o ácido cítrico e seus sais de sódio e potássio não constituem significativo risco toxicológico para humanos e não foi determinado o seu consumo diário aceitável para a dieta humana, devendo ser usado de acordo com as boas práticas de fabricação. Está classificado como um aditivo que pode ser usado segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF) (BRASIL, 2010) Resolução nº 45, de 03 de novembro de 2010. Em néctares de fruta não há restrição para seu uso, podendo ser usado segundo as BPF ou RDC de bebidas não alcoólicas.

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, 2009).

Gomas, colóides hidrofílicos (hidrocolóides), mucilagens, ou ainda polissacarídeos solúveis em água, são algumas designações dadas às substâncias que têm a capacidade de formar com água géis ou soluções viscosas, isto é, têm a função de agentes espessantes ou gelificantes, estabilizantes de emulsões (BOBBIO e BOBBIO, 1992). Devido, às propriedades funcionais versáteis, podem se tornar produtos de grande interesse na criação de novas texturas e, conseqüentemente, na geração de novos produtos (DRUZIAN; PAGLIARINI, 2007).

A xantana é um polissacarídeo, hidrocolóide, produzido por bactérias do gênero *Xanthomonas*, e é vendida comercialmente pelo nome de goma xantana; foi descoberta nos anos 1950 por cientistas do *Northern Regional Research Laboratory* do Departamento de Agricultura, U.S.A. A primeira produção industrial de xantana foi feita em 1960, utilizando-se *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, e o produto ficou comercialmente disponível em 1964 (SUTHERLAND, 1993). No Brasil, foi permitido seu uso em 1965 (ABIA, 1992). Apresenta o código internacional para aditivos INS 415 (*International Numbering System*). De acordo com a Resolução nº 386, de 5 de agosto de 1999, a goma xantana é classificada como agente emulsificante, espessante e estabilizante (BRASIL, 1999).

A utilização da xantana se deve principalmente a suas propriedades reológicas, que permitem a formação de soluções viscosas a baixas concentrações (0,05 - 1,0%). Além disso, a xantana é extremamente solúvel, tanto em água quente quanto fria, comportamento relacionado com a natureza polieletrólítica da molécula (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Sua fórmula consiste em uma cadeia celulósica principal, constituída por unidades D- glucopiranosil unidas por ligações $\beta(1-4)$ e substituída em O-3 em cada unidade alternada por glucose, por uma cadeia lateral composta de um trissacarídeo (figura 4). A cadeia lateral consiste de um ácido glicurônico entre duas unidades de D-manopiranosil, a unidade de manose terminal pode ser substituída em O-4 e O-6 por um grupamento piruvato. O grupo O-acetil esta frequentemente presente em O-6 da unidade de manose interna (VENDRUSCOLO, 2005).

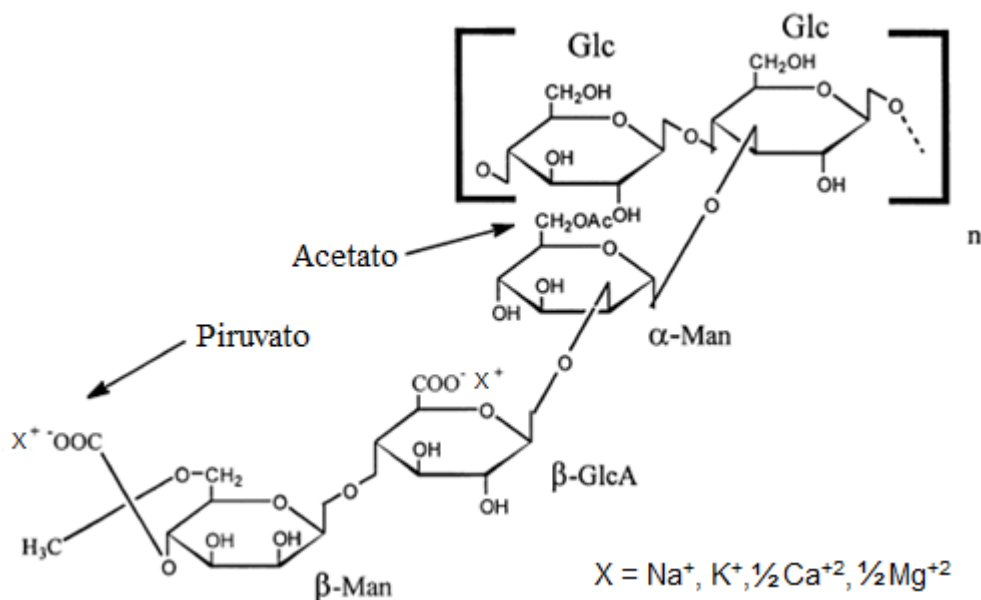


Figura 4: Unidade de repetição pentassacarídica da goma xantana

Fonte: Adaptado de Viebke (2004) por Klaic (2012).

A goma xantana é um espessante amplamente utilizado na indústria de alimentos por suas propriedades primárias como acentuada pseudoplasticidade (diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento), a qual permite gerar elevados valores de viscosidade. Além disso, a pseudoplasticidade da xantana realça o sabor e diminui a sensação de gomosidade do alimento na boca, em virtude da baixa viscosidade da xantana durante a mastigação, melhorando assim, suas características sensoriais, característica que se torna atraente em bebidas de frutas (KATZBAUER, 1998; GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Outras características importantes que devem ser conhecidas para a aplicação em alimentos é sua estabilidade em variações de pH, temperatura e força iônica, estabilização de emulsões, estabilidade térmica e a compatibilidade com diversos ingredientes. Apesar de ser necessária a determinados alimentos, pode dificultar o processamento ou manuseio dos mesmos. Por exemplo, em processos que envolvem bombeamento, ocorre uma diminuição da viscosidade do produto, tornando-o mais fluido, porém, imediatamente depois de cessada qualquer tensão de cisalhamento a viscosidade do produto é recuperada (YALPANI, 1968; GARCÍA-OCHOA et al., 2000; MAUGERI FILHO, 2001).

A xantana pruni é pesquisada e produzida desde 1995 no Laboratório de Biopolímeros do CDTec/UFPel. Ela é principalmente produzida por *Xanthomonas arboricola* patovar pruni (xantana pruni), a partir de cepas isoladas pela EMBRAPA – CPACT, no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, principalmente. Os estudos incluem produção, em incubador agitador orbital (*shaker*) e em biorreator, caracterização. Modificação química e aplicações em diversos setores. As aplicações da xantana pruni em produtos alimentícios, pesquisadas em nosso grupo de pesquisa, buscaram utilizar as propriedades características desse aditivo como espessante, estabilizante e auxiliar de emulsificação. Também têm sido desenvolvidos estudos visando sua combinação com outros polissacarídeos, o que permite a obtenção de novos e diferentes tipos de textura para produtos convencionais, como balas de goma e mousse (VENDRUSCOLO e MOREIRA, 2013).

4.5 Compostos bioativos

Para podermos considerar a eficiência da molécula como composto bioativo, a mesma deve possuir propriedade observável em um organismo, a qual indica mudanças em componentes celulares ou bioquímicos, em sua estrutura ou função, e que pode ser medida em sistemas biológicos (KUSSMAN et al., 2007). Para que um composto químico possa exercer atividade biológica este deve atingir o alvo fisiológico numa concentração mínima que determine tanto esse efeito biológico quanto o mecanismo de ação (OLIVEIRA; BASTOS, 2011).

A ingestão insuficiente de compostos bioativos constitui componente de risco para as doenças crônicas não transmissíveis (OLIVEIRA; BASTOS, 2011). Embora relevantes, os dados disponíveis atualmente são insuficientes para que se estabeleçam ingestões dietéticas referência (IDRs) para os mesmos, pois seu metabolismo e biodisponibilidade ainda não estão totalmente esclarecidos (WILLIAMSON; HOLST, 2008). Esses compostos interferem em alvos fisiológicos específicos, modulando a defesa antioxidante, defesa frente a processos inflamatórios, os quais estão relacionados a várias doenças e não há dúvida de que sejam essenciais para a manutenção da saúde (KAUR; KAPOOR, 2001).

A variedade de compostos bioativos presentes no mirtilo é importante, mas as antocianinas têm sido consideradas a maior fonte das propriedades antioxidantes desses frutos. Os vários tipos de flavonoides presentes são os principais metabólitos secundários do mirtilo, com implicações importantes para manutenção da saúde humana (YOUSEF, 2013; KALT; McDONALD 1996; SMITH et al., 2000). As antocianinas estão entre os flavonoides mais evidentes e mais abundantes no mirtilo (KALT; DUFOUR 1997; PRIOR et al., 1998).

4.5.1 Compostos polifenólicos

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução. Além disso, são formados em condições de estresse como, infecções, ferimentos, exposição a radiações UV, dentre outros. Vastamente distribuídos no reino vegetal, podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (SHAHIDI; NACZK, 1995; ANGELO; JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos encontram-se distribuídos desuniformemente nas plantas, sendo que compostos fenólicos insolúveis são encontrados nas paredes celulares, enquanto os solúveis são encontrados nos vacúolos (NACZK; SHAHIDI, 2006).

As substâncias com núcleo fenólico apresentam destaque especial como antioxidantes por atuarem como eficientes captadores de espécies reativas de oxigênio, além de reduzirem e quelarem íons férricos que catalisam a peroxidação lipídica, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo. A ação antioxidante vem sendo relacionada com sua estrutura química, devido à presença de grupos hidroxil, fator considerado crítico para a atividade antioxidante (GALIZIA et al, 2001). Os produtos intermediários, formados por meio da ação dos antioxidantes, podem ser considerados estáveis devido à ressonância do anel aromático dessas substâncias (MORAES; COLLA, 2006; ANDRADE et al., 2007).

Inúmeros são os compostos fenólicos, e partindo da molécula simples de fenol, temos substâncias com diferentes níveis de complexidade (SOUZA, 2002). 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).

4.5.2 Flavonoides

Os flavonoides são pigmentos naturais amplamente distribuídos no reino vegetal e já foi detectada a ocorrência de mais de 8000 compostos fenólicos em plantas. Os flavonoides são biossintetizados pela combinação dos ácidos chiquímico e acilpolimalonato. Um derivado do ácido cinâmico (fenilpropano), sintetizado a partir do ácido chiquímico, age como precursor na síntese de um intermediário ao qual são adicionados três resíduos de acetato com posterior ciclização da estrutura. São compostos derivados da benzo- γ -pirona, quimicamente consistindo de cadeias fenólicas e do anel pirano, ocorrendo na forma de agliconas, glicosídeos, ésteres e derivados metilados. A maioria dos flavonoides possuem 15 átomos de carbono no seu núcleo fundamental, que é formado por dois anéis benzênicos ligados por um anel heterocíclico pirano, com dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 (DI CARLO et al., 1999; DORTA et al., 2005) (Figura 5).

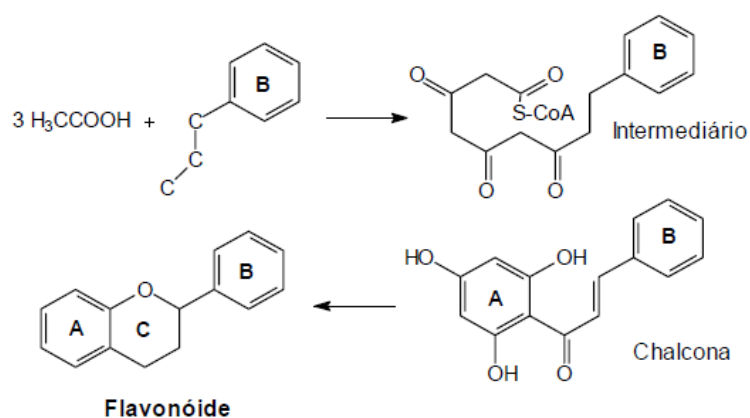


Figura 5: Biossíntese dos flavonoides

Fonte: DI CARLO et al. (2009)

Os flavonoides são solúveis em água e em solventes polares, principalmente álcoois. Dependendo do estado de oxidação da cadeia heterocíclica do pirano têm-se diferentes subclasses de flavonoides, pigmentos antociânicos, flavonas, flavanóis, flavonóis, flavanonas, isoflavonas (SILVA & SILVA, 1999; CERQUEIRA et al., 2007). Suas estruturas são demonstradas na figura 6.

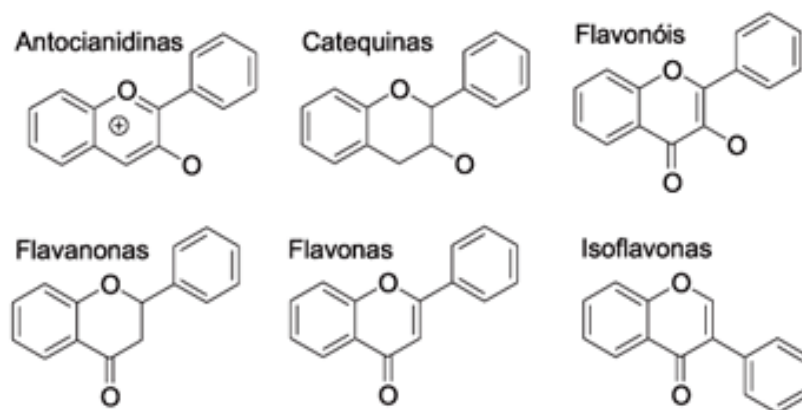


Figura 6: Principais classes de flavonoides

Fonte: Coutinho et al. (2009)

Estão amplamente distribuídos em plantas, frutas, vegetais e em seus derivados (suco de uva, vinho tinto, chá preto e verde), e representam componentes substanciais da fração não energética da dieta humana devido à sua capacidade antioxidante relacionada com a prevenção de doenças como alguns tipos de cânceres. Protegem o organismo do dano produzido por agentes oxidantes como os raios ultravioletas, poluição ambiental, substâncias químicas presentes nos alimentos, estresses, dentre outros (GREENWALD et al., 2001).

Muitos estudos têm sido feitos em função de seu potencial efeito benéfico à saúde (MORAES & COLLA, 2006; VOLP et al., 2008; HASSIMOTTO et al., 2009). O organismo humano não produz essas substâncias químicas protetoras, cabendo ao homem obtê-las por meio da alimentação (VOLP et al., 2008). A atividade antioxidante dos flavonoides e de seus metabólitos depende do arranjo de seus grupos funcionais na estrutura molecular. São efetivos antioxidantes em ampla faixa de sistemas de oxidação

química, demonstrado por sua habilidade de sequestrar radicais peróxil, radicais alquil peróxil, radicais superóxido peróxil, tanto em ambientes aquosos quanto em ambientes orgânicos. Essa capacidade também é influenciada pela atividade quelante de metais de transição e pela capacidade de inserção no interior nas membranas biológicas (DORTA, 2005).

Elevados teores de flavonoides e atividade antioxidante em mirtilo estão sendo buscados pelos produtores da fruta nos Estados Unidos. Durante décadas, os programas de melhoramento vegetal tinham predominantemente focado na criação de variedades com características comerciais melhoradas, como o grande tamanho das bagas, cor intensa, sabor e aroma intensos, firmeza e produtividade; mas recentemente, programas de melhoramento modificaram o foco para a qualidade dos frutos, especialmente para a melhoria do valor nutricional e para obtenção de cultivares com maiores conteúdos de flavonoides (WANG et al., 2012).

4.5.3 Antocianinas

O termo antocianina é de origem grega (*anthos*, uma flor, e *kyanos*, azul escuro). Após a clorofila, as antocianinas são o mais importante grupo de pigmentos de origem vegetal (HARBORNE & GRAYER, 1988). As funções desempenhadas pelas antocianinas nas plantas são variadas: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa, mecanismos reprodutores, tais como a polinização e a dispersão de sementes e função biológica. As antocianinas são as principais responsáveis por inúmeras tonalidades de cores encontradas em flores, frutas e folhas (BOBBIO & BOBBIO, 1995; LÓPEZ et al., 2000).

