

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
Agroindustrial



TESE

**ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS, FENÓIS TOTAIS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE EM *TOPPING* DE MIRTILO**

SABRINA ÁVILA RODRIGUES

PELOTAS, 2010.

SABRINA ÁVILA RODRIGUES
Bacharel em Química de Alimentos
Mestre em Ciência dos Alimentos

**ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS, FENÓIS TOTAIS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE EM *TOPPING* DE MIRTILLO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr. Claire Tondo Vendruscolo
Co-Orientador: Prof. Dr. Ricardo Peraça Toralles

Pelotas, 2010.

Dados de catalogação na fonte:

Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/901

Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

R696e

Rodrigues, Sabrina Ávila

Estabilidade de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante em *topping* de mirtilo / Sabrina Ávila Rodrigues. – 112f. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Pelotas, 2011. – Orientador Claire Tondo Vendruscolo ; co-orientador Ricardo Peraça Toralles.

1.Goma xantana. 2.Carboximetilcelulose. 3.Metodologia de superfície de resposta. 4.Antocianinas. 5.Mirtilo.
I.Vendruscolo, Claire Tondo. II.Toralles, Ricardo Peraça.
III.Título.

CDD: 634.74

Banca examinadora:

Prof^a Dr. Claire Tondo Vendruscolo – Professora UFPel

Prof. Dr. Ricardo Peraça Toralles – Professor IFSul-RS

Prof. Dr. José Luiz Ferreira da Trindade – Professor UTFPR

Prof. Dr. Julio Alberto Nitzke – Professor UFRGS

Dedico,

À minha filha Bianca, com amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida.

A CAPES, FAPERGS e CNPq pelo apoio financeiro indispensável para a realização deste projeto.

A Embrapa Clima Temperado pelo apoio e doação das frutas.

Aos meus pais e às minhas irmãs, por todo amor, apoio, incentivo, e compreensão pois sem eles nada seria possível.

Ao Charles, pelo amor, carinho, companheirismo e compreensão.

À Bianca, pela alegria de viver.

A Prof.^a Dr.^a Claire Tondo Vendruscolo, pelos ensinamentos, orientação, apoio, amizade, oportunidade e pelo exemplo.

Ao Prof. Dr. Ricardo Peraça Toralles pela orientação, apoio e paciência.

Aos amigos do Laboratório de Biopolímeros, pela amizade, incentivo, apoio e momentos de descontração. Especialmente ao Roger pela dedicação e competência no início dos trabalhos; à Elisabeth e à Amanda por terem sido incansáveis na ajuda durante a realização das análises; à Daiane pelo apoio nas determinações de compostos fenólicos e capacidade antioxidante.

Ao professor Rui Zambiasi por disponibilizar as dependências do laboratório para as análises cromatográficas.

Aos colegas da UTFPR pelo apoio.

Resumo

RODRIGUES, Sabrina Ávila. **Estabilidade de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante em *topping* de mirtilo**. 2010. 112f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) *in natura* apresenta elevado teor de antocianinas com potencial atividade antioxidante. O *topping* é uma forma alternativa de industrialização do mirtilo. Podendo ser consumido em conjunto com diversos produtos ou servir de matéria-prima na indústria de alimentos. Caracteriza-se como uma cobertura alimentícia com a presença de mirtilos inteiros imersos em uma base líquida viscosa. No processo de elaboração do *topping* é indispensável a aplicação do calor. A estabilidade das antocianinas pode ser afetada tanto pela ação do calor quanto pela presença de aditivos na formulação. Este trabalho teve por objetivo avaliar ação protetora de CMC, goma xantana e ácido cítrico sobre a estabilidade das antocianinas em *topping* de mirtilo através da metodologia de superfície de resposta e estudos da cinética de degradação térmica. Para tal foram elaborados três experimentos. Inicialmente estudou-se a estabilidade de antocianinas *in vitro*. Em seguida foi avaliada a estabilidade de antocianinas fenóis totais e capacidade antioxidante no *topping*. No terceiro estudo foi avaliada a cinética de degradação térmica de antocianinas. O modelo matemático aplicado para o *topping* foi preditivo, e a variância explicada acima de 96%. O ponto estacionário é um ponto de mínima degradação de antocianinas em 0,04% de CMC, 0,39% de xantana e 0,19% de ácido cítrico. As frutas quando permanecem inteiras no *topping* são menos susceptíveis à degradação térmica das antocianinas. Recomenda-se o uso de até 0,4% de xantana, até 0,1% de CMC e 0,16 a 0,2% de ácido cítrico no *topping* a fim de reduzir o efeito do calor sobre as antocianinas.

Palavras-chave: goma xantana, carboximetilcelulose, metodologia de superfície de resposta, antocianinas, mirtilo.

Abstract

RODRIGUES, Sabrina Ávila. **Stability of anthocyanins, total phenolics and antioxidant capacity in blueberry topping**. 2010. 112f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Blueberry (*Vaccinium mirtillus*) in nature has a high concentration of anthocyanins with potential antioxidant activity. The topping is an alternative way for industrialization of blueberry. Can be consumed with various products or serve as a raw material in food industry. It is featured as a cover food with the presence of whole blueberries dipped in a viscous liquid base. In the process of preparing the topping is essential to the application of heat. The anthocyanin stability may be affected by the action of heat as the presence of additives in the formulation. This study aimed to evaluate the protective action of CMC, xanthan gum and citric acid on stability of anthocyanins in blueberry topping by response surface methodology and study the kinetics of thermal degradation. To this end, we prepared three experiments. Initially we studied the stability of anthocyanins in vitro. Then we evaluated the stability of anthocyanins total phenols and antioxidant capacity in the topping. In the third study evaluated the kinetics of thermal degradation of anthocyanins. The mathematical model was predictive for the topping, and explained variance above 96%. The stationary point is a point of minimum degradation of anthocyanins in 0.04% CMC, 0.39% xanthan and 0.19% citric acid. We recommend the use of until 0.4% xanthan, until 0.1% CMC and 0.16 to 0.2% of citric acid in the topping to reduce the effect of heat on the anthocynins.

Keywords: xanthan gum, carboxymethylcellulose, methodology response surface, anthocyanins, blueberry.

Lista de Figuras

REVISÃO

- Figura 1.** Fluxograma de processamento de *topping* de mirtilo. 17
- Figura 2.** Estrutura das antocianinas comumente encontradas em tecidos vegetais. 19
- Figura 3.** Transformações estruturais das antocianinas em solução aquosa. 21

Artigo 1

- Figura 1.** Teor de fenóis totais, antocianinas e capacidade antioxidante em sistema modelo de *topping* de mirtilo preparado com as cultivares Bluegem, Bluebelle e PowderBlue. Letras iguais para as mesmas variáveis indicam que não há diferença estatística entre as amostras pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 49
- Figura 2. Efeito interativo das variáveis CMC, goma xantana e ácido cítrico sobre a perda inicial de antocianinas em sistema modelo de *topping* de mirtilo Bluegem com adição de 0,2% de ácido cítrico (A); 0% de CMC (B) e 0% de xantana (C). 54

Artigo 2

- Figura 1.** Gráfico de médias, máximos e mínimos do tipo Box e Whiskers para teor de antocianinas totais ($\text{mg cianidina-3-glicosídeo} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em *topping* de mirtilo: efeito individual da CMC (A), Xantana (B) e Ácido Cítrico (C). 69
- Figura 2.** Gráfico dos efeitos estimados de (A) Carboximetilcelulose (%) e goma xantana (%) no teor de antocianinas totais em *topping* de mirtilo no após tratamento térmico com adição de 0,2% de ácido cítrico e (B) Carboximetilcelulose (%) e Ácido Cítrico (%) na perda percentual de antocianinas totais após tratamento térmico com adição de 0,4% de xantana. 71
- Figura 3.** Médias do teor de antocianinas totais, fenóis totais e atividade antioxidante em *topping* de mirtilo elaborado com 0,1% de CMC, 0,4% de xantana e 0,16% de ácido cítrico (A) e com 0,4% de xantana e 0,2% de 74

ácido cítrico (B) ($p < 0,05$).

Artigo 3

Figura 1. Cinética de degradação de antocianinas em *topping* de mirtilo contendo as frutas desintegradas (SM A e SM B) e inteiras (*Topping* A e B) entre 60 e 90 °C. 86

Figura 2. Representação gráfica de Arrhenius da constante cinética de primeira ordem para degradação térmica de antocianinas em sistema modelo e *topping* de mirtilo com diferentes composições. 88

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1. Codificação dos níveis das variáveis independentes CMC, xantana e ácido cítrico.	46
Tabela 2. Mariz do planejamento experimental com valores codificados, naturais e variáveis resposta para o teor de antocianinas totais em sistema modelo de <i>topping</i> de mirtilo Bluegem armazenados por 0, 15, 35 e 60 dias.	51
Tabela 3. Coeficientes de regressão não linear e de determinação (R^2) do modelo matemático de segunda-ordem para o efeito protetor inicial de CMC, goma xantana e ácido cítrico sobre as antocianinas em sistema modelo de <i>topping</i> de mirtilo Bluegem.	53

Artigo 2

Tabela 1. Codificação e níveis das variáveis independentes.	64
Tabela 2. Matriz do planejamento experimental com valores codificados, naturais e variáveis resposta para o teor de antocianinas totais em <i>topping</i> de mirtilo após 48 horas de estabilização, 30 dias e 60 dias.	67
Tabela 3. Coeficientes de regressão não linear e de determinação (R^2) do modelo matemático de segunda ordem para o teor de antocianinas totais em <i>topping</i> de mirtilo.	70
Tabela 4. Análise de Variância para o ajuste de um modelo de segunda ordem aos dados experimentais para 48 horas de armazenamento.	70

Artigo 3

Tabela 1. Delineamento experimental para proporção de goma xantana e forma de apresentação das frutas em <i>topping</i> de mirtilo.	82
Tabela 2. Efeito da temperatura na constante de degradação térmica e valores de $t_{1/2}$ para antocianinas em sistema modelo e <i>topping</i> de mirtilo	87

com diferentes composições.

Tabela 3. Valores de Q_{10} e E_a para degradação térmica de antocianinas totais em sistema modelo e *topping* de mirtilo com diferentes composições. 89

Tabela 4. Teor e percentual de redução de antocianinas em amostras de sistema modelo e *topping* de mirtilo em fase anterior e posterior ao tratamento térmico. 90

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
1 REVISÃO	15
1.1 Mirtilo	15
1.2 Compostos fenólicos	18
1.2.1 Antocianinas em mirtilos	21
1.3 Xantana	25
1.4 Carboximetilcelulose	27
1.5 Ácido cítrico	29
REFERÊNCIAS	31
 Artigo 1	
ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS EM <i>TOPPING</i> DE MIRTILO <i>IN VITRO</i>	43
Resumo	43
Abstract	44
1. INTRODUÇÃO	44
2. MATERIAL E MÉTODOS	45
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4. CONCLUSÕES	56
5. AGRADECIMENTOS	56
6. REFERÊNCIAS	56
 Artigo 2	
ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS, FENÓIS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM <i>TOPPING</i> DE MIRTILO	60
Resumo	60
Abstract	61
1. INTRODUÇÃO	61
2. MATERIAL E MÉTODOS	62
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66

4.CONCLUSÕES	75
5.AGRADECIMENTOS	75
6. REFERÊNCIAS	75

Artigo 3

ESTUDO DA CINÉTICA E PERFIL DE DEGRADAÇÃO DE ANTOCIANINAS EM <i>TOPPING</i> DE MIRTILO: EFEITO DA TEMPERATURA E DA FORMA DE APRESENTAÇÃO DAS FRUTAS	79
--	----

Resumo	79
--------	----

Abstract	79
----------	----

1. INTRODUÇÃO	80
---------------	----

2. MATERIAL E MÉTODOS	82
-----------------------	----

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
---------------------------	----

4. CONCLUSÕES	91
---------------	----

5. AGRADECIMENTOS	92
-------------------	----

5. REFERÊNCIAS	92
----------------	----

CONCLUSÕES	95
-------------------	----

REFERÊNCIAS	96
--------------------	----

INTRODUÇÃO GERAL

Apesar do acesso às frutas *in natura* no Brasil ser fácil e o preço cada vez mais acessível, o cotidiano da família moderna, no entanto, não reserva tempo para o preparo de alimentos. Assim sendo, o interesse por produtos processados prontos para o consumo tem crescido nos últimos anos, especialmente por alimentos que sejam ou se assemelhem aos naturais.

A busca por uma dieta saudável, ou à prevenção de doenças, tem levado a população a optar por alimentos que tenham alguma alegação de prevenção ou mesmo cura de enfermidades. Seja este comportamento causado pela culpa de anos de consumo de uma dieta desbalanceada ou apenas por uma mudança no comportamento da população, o fato é que a indústria de alimentos e os grupos de pesquisa no mundo inteiro investigam a presença de compostos bioativos em diferentes matérias primas e formas de manter índices elevados dos mesmos em produtos processados, e que remetam à idéia de “alimento natural”, atendendo assim a este novo perfil de consumo da população mundial.

Este contexto, de alimentos ricos em bioativos e que se pareçam ao máximo com as frutas *in natura*, o *topping* de mirtilo é uma excelente opção. O produto tem o atrativo de trazer as frutas inteiras, imersas em uma base viscosa que mantém em sua composição elevados teores de fenóis totais, entre eles, especialmente, as antocianinas que além de proporcionar uma cor atraente sem o uso de aditivos corantes, mantêm altos índices de atividade antioxidante. A estrutura do *topping* está fundamentada na ação de espessantes, entre eles a goma xantana e a carboximetilcelulose (CMC) e de acidulantes, sendo o ácido cítrico o mais recomendado (REDIES, et al, 2006).

O maior desafio para a ciência e para a tecnologia dos alimentos, no entanto, é manter e/ou preservar as antocianinas em alimentos processados, uma

vez que estes compostos são altamente suscetíveis à degradação por vários fatores, entre eles, o calor, a exposição ao oxigênio, às enzimas polifenoloxidasas, entre outros, além da estabilidade variar de acordo com o pH em que se encontram.

Muitos pesquisadores estudam os tipos e teores de antocianinas em mirtilo, outros tantos estudam a estabilidade das antocianinas frente a diversos tratamentos e diferentes tempos de estocagem, alguns outros se detêm em estudar os efeitos dos diversos fatores de decomposição sobre as antocianinas nas frutas *in natura* ou processadas, outros ainda estudam estes compostos em alimentos processados, quer seja buscando esclarecer os efeitos do processamento sobre os mesmos, ou apenas fornecer dados sobre os teores encontrados em cada produto. São raros, no entanto, os que estudam a interação das antocianinas com os demais compostos presentes nas formulações alimentícias e mais raros ainda os que estudam os efeitos desta interação nos teores destes compostos, uma vez que muitos limitam-se a estudar o efeito da interação na cor dos produtos e/ou sistemas.

Avaliando os resultados de estudos anteriores a respeito da interação dos espessantes goma xantana, carboximetilcelulose e goma tara com os acidulantes ácido cítrico, ácido tartárico e ácido ascórbico para o desenvolvimento de formulações de *topping* de mirtilo (RODRIGUES; 2006) verificou-se que quando utilizado o ácido cítrico em combinação com goma xantana ou carboximetilcelulose os níveis de antocianinas totais mantiveram-se estáveis e elevados. Além disto, tendo em vista a carência de estudos sobre a interação de antocianinas com os demais ingredientes de um alimento, e considerando a hipótese de que a goma xantana, a carboximetilcelulose (CMC) e o ácido cítrico podem atuar de forma a preservar os teores de antocianinas e a sua atividade antioxidante em *topping* de mirtilo, este trabalho teve o objetivo de avaliar a ação protetora de CMC, goma xantana, e ácido cítrico sobre a estabilidade das antocianinas em *topping* de mirtilo, através do uso da metodologia de superfície de resposta e cinética de degradação térmica. Foram elaborados três artigos, o primeiro *in vitro*, utilizando em um sistema modelo as frutas desintegradas e as mesmas proporções de ingredientes para o *topping* onde é possível intensificar a interação entre as antocianinas e os demais ingredientes e aditivos; um segundo experimento onde o *topping* foi elaborado com as frutas íntegras e, a partir dos melhores ensaios obtidos nos dois primeiros, no terceiro artigo foi feito o estudo da cinética de degradação das antocianinas totais e monoméricas quando o *topping* é exposto a diferentes faixas de temperatura.

1. REVISÃO

1.1 Mirtilo

Mirtilo é uma pequena fruta de clima temperado pertencente à família Ericaceae e ao gênero *Vaccinium*. As plantas são de porte arbustivo, as frutas apresentam-se na forma de bagas com coloração azul escura e formato achatado, a polpa, de coloração esbranquiçada, contém muitas sementes. O sabor das frutas é doce levemente ácido e, em geral, elas apresentam entre 1 e 2,5 cm de diâmetro e 1 a 4 g de peso (ECK; CHILDERS, 1966; KLUGE et al., 1994; SAFTNER et al., 2008).

O mirtilo (*blueberry*, em inglês; *arándano*, em espanhol) é uma espécie ainda recente no Brasil. Sua implantação data da segunda metade da década de 1980, em uma coleção de cultivares da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS). A primeira iniciativa comercial no país começou a partir de 1990, em Vacaria - RS (HOFFMAN; ANTUNES, 2004).

O volume de vendas no território nacional é considerado pequeno, concentrando-se nos empórios de luxo, cuja clientela encontra-se nas classes com maior poder aquisitivo e utiliza a fruta por conter elevado teor de compostos bioativos ou para uso no preparo de pratos diferenciados; durante a safra brasileira alguns sacolões diferenciados, feirantes, pequenos varejistas, restaurantes e atacadistas também comercializam a fruta em pequenas quantidades (SILVA, 2007).

Além de ser uma fruta cara para o padrão nacional o fato de não haver disponibilidade do produto *in natura* durante o ano inteiro, ou ainda uma variedade de produtos industrializados, dificulta a popularização do consumo do mirtilo no Brasil (HOFFMAN; ANTUNES, 2004; SILVA, 2007).

O mirtilo pode ser consumido *in natura* ou ser adicionado em diversos alimentos industrializados, como suco, vinho, polpa, purê, geléias, barras de cereais, bolos, iogurtes e bebidas lácteas. Nos Estados Unidos é o terceiro suco mais consumido, o primeiro é o de laranja e o segundo o de maçã. Também na Europa é

comercializado na forma de chá, cerveja, *snaks*, molhos, cereais matinais, sorvetes, recheios para chocolates entre outros (MAZZA, OOMAH 2000; CEPEDA et al., 2002, HAURBONE et al. 2008, CAMIRE et al., 2006; CAMIRE et al., 2007).

No Brasil começam a surgir alguns produtos industrializados, em sua maioria produtos artesanais que incluem sorvetes com calda de mirtilo e geléias mistas de frutas vermelhas, geralmente nas regiões produtoras da fruta. No entanto pode-se encontrar no mercado nacional produtos importados, oriundos de países como Alemanha e Estados Unidos.

Uma das formas processadas em que o mirtilo é consumido são os *toppings*. A expressão *topping* refere-se a um tipo de cobertura, caracterizada pela presença de frutas inteiras, íntegras ou em pedaços padronizados, imersas em uma base líquida e viscosa. As frutas ou pedaços devem apresentar aspecto atrativo para o consumo, o líquido de cobertura deve ser viscoso e translúcido, com cor, sabor e aroma característico da fruta com que foi elaborado e levemente ácido. A textura deverá ser suficientemente firme para que permaneça na superfície do produto com o qual será consumido, e devendo escorrer lentamente por ocasião do consumo. O *topping* deverá manter suas características sensoriais, sem homogeneizar-se ou transferir cor, aroma e sabor para o alimento que está sendo consumido em conjunto (RODRIGUES et al., 2007).

Os *toppings* de mirtilo podem ser conservados por longos períodos sem uso de refrigeração. São produtos prontos para o consumo, ou seja, dispensando qualquer tipo de preparo como lavagem e cozimento, por isso adaptam-se ao estilo de vida moderno. Conservam as bagas inteiras e, por essa razão, além de serem extremamente atrativos visualmente, os *toppings* são uma excelente forma de divulgação desta fruta ainda tão desconhecida da população brasileira. Remetem à idéia de consumo de produto natural, pois não contêm conservantes e as frutas mantêm seu formato original. Podem ser consumidos por indivíduos de uma ampla faixa etária e atingem público de diversas camadas sociais através do consumo associado a produtos alimentícios variados, como tortas, sorvetes, iogurtes, flans e pudins (REDIES et. al., 2006; RODRIGUES, 2006; VENDRUSCOLO et al., 2006).