As antocianidinas são as estruturas básicas das antocianinas (Figura 5). Consiste um anel aromático ligado a um anel heterocíclico, que contém oxigênio, e também é ligado por uma ligação carbono-carbono com um terceiro anel aromático (KOŃCZAK & ZHANG, 2004). Quando as antocianidinas são encontradas na sua forma glicosídeos (ligado ao açúcar) eles são conhecidas como antocianinas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

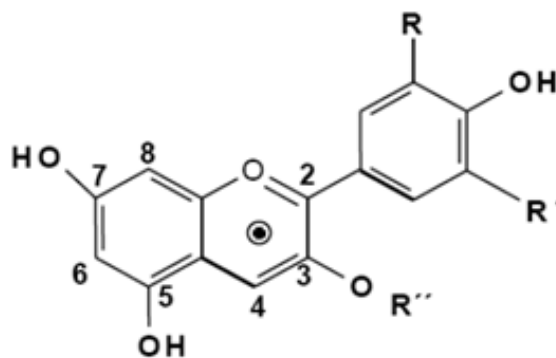


Figura 5: Esqueleto primário da estrutura das antocianinas

Fonte: Fuleki e Francis (2000).

Os açúcares mais comumente ligados à estrutura molecular central, em geral nas hidroxilas das posições 3, 5 e 7, são monossacarídeos como glicose, galactose, arabinose e ramnose; porém, podem apresentar-se também na forma de di e trissacarídeos. As variações estruturais das antocianinas denotam diferentes açúcares ligados, na polimerização e nos modos ou posições de hidroxilação e metilação. Em alguns casos, os açúcares apresentam-se acilados pelos ácidos p- cumárico, cafeico, fenílico e vanílico. Moléculas tipo antocianidina (molécula livre de açúcares ou aglicona) raramente ocorrem na natureza e, em geral, é resultante do processo de isolamento das antocianinas (figura 6). O açúcar presente na estrutura das antocianinas confere maior solubilidade e estabilidade a estes pigmentos, quando comparados com suas agliconas (JACKMAN et al., 1987).

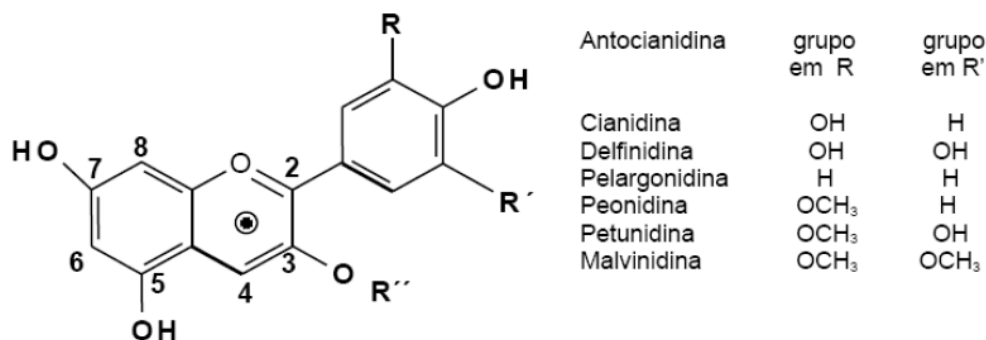


Figura 6: Estrutura genérica das antocianinas a partir do esqueleto das antocianidinas

Fonte Fuleki e Francis (2000)

A cor exibida por essas moléculas foi elucidada pela primeira vez por Pauling, em 1939, que propôs a estrutura de ressonância do íon flavílium, o que mostra a tonalidade de cor conforme as modificações do pH (WROLSTAD et al., 2005). As antocianinas encontradas no mirtilo são derivadas de cianidina 3-glicosídeo, delfinidina, malvidina, petunidina e peonidina (KADER et al., 1996).

As antocianinas são altamente instáveis na forma isolada devido à ação de β -glicosidases, que leva à destruição mais facilmente pelas polifenoloxidasas (BUCKOW et al., 2010). Algumas antocianinas são mais vulneráveis à oxidação do que outras, portanto, o conhecimento em relação à sua estrutura química predominante no alimento em questão pode ajudar na seleção das condições de armazenamento e processamento adequados (ROUTRAY; ORSAT, 2011). A deterioração de antocianinas depende de fatores tais como pH, enzimas, presença de substratos, temperatura, íons metálicos, ácido ascórbico, proteínas, e também leva-se em consideração as propriedades estruturais das antocianinas (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997; PRIOR; CAO, 1999; CLIFFORD, 2000).

Outro fenômeno envolvido na preservação de antocianinas é a co-pigmentação, que corresponde às associações ocorridas em meio aquoso entre compostos flavonoides não-antociânicos, taninos, alcaloides, proteínas e aminoácidos, ácidos orgânicos, ácidos nucleicos, polissacarídeos, íons metálicos e até mesmo outras antocianinas. Este fenômeno é o principal

mecanismo de intensificação e estabilização da cor em plantas (BROUILLARD, 1982; OSAWA, 1982; REQUE, 2012).

As antocianinas, em pH baixo, encontram-se predominantemente na forma do ânion ou cátion flavílium, o qual apresenta coloração vermelha em solução aquosa (Figura 7). Em pH alto, esse cátion é convertido em outras espécies incolores (REVILLA, RYAN e MARTIN-ORTEGA, 1998). O fato de o cátion flavílium ser estável em pH ácido levou à utilização de solventes contendo ácidos orgânicos ou minerais na extração de antocianinas de frutas e vegetais (MACHEIX, FLEURIET e BILLOT, 1990).

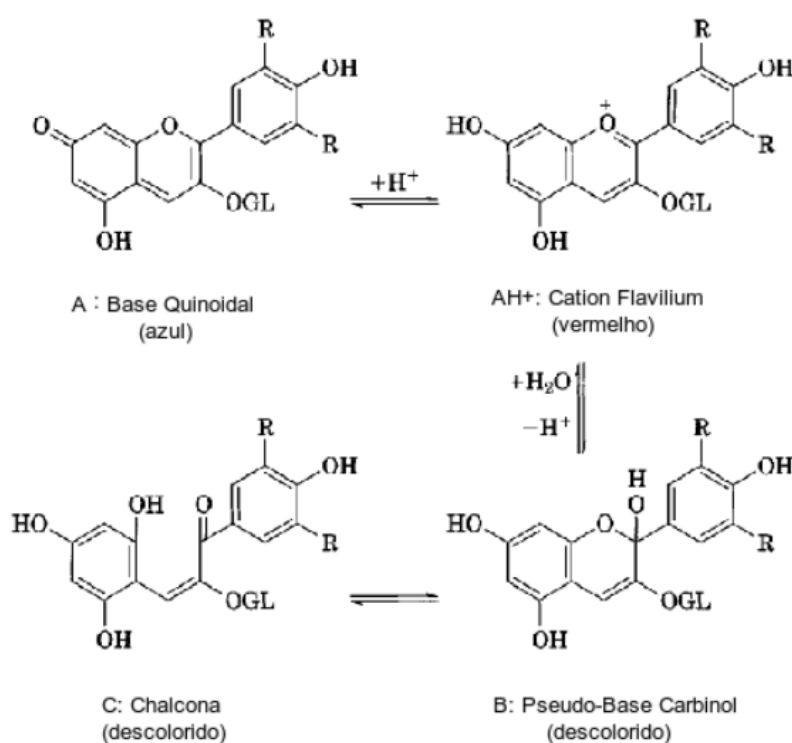


Figura 7: Mudanças estruturais das antocianinas conforme o pH.

Fonte: Adaptado de Francis (2000).

Em vegetais e frutas frescas existem poucos compostos que podem absorver energia na região de absorção máxima das antocianinas (465 a 550 nm). Desta forma, a quantificação de antocianinas é realizada por métodos espectrofotométricos baseados em medições simples de absorbância em comprimentos de onda adequados (WROLSTAD, 1976). Os métodos diferenciais têm sido os mais utilizados na determinação quantitativa das

antocianinas. Esses métodos baseiam-se nas mudanças de absorvância resultantes da variação do pH das soluções e no fato das características espectrais dos produtos de degradação não serem alteradas por mudanças no pH (FRANCIS, 1982).

Diferentes valores de pH têm sido empregados, porém o método mais comum mede a absorvância em pH 1,0 e 4,5 no mesmo comprimento de onda de absorção máxima (FULEKI e FRANCIS, 1968). É importante ressaltar que o método diferencial quantifica as antocianinas monoméricas e que os resultados podem não estar relacionados com a intensidade de cor das amostras (WROLSTAD, 1976).

Os pigmentos poliméricos vermelhos contribuem significativamente para a absorvância máxima das antocianinas e ainda apresentam cor em pH 4,5. As medidas das concentrações de antocianinas por esses métodos não correspondem à cor visual do produto, uma vez que a medida da forma colorida é feita em pH 1,0, em que as antocianinas existem na forma do cátion flavílium vermelho. Em produtos como sucos de frutas, cujos valores de pH variam entre 2,5 e 4,0, a distribuição e a concentração dos cromóforos das antocianinas são diferentes (JACKMAN; SMITH, 1996).

Contudo, é preciso enfatizar que, uma vez que o método diferencial quantifica somente as antocianinas monoméricas, o resultado pode não representar a intensidade da cor das amostras. Tal fato ocorre porque antocianinas poliméricas e outros pigmentos resultantes de escurecimento enzimático e não enzimático e da degradação de antocianinas contribuem para a intensidade da cor WROLSTAD (1976).

ARTIGO 1

SUBMETIDO A REVISTA CIÊNCIA RURAL

Estratégias de preservação de compostos bioativos fenólicos em polpa de mirtilo - tratamento térmico por adição direta de vapor e adição de xantana pruni

**Estratégias de preservação de compostos bioativos fenólicos em polpa de mirtilo -
tratamento térmico por adição direta de vapor e adição de xantana pruni**

**Júlia Borin Fioravante^{1*}, Angelita da Silveira Moreira¹, Rosane da Silva
Rodrigues², Claire Tondo Vendruscolo², Patrícia Diaz de Oliveira³.**

RESUMO: O Este trabalho teve como objetivo aumentar a preservação de compostos bioativos fenólicos e atividade antioxidante em polpa de mirtilo por tratamento térmico com aplicação direta de vapor associada à adição de goma xantana Utilizou-se um *blend* comercial de mirtilos das cultivares Powerblue, Clímax e Bluegen e xantana pruni, produzida no Laboratório de Biopolímeros do CDTEC - UFPel. As frutas, adicionadas de 0,08% de ácido cítrico, foram processadas termicamente até 95°C, por aquecimento direto em tacho, com e sem adição de 0,1% de xantana pruni), e por aplicação direta de vapor, também com e sem adição de xantana pruni. As quatro polpas foram avaliadas até 90 dias de armazenamento sob congelamento, quanto à atividade antioxidante, teor de fenóis, flavonoides e antocianinas monoméricas totais. Com exceção dos fenóis totais, o tratamento térmico com aplicação direta de vapor e a adição de xantana favoreceram a preservação dos bioativos. A associação de xantana pruni com a adição direta de vapor favoreceu a estabilização do teor de flavonoides durante o armazenamento. Esses fatores, isoladamente, parecem influenciar positivamente a estabilidade das antocianinas durante o armazenamento congelado por 90 dias. A adição de xantana favoreceu a preservação da atividade antioxidante, verificada por ABTS e DPPH, para ambos tratamentos térmicos. De modo geral, os resultados mais favoráveis foram obtidos pela associação da adição de xantana pruni e vapor.

ABSTRACT: This study aimed to increase the preservation of phenolic bioactive compounds and antioxidant activity in blueberry pulp by heat treatment with direct

application of steam associated with the addition of xanthan gum used a commercial blend of blueberries Powerblue cultivars, Climax and Bluegen and xanthan pruni, produced in Biopolymers Laboratory of CDTec - UFPel. The fruit added 0.08% citric acid, were thermally processed to 95c by heating in a direct saucepan with and without addition of 0.1% xanthan pruni) and by direct application of steam, also with or without addition of xanthan pruni. The four pulps were evaluated up to 90 days of storage in a freezer, for antioxidant activity, total phenols, flavonoids and anthocyanins total monomer. With the exception of total phenols, heat treatment with direct application of steam and the addition of xanthan favored the preservation of bioactive. Xanthan pruni association with direct addition of steam favors the stabilization of the flavonoid content during storage. These factors alone seem to positively influence the stability of anthocyanins during frozen storage for 90 days. The addition of xanthan favored the preservation of antioxidant activity, ABTS and DPPH verified by, for both heat treatments. In general, the most favorable results were obtained by adding pruni combination steam and xanthan.

Palavras – chave: *Blueberrys*, Polpa de fruta, armazenamento.

Introdução

O crescente interesse no papel das substâncias antioxidantes naturais na saúde humana tem estimulado pesquisas no campo das ciências agronômicas e de alimentos. Estudos têm se dedicado à determinação do conteúdo e da atividade desses compostos, os quais podem ser mantidos ou melhorados através do desenvolvimento de cultivares, práticas de produção, armazenamento pós-colheita e processamento (GUERRERO et al., 2010).

As frutas em geral têm demonstrado relevantes teores de compostos bioativos antioxidantes. Dentre elas, o mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) tem se destacado pela concentração e composição de compostos fenólicos (particularmente os antociânicos) e, conseqüente, elevada capacidade antioxidante sobre radicais livres e espécies reativas. Tal atividade tem sido associada à redução do risco de desenvolvimento de inúmeras doenças crônicas não transmissíveis (RASEIRA, 2007).

O mirtilo possui também características sensoriais peculiares, especialmente a cor, além do apelo nutricional e potencialmente funcional, fatores que têm contribuído para o crescente interesse no seu cultivo e consumo. Contudo, a perecibilidade e sazonalidade do fruto limitam a comercialização e disponibilidade para o consumo in natura (RASEIRA,, 2007).

O beneficiamento de frutos do mirtilheiro permite sua disponibilização na entressafra, agrega valor comercial ao produto e permite o aproveitamento das frutas inadequadas à comercialização in natura, incentivando o cultivo e motivando a pesquisa em novas tecnologias, onde há lacunas principalmente sobre as perdas de substâncias bioativas durante o processamento e armazenamento dos produtos finais.

A conservação desta e de outras frutas na forma de polpas tem sido uma alternativa bastante utilizada para atender à demanda.

Os processos mais usuais baseiam-se na aplicação de tratamentos térmicos cuja função é a inativação de enzimas responsáveis por perdas nutricionais, redução da carga microbiana e estabilização de textura (BAHÇEÇI et al., 2005), além de aumentar o rendimento. A obtenção da polpa propriamente dita é realizada na sequência por prensagem ou despulpamento mecânico (TORALLES, VENDRUCOLO, 2007).

O tratamento térmico, entretanto, pode resultar em polpa com “sabor de cozido”, caso o aquecimento seja demasiado (TOLENTINO; GOMES, 2009). A utilização do binômio tempo/temperatura é um fator importante de qualidade, não só nos aspectos nutricionais, funcionais e sensoriais, mas também na segurança da polpa obtida. Geralmente, melhores resultados são obtidos quando utilizadas altas temperaturas por um período curto de tempo (SOUZA, 2008). A utilização de novas formas de aplicação de aquecimento vem ao encontro da redução de perdas de compostos bioativos, melhora na eficiência de extração destes compostos, inativação de enzimas e controle microbiológico.

Os tratamentos térmicos podem ser feitos em tacho aberto, pasteurizador tubular ou trocadores de calor (RODRIGUES; SAINZ; FERRI 2009; KUCK 2012). A utilização de vapor no processamento permite maior facilidade no controle de temperatura de processo, parâmetro importante na preservação dos compostos bioativos termolábeis, como as antocianinas que são sensíveis ao aumento intenso da temperatura. A vigorosa agitação pelo borbulhamento da massa de frutos provocada pela injeção direta de vapor auxilia a manter a temperatura uniforme, evitando pontos de superaquecimento, prejudiciais ao processo e que pode conferir sabores estranhos à polpa preparada (RIBEIRO, 2005).

A utilização de aditivos, como o ácido cítrico e a goma xantana, associados aos processos térmicos, também tem demonstrado influência positiva na manutenção de compostos bioativos em alguns alimentos. Em trabalhos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa, foram observadas características desejáveis em produtos de mirtilo adicionados de xantana, como preservação da cor em polpas de mirtilo (KUCK, 2012) e no desenvolvimento de *toppings* (RODRIGUES, 2010). Isso se deve a sua 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). Além disso, a goma xantana tem papel tecnológico importante na elaboração de polpas e sucos/néctares devido as suas propriedades reológicas que permitem a formação de soluções viscosas a baixas concentrações (0,05 - 1,0%) e a sua alta solubilidade, tanto em água quente quanto fria (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Este trabalho teve como objetivo possibilitar uma estratégia de preservação de compostos bioativos em polpa de mirtilo por tratamento térmico com aplicação direta de vapor associado à adição de xantana pruni.