O processo de elaboração de *toppings* de mirtilo, tanto artesanal quanto industrial, é extremamente simples e obedece às etapas descritas no fluxograma da Figura 1.

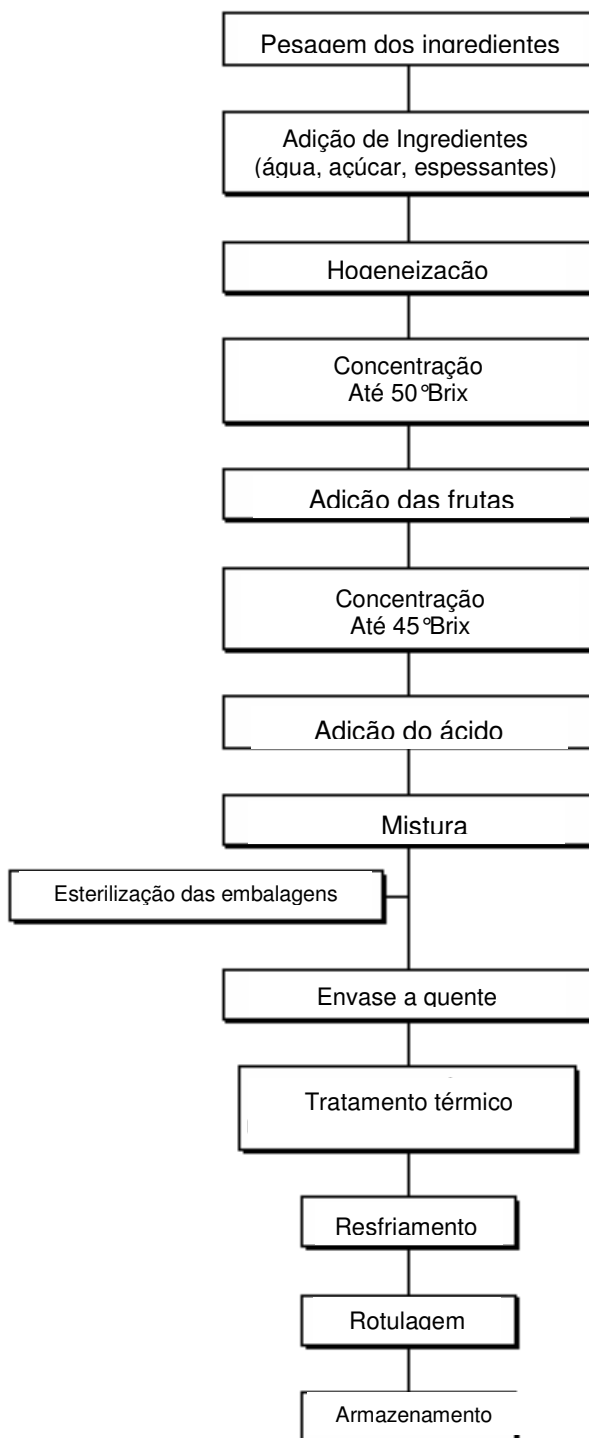


Figura 1: Fluxograma de processamento de *topping* de mirtilo.
(Fonte: o autor)

O principal atrativo para o consumo do mirtilo, no entanto, não é o seu particular sabor adocicado e levemente ácido ou mesmo a sua cor atrativa – fruta azul - que para alguns é até curiosa. O fator que fez o mirtilo espalhar-se dos países europeus e norte-americanos para o restante do mundo nas últimas décadas foi o

seu elevado teor de compostos bioativos particularmente os fenólicos e entre eles, com destaque, as antocianinas e seu particular potencial antioxidante. O mirtilo é considerado uma das frutas com maior potencial antioxidante no mundo. Mirtilos são considerados rica fonte de ácidos fenólicos, catequinas, flavonóis, antocianinas e antocianidinas (NETZEL et al., 2006; NETZEL et al., 2007; NICOUÉ et al., 2004; HARNLY et al., 2006).

1.2 Compostos Fenólicos

Sob a denominação de compostos fenólicos estão englobadas diversas substâncias com características químicas estruturais diferenciadas que apresentam como fator comum a presença de anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxila (OH) podendo também haver substituições por grupamentos metil ou glicosil (WALTON, BROWN, 1999).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução. Pesquisas indicam que tais compostos se formam em condições de estresse como infecções, ferimentos, radiações UV, entre outros (NACZK, SHAHIDI, 2004).

Estudos epidemiológicos sugerem que homens e mulheres alimentados com dieta rica em frutas e vegetais com elevados teores de compostos fenólicos estão associados a redução de riscos da ocorrência de câncer (STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D., 1991), doenças cardiovasculares (HERTOG et al., 1993a; KNEKT et al. 1996), e acidentes vasculares cerebrais (KELI et al., 1996).

Efeitos estes resultantes dos elevados níveis de compostos fenólicos presentes nos alimentos aos quais são atribuídas propriedades antioxidantes; que supostamente agem como quelantes do oxigênio singlete e triplete, sequestrantes de radicais livres e inibidores enzimáticos, sendo que também atuam como sinergistas de outros compostos fenólicos (MÄÄTTÄ-RIIHINEN, KAMAL-ELDIN, TÖRRÖNEN, 2004; MOYER et al., 2002; ZADERNOWSKI, 2005).

Dentro do grande grupo dos compostos fenólicos, e do subgrupo dos flavonóides, encontram-se as antocianinas que são os principais agentes cromóforos encontrados em tecidos vegetais de cor vermelha, azul e púrpura. Quando extraídas do meio natural, apresentam-se na forma de sais de flavílio, normalmente

glicosiladas, ou seja, ligadas a moléculas de açúcares, sendo os mais comuns a β -D-glucose, a β -D-galactose e a α -D-ramnose. Quando livres dos açúcares são chamadas antocianidinas (NYMAN; KUMPULAINEN, 2001). Antocianinas também podem ser encontradas na forma de proantocianidinas, que são polímeros de antocianinas (NACZK, SHAHIDI, 2004).

As antocianinas diferem entre si pelo número de grupos hidroxilas e pelo grau de metilação desses grupos presentes na aglicona, pela natureza e número de açúcares e de ácidos ligados a eles (MAZZA, MINATI, 1993).

As substituições presentes no íon flavílio tais como grupos hidroxila, metoxila, açúcares e ácidos ligados aos açúcares, têm efeito marcante na intensidade da cor e na estabilidade destes pigmentos. As antocianinas de estruturas mais complexas são relativamente mais resistentes ao efeito do calor e da luz, quando comparadas às antocianinas não aciladas (NYMAN, KUMPULAINEN, 2001).

Antocianinas são encontradas em muitas frutas como mirtilo, framboesa, amora-preta, morangos e ameixas. Segundo Kong et al. (2003) mais de 400 antocianinas já foram identificadas, no entanto, apenas seis são comuns em frutas: malvidina, cianidina, petunidina, peonidina, delphinidina, e pelargonidina (Figura 2). As antocianinas mais consumidas são cianidina e malvidina (SCALBERT, WILLIAMSON, 2000). Antocianinas estão presentes nas células da casca e polpa de mirtilo (ECK, 1988).

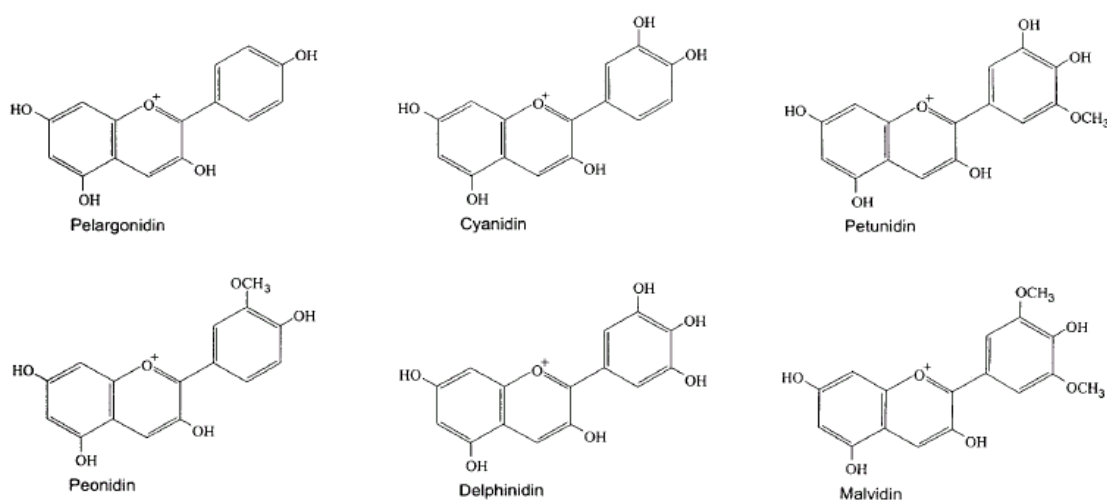


Figura 2: Estrutura das antocianinas comumente encontradas em tecidos vegetais (Fonte: Nyman, Kumpulainen, 2001).

Pesquisadores no mundo inteiro atribuem às antocianinas diversas propriedades funcionais, sugerindo que atuam na prevenção a algumas doenças. Altos níveis de antocianinas são encontrados em mirtilos, e estudos realizados com suplementos contendo a fruta alegam a ela a capacidade de diminuir problemas de cegueira noturna (JAYLE et al. 1965; KALT, DUFOUR 1997), aumento da adaptação da luminosidade na visão e prevenção de cataratas (KALT, DUFOUR 1997), redução em glaucoma diabético induzido e miopia (CIGNARELLA et al., 1996; MARTINEAU et al., 2006) e redução de contração ocular. Outras alegações de benefícios à saúde incluem a melhoria do sistema circulatório do corpo (SATUE-GRACIA, HEINONEN, FRANKEL, 1997; LAPLAUD, LELUBRE, CHAPMAM, 1997; KALT, DUFOUR, 1997), suporte para a produção de tecidos conjuntivos saudáveis, redução do potencial de doenças cardiovasculares (ANDRIAMBELOSON et al. 1997, 1998; BERRY, TARDIF, BOURASSA, 2007; HERTOOG et al. 1993), redução de infecções do trato urinário (HOWELL, 2002; OFEK et al., 1991, 1996), redução à vulnerabilidade do estresse oxidativo, que é uma das causas do câncer (DREISEITEL et al., 2008), potencial atividade anticarcinogênica e antimutagênica (NANDAKUMAR, SINGH, KATIYAR, 2008; STONER et al., 2007) entre outros.