Material e métodos

Foi utilizado um *blend* comercial de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) constituído pelas cultivares *Powerblue*, *Clímax* e *Bluegen*, cultivadas em pomar comercial na cidade de Morro Redondo (latitude 31 ° 46 '19' 'e longitude 52 ° 20' 33 "), Rio Grande do Sul, Brasil. Após seleção, foi feita a sanitização dos frutos em solução clorada (hipoclorito de sódio) a 100 ppm por 10 minutos, seguido de enxague, drenagem e acondicionamento em sacos de polietileno, os quais foram termosselados e mantidos sob congelamento em *freezer* (-20 °C ± 2 °) até o momento do processamento (30 dias).

Produção de xantana pruni

Xantana arborícola pv pruni cepa 101, cedida pelo CPACT - Embrapa ao Laboratório de Biopolímeros, CDTec - UFPel, Brasil, foi utilizada neste estudo. A cepa bacteriana foi mantida em ágar SPA (Hayward, 1964), armazenada a 4 ° C e repicada mensalmente em placas de Petri. A cultura estoque foi preservada por liofilização. O estágio de multiplicação celular (produção de inóculo) foi realizado em um agitador orbital (*B. Braun Biotech International*®) por 24 h. A produção de xantana pruni foi

realizada por fermentação submersa num biorreator de 5 L com um volume útil de 3 L (*Biostat B, B. Braun Biotech International*®) utilizando 10 % (v/v) de inóculo a. Foram utilizadas condições operacionais e de meio de cultura como descrito no pedido de patente WO/2006047845 (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, 2006), com pH fixado em 7 por adição de NaOH 2 M, durante 72 h. O caldo fermentado resultante foi tratado termicamente a 121 ° C durante 15 minutos e a xantana pruni foi recuperada por precipitação com adição de etanol a 96 % numa proporção de 4:1(v/v). Após a recuperação, o polímero foi seco a 56 ° C até peso constante e moído para tamanho de partícula de 60-150 mesh. As xantanas utilizadas no experimento resultaram de uma mistura de três fermentações; o polímero resultante de cada fermentação foi analisado através da produção e da viscosidade e não foi observada diferença significativa ao nível de 5 % entre eles. O produto final foi designado como xantana pruni.

Obtenção de polpas por aquecimento por condução em tacho aberto (tratamentos TA e TAX)

Porções de 5 Kg de frutas descongeladas em temperatura ambiente até 6 ° C foram utilizadas em cada tratamento. Os tratamentos consistiram em: 1) aquecimento em tacho, com ácido (TA), cujos frutos foram adicionados de ácido cítrico (0,08 %m/m) em 30 % (m/m) de água; e, 2) aquecimento em tacho, com ácido e xantana (TAX), cujos frutos foram adicionados de xantana pruni (0,1 %m/m) e ácido cítrico (0,08 %m/m) em 30 % (m/m) de água (condições otimizadas no estudo de KUCK, 2012). Os frutos de cada tratamento foram aquecidos até a temperatura de 70 °C e desintegrados com auxílio de instrumento de aço inoxidável com superfície plana perfurada (20x 35 cm) até o ponto em que a baga soltou-se da casca. Seguiu-se o aquecimento sob agitação até a temperatura de 90 °C. O aquecimento foi realizado em tacho de aço inoxidável com haste rotatória e camisa de vapor gerado em caldeira térmica, com

pressão de saída de 2 kgF⁻¹ e temperatura de 94 °C ± 5 °. Após esta etapa foram despulpados em despulpadeira mecânica de simples estágio, com malha de 0,25 mm, durante 3 minutos. As polpas obtidas dos tratamentos TA e TAX foram acondicionadas em sacos de polietileno (6 micra) e armazenados sob congelamento (-20 °C ± 2 °) por 90 dias.

Obtenção de polpas por aplicação direta de vapor (tratamentos VA e VAX)

Porções de 5 Kg de frutas, descongeladas em temperatura ambiente até 6 °C, foram aquecidas por aplicação direta de vapor gerado em caldeira térmica, com pressão de saída de 2 kgF⁻¹ e temperatura de 94 °C ± 5 °. Os tratamentos consistiram em: 3) aquecimento por aplicação de vapor com ácido (VA), cujos frutos foram adicionados de ácido cítrico (0,8 %m/m) e 30 %(m/m) de água; e, 4) aquecimento por aplicação de vapor, com ácido e xantana (TAX), cujos frutos foram adicionados de xantana pruni (0,1 %m/m) e ácido cítrico (0,08 %m/m) em 30 %(m/m) de água. A operação foi realizada em balde de aço inoxidável de 15 L, com tampa de encaixe, com a fruta formando uma camada de aproximadamente 25 cm. A inserção do vapor foi realizada com auxílio de mangueira, sendo a mesma submergida na massa de frutos. Após os frutos atingirem a temperatura de 70 °C, o que ocorreu em cerca de 5 minutos, o material foi colocado em bandeja plástica e desintegrado previamente, por esmagamento. As frutas foram recolocadas no balde e completou-se o tratamento térmico com injeção de vapor até 90 °C; o que ocorreu em 5 minutos. Concluído o aquecimento, as frutas foram despulpadas em despulpadeira mecânica de simples estágio, com malha de 0,25 mm, durante 3 minutos. As polpas foram envasadas em sacos de polietileno e armazenados sob congelamento (-20 °C ± 2 °) por 90 dias.

Determinação dos compostos bioativos e da atividade antioxidante

As determinações foram realizadas, em triplicata, no mirtilo congelado por 30 dias (considerado 1º dia do processamento) e após 30, 60 e 90 dias de armazenamento; e nas polpas (TA, TAX, VA, VAX) no dia do processamento (dia 1) e durante o armazenamento, aos 30, 60 e 90 dias.

Extração dos compostos bioativos

Para a determinação dos compostos bioativos (compostos fenólicos, antocianinas monoméricas e flavonoides totais) e da atividade antioxidante primeiramente foi preparado um extrato metanólico ácido a partir de amostras do mirtilo congelado e das polpas de cada tratamento, com metodologia adaptada de Giusti; Worlstad (2001), usando como solução extratora metanol acidificado (HCl 1 N, pH 1,0). Pesou-se 1 g da amostra em tubo Falcon de 50 mL e diluiu-se em 25 mL de solução extratora, agitou-se em vortéx e centrifugou-se (10.000 x g) por 15 minutos. Após, retirou-se o sobrenadante e o pellet foi ressuspensionado na solução, sendo esta etapa realizada por 3 vezes. Os sobrenadantes foram reunidos e concentrados em evaporador rotativo (40 °C/5'), até aproximadamente 5 mL; para obtenção de volume conhecido, as amostras foram avolumadas com a solução extratora em balão volumétrico de 25 mL. Cada extrato foi armazenado em frasco âmbar em freezer (-20°C).

Compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada por método colorimétrico, de acordo com Roesler et al. (2007). Uma alíquota de 500 µL de extrato metanólico concentrado foi adicionada de 2,5 mL de solução aquosa a 10 % (v/v) do reativo de Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5 % (m/v). As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro Jenway® – single cell holder a

760 nm, utilizando-se de metanol acidificado como o branco da amostra. 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 10-250 mg.L⁻¹, e expressa como equivalente de ácido gálico (EAG).

Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado colorimetricamente, de acordo com o método proposto por Zhishen et al. (1999), através de reações das amostras com NaNO₂, AlCl₃ e NaOH, seguidas de leitura de absorvância em espectrofotômetro Jenway® – single cell holder a 510 nm. A quantificação de flavonoides totais da amostra foi realizada por meio de curva padrão de catequina com 8 pontos, com concentrações variando entre 10-150 mg.L⁻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.100g⁻¹).

Antocianinas monoméricas totais

A avaliação de antocianinas monoméricas totais foi realizada conforme Giusti; Worlstad (2003), com a amostra dividida em duas alíquotas às quais são 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 feitas em espectrofotômetro Jenway® – single cell holder a 700 nm. O fator de absorvidade molar utilizado para cálculo foi para a antocianina majoritária cianidina-3-glicosídeo (ϵ absorvidade molar =26,900).

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do mirtilo congelado e das polpas foi avaliada pelos métodos espectrofotométricos de sequestro de radicais DPPH e ABTS. Para a determinação da atividade antioxidante total pelo método DPPH utilizou-se metodologia de Brand-Williams et al. (1995), adaptada quanto ao volume. Este método é baseado na captura do radical livre DPPH (2,2 difenil 1 picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm, a leitura foi efetuada após 30 minutos de reação (período em que ocorreu a extinção completa da coloração roxa obtida na reação). No método ABTS, a atividade antioxidante total foi determinada através do ensaio com ABTS•+, 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 LE et al. (2002). O sistema foi mantido em repouso de 12 horas, à temperatura ambiente, em ausência de luz. Uma vez formado o ABTS•+, o mesmo foi diluído com água destilada até valor de absorbância de $0,7000 \pm 0,02$ a 734 nm. Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em valores equivalentes de Trolox. g-1 (RE et al., 1999).

Determinações físico-químicas

As determinações físico-químicas foram realizadas, em triplicata, no mirtilo congelado por 30 dias e nas polpas nos dias 1, 30, 60 e 90 de armazenamento congelado. Determinou-se a acidez total titulável (em % de ácido cítrico) com auxílio de potenciômetro, onde se titulou até o pH 8,1; os sólidos solúveis totais (em °Brix) à temperatura de 20°C com refratômetro manual INSTRUTERM®, modelo 0°- 38°; e o potencial hidrogeniônico (pH) à temperatura de 20 ° C através de método eletrométrico em potenciômetro marca Hanna® HI 2221 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi feita através de análise de variância (ANOVA) seguido de teste de Tukey para comparação de médias, a 5 % de probabilidade, e realizou-se correlação de Pearson para determinar a correlação entre os componentes bioativos e a atividade antioxidante, a 10 % de probabilidade, utilizando-se o software *Statistica* versão 7.0.

Resultados e discussão

Na tabela 1 observa-se que, relativamente aos compostos fenólicos totais, as polpas obtidas pelos tratamentos TA e VAX não diferiram ($p > 0,05$) da fruta congelada, durante o período de armazenamento. Semelhantemente ao mirtilo congelado, todos os tratamentos resultaram em decréscimo no teor de compostos fenólicos totais (em torno de 3 %) a partir de 30 dias de armazenamento, à exceção do tratamento TAX, que apresentou decréscimo a partir do 60º dia de armazenamento.

O tratamento em tacho sem adição de xantana pruni (TA) foi o mais eficiente na extração dos compostos fenólicos totais a partir da fruta. A aplicação de calor por condução, que promove a elevação da temperatura mais lentamente que a aplicação direta de vapor, facilitou o rompimento da parede celular da casca do fruto, facilitando a migração e extração desses compostos. A adição de xantana pruni pode prejudicar a extração de alguns compostos, uma vez que reduz a concentração de água livre, necessária à dissolução dos compostos a serem extraídos da casca. A concentração de xantana pruni utilizada não demonstrou eficiência na preservação dos fenóis totais durante o armazenamento. A acidificação do meio, por outro contribuiu para a extração e preservação desses compostos, sendo o ácido cítrico o mais recomendado, devido as suas características complementares de conservante e estabilizante durante o

armazenamento (MAIN; CLYNDESDALE; FRANCIS, 1978). Rocha (2009), em avaliação de polpa de mirtilo tratada por branqueamento a 90 °C durante 1 minuto, encontrou valores de compostos fenólicos totais de 317,6 mg EAG.g⁻¹, demonstrando que o tratamento térmico utilizado está intimamente ligado ao conteúdo de compostos bioativos.

Na tabela 2 verifica-se que, para flavonoides totais, os teores nas polpas de todos os tratamentos foram significativamente ($p \leq 0,05$) menores aos da fruta. Em média, as perdas em relação ao fruto congelado ficaram entre 35 e 60 % no tempo inicial. Os efeitos deletérios do processamento pareceram mais intensos que durante o armazenamento.

O tratamento térmico por adição direta de vapor bem como a adição de xantana pruni minimizaram a perda dos flavonoides durante o processamento e armazenamento. Ao final dos 90 dias, os tratamentos com adição direta de vapor (VA e VAX) resultaram nos maiores valores de flavonoides totais, evidenciando que o método pode evitar a degradação desses compostos.

Verifica-se na tabela 3 que, já no tempo inicial (dia 1) e até o final do armazenamento, todas as polpas apresentaram uma redução significativa ($p \leq 0,05$) no teor de antocianinas monoméricas totais comparativamente à fruta que lhes deu origem, comportamento também observado para flavonoides totais (tab. 2). O tratamento TA foi o que resultou em maiores perdas de antocianinas em relação ao mirtilo congelado, cerca de 33%, bem como menores valores, comparativamente aos demais tratamentos, durante todo o período analisado.

Os tratamentos com adição de xantana (TAX e VAX) tiveram valores equivalentes, porém menores que o tratamento com vapor sem adição de xantana (VA)

a partir do 30º dia comparativamente ao tratamento com vapor sem adição de xantana (VA). Todas as polpas se mantiveram praticamente estáveis durante o período de armazenamento, de modo similar ao observado para flavonoides totais. Não se observou sinergismo entre os efeitos protetores do aquecimento por adição direta de vapor e a adição de xantana.

Kuck (2012) avaliou, pelo método de pH único, antocianinas totais em polpas de mirtilo obtidas por tratamento térmico em tacho aberto, verificando decréscimo significativo já a partir do 30º dia de armazenamento. Em nosso estudo, isso foi observado apenas para o tratamento TA, menos eficiente.

As alterações/degradações mais significativas que as antocianinas podem sofrer são fortemente relacionadas à modificação do pH, o que é manifestado em diferentes espectros de absorvância (FULEKI; FRANCIS, 1968). O método de pH diferencial, utilizado neste estudo, baseia-se nessa reação e permite medições precisas e rápidas para a quantidade total de antocianinas, mesmo na presença de pigmentos degradados ou polimerizados e outros compostos interferentes (Lee et al., 2005). Esta análise, por essas características, é interessante para produtos processados, que sofrem esse tipo de alterações.

Analisando conjuntamente os valores de flavonoides e antocianinas (tabelas 2 e 3) comparativamente aos de fenóis totais (tabela 1), verifica-se que, apesar de o tratamento TA (polpa elaborada em tacho) resultar em maior extração de compostos fenólicos totais, não ocasionou a maior extração ou preservação de flavonoides totais e antocianinas monoméricas totais no mesmo tratamento. O contrário foi verificado nas polpas dos demais tratamentos. Isso indica que a associação entre tratamento térmico e os aditivos estudados tem influência na extração (e preservação) das diferentes classes

de compostos fenólicos, e que há outras classes de compostos fenólicos em concentração significativa não estudada.

Na tabela 4 estão os valores de atividade antioxidante determinados pelos métodos de radical ABTS e DPPH para o mirtilo congelado e as polpas. Todos os tratamentos resultaram em polpas com atividades antioxidantes bastante próximas às observadas no mirtilo congelado, comprovando a viabilidade dos métodos de processamento testados. A atividade antioxidante para o radical DPPH se manteve mais estável, com redução máxima de 16 %, ao longo dos 90 dias, quando comparada com o método ABTS, que resultou em redução de até 67%.

A adição direta de vapor foi favoravelmente significativa apenas para atividade testada pelo método ABTS, em todo o período de armazenamento. A adição de xantana contribuiu significativamente para a ação antioxidante, independentemente do método de aquecimento para obtenção das polpas ou do método de análise.

O conteúdo de compostos fenólicos totais apresentou correlação de Pearson positiva com a atividade antioxidante pelos 2 métodos de avaliação no tempo 1 ($r=0,065$, $p\leq 0,10$, para ABTS e $r=0,001$, $p\leq 0,1$, para DPPH). Aos 30 dias houve correlação positiva entre compostos fenólicos e atividade antioxidante apenas pelo radical DPPH ($r=0,749$, $p\leq 0,10$). Aos 60 e 90 dias de armazenamento não foi verificada correlação. Contudo, nesses períodos, ocorreu correlação positiva entre a atividade antioxidante (por ABTS e DPPH) em relação às antocianinas monoméricas totais ($r=0,001$) e flavonoides totais ($r=0,001$). Silva, Vendruscolo e Toralles (2009), por outro lado, estudando polpas de pêssego estabilizadas por adição de ácido ascórbico e tratamento térmico, observaram correlação existente entre os métodos de avaliação da capacidade antioxidante, DPPH e ABTS ($r=0,96513$), o que permitiu inferir que existe

proporcionalidade entre os dois métodos, podendo-se optar pelo uso de apenas um deles. As diferenças encontradas nos dois métodos estão na natureza químicas dos dois radicais. O radical ABTS baseia-se na geração de coloração azul/verde e é aplicável a sistemas antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos. O DPPH utiliza um radical dissolvido em meios orgânicos e é, por conseguinte, aplicável a sistemas hidrofóbicos (MOYER et al., 2002).

Na tabela 5 estão os valores das avaliações físico-químicas das polpas de mirtilo.

Comparativamente ao mirtilo congelado, as polpas apresentaram menor % de ácidos, e pH variável, porém próximo, e, de modo geral, maior teor de sólidos solúveis totais. A adição direta de vapor resultou em menor teor de sólidos solúveis, provavelmente pela incorporação de água pela condensação do vapor. O aquecimento em tacho aberto contribuiu para aumento da acidez e do teor de sólidos solúveis.

De acordo KUCK (2012), a desintegração prévia das polpas de mirtilo ocasionam o aumento da acidez e consequente redução do pH pela destruição da estrutura do tecido, o que permite uma libertação mais rápida e equalização de acidez natural da fruta. Também a adição de xantana pruni, que é de natureza polieletrólita, contribui para a elevação da acidez e redução do pH. Contudo, isso não foi observado neste estudo, provavelmente pela aplicação do calor nos diferentes tratamentos que promoveu a degradação de ácidos e concentração de sólidos, além da pequena incorporação de água derivada da aplicação de vapor, reduzindo os valores para os tratamentos. O pH verificado em todas as polpas foi propício à conservação das antocianinas (KUCK, 2012).

Conclusão

É viável a preservação de compostos bioativos (flavonoides totais e antocianinas monoméricas totais) em polpa de mirtilo por tratamento térmico com aplicação direta de vapor, associado à adição de ácido cítrico à fruta. A adição de xantana pruni, bem como o aquecimento por adição direta de vapor parece influenciar positivamente a estabilidade das antocianinas durante o armazenamento congelado por 90 dias, o que justifica a sua aplicação tecnológica. Existe correlação entre a atividade antioxidante das polpas e os diferentes compostos bioativos ao longo do armazenamento, contudo, não se verifica efeito específico do tratamento térmico com vapor na capacidade de sequestro dos radicais livres DPPH, apenas para ABTS.

Referencias

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSER, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant. **Lebensm-Wiss Technologic**, v. 28, p.25-30, 1995.

DA ROCHA, FERNANDA IZABEL GARCIA. Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó. 2009. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

FLOEGEL, Anna et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043-1048, 2011.

FULEKI, Tibor; FRANCIS, F. J. Quantitative Methods for Anthocyanins. **Journal of food science**, v. 33, n. 3, p. 266-274, 1968.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E., Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v.14, p.217–225, 2003

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, 2000.

KHANAL, Ramesh C.; HOWARD, Luke R.; PRIOR, Ronald L. Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. **Food Research International**, v. 43, n. 5, p. 1464–1469, 2010.

KUCK, L. S. **Desenvolvimento de polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) e preservação das suas antocianinas para elaboração em alimentos**. 2012. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LEE, H.S., AND K. HONG, Review chromatographic: Analysis of anthocyanins. **Journal of Chromatographic** v.624 p.221-234,1992.

MAIN, J. H., CLYDESDALE, F. M. and FRANCIS, F. J. (1978), SPRAY DRYING ANTHOCYANIN CONCENTRATES FOR USE AS FOOD COLORANTS. **Journal of Food Science**, 43: 1693–1694. doi: 10.1111/j.1365-2621.1978.tb07390.x

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

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 Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

ROESLER, R. **Estudo de frutas do Cerrado brasileiro para avaliação de propriedade funcional com foco na atividade antioxidante**. Tese de Doutorado apresentado ao curso de Pós-graduação do Depto. de Ciências de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2007.

SILVA, Roberta S.; VENDRUSCOLO, João L.; TORALLES, Ricardo P. Avaliação da capacidade antioxidante em frutas produzidas na região sul do RS. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 3, 2013.

SPAGOLLA, L.C.1 ; SANTOS, M.M. 1 , PASSOS, L.M.L AGUIAR, C.L. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista Ciência Farmaceutica Básica e Aplicada**. v. 30(2) p.187-191, 2009.

SU, Min-Sheng; CHIEN, Po-Jung, Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation, **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 182–187, 2007.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS; EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. Claire Tondo Vendruscolo; João Luiz Silva Vendruscolo; Angelita da Silveira Moreira. **Process for preparing a xanthan biopolymer**. WO/2006/047845, 01 nov. 2005.

WANG, Shiow Y.; CAMP, Mary J.; EHLENFELDT, Mark K. Antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1759-1768, 2012.

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

ZHANG, Y.; HU, X.S.; CHEN, F.; WU, J.H.; LIAO, X.J.; WANG, Z.F. Stability and colour characteristic of PEF-treated cyaniding-3-glicoside during storage. **Food Chemistry**, v. 106, p. 669-679, 2008.

Tabela 1 Compostos fenólicos totais (mg.L⁻¹. EAG) em mirtilo e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	1	30	60	90
TA	425,00±02,00 ^{aAB}	408,66±02,31 ^{bA}	409,66±06,81 ^{bA}	400,33±00,58 ^{bA}
TAX	411,33±00,58 ^{aBC}	410,66±01,15 ^{aA}	374,66±21,39 ^{bBC}	346,00±03,61 ^{cB}
VA	405,66±03,51 ^{aC}	385,00±06,08 ^{bB}	353,66±04,04 ^{cC}	331,33±11,93 ^{dB}
VAX	420,66±02,08 ^{aABC}	406,33±03,51 ^{bA}	400,33±02,08 ^{bAB}	388,66±01,53 ^{cA}
M	431,33±11,93 ^{aA}	406,66±04,93 ^{bA}	399,66±02,08 ^{bAB}	400,00±01,00 ^{bA}

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 TA: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico TAX: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico e xantana; VA: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico VAX: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico e xantana; M: Mirtilo congelado por 30 dias.

Tabela 2 Flavonoides totais (mg catequina.100 g⁻¹) em mirtilo e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	1	30	60	90
TA	46,00±1,00 ^{aC}	34,66±2,08 ^{bD}	33,00±2,65 ^{bcD}	28,00±2,00 ^{cD}
TAX	66,33±1,15 ^{aB}	58,00±1,73 ^{bC}	54,33±2,08 ^{bC}	40,00±2,65 ^{cC}
VA	71,00±1,00 ^{aB}	68,66±1,53 ^{abB}	67,66±0,58 ^{bB}	56,33±0,58 ^{cB}
VAX	67,33±1,53 ^{aB}	61,66±4,73 ^{abBC}	54,00±2,00 ^{abC}	56,00±1,00 ^{cB}
M	115,66±4,16 ^{aA}	113,00±5,57 ^{aA}	110,33±1,53 ^{aA}	92,33±5,5 ^{bA}

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 TA: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico TAX: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico e xantana; VA: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico VAX: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico e xantana; M: Mirtilo congelado por 30 dias.

Tabela 3- Antocianinas monoméricas totais (mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) em mirtilo e polpas durante armazenamento (-20°C).

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	1	30	60	90
TA	6,96±0,08 ^{aC}	5,98±0,30 ^{bD}	6,03±0,40 ^{bD}	5,67±0,44 ^{bD}
TAX	10,15±0,29 ^{aB}	9,89±0,30 ^{aC}	9,85±0,66 ^{aBC}	9,53±0,46 ^{aBC}
VA	11,11±0,15 ^{aB}	11,05±0,49 ^{aB}	11,15±1,00 ^{aB}	10,60±0,80 ^{aB}
VAX	9,75±0,32 ^{aB}	9,12±0,30 ^{abC}	8,93±0,17 ^{bC}	8,58±0,14 ^{bC}
M	20,68±1,22 ^{aA}	19,61±0,35 ^{aA}	19,78±0,14 ^{aA}	19,07±0,02 ^{aA}

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 TA: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico TAX: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico e xantana; VA: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico VAX: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico e xantana; M: Mirtilo congelado por 30 dias.

Tabela 4 Atividade antioxidante pelo radical ABTS e DPPH (m.eq. Trolox. g⁻¹) em mirtilo e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C).

ABTS				
Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	1	30	60	90
TA	2,36±0,02 ^{ab}	1,99±0,09 ^{be}	2,00±0,03 ^{bd}	1,89±0,10 ^{bd}
TAX	2,10±0,00 ^{ab}	2,22±0,03 ^{ad}	2,25±0,03 ^{ac}	2,16±0,02 ^{bc}
VA	3,02±0,02 ^{aA}	2,84±0,07 ^{bC}	2,79±0,02 ^{bB}	2,73±0,08 ^{bB}
VAX	3,03±0,44 ^{bB}	3,46±0,02 ^{aA}	3,35±0,04 ^{aA}	3,02±0,05 ^{aA}
M	3,42±0,04 ^{aA}	3,12±0,01 ^{bB}	3,46±0,12 ^{aA}	3,08±0,11 ^{bA}
DPPH				
TA	43,60±0,49 ^{aA}	41,00±0,95 ^{aAB}	35,26±3,32 ^{bC}	35,56±0,35 ^{bB}
TAX	41,16±0,06 ^{ab}	40,66±2,11 ^{aAB}	40,16±0,12 ^{aAB}	39,16±1,18 ^{aA}
VA	40,60±0,10 ^{ab}	37,03±2,84 ^{ab}	35,90±1,22 ^{abBC}	34,06±0,59 ^{bB}
VAX	42,76±0,78 ^{aA}	42,10±1,01 ^{aA}	41,43±0,59 ^{abA}	39,33±1,53 ^{bA}
M	42,60±0,52 ^{aA}	43,33±0,60 ^{aA}	43,10±1,65 ^{aA}	41,03±0,95 ^{aA}

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 TA: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico TAX: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico e xantana; VA: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico VAX: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico e xantana; M: Mirtilo congelado por 30 dias.

Tabela 5 - Acidez total titulável (% ácido cítrico), pH e sólidos solúveis totais (°Brix) em mirtilo e polpas de mirtilo durante armazenamento congelado (-20°C)

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	Acidez Total Titulável			
	1	30	60	90
TA	0,52±0,00 ^{cb}	0,57±0,01 ^{bb}	0,58±0,00 ^{aa}	0,59±0,00 ^{aa}
TAX	0,54±0,00 ^{ca}	0,55±0,00 ^{ba}	0,55±0,00 ^{bb}	0,56±0,00 ^{ab}
VA	0,40±0,00 ^{bd}	0,40±0,00 ^{bd}	0,46±0,00 ^{ad}	0,46±0,01 ^{ad}
VAX	0,48±0,00 ^{bc}	0,47±0,00 ^{cc}	0,47±0,00 ^{cc}	0,49±0,00 ^{ac}
M	0,66±0,00	-	-	-
	pH			
TA	3,52±0,02 ^{abA}	3,43±0,02 ^{cb}	3,55±0,05 ^{ab}	3,45±0,01 ^{bcB}
TAX	3,51±0,01 ^{ca}	3,65±0,01 ^{ba}	3,76±0,01 ^{aa}	3,75±0,02 ^{aa}
VA	3,43±0,03 ^{cb}	3,66±0,01 ^{ba}	3,74±0,00 ^{aa}	3,74±0,01 ^{aa}
VAX	3,22±0,01 ^{dc}	3,67±0,03 ^{aa}	3,32±0,01 ^{cc}	3,43±0,02 ^{bb}
M	3,55±0,01	-	-	-
	Sólidos Solúveis Totais			
TA	14,12±0,03 ^{bb}	14,00±0,00 ^{cb}	14,20±0,00 ^{ab}	14,10±0,00 ^{bb}
TAX	15,65±0,01 ^{ba}	16,03±0,38 ^{aa}	16,01±0,08 ^{aa}	16,01±0,00 ^{aa}
VA	11,00±0,00 ^{ad}	10,63±0,00 ^{abc}	10,11 ±0,00 ^{cc}	10,13±0,06 ^{bcC}
VAX	13,77±0,07 ^{cc}	14,00±0,01 ^{bb}	14,10±0,00 ^{ab}	14,11±0,02 ^{ab}
M	13,5±0,02	-	-	-

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 TA: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico TAX: Tratamento térmico da polpa em tacho, com ácido cítrico e xantana; VA: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico VAX: Tratamento térmico da polpa com vapor, com ácido cítrico e xantana; M: Mirtilo congelado por 30 dias. -: não determinado.

ARTIGO 2

Caracterização de pré-mixes de mirtilo – adição de xantana pruni e ácido cítrico

Caracterização de pré-mixes de mirtilo – adição de xantana pruni e ácido cítrico

Júlia Borin Fioravante^{1*}, Angelita da Silveira Moreira², Rosane da Silva Rodrigues³, Patrícia Diaz de Oliveira⁴, Claire Tondo Vendruscolo⁵.

RESUMO: O desenvolvimento de polpas aditivadas ou pré-mixes com sabores naturais exóticos possibilita a inserção de bebidas diferenciadas no mercado. Aditivos como ácido cítrico e xantana exercem não só influência tecnológica, mas favorecem a preservação de compostos bioativos. O objetivo do estudo foi avaliar, sob aspectos tecnológicos, o efeito da concentração de xantana pruni e ácido cítrico em pré-mixes de mirtilo (*V. ashei* Reade) e, a partir do pré-mix selecionado, preparar e analisar um néctar. As adições de ácido cítrico e xantana foram realizadas através de planejamento experimental tipo Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR 2² ensaios + 4 ensaios nas condições axiais + 4 repetições no ponto central), com as concentrações de xantana pruni e ácido cítrico como variáveis fixadas e (- α x 0,1), (+ α x 0,6), (- α ac 0,08), (+ α ac 0,88); como variáveis resposta, analisados inicialmente e após 30 dias de armazenamento. As variáveis resposta pH e acidez sofreram influência positiva e significativa em relação a adição de xantana e ácido cítrico no tempo inicial. Para as antocianinas, nenhum parâmetro exerceu influência sobre as mesmas. Os flavonoides totais no tempo inicial tiveram interação, onde o mesmo se eleva com o aumento do ácido cítrico e xantana, mas o modelo não foi preditivo. Para fenóis totais o ácido influenciou, mas o modelo não foi preditivo. As análises reológicas mostraram o pré-mix com pseudoplasticidade e não newtoniano. Referente à análise sensorial dos néctares desenvolvidos a partir dos pré-mixes, todos os néctares tiveram aceitação sensorial, demonstrando potencial para o desenvolvimento de bebidas.

SUMMARY: The development of slurries doped or pre-mixes with exotic natural flavors allows the insertion of different beverages on the market. Additives such as citric acid and xanthan exert influence not only technological, but favor the preservation of bioactive compounds. The objective of the study was to evaluate, under technological aspects, the effect of the concentration of xanthan and citric acid in pruni blueberry pre-mixes (*V. ashei* Reade) and from the selected pre-mix, prepare and analyze a nectar. The additions of citric acid and xanthan were made using experimental design type Outlining Central Composite Rotational (CCRD 2² + 4 trials testing the axial conditions + 4 repetitions in point centers), with concentrations pruni xanthan and citric acid as fixed and variable (- α x 0.1) (x + α 0,6), (c - α 0.08), (0.88 ac + α); as response variables analyzed initially and after 30 days of storage. The response variables pH and acidity suffered significant positive influence regarding the addition of xanthan gum and citric acid at the initial time. To anthocyanins, no parameter influences exerted on them. The total flavonoids at the initial time interaction was observed, where it rises with the increase of citric acid and xanthan, but was not predictive model. For the total phenolic acid influenced, but the model was not predictive. Rheological analysis showed the pre-mix with thinning and

non-Newtonian. Regarding the sensory evaluation of nectars developed from pre-mixes, nectars have all sensory acceptance, demonstrating potential for the development of beverages.

Palavras-chave: preparado para bebidas, aditivos, superfície de resposta.

INTRODUÇÃO

O mirtilo vem ganhando destaque no mercado de produtos potencialmente funcionais, mas o seu consumo é limitado pelo ainda pequeno cultivo comercial no Brasil, e a safra única anual. Sua oferta é, portanto, restrita com isso o processamento torna-se interessante. O beneficiamento de frutas do mirtilheiro agrega valor comercial ao produto e permite o aproveitamento das frutas pequenas, inadequadas à comercialização *in natura*, incentivando o cultivo e motivando a pesquisa em novas tecnologias de processamento. Mas há, ainda, lacunas na tecnologia do processamento de frutas, principalmente sobre as perdas de substâncias bioativas durante o processamento e armazenamento dos produtos finais.