Para que as antocianinas presentes em mirtilos possam desempenhar efeito eficaz com relação à prevenção de doenças, é necessário que as frutas ou os produtos industrializados de mirtilo mantenham elevados índices de tais compostos. Níveis estes difíceis de serem mantidos, uma vez que estes fitoquímicos são altamente instáveis, sua estabilidade é afetada pelo pH do meio em que se encontram (BROUILLARD 1982; KALT, et al., 2000; MAZZA, OOMAH, 2000; SARNI-MANCHADO, CHEVNIER, MOUTOUNET, 1997); pela temperatura a que são submetidos antes e/ou durante a colheita, transporte, processamento e armazenamento (GARCIA-VIGUERA et al. 1998, 1999; HAGER, et al., 2008; HARBOURNE, et al., 2008; KALT et al., 1999, 2000; SEERAM et al. 2008; TANCHEV, LONCHEVA, 1974); presença de enzima polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (KADER et al. 1998; PRIEUR, 1994; SARNI-MANCHADO, CHEVNIER, MOUTOUNET, 1997; WESCHE-EBELING; MONTGOMERY, 1990) e por exposição à luz ultravioleta (PERKINS-VEAZIE, COLLIN, HOWARD, 2007).

Entre os fatores acima citados, a influência do pH sobre a estabilidade e a cor das antocianinas é um dos mais estudados. Sabe-se que em solução aquosa

estão presentes uma mistura de diversas estruturas antociânicas em equilíbrio químico (Figura 3). Entre elas estão o cátion flavílio de coloração vermelha, base quinoidal de coloração azul, pseudobase carbinol e chalcona, ambas incolores. Em pH inferior a 2 prevalece a forma de cátion, sendo que a rápida desprotonação leva à forma quinoidal. Quando hidratado, o cátion flavílio forma hemiacetal, e em seguida *all-trans*-chalcona que isomeriza-se lentamente à *cis*-chalcona. A proporção relativa de cada forma do equilíbrio varia em função do pH e tipo de antocianina presente na solução (HOUBIERS, et al., 1998).

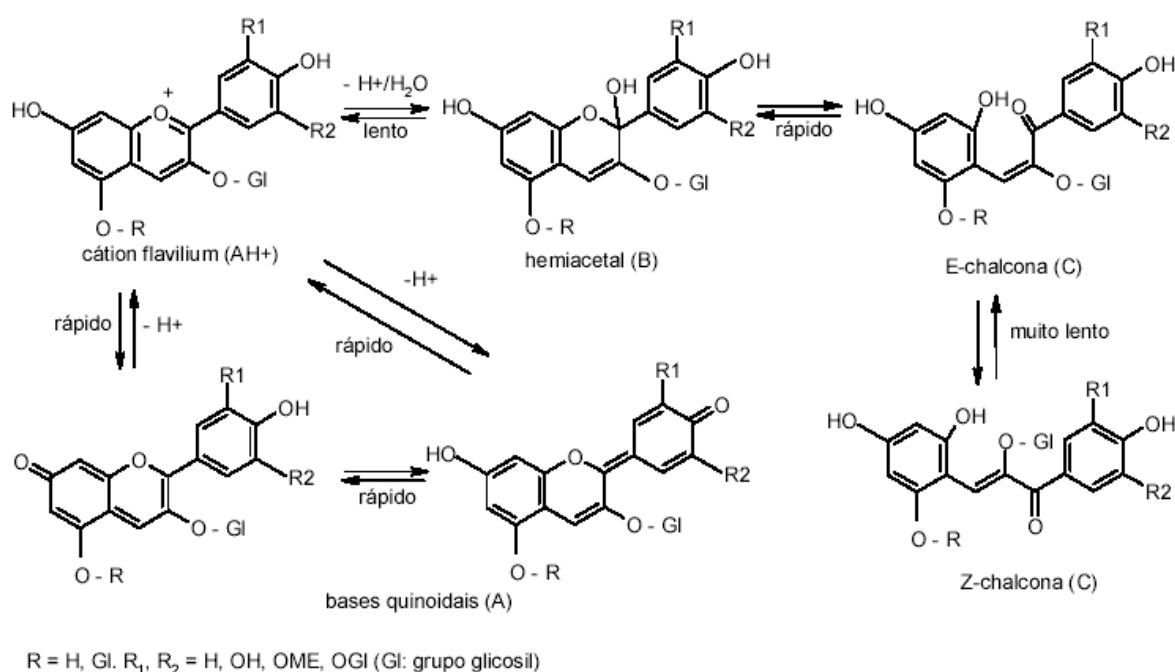


Figura 3. Transformações estruturais das antocianinas em solução aquosa (Fonte: HOUBIERS *et al.*, 1998).

1.2.1 Antocianinas em mirtilo

A pesquisa em antocianinas de mirtilo não é recente. Devido à alta instabilidade dos compostos antociânicos, uma grande parcela da comunidade científica mundial se ocupa de pesquisar os teores de antocianinas em mirtilos e em produtos industrializados que contêm a fruta em sua formulação.

A maior ênfase destas pesquisas está na busca da identificação e quantificação de antocianinas totais, bem como sua atividade antioxidante em frutas de diferentes cultivares (HÄKKINEN, TÖRRÖNEN, 2000; KALT et al., 2001; KRUPA,

TOMALA, 2007; MATTILA, P.; HELLSTRÖM, J.; TÖRRÖNEN, 2006; NICOUÉ, SAVARD, BELKACEMI, 2007; PRIOR et al., 1998; RODRIGUES et al., 2007; SAPERS et al., 1994; SEERAM, 2008; STOJANOVIC, SILVA, 2007); frutas de diferentes origens e/ou locais de cultivo (HÄKKINEN, TÖRRÖNEN, 2000; NETZEL et al., 2006, 2007; SELLAPPAN, AKOH, KREWER, 2002); frutas em diferentes estágios de maturação (BALLINGER, KUSHMAN, 1970; CASTREJÓN et al., 2008; MAKUS, BALLINGER, 1973) ou ainda a comparação do mirtilo com outras frutas de consumo significativo na região da pesquisa ou conhecidas por também conterem altos teores de antocianinas, fenóis totais ou elevado potencial antioxidante (HARNLY et al., 2006; MÄÄTA-RIIHINEN, KAMAL-ELDIN, TÖRRÖNEN, 2004; MOYER, HUMMER, FINN, 2002; NETZEL et al., 2006, 2007; NYMAN, KUMPULAINEN, 2001; SEERAM, 2008; ZADERNOWSKI, NACKZ, NESTEREWICZ, 2005).

Outros tantos pesquisadores buscam avaliar a degradação, ou as perdas, de antocianinas em mirtilos *in natura* durante os tratamentos pós-colheita, testando, por exemplo, diferentes tipos de embalagens e indicando que estas interferem mais nos parâmetros físico-químicos e sensoriais do que na estabilidade das antocianinas (ALMENAR et al., 2008); estudos também abordam o uso de atmosferas modificadas comparadas com o uso de oxigênio na embalagem de mirtilos *in natura* e seu efeito sobre antocianinas e fenóis totais nas frutas (MACHADO et al., 2004; RISTOW et al., 2004, SEVERO, et al.2009); as temperaturas de estocagem são pesquisadas por interferirem no metabolismo das frutas e também na estabilidade dos compostos bioativos, sendo que as temperaturas de refrigeração são as mais indicadas para preservar maior teor de fitoquímicos em mirtilos (KLUGE, HOFFMAN, BILHALVA, 1994; RISTOW et al., 2004), outros estudos abordam a degradação de antocianinas e compostos fenólicos totais durante diferentes períodos de estocagem. Ressalta-se que, de modo geral, os estudos apontam que as taxas de degradação são proporcionais ao tempo de armazenamento (KALT et al., 1999). Durante os tratamentos pós-colheita estudam-se também os efeitos da incidência de luz ultravioleta (UV) sobre as frutas nos teores de antocianinas totais e sua atividade antioxidante; a luz UV é aplicada nas frutas com o objetivo de inativar os microorganismos presentes na superfície do mirtilo evitando principalmente a proliferação de fungos, no entanto apresenta-se altamente prejudicial para a

estabilidade das antocianinas (PEARKIN-VEAZIE, COLLIN, HOWARD, 2007; ROMERO et al., 2008).

Contudo, de posse dos conhecimentos sobre a degradação das antocianinas anteriormente mencionados, sabe-se que não basta apenas qualificar e/ou quantificar as mesmas em alimentos submetidos a algum processo de industrialização, por isso, muitos pesquisadores estudam a degradação destes compostos durante o processamento e estocagem de alimentos que tenham mirtilo em sua formulação como ingrediente ou matéria-prima.

Como exemplo, podemos citar a pesquisa de Kalt, McDonald e Donner (2000) que avaliaram a influência do pH e temperatura de extração sobre o conteúdo de antocianinas em purê e suco de mirtilo, verificando que ambos parâmetros interferem na estabilidade das mesmas; diversos produtos também foram pesquisados, entre eles pode-se citar os sucos processados de formas diversas (CARLSON, 2003; RIZZOLO, et al. 2003; ROSSI, et al. 2003; SRIVASTAVA, et al. 2007), geleias de frutas (TAKUYA, et al., 2003), cereais matinais adicionados de mirtilo em diferentes proporções (CHAOVANALIKIT et al., 2003; CAMIRE, DOUGHERTY, BRIGGS, 2007), vinho, vinagre e produtos derivados da fermentação (SU, SILVA, 2006; SU, CHIEN, 2007) e até mesmo em embutidos de carne suína com adição de purê de mirtilo (LEHESKA, et al., 2006).

No Brasil, entre outras pesquisas com a fruta, Moraes, et al. (2007) estudaram o uso do mirtilo no processamento de barras de cereais e néctar, registrando a perda dos compostos fenólicos e atividade antioxidante durante o processamento; Rodrigues, et al. (2007) e Rodrigues (2006) em trabalhos anteriores com *topping* de mirtilo, também registram a perda de antocianinas em função do tempo de armazenamento e da exposição a elevadas temperaturas, bem como a contribuição do ácido ascórbico na degradação das antocianinas e a possível influência dos espessantes, goma xantana e carboximetilcelulose, na retenção das mesmas.