Dentre as bebidas de frutas, os néctares estão entre as mais comercializadas, pois disponibilizam um produto pronto para beber, com adequada proporção dos ingredientes permitidos (COUTO, 2012). A inclusão de néctares diferenciados, com sabores exóticos como o de mirtilo, estimula o rompimento de barreiras culturais, demográficas e de renda restringem o seu consumo. 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). 2001; BARBOZA, et al 2008; RODRIGUES 2011; KUCK et al, 2011; KUCK 2011; KUCK, 2012; RODRIGUES et al 2012; já tenham estudados e desenvolvido o processamento de produtos de mirtilo,

ainda assim; como dito por HASLER em 1998; há lacunas nas tecnologias de processamento dessa.

Conforme o Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pré- mistura é o preparado líquido ou concentrado líquido para bebida que contêm suco, polpa ou extrato vegetal adicionado de água potável e, adicionado ou não de açúcar, preparado através de processo tecnológico adequado, que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. Conforme o mesmo decreto, néctar é a bebida não fermentada obtida pela diluição da polpa ou extrato da fruta em água e adicionada de açúcar, destinada ao consumo direto (BRASIL, 2009).

O uso de pré-misturas ou pré-mixes, como são popularmente conhecidas facilitou e difundiu a produção de bebidas como néctares e refrigerantes (VENTURINI, 2011).

Para o desenvolvimento de novos produtos, o conhecimento do comportamento reológico de alimentos fluidos, além de ser um parâmetro de grande importância para controle de qualidade, influi na aceitabilidade dos consumidores e na determinação da sua vida de prateleira (ANTONIO et al., 2009; BRANCO; 1995).

As curvas obtidas podem ser tratadas por diversos modelos matemáticos. O modelo de Ostwald-de-Waele é normalmente, muito adequado pra fluidos pseudoplástico, simples e de ampla aplicação tecnológica, além de ser bastante utilizado para descrever o comportamento reológico de sucos e néctares (BRANCO e GASPARETO, 2003; GUERRERO et al., 2010).

Esses preparados líquidos também são bastante utilizados em serviços de alimentação e nutrição, onde se precisa de agilidade no processo para a produção de alimentos em grandes quantidades, conferindo redução no tempo de elaboração, garantia de padronização nos produtos e, especialmente, por disponibilizando um derivado de determinada fruta de comercialização restrita em qualquer local ou período do ano (SOUZA, 2008; GUERRERO et al, 2010).

Estudos anteriores realizados por este grupo de pesquisa, para a elaboração de polpas de mirtilo mostraram que a suplementação com os aditivos multifuncionais ácido cítrico (INS 330) e xantana (INS 415), previamente ao processamento, proporcionou melhor preservação da cor das polpas obtidas, além destes conferirem características físico-químicas e tecnológicas que são desejáveis em polpas; salienta-se a redução de pH, que promove estabilidade microbiológica e química, e o espessamento, que confere estabilidade física. Ainda não estão totalmente elucidadas as quantidades adequadas de adição de ácido cítrico e xantana para a elaboração adequada de pré-mix de mirtilo

Diante ao exposto, o objetivo foi avaliar o efeito das concentrações de xantana e ácido cítrico nos pré-mixes desenvolvidos sob aspectos tecnológicos e na elaboração de néctar.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado um *blend* comercial de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) constituído pelas cultivares *Powerblue*, *Clímax* e *Bluegen*, cultivadas em pomar comercial na cidade de Morro Redondo (latitude 31 ° 46 '19' 'e longitude 52 ° 20' 33 ''), Rio Grande do Sul, Brasil. Os frutos foram colhidos no ponto de maturação, definido visualmente pela coloração roxa da casca. Após seleção e

retirada de folhas, galhos e sujidade, foi feita a sanitização dos frutos em solução clorada (hipoclorito de sódio) a 100 ppm por 10 minutos, seguido de enxague, drenagem e acondicionamento em sacos de polietileno, os quais foram termosselados e mantidos sob congelamento em *freezer* ($-20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) até o momento do processamento (30 dias). Os aditivos utilizados foram xantana pruni, produzida pela equipe do Laboratório de Biopolímeros, segundo a patente WO/0478452006 (VENDRUSCOLO et al., 2006), e ácido cítrico p.a. (Synth®). Com os materiais preparou-se uma polpa e, a partir dessa, pré-mixes, os quais foram diluídos e adoçados para obtenção de néctares.

Polpa obtida por aplicação adição direta de vapor (tratamento VAX)

Porções de 5 Kg de frutas, descongeladas em temperatura ambiente até 6 °C , foram aquecidas por aplicação direta de vapor gerado em caldeira térmica, com pressão de saída de 2 kgF^{-1} e temperatura de $94\text{ °C} \pm 5\text{ °}$. O aquecimento por aplicação de vapor, com ácido e xantana. Sobre os frutos foram adicionados de xantana pruni (0,1 % m/m) e ácido cítrico (0,08 % m/m) em 30 % (m/m) de água, esse valores foram os selecionados por Kuck (2012). A operação foi realizada em balde de aço inoxidável de 15 L, com tampa de encaixe, com a fruta formando uma camada de aproximadamente 25 cm. A inserção do vapor foi realizada com auxílio de mangueira, sendo a mesma submergida na massa de frutos. Após os frutos atingirem a temperatura de 70 °C , o que ocorreu em cerca de 5 minutos, o material foi colocado em bandeja plástica e desintegrado previamente, por esmagamento, com utensílio do tipo mão de pilão de ponta plana, em aço inoxidável. As frutas foram recolocadas no balde e completou-se o tratamento térmico com injeção de vapor até 90 °C ; o que ocorreu em 5 minutos. Concluído o aquecimento, as frutas foram

despolpadas em despolpadeira mecânica de simples estágio, com malha de 0,25 mm, durante 3 minutos. As polpas foram envasadas em sacos de polietileno de 0,3 mm de espessura, com capacidade para 0,5 L e 5 L, termosselados e armazenados sob congelamento ($-20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) por 180 dias.

Elaboração de pré-mixes

Para a elaboração dos pré-mixes foram adicionados xantana pruni e ácido cítrico, em quantidades complementares às inicialmente colocadas na polpa de mirtilo. A influência da adição complementar de xantana pruni e ácido cítrico nas polpas foi avaliada através de um Planejamento Experimental tipo Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR; *Central Composite Design Rotatable*; 2^2 ensaios + 4 ensaios nas condições axiais + 4 repetições no ponto central) (Tabela 1). A polpa foi homogeneizada com auxílio de mixer comercial (Phillips, Walita), e assim foram adicionadas as quantidades correspondentes para cada tratamento do delineamento. As faixas estudadas no delineamento foram selecionadas de acordo com resultados de experimentos prévios realizados por Rodrigues (2011) e Couto (2012), e a legislação para preparados líquidos e néctares (BRASIL, 2005). As variáveis independentes foram concentração de xantana pruni e ácido cítrico, tendo como variáveis resposta pH, acidez, fenóis totais, flavonoides e antocianinas totais monoméricas e análises reológicas. Os pré-mixes foram armazenados em freezer ($-20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) por 30 dias. A avaliação sensorial foi realizada somente no néctar no primeiro dia de armazenamento.

Tabela 1: Delineamento experimental fatorial completo para a formulação de pré-mix de mirtilo estabilizado por xantana e ácido cítrico.

Formulação	Níveis Codificados		Níveis Reais	
	X	A	X	A
1	-1	-1	0,17	0,20
2	+1	-1	0,53	0,20
3	-1	+1	0,17	0,76
4	+1	+1	0,53	0,76
5	- α	0	0,1	0,48
6	+ α	0	0,6	0,48
7	0	- α	0,35	0,08
8	0	+ α	0,35	0,88
9 (C)	0	0	0,35	0,48
10 (C)	0	0	0,35	0,48
11 (C)	0	0	0,35	0,48
12 (C)	0	0	0,35	0,48

X: % de xantana; A: % de ácido cítrico; (C): ponto central; - α : pontos axiais.

Elaboração dos extratos

Para a determinação dos compostos bioativos (compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais, flavonoides totais) nos pré-mix, primeiramente foi feita extração dos mesmos para cada tratamento, com metodologia adaptada de Giusti; Worlstad (2001), usando como solução extratora metanol acidificado (HCl 1 N, pH 1,0). Pesou-se 1 g da amostra em tubo Falcon de 50 mL e diluiu-se em 25 mL de solução extratora, agitou-se em vórtex e centrifugou-se (10.000 x g) por 15 minutos. Após, retirou-se o sobrenadante e o pellet foi ressuspensionado na solução, sendo esta etapa realizada por 3 vezes. Os sobrenadantes foram reunidos e concentrados em

evaporador rotativo (40 °C/5 '), até aproximadamente 5 mL; para obtenção de volume conhecido, as amostras foram avolumadas com a solução extratora em balão volumétrico de 25 mL. Cada extrato foi armazenado em frasco âmbar em freezer (-20 °C).

Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada por método colorimétrico, de acordo com Roesler et al. (2007). Uma alíquota de 500 µL de extrato metanólico concentrado foi adicionada de 2,5 mL de solução aquosa a 10 % (v/v) do reativo de Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5 % (m/v). As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro Jenway® – single cell holder a 760 nm, utilizando-se de metanol acidificado como referência. 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 10-250 mg.L⁻¹, e expressa como equivalente de ácido gálico (EAG).

Determinação de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado colorimetricamente, de acordo com o método proposto por Zhishen et al. (1999), através de reações das amostras com NaNO₂, AlCl₃ e NaOH, seguidas de leitura de absorvância em espectrofotômetro Jenway® – single cell holder a 510 nm. A quantificação de flavonoides totais da amostra foi realizada por meio de curva padrão de catequina com 8 pontos, com concentrações variando entre 10-150 mg.L⁻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.100g⁻¹).

Determinação de antocianinas monoméricas totais

A avaliação de antocianinas monoméricas totais foi realizada conforme Giusti; Worlstad (2003), com a amostra dividida em duas alíquotas às quais são 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 feitas em espectrofotômetro Jenway® – single cell holder a 700 nm. O fator de absorvidade molar utilizado para cálculo foi para a antocianina majoritária cianidina-3-glicosídeo (ϵ absorvidade molar =26,900).

Análises reométricas

As curvas de viscosidade dos pré-mixes foram realizadas em reômetro (HAAKE, RS150) com temperatura controlada através de banho térmico (HAAKE DC 50). A taxa de cisalhamento aplicada variou de 0,01 à 1000 s⁻¹, em 300 segundos, sob temperatura de 25 °C, utilizando sensor de cilindros concêntricos (rotor DG41), com fenda de 5,1 mm . As amostras foram previamente clarificadas para retirada de resíduos sólidos por peneiramento em malha 250 μ m. Para análise do comportamento reológico foi aplicado o modelo de Ostwald-de-Waele.

Determinações físico-químicas

As análises físico-químicas realizadas nos pré-mixes foram acidez total titulável (016 IV), pH (017 IV) e sólidos solúveis totais (315 IV), determinados em triplicata, em temperatura ambiente (21°C) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A avaliação da estabilidade em água foi realizada visualmente em provetas volumétricas de 10 mL, onde o precipitado verificado foi estimado, e o resultado foi expresso em %.

Elaboração dos néctares

Em néctares elaborados a partir dos pré-mixes, realizou-se análise sensorial para verificação da aceitabilidade por possíveis consumidores. A diluição dos mesmos (30% m/v) em água potável e adição de açúcar cristal. Calculou-se a proporção de açúcar com base no teor de sólidos solúveis totais dos pré-mixes de mirtilo, de modo que os néctares elaborados apresentassem o mesmo teor de sólidos solúveis totais de 13° Brix. Após a elaboração, armazenaram-se os néctares, por um dia, embalados em garrafas higienizadas de polipropileno com capacidade para 2 L, em câmara fria (5 °C) até a realização da análise.

Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada para verificação de aceitabilidade dos néctares elaborados a partir dos pré-mixes, por possíveis consumidores, por meio de teste afetivo para conhecer a relação do produto e do consumidor, utilizando-se de escalas hedônicas (DUTCOSKY, 2011). Os avaliadores foram de ambos os sexos, com faixa etária de 18 a 55 anos, divididos em grupos de 35 avaliadores para cada amostra. Os mesmos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), conforme parecer do comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, sob registro 901.768, e na Plataforma Brasil (CAEE: 38484814.0.0000.5317) (Apêndice). As amostras foram servidas individualmente, em copos plásticos de 50 mL, onde foi oferecido cerca de 15 mL de cada amostra na temperatura de 8 °C. A análise foi realizada durante quatro dias, em sala climatizada, onde os provadores foram alocados individualmente em uma mesa. O estudo foi

realizado em 4 blocos, sendo os provadores pessoas diferentes em cada bloco, as quais poderiam ou não ter participado da análise do bloco anterior. A escala hedônica que foi utilizada para avaliação dos néctares possuía 7 pontos, com as seguintes correspondências: 1- gostei muitíssimo, 2 - gostei muito, 3- gostei, 4 - não gostei/ nem desgostei, 5 - desgostei, 6 - desgostei muito, 7 - desgostei muitíssimo; a ficha também possuía espaço em branco para comentários adicionais.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi feita através de análise de variância (ANOVA), e as superfícies de resposta geradas utilizando-se o software *Statistica* versão 7.0.

Resultados e discussão

Na tabela 2 estão apresentados os resultados do experimento, nos dois tempos de avaliação, gerados pela aplicação do delineamento estatístico Composto Central Rotacional de segunda ordem com base na Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), o qual foi utilizado para avaliar o efeito da adição de xantana pruni e ácido cítrico em pré-mixes sobre características físico-químicas e compostos bioativos.

Tabela 2- Matriz do planejamento experimental tipo DCCR com valores codificados e reais e variáveis resposta para pré-mixes de mirtilo.

Tratamentos	Xantana	Acido cítrico	pH		Acidez		Fenóis totais		Flavonoides Totais		Antocianinas Monoméricas totais	
			1	30	1	30	1	30	1	30	1	30
			Tempo de armazenamento (dias)									
1	-1 (0,17)	-1 (0,2)	3,23	3,44	0,12	0,14	301,73	179,63	41,07	21,30	5,33	4,21
2	1 (0,53)	-1 (0,2)	3,32	3,49	0,11	0,12	305,20	211,00	35,47	22,83	6,03	4,99
3	-1 (0,17)	1 (0,76)	3,02	3,24	0,26	0,28	308,70	198,00	32,67	23,40	5,98	4,20
4	1 (0,53)	1 (0,76)	3,01	3,23	0,28	0,29	308,27	189,13	41,67	17,95	5,67	4,07
5	-α (0,1)	0 (0,48)	3,10	3,35	0,21	0,25	307,67	184,63	43,53	21,20	4,71	3,31
6	+α (0,6)	0 (0,48)	3,17	3,33	0,19	0,21	309,03	183,10	43,37	21,76	6,60	4,72
7	0 (0,35)	-α (0,08)	3,46	3,61	0,07	0,11	305,67	189,07	36,97	19,38	4,56	3,54
8	0 (0,35)	+α (0,88)	3,00	3,23	0,27	0,29	305,33	181,17	34,87	19,00	5,39	3,66
9*	0 (0,35)	0 (0,48)	3,13	3,31	0,16	0,18	307,50	195,83	36,03	20,34	6,50	4,64
10*	0 (0,35)	0 (0,48)	3,13	3,33	0,19	0,21	307,33	189,17	38,77	21,03	4,70	3,02
11*	0 (0,35)	0 (0,48)	3,11	3,35	0,19	0,21	308,13	191,73	37,43	22,24	5,39	3,55
12*	0 (0,35)	0 (0,48)	3,14	3,35	0,18	0,21	303,30	196,11	35,00	20,16	5,57	4,41

X: xantana pruni; A: ácido cítrico. Onde: acidez total titulável em (% ácido de ácido cítrico), fenóis totais expressos em (mg.g⁻¹. EAG) e (mg catequina.100 g⁻¹), Antocianinas totais monoméricas expressas em mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹* pontos centrais.

Para a variável resposta pH houve efeito positivo e significativo das variável xantana e ácido cítrico, onde o aumento das concentrações de xantana e ácido cítrico, dentro da faixa estudada, promoveu, esperadamente, a redução do pH. O modelo matemático foi preditivo e significativo na superfície (r=97 %), gerando superfície quadrática para a resposta no tempo inicial de armazenamento (figura 1) ($y=3,12+0,02X-0,14A+0,04A^2-0,02X.A$). O pH é um fator intrínseco do alimento, onde pH mais baixos dificultam o desenvolvimento microbiano (GANDRA et al., 2013). No 30° dia, houve discreto decréscimo nos

valores de pH, influenciado positivamente pela adição de ácido cítrico; o modelo matemático ($y=3,35-0,124A-0,03A^2$) foi preditivo e significativo ($r=96\%$) na faixa estudada.

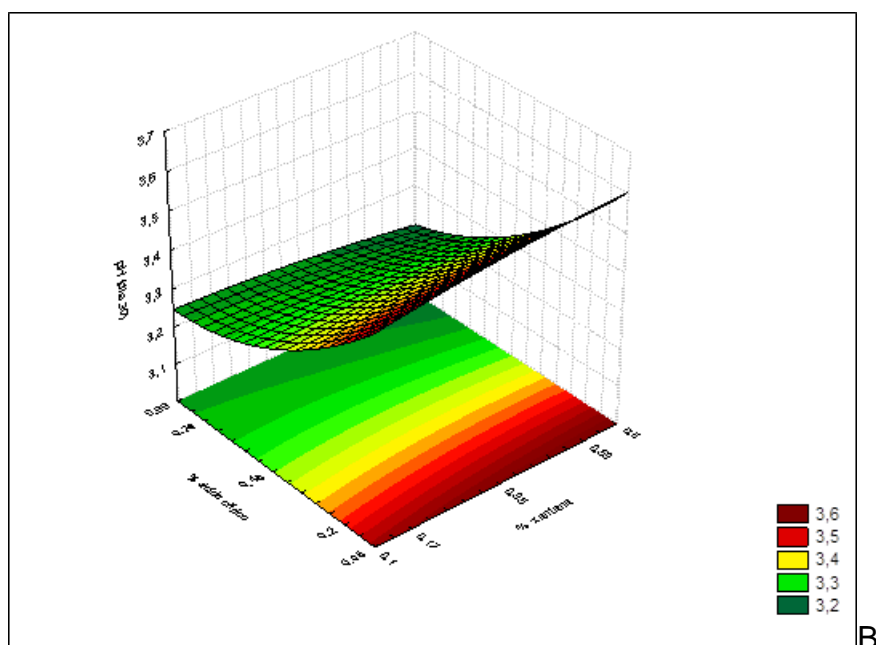
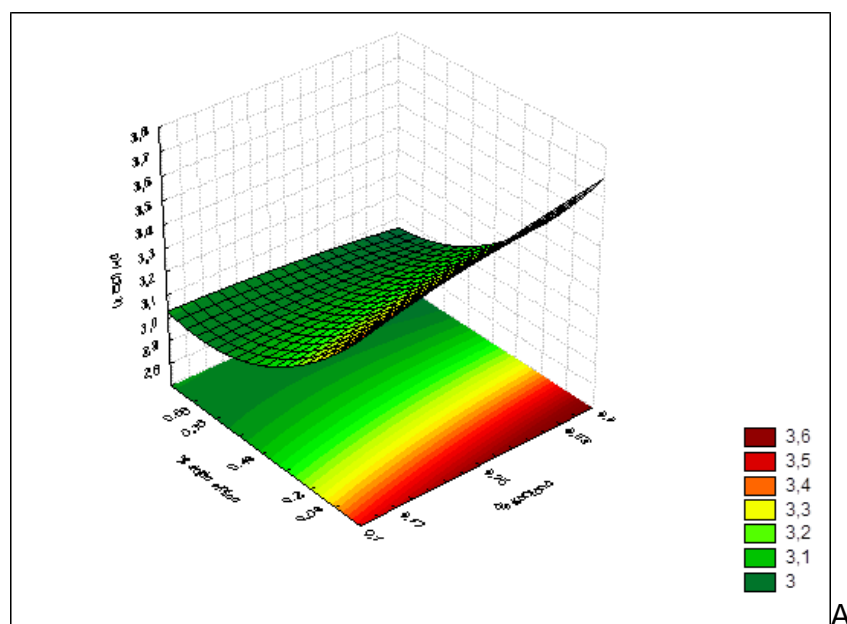


FIGURA 1- Superfícies de resposta referente à variável pH nos pré-mixes de mirtilo formulados com xantana e ácido cítrico no tempo inicial (A) e após 30 dias (B).

Para a variável resposta acidez observou-se que o modelo se ajustou à superfície quadrática para a resposta no tempo inicial de armazenamento ($Y=0,189+0,07A$), sendo o modelo matemático preditivo e significativo na superfície ($r=94\%$). O aumento de ácido cítrico foi esperadamente, positivo em relação ao aumento da acidez. No 30º dia, a variável ácido cítrico também exerceu influência positiva sobre a acidez. Onde houve maior adição de xantana obteve-se um aumento da acidez; o modelo gerado ($y=0,202-0,08A+0,07x^2$) não foi preditivo, mas significativo ($r=96\%$).

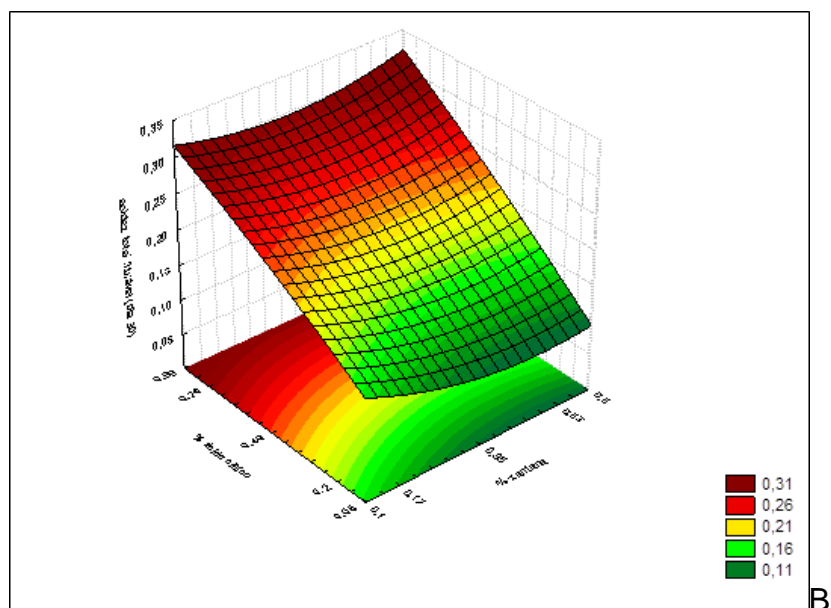
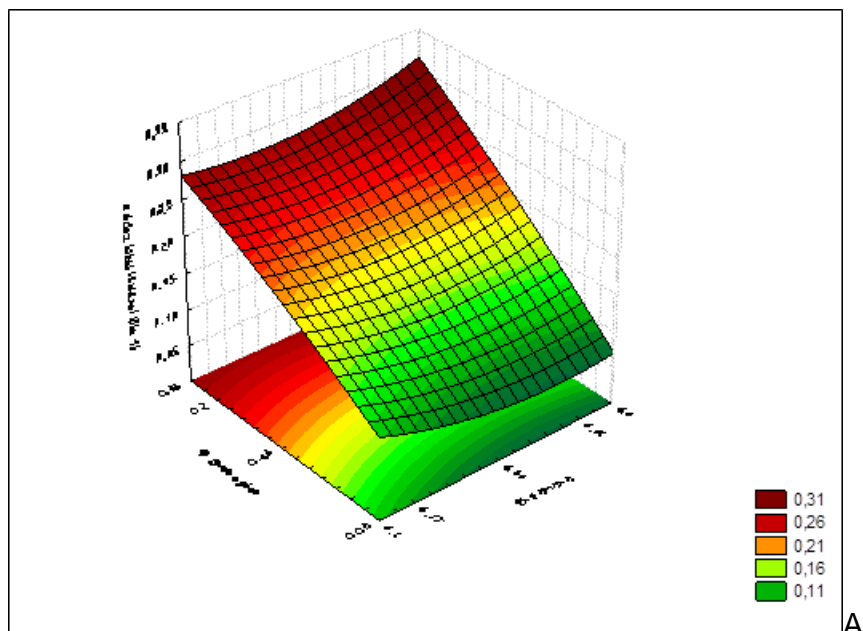


FIGURA 2- Superfície de resposta referente à variável acidez nos pré-mixes de mirtilo formulados com xantana e ácido cítrico no período inicial (A) e após 30 dias (B).

As adições de xantana pruni e ácido cítrico não influenciaram ou influenciaram negativamente os teores de compostos bioativos analisados após 30 dias de armazenamento. Isto se deve, provavelmente, ao fato de os pré-mixes terem sido desenvolvidos com polpas cujos teores de bioativos já haviam sofrido intensa redução devido ao prolongado período de armazenamento.

Segundo Kuck (2012), as maiores reduções nos teores de antocianinas ocorrem nos 30 primeiros dias de armazenamento da polpa, verificando-se uma tendência à estabilização após este período.

Para compostos fenólicos totais, no tempo inicial, somente o ácido cítrico influenciou, demonstrando que o aumento de ácido aumenta o teor de compostos fenólicos, mas o modelo gerado ($Y=306,85+1,95A-0,02A^2$) não é preditivo ($r=58\%$) dentro da faixa estudada. Após 30 dias de armazenamento, as variáveis xantana e ácido cítrico tiveram influência negativa, onde o aumento destes, dentro da faixa estudada, reduziu o teor de compostos fenólicos totais, gerando modelo matemático ($y=190,71-10,06XA$) não preditivo e não significativo ($r=62\%$). As condições oxidativas e de degradação dos compostos bioativos, como os compostos fenólicos, demonstraram que o mesmo pode reduzir significativamente até a sua atividade antioxidante (SHIMITD et al, 2005). Apesar da redução observada, é importante ressaltar que o conteúdo inicial de compostos fenólicos é relevante.

Para flavonoides totais, no tempo inicial, as variáveis naturais xantana e ácido cítrico tiveram interação e efeito sobre os valores de flavonoides, onde o mesmo se eleva conforme aumento da adição de xantana e ácido cítrico, porém o modelo gerado não é preditivo ($Y=38,06+3,65XA$) dentro da faixa estudada, não se ajustando à superfície quadrática para a resposta no tempo inicial de armazenamento ($r=37\%$). Na segunda avaliação, a xantana e o ácido cítrico também tiveram interação e com o aumento da adição dos mesmos, dentro da faixa estudada, verificou-se a redução de flavonoides totais, gerando modelo matemático ($y=4,030-0,23XA$) não preditivo e não significativo ($r=70\%$).

Para antocianinas monoméricas totais, nenhum parâmetro dentro da faixa estudada exerceu influencia sobre as mesmas, nos tempos iniciais e finais. O tratamento com maior adição de xantana (+ α) teve 28% de decréscimo em relação ao inicial, já o tratamento com menor adição de xantana (- α) a perda chegou a 30%. Após 30 dias de armazenamento houve decréscimo significativo sobre as mesmas, o que era esperado devido aos processos degradativos das antocianinas após o processamento. A temperatura e a mudança de pH interfere significativamente para perda das antocianinas, principalmente as monoméricas, as quais foram avaliadas neste estudo (SU; CHIEN, 2007). Estes mesmos autores relataram perdas de 83% em fermentado de mirtilo após o armazenamento 7 dias. Camire e colaboradores (2006) encontraram 52mg. g⁻¹ de antocianinas totais em polpa de mirtilo congelado por 48 horas, redução de 20% da concentração inicial.

Na figura 3, vê-se o comportamento reológico e as curvas de viscosidade *versus* tensão de cisalhamento.

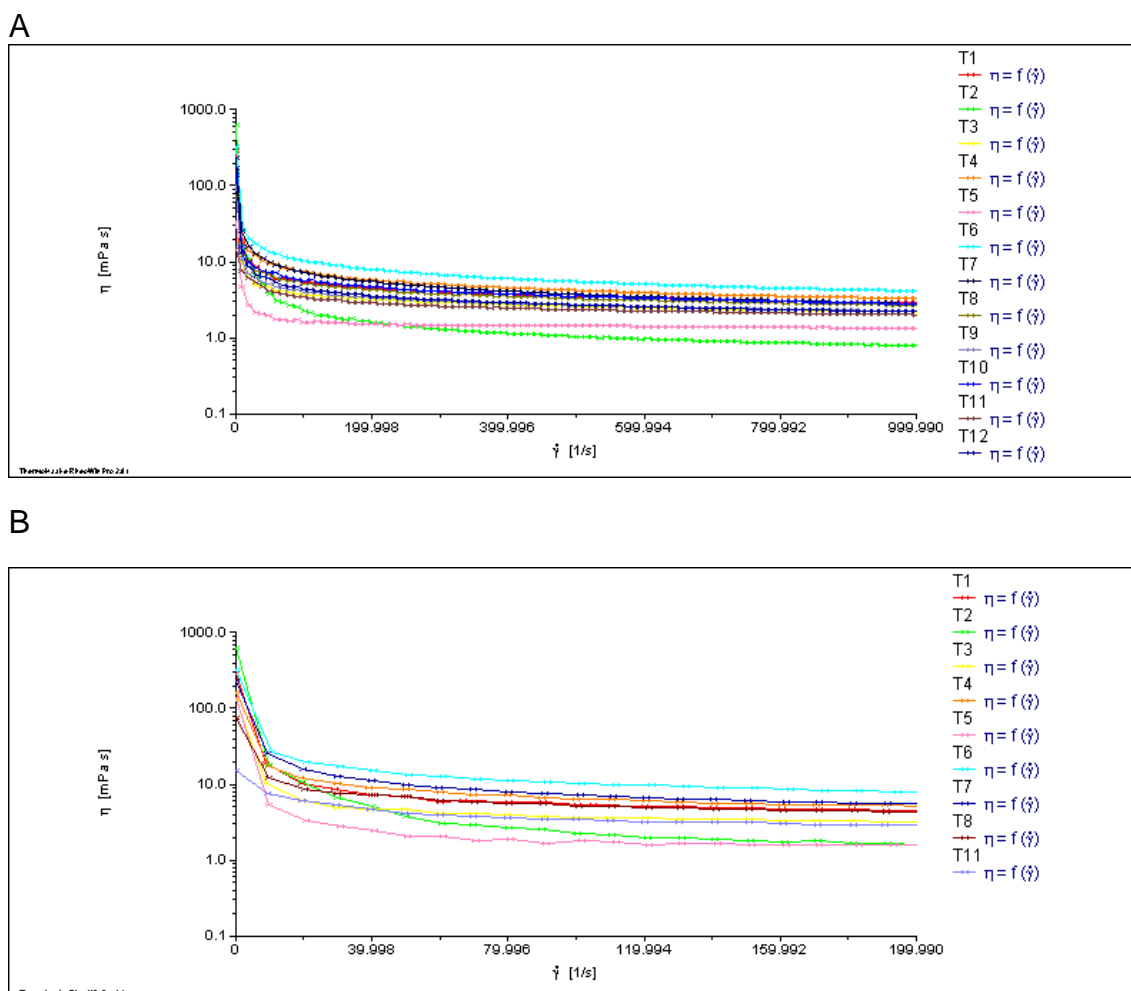


Figura 3: Curvas de viscosidade em pré-mixes de mirtilo adicionados de diferentes concentrações de xantana e ácido cítrico conforme delineamento experimental central rotacional. Medidas realizadas a 25°C nas taxas de cisalhamento de $0\text{-}300\text{ s}^{-1}$ (A) Viscosidade de todos os tratamentos, (B) tratamentos em destaque.

Todos os néctares tiveram comportamento não newtoniano pseudoplástico.

O T2, que corresponde ao grupo intermediário com adição de 0,53% de xantana, apresentou a menor viscosidade final, medida em taxas de cisalhamento bastante elevadas, entretanto, em menores taxas (menores que 100s^{-1}), a viscosidade foi a mais elevada. Esse comportamento resulta de sua elevada pseudoplasticidade, que é bastante desejada em alimentos, principalmente bebidas. Kechinsk et al. (2011) observou comportamento semelhante em purês de mirtilo adicionados de xantana e frutose, onde a

redução da viscosidade com aumento da taxa de cisalhamento diminuiu a viscosidade dos purês. Esse comportamento foi atribuído a alterações estruturais na amostra devido às forças hidrodinâmicas geradas e consequente alinhamento das moléculas durante a deformação.

Conforme tabela 3, analisando-se a aplicação do modelo matemático de Ostwald-de-Waele nas curvas de viscosidade, verificou-se o ajustamento ao modelo ($R^2 > 0,99$).