Outro ramo da pesquisa em antocianinas de mirtilo busca aliar as propriedades dos compostos bioativos do mirtilo a outros alimentos mundialmente reconhecidos por conterem propriedades complementares, como a soja, por exemplo (ADLERCREUTZ, MAZUR, 1997; CAMIRE, DOUGHERTY, TEH, 2006; CAMIRE, DOUGHERT, BRIGGS, 2007; POTTER et al., 2007; SETCHELL, CASSIDY, 1999; TEH, DOUGHERTY, CAMIRE, 2005).

Outros pesquisadores, todavia, não se limitam a saber quais antocianinas ou quanto delas está presente na fruta ou no produto, sabendo da labilidade de tais compostos, investigam o impacto do processo sobre as antocianinas para diversos fatores de degradação, como o tempo e temperatura observando que em todos os estudos a cinética de degradação de antocianinas foi de primeira ordem (HARBOURNE, ET AL. 2008; KECHINSKI, et al., 2008); também recebe atenção o estudo da degradação de antocianinas na presença/exposição das enzimas polifenoloxidasas (KADER et al. 1998; PRIEUR, 1994; SARNI-MANCHADO, CHEVNIER, MOUTOUNET, 1997; WESCHE-EBELING; MONTGOMERY, 1990).

Embora sejam muitos e diversificados os estudos sobre antocianinas em mirtilos e seus produtos industrializados, percebe-se que são raras as pesquisas que investigam a relação e/ou interação das antocianinas com os demais ingredientes de um alimento ou composição alimentícia contendo mirtilo, ou mesmo as propriedades destes ingredientes em acelerar o processo de degradação ou preservação das antocianinas durante o processamento ou estocagem destes produtos.

Há mais de uma década Lewis e Walker (1995) estudaram o efeito de alguns polissacarídeos na cor exibida pelas antocianinas, sendo que em suas conclusões afirmaram que o amido e outros carboidratos estudados afetam a cor conferida pelas antocianinas, mas ressaltaram que o efeito é dependente do valor do pH. Entre os açúcares estudados pelos pesquisadores estão o amido, amilose, amilopectina, α e β -ciclodextrina, glicose, maltose e sucrose. Também Mazzarachio, et al. (2004) avaliaram a interação de antocianinas com outras moléculas orgânicas comumente presentes em alimentos industrializados como o ácido láctico, galacturônico, taninos, ácidos fenólicos, furfural, pectina, celulose e lignina. Para a realização do estudo os autores elaboraram soluções contendo as cinco principais antocianinas presentes em frutas e diferentes combinações das moléculas acima citadas; os resultados foram verificados através da medida da absorbância das soluções, efeitos significativos foram detectados, com destaque para a redução na absorção quando da interação das antocianinas com lignina e celulose.

1.3 Xantana

A goma xantana (INS 415)¹ é um heteropolissacarídeo de origem microbiana. Comercialmente produzido em fermentação aeróbica pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv *campestris* (JEANES, 1974). A cadeia principal consiste de unidades de D-glucose unidas entre si por ligações β 1-4. A cadeia lateral trissacarídica contém uma unidade de ácido D-glicurônico entre duas de D-manose. A unidade interna de manose é acetilada e a manose terminal (externa) pode conter resíduos de ácido pirúvico (GARCÍA-OCHOA et al., 2000; JANSSON, KENNE, LINDBERG, 1975; MORRIS, 1976; SLONEKER, JEANES, 1962). Algumas manoses externas podem conter ainda um grupo acetil (STANKOWSKI, MUELLER, ZELLER, 1993).

Apresenta-se na forma de um pó branco ou creme, inodoro, insípido (BORGES, BASTOS, VENDRUSCOLO, 2007; ROLLER, DEA, 1992; KATZBAUER, 1998). Possui uma ampla faixa de viscosidade, com boa solubilidade em água fria, sendo que a solubilidade pode ser aumentada pela elevação da temperatura e adição de sais como NaCl, KCl. É insolúvel em álcool (KENNEDY, BRADSHAW, 1984; WHISTLER, 1993).

Sob o ponto de vista comercial, a xantana é o mais importante biopolímero microbiano, foi o segundo a ser produzido em larga escala e o primeiro a ser amplamente utilizado na indústria de alimentos (MORRIS, 1992; MAUGERI FILHO, 2001). Movimenta no mercado cerca de 270 milhões de dólares e 40000 toneladas/ano, sendo 1500 toneladas/ano apenas no Brasil, com taxa de crescimento acima de 5% ao ano, com estimativas de perfazer em 2015 um mercado de 400 milhões de dólares e 80000 toneladas/ano (PRADELLA, 2006). Entre as maiores empresas produtoras estão a Merck e Pfizer dos Estados Unidos, Rhône Poulenc e Sanofi-Elf na França e Jungbunzlauer na Áustria (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

O fato de ser um polissacarídeo de origem microbiana faz com que a xantana mantenha um diferencial das gomas de origem vegetal, dependentes do extrativismo e sujeitas à sazonalidades. Morris (1995) afirma que uma das maiores vantagens dos biopolímeros microbianos são suas propriedades físico-químicas reprodutíveis, além das fontes estáveis. A produção de polímeros por microrganismos permite um

¹ I.N.S.= International Number System. Sistema de nomenclatura que unifica os códigos de aditivos no mundo.

efetivo controle dos parâmetros de produção, tais como: tempo, temperatura, pH, teor de oxigênio, entre outros. Este controle favorece a obtenção de polímeros com características muito semelhantes toda vez que ocorre uma fermentação, ao contrário dos polímeros obtidos de outras fontes, como vegetais, por exemplo, que estão sujeitos à variações climáticas, modificações na composição do solo, e ainda estão sujeitas à oscilações na oferta ao longo do ano de acordo com a safra de cada planta.

Segundo Sanderson (1981), a conformação das cadeias da goma xantana quando dispersa em solução é responsável pela alta viscosidade em repouso e baixa viscosidade em cisalhamento, como conseqüências das interações moleculares fracas em baixas concentrações da goma; esta conformação é responsável pela alta pseudoplasticidade da goma.

A xantana é amplamente utilizada na indústria de alimentos devido suas propriedades de emulsificação, suspensão, estabilização, floculação e formação de soluções pseudoplásticas, mesmo em baixas concentrações. É ainda empregada na indústria farmacêutica, em pesticidas agrícolas, na fabricação de tintas e indústria têxtil (DE VUYST, VERMEIRE, 1994; KATZBAUER, 1998; SUTHERLAND, 1993).

Entre as principais aplicações de xantana na indústria de alimentos estão a capacidade de controlar viscosidade, textura, reter aromas, suspender sólidos e estabilizar emulsões. No setor alimentício ela encontra aplicações em molhos prontos, alimentos congelados, suco de frutas e coquetéis, sobremesas instantâneas, produtos cárneos, entre outros (MAUGERI FILHO, 2001). Sun, Gunasekaran e Richards (2007, 2009) afirmam que quando utilizada na estabilização de emulsões do tipo óleo em água, a goma xantana evita a oxidação de lipídeos no sistema, além de incrementar significativamente o volume final da emulsão.

A Legislação Brasileira permite a aplicação de xantana em alimentos como espessante, estabilizante e emulsificante, em proporções que variam de 0,2% a 1,0% no produto a ser consumido para a elaboração de coberturas alimentícias (BRASIL, 1997).

1.4 Carboximetilcelulose

Carboximetilcelulose (CMC) é um polímero aniônico, apresenta boa solubilidade em água e a viscosidade de suas soluções pode ser variada, dependendo do grau de substituição da molécula (PHILLIPS, WILLIAMS, 2002).

O polímero também é conhecido como goma de celulose ou CMC. Carboximetilcelulose (INS 466) é um hidrocolóide obtido por modificação química da celulose. A celulose é o composto orgânico encontrado em todas as plantas e no material estrutural da parede celular; é completamente insolúvel em água e não é digerida pelo corpo humano (HEYDARZADEH, NAJAFPOUR, NAZARI-MOGHADDAM, 2009)

A CMC é um éter de celulose obtido pela reação da celulose com hidróxido de sódio, originando a álcali-celulose. Da reação da álcali-celulose com monocloroacetato de sódio obtém-se a carboximetilcelulose sódica. A celulose é constituída de uma longa cadeia de unidades anidroglicose, sendo que cada unidade contém três grupos de hidroxilas terminais. Através da substituição do hidrogênio dessas hidroxilas por grupos carboximetil, obtém-se o carboximetilcelulose sódico (CMC) (THEBAUDIN, PHILLIPS, WILLIAMS, 2002).

A principal função da CMC é ligar água ou aumentar a viscosidade na fase aquosa e assim estabilizar os outros ingredientes evitando a sinerese. Esta goma é utilizada geralmente para espessar, suspender, estabilizar, geleificar e modificar as características de fluxo de soluções aquosas ou suspensões, também tem sido utilizada como agente de corpo em alimentos de baixas calorias e para substituição de gordura. Exerce as propriedades secundárias de possibilitar maior incorporação de ar em produtos aerados, evitar formação de cristais em produtos congelados, aumentar a estabilidade ao choque térmico (BRAUN, ROSEN, 2003; WONG, 1995; XUE, NGADI, 2009).

As propriedades da CMC dependem do grau de substituição e de polimerização (BATFORD, ROSSMAN, 1973). Em solução aquosa mostram comportamento pseudoplástico (SHARMA, 1981), são inodoras e incolores, a viscosidade, no entanto, depende do pH (PHILLIPS, WILLIAMS, 2002).

A CMC pode ser encontrada sob várias formas de apresentação, dependendo do tamanho da partícula, grau de substituição, viscosidade e características de hidratação, caracteriza-se por apresentar boa estabilidade em pH ácido (CALEGUER, BENASSI, 2007; THEBAUDIN, 1997).

A carboximetilcelulose sódica de grau purificado apresenta-se como um pó, com coloração variando entre branco e creme, higroscópico, isento de aglomerações, inodoro, insípido, possuindo uma ampla faixa de viscosidade, com ótima solubilidade em água fria ou quente. Nas concentrações nas quais é utilizado não interfere nas propriedades organolépticas do produto a ser adicionado; é fisiologicamente inerte, não é tóxico e não é agente sensibilizante. Devido a isso possui muitas aplicações em indústrias alimentícias e farmacêuticas (HILL, MITCHELL, SHERMAN, 1995).