Tabela 3- Parâmetros reológicos n e K dos pré-mixes elaborados no tempo inicial obtidos por ajuste com modelo matemático de Ostwald de Waele.

Tratamentos	Xantana	Acido cítrico	Reologia		
			n (adm)	K (mPa.s ⁿ)	R ²
1	-1 (0,17)	-1 (0,2)	0,072	0,463	0,999
2	1 (0,53)	-1 (0,2)	0,090	0,254	1.000
3	-1 (0,17)	1 (0,76)	0,068	0,524	0,999
4	1 (0,53)	1 (0,76)	0,051	0,562	0,999
5	-α (0,1)	0 (0,48)	0,032	0,412	0,998
6	+α (0,6)	0 (0,48)	0,096	0,523	0,999
7	0 (0,35)	-α (0,08)	0,037	0,526	0,998
8	0 (0,35)	+α (0,88)	0,029	0,638	0,999
9*	0 (0,35)	0 (0,48)	0,035	0,557	0,998
10*	0 (0,35)	0 (0,48)	0,034	0,609	0,994
11*	0 (0,35)	0 (0,48)	0,039	0,784	0,985
12*	0 (0,35)	0 (0,48)	0,046	0,511	0,999

Estudos demonstram que as condições de processamento têm efeito decisivo na microestrutura e nas propriedades reológicas de sistemas

alimentares líquidos (BEZERRA et al, 2013). Os valores de n (índices de comportamento do escoamento) foram menores do que a unidade (1), o que caracteriza os fluido não-newtonianos com comportamento pseudoplástico. Sabe-se que, quanto mais afastado da unidade, maior a pseudoplasticidade do produto (DIAZ et al.,2004). Polpas não homogeneizadas e sucos e néctares não clarificados são sistemas bifásicos, compostos por partículas sólidas dispersas em um meio aquoso. O tratamento mais pseudoplástico foi o T8, localizado no delineamento (-1), ponto negativo com baixa adição de xantana e ácido cítrico.

Para a variável resposta n , houve interação positiva e significativa das variáveis xantana e ácido cítrico, onde o aumento das concentrações das mesmas, dentro da faixa estudada, promoveu a redução da pseudoplasticidade (aumento de n). O modelo se ajustou à superfície quadrática para a resposta no tempo inicial de armazenamento ($y=3,14+0,02X-0,0002X^2-0,16A+0,001A^2-0,02X.A$), entretanto, o modelo matemático não foi preditivo ou significativo na superfície ($r=50\%$). O tratamento 1, que combina as menores concentrações de xantana e ácido cítrico, seguido do tratamento 2, com a menor concentração de ácido associada a segunda maior concentração de xantana, tiveram as maiores pseudoplasticidade. Carneiro et al. (2013), ao verificar o comportamento reológico de néctares comerciais, constataram comportamento newtoniano, ao contrario deste estudo.

O índice de consistência (K) indica a resistência do material ao escoamento, ou seja, quanto maior o valor mais viscoso será o material. O aumento da viscosidade é desejável para a suspensão dos resíduos sólidos da polpa mantendo o produto homogêneo. Para a variável resposta K , houve

efeito positivo e significativo para a variável xantana e efeito negativo e significativo para a variável ácido cítrico, onde o aumento das concentrações de xantana e a redução de ácido cítrico promoveu o aumento de K. O modelo ($y=0,040+0,015X+0,012x^2-0,016A+0,005A^2$) se ajustou à superfície quadrática para a resposta no tempo inicial de armazenamento, sendo o mesmo não preditivo e não significativo ($r=87\%$). A viscosidade está ligada ao teor de sólidos solúveis totais, composição proteica, lipídios e fibras (OGUNTUNDE; AKINTOYE, 1991), além da concentração de espessante xantanam utilizado nos néctares..

Os maiores valores de K foram obtidos para os tratamentos T2 e T6, os quais correspondem as maiores adição de xantana e baixa e intermediária adição de ácido cítrico, respectivamente (tabela 3). Souza (2009) observou em néctares de pêssago sob armazenamento o efeito positivo obtido pela adição de xantana. O autor atribuiu a estabilidade e a viscosidade dos néctares às características da molécula da xantana, que apresenta elevada massa molecular e muitas ramificações, contribuindo para o aumento das interações com os compostos do produto, gerando um aumento na viscosidade do meio dispersante, reduzindo assim a velocidade de sedimentação das partículas.

Tabela 4- Estabilidade física de néctares de mirtilo no tempo inicial. Fase clarificada expressa em %.

Tratamentos	Xantana	Acido cítrico	Estabilidade (%)
1	-1 (0,17)	-1 (0,2)	70,33
2	1 (0,53)	-1 (0,2)	11,00
3	-1 (0,17)	1 (0,76)	84,00
4	1 (0,53)	1 (0,76)	15,33
5	-α (0,1)	0 (0,48)	90,00
6	+α (0,6)	0 (0,48)	13,00
7	0 (0,35)	-α (0,08)	0,67
8	0 (0,35)	+α (0,88)	65,00
9*	0 (0,35)	0 (0,48)	41,67
10*	0 (0,35)	0 (0,48)	62,67
11*	0 (0,35)	0 (0,48)	70,00
12*	0 (0,35)	0 (0,48)	46,00

Para a variável resposta de estabilidade, houve interação positiva da xantana e, o aumento da concentração, dentro da faixa estudada, promoveu maior estabilidade ao sistema. O modelo se ajustou à superfície quadrática para a resposta no tempo inicial de armazenamento ($y=55,07-59,31X+10,31X^2$), entretanto, o modelo matemático não foi preditivo ou significativo na superfície ($r=86\%$). A importância da utilização de estabilizantes em produtos derivados de frutas se deve à natureza bifásica dos mesmos, o que influi diretamente na vida de prateleira e também nas escolhas das embalagens (MACEIRAS et al., 2007). A ocorrência da fase clarificada demonstra a falta de homogeneidade do sistema alimentício. A adição de

xantana é fundamental para a estabilização do mesmo, e tal efeito pode ser visualizado nos tratamentos 2,4, 6 e 7, evidenciando as menores separações de fases.

Apesar da avaliação de estabilidade física e avaliação reológica possuírem grande destaque tecnológico, ainda são escassos os estudos que determinam tais comportamentos (NINDO et al., 2007). Essas avaliações têm importância na determinação de vida de prateleira e na apresentação ao consumidor final, influenciando a sua decisão de compra do produto.

Em relação à aceitabilidade sensorial, todos os néctares ficaram com notas entre gostei (3) e gostei muito (2), com predominância desta última. Os resultados podem ser vistos na tabela 5.

Tabela 5- Médias de notas da análise sensorial de néctar de mirtilo elaborado a partir dos pré-mixes resultante do delineamento experimental.

Tratamentos	Xantana	Acido cítrico	Sensorial
			Notas
1	-1 (0,17)	-1 (0,2)	2,69
2	1 (0,53)	-1 (0,2)	2,77
3	-1 (0,17)	1 (0,76)	2,41
4	1 (0,53)	1 (0,76)	2,54
5	-α (0,1)	0 (0,48)	2,41
6	+α (0,6)	0 (0,48)	2,70
7	0 (0,35)	-α (0,08)	2,03
8	0 (0,35)	+α (0,88)	2,41
9*	0 (0,35)	0 (0,48)	3,06
10*	0 (0,35)	0 (0,48)	2,83
11*	0 (0,35)	0 (0,48)	2,96
12*	0 (0,35)	0 (0,48)	3,03

A xantana exerceu influência positiva até determinada concentração (0,35 %), dentro da faixa estudada, que reduziu as notas (2- gostei muito e 3- gostei) atribuídas aos néctares elaborados com as formulações de pré-mix do delineamento, com o modelo gerado ($Y=2,97-0,15X^2-0,32A^2$) preditivo, mas não significativo, onde ($r=69\%$). A faixa intermediária de adição de xantana proporcionou melhores notas aos néctares, mostrando que os extremos, como bebidas muito ou pouco viscosas, podem afetar negativamente a análise sensorial. Assim, para bebidas à base de frutas com viscosidade muito reduzida se caracteriza pela “falta de corpo”. A sensação de corpo pode ser

conferida às bebidas pela adição de ingredientes, como açúcares, ou de aditivos espessantes, como a xantana.

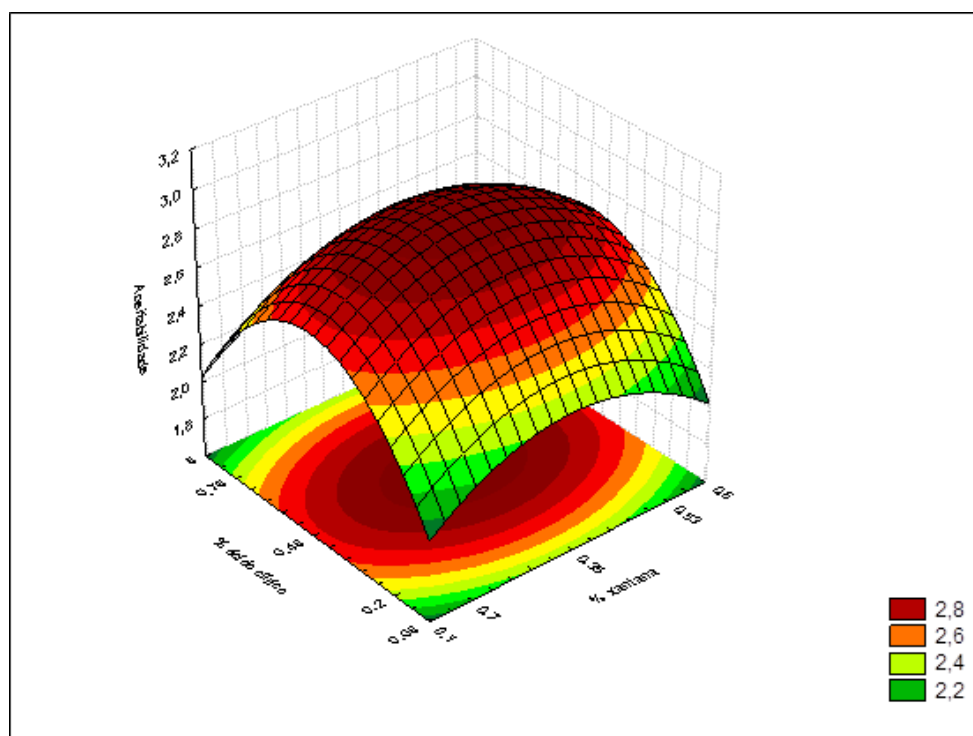


FIGURA 4- Superfície de resposta referente à variável aceitabilidade nos pré-mixes de mirtilo formulados com xantana e ácido cítrico no período inicial.

Bebidas com pouco corpo sensorialmente têm influência negativa, podendo acarretar na impressão de menor quantidade de polpa adicionada, causando a sensação de “aguado”, conforme relatos observados nas fichas de análise sensorial. Porém, esta característica não foi percebida por todos os avaliadores, mantendo a média da avaliação como “gostei muito”.

Outro fator relevante é a adição de ácido cítrico, fundamental não só para conservação do produto, mas também sensorialmente, já que o mirtilo é rico em compostos fenólicos, dentre eles os taninos, que têm a capacidade de interagir com as proteínas salivares, uma vez que está na origem da sensação da adstringência e amargor nos alimentos (SOARES, 2012). Dentre os ácidos presentes, o ácido cítrico é o mais percebido sensorialmente, pois é um dos

ácidos mais comuns presentes em frutas e hortaliças e também pelo seu gosto agradável (GULARTE, 2007).

Diante disso, os tratamentos com maior adição de ácido cítrico pode ter influenciado positivamente sobre a análise sensorial, como relatado em comentários adicionais pelos provadores. Foram percebidas características como redução do gosto amargo e maior “frescor” nos néctares.

Conclusão

As diferentes faixas de adição de xantana pruni e ácido cítrico influenciaram nas características tecnológicas e no conteúdo de compostos bioativos (flavonoides totais e fenóis totais) dos pré-mixes, bem como na aceitação sensorial dos néctares produzidos com os mesmos. Sensorialmente, todos os néctares tiveram aceitação entre gostei e gostei muito em todas as faixas de adição de xantana pruni e ácido cítrico. Viscosidade e pseudoplasticidade elevadas associadas à acidez intermediárias dos pré-mixes resultaram nas maiores aceitações dos néctares preparados. Os néctares produzidos pelos tratamentos (T9-T12, T2 e T6), nesta ordem tiveram as melhores combinações de estabilidade física e avaliação sensorial.

Referencias

BARROS NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas: Unicamp, 1995, 299p.

BRANCO, I.G.; GASPARETTO, C.A.. Aplicação da metodologia de superfície de resposta para o estudo do efeito da temperatura sobre o comportamento reológico de misturas ternárias de polpa de manga e sucos de laranja e cenoura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v.23(Supl) p.166-171,2003

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSER,C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant. **Lebensm-Wiss Technologic**, v. 28, p.25-30, 1995.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº8. 819, de 14 julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **D.O.U.**- Diário Oficial da União de 04 de junho de 2009.

DA ROCHA, FERNANDA IZABEL GARCIA. Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó. 2009. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

FLOEGEL, Anna et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043-1048, 2011.

FULEKI, Tibor; FRANCIS, F. J. Quantitative Methods for Anthocyanins. **Journal of food science**, v. 33, n. 3, p. 266-274, 1968.

GANDRA, Eliezer A et al . Potencial antimicrobiano e antioxidante de extratos vegetais de alecrim, erva doce, estragão e orégano. Revista ciência e tecnologia., Posadas, n. 20, 2013 .

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

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E., Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v.14, p.217– 225, 2003

GUERRERO C, J et al, antioxidant capacity , anthocyanins , and total phenols of wild and cultivated berries in chile, v. 70, n. December, p. 537–544, 2010.

HASLER, C.M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998.

GULARTE, M. A. . Manual de Análise Sensorial. 1. ed. Pelotas: UFPel, 2002. v. 1. 65p .

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, 2000.

KHANAL, Ramesh C.; HOWARD, Luke R.; PRIOR, Ronald L. Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. **Food Research International**, v. 43, n. 5, p. 1464–1469, 2010.

KUCK, L. S. **Desenvolvimento de polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) e preservação das suas antocianinas para elaboração em alimentos**. 2012. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

KUCK, L. S. Desenvolvimento de polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) e preservação das suas antocianinas para elaboração em alimentos. 2012. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LEE, H.S., AND K. HONG, Review chromatographic: Analysis of anthocyanins. **Journal of Chromatographic** v.624 p.221-234,1992.

MAIN, J. H., CLYDESDALE, F. M. and FRANCIS, F. J. (1978), SPRAY DRYING ANTHOCYANIN CONCENTRATES FOR USE AS FOOD COLORANTS. **Journal of Food Science**, 43: 1693–1694. doi: 10.1111/j.1365-2621.1978.tb07390.x

OGUNTUNDE, A.O.; AKINTOYE, O.A. Mensurament and comparsion of density, specific heat and viscosity of cow's milk and soy. **Jornal of Food Engeneering**, v.13, n. 3, p. 221-230, 1991.

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

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 Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

ROESLER, R. **Estudo de frutas do Cerrado brasileiro para avaliação de propriedade funcional com foco na atividade antioxidante**. Tese de Doutorado apresentado ao curso de Pós-graduação do Depto. de Ciências de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2007.

SILVA, Roberta S.; VENDRUSCOLO, João L.; TORALLES, Ricardo P. Avaliação da capacidade antioxidante em frutas produzidas na região sul do RS. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 3, 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS; EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. Claire Tondo

Vendruscolo; João Luiz Silva Vendruscolo; Angelita da Silveira Moreira. **Process for preparing a xanthan biopolymer**. WO/2006/047845, 01 nov. 2005.

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

Conclusão geral

É viável a preservação de compostos bioativos (flavonoides totais e antocianinas monoméricas totais) em polpa de mirtilo por tratamento térmico com aplicação direta de vapor, associado à adição de ácido cítrico à fruta. A adição de xantana pruni, bem como o aquecimento por adição direta de vapor parece influenciar positivamente a estabilidade das antocianinas durante o armazenamento congelado por 90 dias. Existe correlação entre a atividade antioxidante das polpas e os diferentes compostos bioativos ao longo do armazenamento, contudo, não se verifica efeito específico do tratamento térmico com vapor na capacidade de sequestro dos radicais livres DPPH, apenas para ABTS. Frente a isso, determinou-se a escolha do tratamento associado por aplicação de vapor e adição de xantana e ácido cítrico, para a continuidade do trabalho.