A CMC é solúvel ou dispersível em sistemas aquosos à temperatura ambiente. Esta solubilidade pode ser aumentada pela elevação da temperatura ou aumentando o grau de substituição. A distribuição granulométrica também é um fator que influencia de forma significativa na solubilidade. A CMC é solúvel não apenas em água, mas também em diversos solventes orgânicos.

Uma das aplicações mais comuns da CMC é na forma de espessante, estabilizante e agente de corpo na composição de preparados sólidos para refresco (CALEGUER, BENASSI, 2007).

Assim como a goma xantana, a CMC é um importante agente de retenção de água em pães, evitando o ressecamento e aumentando a vida de prateleira dos mesmos, também atuam nas propriedades físicas e térmicas da massa durante a mistura, fermentação e forneamento (XUE, NGADI, 2009).

Carboximetilcelulose apresenta alta capacidade de formação de filmes, géis e hidrogéis, por esta razão é utilizada na construção de biofilmes isoladamente ou em conjunto com outras gomas (OLIVEIRA, et al., 2006). Os filmes de CMC têm ampla aplicação na área farmacêutica em processos de encapsulação e liberação de princípios ativos, na indústria alimentícia como filmes comestíveis protetores, na indústria de cosméticos, na área agrícola como agente de liberação de agrotóxicos e nutrientes, entre outras aplicações (NIE, et al. 2004).

Zhang, et al.(1997) avaliaram o uso de CMC com o objetivo de prevenir a perda de antocianinas em mirtilos IQF (Individual Quick Frozen) adicionados inteiros em tortas. Segundo eles, a CMC age de forma a evitar a perda de fluídos e solutos da fruta para a massa, considerando-se que um dos principais solutos contidos no fluído em questão são as antocianinas, concluíram que a CMC exerce significativo efeito na redução da perda de antocianinas durante a etapa de mistura da massa, melhorando a coloração e evitando manchas e descoloração nas tortas.

A Legislação Brasileira permite a aplicação de carboximetilcelulose em alimentos em proporções máximas de 0,5% no produto a ser consumido (BRASIL, 1997).

1.5 Ácido Cítrico

O ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) é um ácido orgânico fraco, tricarboxílico presente na maioria das frutas, sobretudo em cítricas como o limão e a laranja. Sua nomenclatura oficial é ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico. Quando aquecido acima de $175^\circ C$, se decompõe produzindo dióxido de carbono e água (BURDOCK, 1996).

Caracteriza-se por ser um acidulante versátil, muito utilizado pelas indústrias de alimentos, sendo suas principais características a alta solubilidade, ação sequestrante de íons metálicos que previne reações indesejáveis de oxidação de cor e aromas, segurança de manipulação, inocuidade do ponto de vista de saúde e baixa corrosividade das instalações industriais (FERREIRA, 2000). Desta forma sua utilização constitui-se uma alternativa simples e segura.

Possui alta solubilidade em água e atua como quelante de metais como cobre e ferro. Atua sinergisticamente com antioxidantes fenólicos. Utilizado em óleos, gordura e emulsões oleosas, em frutas, legumes e bebidas (FENNEMA, 1996).

A acidez do ácido cítrico é devida aos três grupos carboxila que podem perder um próton em soluções. Como consequência forma-se um íon citrato. Os citratos são bons controladores de pH de soluções ácidas, além de formadores de sais, a partir de seus íons, que são importantes na preservação e condimentação dos alimentos.

Na temperatura ambiente, o ácido cítrico é um pó cristalino branco. Pode existir na forma anidra, ou como monohidrato que contém uma molécula de água para cada molécula de ácido cítrico. A forma anidra se cristaliza em água quente, enquanto a forma monohidratada do ácido cítrico se cristaliza em água fria. O monohidrato pode ser convertido na forma anidra aquecendo-se acima de $74^\circ C$ (BURDOCK, 1996).

O ácido cítrico é utilizado na indústria de frutas e hortaliças, sucos, bebidas, carnes, panificação, entre outros. Moda et al. (2005) avaliaram o uso de ácido cítrico como conservante em cogumelos; Berbari, Silveira e Oliveira (2003) utilizaram ácido cítrico como acidulante em pasta de alho; Lago, Gomes e Silva (2006) o aplicaram no desenvolvimento de geléia de jambolão e Maldonado e Singh(2008) testaram o efeito do ácido combinado com geleificantes verificando o poder de geleificação em doce de yacon.

REFERÊNCIAS

- ADLERCREUTZ, H.; MAZUR, W. Phyto-estrogens and Estern diseases. **Annals of Medicine**. n.29.95-120. 1997.
- ALMENAR, E., SAMSUDIN, H., AURAS, R., HARTE, B., RUBINO, M. Postharvest shelf life extension of blueberries using a biodegradable package. **Food Chemistry**, n.110, v.1, p.120-127. 2008.
- ANDRIAMBELOSOM, E.; KLESCHYOV, A.; MULLER, B.; BERETZ, A.; STOCLET, J.; ANDRIANTSITOHAINA, R. nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. **Journal of Pharmacology**, v.120,p.1053-1058, 1997.
- ANDRIAMBELOSOM, E.; MAGNIER, C.; HAAN-ARCHIPOFF, G.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R.; BERETZ, A.; BERETZ, A.; STOCLET, J. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. **Journal of Nutrition**, v.128, p. 2324-2333, 1998.
- BALLINGER, W.E., KUSHMAN, L.J. Relationship of Stage of Ripeness to Composition and Keeping Quality of Highbush Blueberries. **Journal American Society Horticultural Science**. v.95, p.239-242. 1970.
- BATFORD, J.; ROSSMANN, J.M. Sodium carboxymethylcellulose. In: **Industrial Gums**. Ed. Whistler, R.L. Associed Press, New York. p.695. 1973.
- BERBARI, S.A.G.; SILVEIRA, N.F.A.; OLIVEIRA, L.A.T. Avaliação do comportamento de pasta de alho durante o armazenamento (*Allium sativum* L.). **Ciência Tecnologia Alimentos**, v.23, n.3, p.468-472. 2003.
- BERRY, C.; TARDIF, J.; BOURASSA, M.G. Coronary Heart Disease in Patients With Diabetes: Part I: Recent Advances in Prevention and Noninvasive Management. **Journal of the American College of Cardiology**, v.49, n.6, p.631-642, 2007.
- BORGES, C.D.; BASTOS, C.P.; VENDRUSCOLO, C.T. Avaliação das características físicas e químicas de gomas xantanas. **Semina: Ciências exatas e tecnológicas**. v.28, n.2, p.107-114. 2007.
- BRASIL. **Portaria** nº 540 - SVS/MS, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego.
- BRAUN, D.B.; ROSEN, M.R. **Rheology Modifiers Handbook**. Practical Use and Aplication. New York William Andrew Publishing. 505p. 2003.
- BROUILLARD, R, in p.Markakis (Ed), **Anthocyanins as Food Colors**, Academic Press, New York.1982.
- BURDOCK, G.A. **Enciclopédia of Food and Color Aditivies**. 1059p. CRC Press. 1996.

CALEGUER, V.F.; BENASSI, M.T. Efeito da adição de polpa, carboximetilcelulose e goma arábica nas características sensoriais e aceitação de preparados em pó para refresco sabor laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, n.2, p.270-277. 2007.

CAMIRE, M.E.; DOUGHERTY, M.P.; BRIGGS, J.L. Functionality of fruit powders in extruded corn breakfast cereals. **Food Chemistry**. v.101, p. 765-770. 2007.

CAMIRE, M.E.; DOUGHERTY, M.P.; TEH, Y. Frozen wild blueberry-tofu-soymilk desserts. **Journal of Food Science**. v.71, n.2, p.119-123. 2006.

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

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

CEPEDA, E., HERMOSA, M., LLORENZ, F., VOLLARÁN, M.C. Rheological behaviour of blueberry cloudy juice (*Vaccinium corimbosum* L.). **International Journal of Food Science and Technology**. n. 37. p. 271-276. 2002.

CHAOVANALIKIT, A.; DOUGHERTY, M.P.; CAMIRE, M.E.; BRIGGS, J. Ascorbic acid fortification reduces anthocyanins in extruded blueberry-corn cereals. **Journal of Food Science**. v.68, n.6, p.2136-2140. 2003.

CIGNARELLA, A.; NASTASI, M.; CAVALLI, E.; PUGLISI, L. Novel lipid-lowering properties of *Vaccinium myrtillus* L. leaves, a traditional antidiabetic treatment, in several models of rat dyslipidaemia: a comparison with ciprofibrate. **Thrombosis Research**. v.84, n.5, p.311-322, 1996.

DE VUYST, L., VERMEIRE, A. Use of industrial medium components for xanthan production by *Xanthomonas campestris*. **Applied Microbiology Biotechnology**. v.42, p.187-191, 1994.

DREISEITEL, P.; SCHREIER, A.; OEHME, A.; LOCHER, S.; ROGLER, G.; PIBERGER, H.; HAJAK, G.; SAND, P. G. Inhibition of proteasome activity by anthocyanins and anthocyanidins. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.372, n.1, p.57-61, 2008.

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

ECK, P., CHILDERS, N.F. **Blueberry culture**. New Brunswick: Rutgers University Press, p.378. 1966.

FALCÃO, L.D. Estabilidade de antocianinas extraídas de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinífera* L.) em solução tampão, bebida isotônica e iogurte. Florianópolis. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina. 113p. 2003.

FENNEMA O.R. **Food Chemistry**, 3 ed, New york , NY: Mevel Dekker, p. 389. 1996.

FERREIRA, V.L.P.; ALMEIDA, T.A.C.; PETTINELLI, M.L.C.V.; SILAVA, M.A.A.P.; CHAVES, J.B.P.; BARBOSA, E.M.M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas, SP. SBCTA, 2000. 127p.

FURTADO, P., FIGUEIREDO, P., NEVES, H. C., & PINA, F. (1993). Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. **Journal Photochemistry Photobiology A: Chemistry**, v.75, p.113-118. 1993.

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

GARCIA-VIGUERA, C. ZAFRILLA, P. and Tomas-barberan. The use of Acetone as an Extraction Solvent for Anthocyanins from Strawberry Fruit. **Phytochemistry Analitica**. v. 9, p.274-277. 1998.

GARCIA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; ROMERO, R.; ABELLAN, P. Artes, F. and Tomas-Barberan, F.A. Color Stability of Strawberry Jam as Affected by Cultivar and Storage Temperature.” **Journal of Food Science**. v. 64, n. 2, 1999.

GOTO, T. “Structure, stability and color variation of natural anthocyanins”, **Progress Chem Org. Nat. Prod**. v. 52, p.113-158.1987.

HAGER, T.T.; HOWARD, L.R.; PRIOR, R.L. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.3, p. 689-695. 2008.

HÄKKINEN, S. H.; KÄRENLAMPI, S. O.; MYKKÄNEN, H. M.; TÖRRÖNEN, A. R. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. **Journal of Food Agricultural**. v. 48, p. 2960-2965, 2000.

HÄKKINEN, S. H.; TÖRRÖNEN, A. R. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. **Food Research International**. v.33. p. 517-524. 2000.

HARBOURNE, N.; JACQUIER, J.C.; MORGAN, D.J.; LYING, J.G. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juyce system using isothermal and non-isothermal methods. **Food Chemistry**. v.111, n.1, p.204-208. 2008.

HARNLY, J.M., DOHERTY, R.F.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; BHAGWAT, S. ; GEBHARDT, S. Flavonoid Content of U.S. Fruits, Vegetables, and Nuts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, n.6, p.9966-9977. 2006.

HERTOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study. **Lancet**, v.342, p.1007-1011. 1993

HERTOG, M. G. L.; HOLMANN, P. C. H.; VAN DE PUTTE, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 41, p.1242-1246. 1993.

HEYDARZADEH, H.D.; NAJAFPOUR, G.D.; NAZARI-MOGHADDAM, A.A. Catalyst-Free conversion of alkali cellulose to fine carboxymethyl cellulose at mild conditions. **World Applied Sciences Journal**, v.6, n.4, p. 564-569, 2009.

HILL, M.A.; MITCHELL, J.R.; SHERMAN, P.A. The relationship between the rheological and sensory properties of a lemon pie filling. **Journal of a Texture Studies**, v.26, p.457-470, 1995.

HOFFMANN, A.; ANTUNES, L.E.C. Mirtilo: Grande Potencial. **Cultivar – hortaliças e frutas**. v.5, p. 28-30. 2004

HOUBIERS, C.; LIMA, J. C.; MAÇANITA, A. L.; SANTOS, H. Color stabilization of malvidin-3-glucoside: self-aggregation of flavylum cation e copigmentation with the z-chalcone form. **Journal of Physic Chemistry**., v.102, p.3578-3585, 1998.

HOWELL, A.B., Cranberry proanthocyanidins and the maintainece of urinary tract health. **CRC Critical Review of Food Science Nutrition**, n.42, p.273–278. 2002.

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

JAYLE, G.E.; AUBRY, M.; GAVINI, H.; BRACCINI, G.; DE LA BAULE, C. Study concerning the action of anthocyanide extracts of *Vaccinium Myrtillus* on night vision. **Ann Ocul**, v.168, n.6, p.556-562, 1965.

JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides-new hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, Chicago, v. 28, n. 5, p. 34-40, 1974.

KADER,F.; HALUK,J.P.; NICOLAS,J.P.; METCHE, M. Degradation of cyanidin-3-glucoside by blueberry polyphenol oxidase: kinetic studies and mechanisms. **Journal of Agricultural Food Chemystry**. v.46, p.3060-3065, 1998.

KALT, W. Health functionality of blueberries. **HortTechnology**, v.7, n.3, p.216–221, 1997.

KALT, W.; DUFOUR, D. Health funcionality of blueberries. **HortTechnology**, v.7, n.3, p.216 – 221, 1997.

KALT W.; FORNEY C.F.; MARTIN A.; PRIOR R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.47 p. 4638-4644.1999.

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

KALT, W., RYAN, D. A. J., DUY, J. C.; PRIOR, R.L.; EHLENFELDT, M. K., VANDER KILLET S. P. Interspecific Variation in Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity among Genotypes of Highbush and Lowbush Blueberries (*Vaccinium* Section *cyanococcus* spp.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.49 p. 4761-4767. 2001

KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 59, n.1-3, p. 81-84, sep. 1998.

KECHINSKI, C.P.; GUIMARÃES, P.V.R.; NOREÑA, C.P.Z.; TESSARO, I.C.; MARCZAC, L.D.F. Cinética de degradação da antocianina em suco de mirtilo durante o tratamento térmico. Trabalho apresentado no Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - VII-Oktober Fórum **In: Anais do Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - VII-Oktober Fórum**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008.

KELI, S. O.; HERTOOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.; KROMHOUT, D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins and incidence of stroke: The Zutphen study. **Archives of Internal Medicine**. v.156, p.637-642. 1996.

KENNEDY, J.F.; BRADSHAW, I.J. Production, properties and applications of xantana. **Progress Ind. Microbiology**, v.1, n.19, p.319-371, 1984.

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.

KNEKT, P.; JARVINEN, R.; REUNANEN, A.; MAATEKA, J. Flavonoids intake and coronary mortality in Finland: A cohort study. **Brazilian Medical Journal**, v.312, p.478-481.1996.

KONG, J.M.; CHIA, L.S.; GOH, N.K., CHIA, T.F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**. v.64, n.5, p.923-933. 2003.

KRUPA, T.; TOMALA, K. Antioxidant capacity, anthocyanin content profile in 'bluecrop' blueberry fruit. **Vegetable Crops Research Bulletin**. v.66, p.129-141. 2007.

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

LAPLAUD, P.M.; LELUBRE, A.; CHAPMAN, M.J. Antioxidant action of *Vaccinium myrtillus* extract on human low density lipoproteins in vitro: initial observations. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.11, n.1, p.35-40, 1997.

LEHESKA, J. M.; BOYCE, J.; BROOKS, J.C.; HOOVER, L.C.; THOMPSON, L. D.; MILLER, M. F. Sensory attributes and phenolic content of precooked pork breakfast sausage with fruit purees. **Journal of Food Science**. v.71, n.3, p.249-252. 2006.

LEWIS, C.E.; WALKER, J.R.L. Effect of polysaccharides on the colour of anthocyanins. **Food Chemistry**. v.54, p.315-319. 1995.

LICHTENTHALER, R.; MARX, F. Total antioxidant scavenging capacities of common European fruit and vegetables juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 53, p.103-110, 2005.

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

MÄÄTTÄ-RIIHINEN, K.R.; KAMAL-ELDIN, A.; TÖRRÖNEN, A.R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.6178-6187, 2004.

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

MAGA, J.A; KIM.CH. Co-extrusion of rice flour with dried fruits and fruit juice concentrates. **Lbesm Wiss Technol**. v.22, n.4, p.182-187.1989.

MAKUS, D.J., BALLINGGER, W.E.. Characterization of Anthocyanins During Ripening of Fruit of *Vaccinium corymbosum* L. **Journal of American Society Horticultural Science**, v. 98, p.99- 101.1973.

MALDONADO, S.; SINGH, J.C. Efecto de gelificantes en la formulación de dulce de yacón. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.28, n.2, p.429-434, 2008.

MARTINEAU, L. C. ; COUTURE, A.; SPOOR, D.; BENHADDOU-ANDALOUSSI, A.; HARRIS, C.; MEDDAH, B.; LEDUC, C.; BURT, A.; VUONG, T.; MAI LE, P.; PRENTKI, M.; BENNETT, S.A.; ARNASON, J.T.; HADDAD, P.S. Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. **Phytomedicine**, v.13, n.9-10, p.612-623, 2006.

MATTILA, P.; HELLSTRÖM, J.; TÖRRÖNEN, R. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, n.19, p.7193-7199. 2006.

MAUGERI FILHO, F. **Produção de polissacarídeos**. In: Lima, U. A., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W. *Biotechnologia Industrial*, Ed. Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 1ª ed., v. 3, 2001, 593p.

MAZZA, G., MINIATI, E. Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains. CRC Press Inc. Boca Ratan, FL. p.85-130.1993.

MAZZA, G., OOMAH, B.D. Functional Foods & Nutraceuticals Seris: Herbs, Botanicals & Teas,” **Technomic Publishing Company**, Inc. Lancaster.2000.

MAZZARACCHIO, P.; PIFFERI, P.; KINDT, M.; MUNYANEZA, A.; BARBIROLI, G. Interactions between anthocyanins and organic food molecules in model systems. **International Journal of Food Science and Technology**. v.39, p.53-59. 2004.

MODA, E.M.; SPOTO, M.H.F. ; HORII, J. Uso de peróxido de hidrogênio e ácido cítrico na conservação de cogumelos *Pleurotus sajor-caju* in natura. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p.291-296.2005.

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

MORRIS, E. R. Molecular origin of xanthan solution properties. **American Chemical Society**, Washington, v.172, p.19-19, 1976.

MORRIS, V. J. Science, structure and applications of microbial polysaccharides. In: : PHILLIPS, G.O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. Gums and Stabilisers for the Food Industry. Oxford: Pergamon Press, 1992. p.315.

MORRIS, V. J. Bacterial polysaccharides. In: STEPHEN, A. M. Food polysaccharide and their applications. New York: Basel Marcel Dekker, 1995. p. 341-375.

MOYER, R.A.; HUMMER, K.E.; FINN, C.E. et al. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. v.22, n.2, p.337-354, 2002.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**. v. 1054, n.1, p.95-111.2004

NANDAKUMAR, V.; SINGH, T.; KATIYAR, S. Multi-targeted prevention and therapy of câncer by proanthocyanidins. **Cancer Letters**. In Press, Corrected Proof, Available online 23 May 2008.

NETZEL, M.; NETZEL, G.; TIAN, Q.; SCHAWRTZ, S.; KONCZAK, I. Sources of antioxidant activity in australian native fruits. Identification and quantification of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, p. 9820-9826. 2006.

NETZEL, G.; TIAN, Q.; SCHAWRTZ, S.; KONCZAK, I. Native Australian fruits – a novel source of antioxidants for food. **Inovative Food Science & Emerging Technologies**. v.8, p. 339-346. 2007.

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

NIE, H.; LIU, M; ZHAN, F.; GUO, M. Factors on the preparation of carboxymethylcellulose hydrogel and its degradation behavior in soil. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p 185-189, 2004.

NYMAN, N. A.; KUMPULAINEN, J.T. Determination of Anthocyanidins in Berries and Red Wine by High-Performance Liquid Chromatography **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n.49, p.4183-4187. 2001.