As adições de xantana e ácido cítrico proporcionaram o desenvolvimento dos pré-mixes, onde as diferentes faixas de adição influenciaram nas características tecnológicas e no conteúdo de compostos bioativos (flavonoides totais e fenóis totais), já nas antocianinas monoméricas totais não sofreu influência dos mesmos. Para a viscosidade e pseudoplasticidade a adição de xantana é fundamental para o desenvolvimento destas características. Sensorialmente, todos os néctares tiveram aceitação em todas as faixas de adição de xantana e ácido cítrico, e a adição de xantana promoveu o aparecimento de características desejáveis percebidas pelos consumidores.

Com base nos resultados da análise sensorial e de estabilidade física dos néctares pode selecionar-se os tratamentos T9-T12 (repetições do ponto central), T2 e T6, nessa ordem para produção de pré-mixes.

Referencias gerais

- BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v.58, n.1-2, p.103-109, 1997.
- BORRELLI, F., IZZO, A.A., DI CARLO, G. et al. 2002. Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in the rat colon. **Fitoterapia**, 73 Suppl 1:S38–S43.
- JACKMAN, R.L.; YADA, R.Y.; TUNG, M.A., et al. Anthocyanins as food colorants. - A Review. *Journal Food Biochemistry*. v.11, p.201-247, 1987.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.
- SHAHIDI F. & NACZK M. Food phenolics: source, chemistry, effects and applications. **Lancaster, TECHNOMIC**. 331p. 1995
- GAO, L.; MAZZA, G., Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflower hulls, **Journal of Food Science**, v.61, p.600– 603, 1996.
- YANG, C. S. T., & ATALLAH, W. A.. Effect of four drying methods on the quality of intermediate moisture lowbush blueberries. **Journal of Food Science**, v. 50, p.1233–1237. 1985.
- FACHINELLO, J.C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 285-576, 2008.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.
- ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B. Cultivo do mirtilo (*Vaccinium* spp.). Pelotas, **Embrapa Clima Temperado**, p.99, 2006.
- BARROS NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas: Unicamp, 1995, 299p.
- BOBBIO F.O., BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 1992. 223p
- BRAMBILLA, A.; MAFFI, D.; RIZZOLO, A. Study of the influence of berry-blanching on syneresis in blueberry purées. **Procedia Food Science**, v.1, p.1502-1508, 2011.
- BRAMBILLA, A.; SCALZO, R. L.; BERTOLO, G.; TORREGGIANI, D. Steam-blanching highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) juice: phenolic profile and antioxidant capacity in relation to cultivar selection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.2643-2648, 2008.
- BRANCO, I.G.; GASPARETTO, C.A.. Aplicação da metodologia de superfície de resposta para o estudo do efeito da temperatura sobre o comportamento

reológico de misturas ternárias de polpa de manga e sucos de laranja e cenoura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v.23(Supl) p.166-171,2003

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSER,C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant. **Lebensm-Wiss Technologic**, v. 28, p.25-30, 1995.

BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. DOU: Diário Oficial da União, 1965.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília**, DF, 4 de junho de 2009.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8. 819, de 14 julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **D.O.U.- Diário Oficial da União** de 04 de junho de 2009.

BRASIL. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. **Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília**, DF, 09 de abril de 1965.

BRASIL. Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico para fixação dos padrões de Identidade e Qualidade Gerais para o Suco Tropical e dá outras providências. **Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília**, DF, 9 de setembro de 2003.

BRASIL. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997, da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Aprova o regulamento técnico sobre aditivos alimentares, definições, classificação e emprego. **Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília**, DF, 28 de outubro de 1997.

BRASIL. Portaria nº 544, de 16 de novembro de 1998, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Aprova os regulamentos técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para refresco, refrigerante, preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para o consumo. **Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília**, DF, 17 de novembro de 1998.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº45, de 3 de novembro de 2010, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova regulamento técnico sobre aditivos alimentares autorizados segundo as boas práticas de fabricação. **Diário Oficial (da República Federativa do Brasil)**, Brasília, DF, 3 de novembro de 2010.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v.56, n.11, p.317-333, 1998.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: Anthocyanins as Food Colors. Pericles Markakis (ed.), **Academic Press Inc.**, New York, p.1-38, 1982.

CARLSON, J. S. Processing Effects on the Antioxidant Activities of Blueberry Juices. Thesis submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University. Raleigh, 2003.

CASTANEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNANDEZ, M. L.; PAEZ-HERNANDEZ, M. E.; RODRIGUEZ, J. A.; GALAN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: a review.. **Food Chemistry**, v.113, p.859-871, 2009.

CLIFFORD, M. N. Anthocyanins: Nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1063–1072, 2000.

DA ROCHA, FERNANDA IZABEL GARCIA. Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó. 2009. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

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

DÖHLER. Preparados de frutas. Disponível em: http://br.doehler.com/pt/our_products/ingredient_systems/fruit_preparatios. Acessado em 10 de janeiro de 2015.

FLOEGEL, Anna et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043-1048, 2011.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalainis: composition and applications. **Cereal Foods World**, v. 45, p. 208-213, 2000.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.28, p.273-314, 1989.

FULEKI, Tibor; FRANCIS, F. J. Quantitative Methods for Anthocyanins. **Journal of food science**, v. 33, n. 3, p. 266-274, 1968.

GANDRA, Eliezer A et al . Potencial antimicrobiano e antioxidante de extratos vegetais de alecrim, erva doce, estragão e orégano. Revista ciência e tecnologia., Posadas, n. 20, 2013 .

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

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E., Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v.14, p.217– 225, 2003

GUERRERO C, J et al, antioxidant capacity , anthocyanins , and total phenols of wild and cultivated berries in chile, v. 70, n. December, p. 537–544, 2010.

GULARTE, M. A. . Manual de Análise Sensorial. 1. ed. Pelotas: UFPel, 2002. v. 1. 65p .

HALLIWELL, B. Antioxidants and human disease: A general introduction. **Nutrition Reviews**, v.55, p.S44-S52, 1997.

HASLER, C.M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998.

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

JACKMAN, R. L.; YADA, R. Y.; TUNG, M. A.; SPEERS, R. A. Anthocyanins as food colorants - a review. **Journal of Food Biochemistry**, v.11, p.201-247, 1987.

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

KALT, W.; DUFOUR, D. Healthy functionality of blueberries. **HortTechnology**, v.7, n.3, p.216-221, 1997.

KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. **Polymer Degradation and Stability**. n. 59, p.81-84, 1998.

KAUR, C.; KAPOOR, H. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. International **Journal of Food Science and Technology**, v.36, p.703-725, 2001

KECHINSKI, C. P. **Estudo de diferentes formas de processamento do mirtilo visando à preservação dos compostos antocianínicos**. 2011. 277f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química), Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

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.173-176, 2010.

KECHINSKI, C. P.; SCHUMACHER, A. B.; MARCZAK, L. G. F.; TESSARO, I. C.; CARDOZO, N. S. M. Rheological behavior of blueberry (*Vaccinium ashei*)

purees containing xanthan gum and fructose as ingredients. **Food Hydrocolloids**, v.25, p. 299-306, 2011.

KHANAL, Ramesh C.; HOWARD, Luke R.; PRIOR, Ronald L. Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. **Food Research International**, v. 43, n. 5, p. 1464–1469, 2010.

KLAIC, P. M. A. **Desenvolvimento de método de digestão ácida para determinação de sais em xantana e potencialização reológica de xantana de *Xanthomonas arboricola* PV pruni por troca iônica**. 2010. 111f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas

KLUGE, R. A.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; BILHALVA, A. B.; SANTOS, A. M. Frigoconservação de frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cv. Clímax. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.1, n.3, p.185-188, 1995

KLUGE, R.A., HOFFMANN, A., BILHALVA, A.B. Comportamento de frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cv. Powder Blue em armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, v.24, n.2, p.281-285, 1994.

KUCK, L. S. **Desenvolvimento de polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) e preservação das suas antocianinas para elaboração em alimentos**. 2012. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LEE, H.S., AND K. HONG, Review chromatographic: Analysis of anthocyanins. **Journal of Chromatographic** v.624 p.221-234,1992.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: Comparison of two pretreatments. **Journal of Food Science**, v.67, n.5, p.1660–1667, 2002.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in Cranberries. **Hortiscience**, v.7, n.1, p.83-84, 1972.

MACEIRAS, R., ALVAREZ, E., & CANCELA, M. A. Rheological properties of fruit purees: effect of cooking. **Journal of Food Engineering**, v. 80. P. 763-769, 2007

MAIN, J. H., CLYDESDALE, F. M. and FRANCIS, F. J. (1978), SPRAY DRYING ANTHOCYANIN CONCENTRATES FOR USE AS FOOD COLORANTS. **Journal of Food Science**, 43: 1693–1694. doi: 10.1111/j.1365-2621.1978.tb07390.x

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. D. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p.659-664, 2005.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v.25, p.207-225, 1987.

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

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

MOYER, R.A.; HUMMER, K.E.; FINN, C.E. et al. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 519-525, 2002.

NINDO, C. I., TANG, J., POWERS, J. R., & TAKHAR, P. S. Rheological properties of blueberry puree for processing applications. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**. V.40, p.292-299, 2007.

OGUNTUNDE, A.O.; AKINTOYE, O.A. Measurement and comparison of density, specific heat and viscosity of cow's milk and soy. **Journal of Food Engineering**, v.13, n. 3, p. 221-230, 1991.

PERTUZATTI, P. B. **Compostos bioativos em diferentes cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade)**. 2009. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

PRIOR, R. L. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. **American Journal of Clinical Nutrition** v.78, n.3, Suppl: 570S-8S, 2003.

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, p.2686-2693, 1998.

PRIOR, R. L.; WILKES, S. E.; ROGERS, T. R.; KHANAL, R. C.; WU, X.; HOWARD, L. R. Purified blueberry anthocyanins and blueberry juice alter development of obesity in mice fed an obesogenic high-fat diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.3970-3976, 2010.

PRIOR, R. L.; WU, X.; GU, L.; HAGER, T.; HAGER, A.; WILKES, S.; HOWARD, L. Purified berry anthocyanins but not whole berries normalize lipid parameters in mice fed an obesogenic high fat diet. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.53, p.1406–1418, 2009.

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.; PROTEGENTE, 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, p. 1231-1237, 1999.

REQUE, P.M.; STEFFENS, R.S.; JABLONSKI, A.; FLÔRES, S.H.; RIOS, A.O.; 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 p.111–116. 2014.

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 Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

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**, IBISSA, 2010.

ROESLER, R. **Estudo de frutas do Cerrado brasileiro para avaliação de propriedade funcional com foco na atividade antioxidante**. Tese de Doutorado apresentado ao curso de Pós-graduação do Depto. de Ciências de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2007.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007

ROSSI, M.; GIUSSANI, E.; MORELLI, R.; SCALZO, R. L.; NANI, R. C.; TORREGGIANI, D. Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice. **Food Research International**, v.36, p.999-1005, 2003.

SILVA, Roberta S.; VENDRUSCOLO, João L.; TORALLES, Ricardo P. Avaliação da capacidade antioxidante em frutas produzidas na região sul do RS. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 3, 2013.

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**, Chicago, v. 65, p. 357-364, 2000.

SPAGOLLA, L.C.1 ; SANTOS, M.M. 1 , PASSOS, L.M.L AGUIAR, C.L. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista Ciência Farmaceutica Básica e Aplicada**. v. 30(2) p.187-191, 2009.

STRINGHETA, P. C.; BOBBIO, P. A. Copigmentação de antocianinas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, p. 34-37, 2000.

SU, Min-Sheng; CHIEN, Po-Jung, Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation, **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 182–187, 2007.

SUTHERLAND, I. W. Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. In: **Advances Microbial Physiology**, v. 23, 1982 p. 80-142

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

SOUZA, Jarbas Luiz Lima. **Hidrocolóides nas características físico-químicas e sensoriais do néctar de pêsego [*Prunus persica* (L) Batsch]** 2009 Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

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

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS; EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. Claire Tondo Vendruscolo; João Luiz Silva Vendruscolo; Angelita da Silveira Moreira. **Process for preparing a xanthan biopolymer**. WO/2006/047845, 01 nov. 2005.

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, S. Y.; LIN, H. -S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 140-146, 2000.

WANG, S. Y.; CAMP, M. J.; EHLENFELDT, M. K. Antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1759-1768, 2012.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hidrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n.12, p. 4026-4037, 2004.

WU, X.; PRIOR, R. L. Identification and Characterization of Anthocyanins by High- Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry in Common Foods in the United States: Vegetables, Nuts, and Grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.3101-3113, 2005.

ZHANG, Y.; HU, X.S.; CHEN, F.; WU, J.H.; LIAO, X.J.; WANG, Z.F. Stability and colour characteristic of PEF-treated cyaniding-3-glicoside during storage. **Food Chemistry**, v. 106, p. 669-679, 2008.

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

Apêndice

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Potencial tecnológico de frutos nativos

Pesquisador: Jessica Fernanda Hoffmann

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 38484814.0.0000.5317

Instituição Proponente: Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Patrocinador Principal: Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 901.768

Data da Relatoria: 26/11/2014

Apresentação do Projeto:

Os frutos nativos tem recebido atenção pelo seu aroma e sabor exótico e pelas propriedades funcionais, como atividade antioxidante e antimicrobiana. O Brasil possui a flora mais diversificada do planeta (MEDINA et al. 2001), com espécies de frutas nativas adaptados às diferentes condições climáticas, incluindo em clima equatorial, tropical, semi-árido e temperado, mas que possuem exploração baseada quase que exclusivamente em extrativismo nas áreas de ocorrência natural. Para a maioria das espécies, não há tecnologias de cultivo e produção. A Região Sul do Estado do Rio Grande do Sul tem se destacado pelo potencial na produção de frutas nativas e de pequenas frutas devido às condições climáticas e adaptação de espécies, levando ao aumento da produção da fruta in natura e de seus produtos derivados, como sucos, geleias, sorvetes, frutas secas, entre outros.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Realizar o processamento e a avaliação sensorial dos frutos de clima temperado incluindo butiá, pitanga, araçá, cereja-do-mato, mirtilo, amora-preta, guabiroba, framboesa, uvaia, maracujá-do-mato, jabuticaba nas formas de néctar, geleia, bala, iogurte, sorvete, frozen, entre outros.

Objetivo Secundário:

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301

Bairro: Centro

CEP: 96.020-360

UF: RS **Município:** PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



Continuação do Parecer: 901.768

- Caracterizar as matérias-primas e os produtos processados quanto à sua qualidade nutricional e sensorial.
- Aperfeiçoar e avaliar a influência das tecnologias sobre a estabilidade de compostos potencialmente bioativos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS: A participação é voluntária e não ocasionará nenhum risco a saúde e integridade física, visto que os produtos serão elaborados seguindo as normas de boas práticas de fabricação.

BENEFÍCIOS: A sua participação nesse projeto proporcionará o aperfeiçoamento e a avaliação da influência de tecnologias de processamento sobre a estabilidade de compostos bioativos em frutos ricos nesses compostos, visto que esses trazem benefícios a saúde.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão elaborados diferentes produtos com frutos nativos (dependendo da disponibilidade de frutos) e será realizado a análise sensorial. Os frutos de clima temperado (butiá, pitanga, araçá, cereja-do-mato, mirtilo, amora-preta, guabiroba, framboesa, uvaia, maracujá-do-mato, jabuticaba) serão obtidas no Centro Agropecuário da Palma-UFPel, em propriedades rurais, na Embrapa Clima Temperado-Pelotas e demais órgãos ou entidades dispostas a colaborar com o desenvolvimento do projeto. Nesta pesquisa serão utilizados somente insumos e matéria prima de qualidade e as boas práticas de fabricação serão adotadas na realização dos produtos. A análise sensorial será realizada no laboratório de análise sensorial do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas – campus Capão do Leão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

OK

Recomendações:

OK

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

OK

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301
Bairro: Centro CEP: 96.020-360
UF: RS Município: PELOTAS
Telefone: (53)3284-4960 Fax: (53)3221-3554 E-mail: cep.famed@gmail.com

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



Continuação do Parecer: 901.768

PELOTAS, 08 de Dezembro de 2014

Assinado por:
Patricia Abrantes Duval
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301
Bairro: Centro **CEP:** 96.020-360
UF: RS **Município:** PELOTAS
Telefone: (53)3284-4960 **Fax:** (53)3221-3554 **E-mail:** cep.famed@gmail.com