OFEK, I.; GOLDHAR, D.; SHARON, N. Anti-*Escherichia coli* adhesion activity of cranberry and blueberry juices. In: *Toward Anti-Adhesion Therapy for Microbial Diseases*. Kahane & Ofek (eds). Plenum Press, N.Y. p. 179-183. 1996.

OFEK, I.; GOLDHAR, D.; ZAFRIRI D.; LIS, H.; ADAR, R.; SHARON, N. Anti-*Escherichia coli* adhesion activity of cranberry and blueberry juices, **Journal of Medicine**, v. 324, n. 22, p.1599. 1991.

OLIVEIRA, A.F.; SOLDI, V.; SILVEIRA, C.B.; ERNANI, P.R. Desenvolvimento, caracterização e aplicação de biofilmes obtidos a partir de carboximetilcelulose e alginato de sódio na liberação de nutrientes. Trabalho apresentado no 17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. In: **Anais do 17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 2006, p.7858-7869. Foz do Iguaçu, PR, Brasil

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K. HOWARD, L. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. **Postharvest Biology and Technology**. v.47, n.3, p. 280-285. 2007

PHILLIPS, G.O.; WILLIAMS, P.A. **Handbook of hydrocolloids**, New York. CRC Press. 2002.

POTTER, R.M.; DOUGHERTY, M.P.; HALTEMAN, W.A.; CAMIRE, M.E. Characteristics of wild blueberry-soy beverages. **LWT**. v. 40, p.807-814. 2007.

PRADELLA, J.G.C. **Biopolímeros e intermediários químicos**. Centro de Gestão e estudos estratégicos: Ciência, Tecnologia e Inovação. São Paulo. 2006. 119p.

PRIEUR C.; RIGAUD, J; CHEVNIER, V.; MOUTOUNET, M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. **Journal Phytochemistry**, v. 36, n. 3, p.781-784. 1994.

PRIOR, R. L., CAO, G., MARTIM, 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.

REDIES, C. R., RODRIGUES, S. Á., BORGES, C. D., PEREIRA, E. R. B., VENDRUSCOLO, C. T. Influência de diferentes espessantes e acidulantes na viscosidade de topping de mirtilo In: XIV Congresso de Iniciação Científica e VII Encontro de Pós-Graduação, 2006, Pelotas. In: **Anais do XIV CIC e VII ENPOS**, 2006.

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

RISTOW, N.C.; MACHADO, N.P.; COUTINHO, E.F.; CANTILLANO, F.R.F.; MALGARIN, M.B. Comportamento pós-colheita de mirtilo Brite Blue durante armazenamento refrigerado. **II Simpósio Nacional do Morango e I Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul**. In: Anais do... p.294-198. 2004^a

RIZZOLO, A.; NANI, R.C.; VISCARDI, D.; BERTOLO, G.; TORREGGIANI, D. Modification of glass transition temperature through carbohydrates addition and anthocyanin and soluble phenol stability of frozen blueberry juices. **Journal of Food Engineering**. v.56, p. 229-231. 2003.

RODRIGUES, S. A. **Influência de espessantes e estabilizantes nas propriedades físicas, químicas e sensoriais de topping de mirtilo**. 2006. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

RODRIGUES, S. A.; GULARTE, M.A.; PEREIRA, E.R.B.; BORGES, C.D.; VENDRUSCOLO, C.T. Influência da cultivar nas características físicas, químicas e sensoriais de *topping* de mirtilo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v.1, n.1, p.09-27, 2007.

ROLLER, S., DEA, I. C. M. Biotechnology in the production and modification of biopolymers for foods. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 2161-277. 1992.

ROMERO, I.; SANCHEZ-BALLESTA, M. T.; ESCRIBANO, M. I.; MERODIO, C. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 1-9. 2008.

ROSSI, M.; GIUSSANI, E.; MORELLI, R.; LO SACALZO, R.; 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.

SAFTNER, R., POLASHOCK, J.; EHLENFELDT, M.; VINYARD, B. Instrumental and sensory quality characteristics of blueberry fruit from twelve cultivars, **Postharvest Biology Technology**, v.49, p.19-26. 2008.

SANDERSON, G.R. Polysaccharides in foods. **Food Technology**. v.35, n.5, p. 50-57. 1981.

SANDFORD, P. A.; PITTSLEY, J. E.; KNUTSON, C. A.; WATSON, P. R.; CADMUS, M. C.; JEANES, A. Variation in *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459: characterization of xanthan products of differing pyruvic acid content. In: SANDFORD, P.A.; LASKIN, A. *Extracellular Microbial Polysaccharides*. Washington: American Chemical Society, 1977. p. 192–210.

SAPERS.G.M.; BURHER, A.M.; PHILLIPS, J.G.; JONES, S. B.; STONE E. G. Color and composition of highbush blueberry cultivares. **Journal of American Society Horticultural Science** n.109, p. 105-111. 1984.

SARNI-MANCHADO, P. CHEVNIER, V., MOUTOUNET, M. "Reactions of Polyphenoloxidase Generated Caftaric Acid o-Quinone with Malvidin 3-o-Glucoside," **Journal of Phytochemistry**, v. 45, n. 7, p.1635-1369.1997.

SATUE-GARCIA, M.T.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E.N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 3362-3367, 1997.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130 n.8, p.2073-2085.2000.

SEERAM, N.P. Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n. 3, p. 627-629. 2008.

SEERAM, N.P.; AVIRAM,M.; ZHANG,Y.; HENNING,S.M.; FENG, L.; DREHER, M.; HEBER, D. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.4, p.1415-1422. 2008.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n.50, p. 2432-2438.2002.

SETCHELL, K.D.R.; CASSIDY, A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **Journal of Nutrition**, v.129, p.758-767. 1999.

SEVERO, J.; GALARÇA, S.P.; AIRES, R.F.CANTILLANO, R.F.F.; ROMBALDI, C.V.; SILVA, J.A. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal of Food Technology**. II SSA, p. 65-70, 2009.

SHARMA, S.C. Gums and hydrocolloids in oil-water emulsions. **Food Technology**. v.35, n.1, p. 59-67. 1981.

SILVA, P.R. Mercado e comercialização de amora, mirtilo e framboesa. **Análise e Indicadores do Agronegócio**. v.2, n.12, p. 1-6, 2007.

SKREDE, G., WROLSTED, R. E., & DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Journal of Food Science**, v.65, p.357–364. 2000

SLONEKER, J.H.; JEANES, A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL – 1459. **Can. Journal of Chemistry**. 1962.

SRIVASTAVA, A. AKOH, C.C.; YI, W.; FISCHER, J.; KREWER, G. Effect of Storage Conditions on the Biological Activity of Phenolic Compounds of Blueberry Extract Packed in Glass Bottles. **Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, n.7, p. 2705-2713. 2007.

STANKOWSKI, J.; MUELLER B.; ZELLER, S. Location of a second O-acetyl group in xanthan gum by the reductive-cleavage method. **Carbohydrate Research**, n. 241, p. 321-326, 1993.

STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. Vegetables, fruit and cancer 1. Epidemiology. **Cancer Cause Control**, v.2, n.5, p.325-357, 1991.

STOJANOVIC, J.; SILVA, J.L. Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**. v. 101. p.898-906. 2007.

STONER, G.D.; WANG, L.; ZIKRI, N.; CHEN, T.; HECHT, S.S.; HUANG, C.; SARDO, C.; LECHNER, J.F. Cancer prevention with freeze-died berries and berry components. **Seminars in Cancer Biology**, v.17, n. 5, p.403-410, 2007.

SU, M.S.; SILVA, J. L. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. **Food Chemistry**. v.97, n.3, 2006

SU, M.S.; CHIEN, P.J. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. **Food Chemistry**. v.104, p.182-187, 2007

SUN, C.; GUNASEKARAN, S.; RICHARDS, M.P. Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**. v.21, p.555–564. 2007.

SUN, C.; GUNASEKARAN, S.; RICHARDS, M.P. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. **Food Hydrocolloids**. v.23, p.165-174. 2009.

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

TAKUYA, B. MEGUMI, I.; KIMIKO, °; MASAATSU, Y.; HISAFUMI, U. HPLC analysis of anthocyanins in fresh blueberry fruit and jams. **Food Preservation Science**. v.29, n.3, p. 153-157. 2003.

TANCHEV, S.; LONCHEVA, N. Products of Thermal Degradation of the anthocyanins Cyanidin-3-glucoside, Cyanidin-3-rutinoside, and Cyanidin-3- sophoroside. **Die Nahrung**, v. 20, n. 10, p.889-893.1974.

TEH,Y.H.; DOUGHERTY,M.P., CAMIRE, M.E. Frozen blueberry-soy dessert quality. **Journal of Food Science**. v.70, n.2, p.119-122. 2005.

THEBAUDIN, J.Y. Dietary fibres: Nutritional and technological interest. **Trends in Food Science and Technology**. v.8, n.2, p.41-47. 1997.

VENDRUSCOLO, C. T., RODRIGUES, S. Á., PEREIRA, E. R. B., REDIES, C. R., VENDRUSCOLO, J. L. Characterization of blueberry topping using xanthan gum at thickening agent In: IFT - Annual Meeting + Food Expo, 2006, Orlando.

WALTON, N.J.; BROWN, D.E. **Chemicals from plants-Perspectives on plant secondary products**. London, 1999. 425p.

WESCHE EBELING, P.; MONTGOMERY, M.W. Strawberry polyphenoloxidase: its role in anthocyanin degradation. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 3, p.731-734, 745, 1990.

WHISTLER; J.N.; BEMILLER, R.L. 1993. Xanthan, gellan, wellan, e rhamosan. In: KANG, K.S.; PETTIT, D.J., **Industrial gums – Polysaccharides and their derivatives**. New York, Academic Press, p. 342-371.

WONG, D.W.S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 1995.

XUE, J.; NGADI, M. Effects of methylcellulose, xanthan gum and carboxymethylcellulose on thermal properties of batter systems formulated with different flour combinations. **Food Hydrocolloids**. v.23, p.286-295. 2009.

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

ZHANG, H.L.; BUSHWAY, A.; WORK, T.; CAMIRE, M.E.; WORK, R. Prevention of anthocyanin leakage of individually quick frozen (IQF) lowbush blueberries in blueberry muffins. **Acta Horticulture**, v. 446, p.211-217, 1997.

Artigo 1

ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS EM *TOPPING* DE MIRTILO *IN VITRO*

Sabrina Ávila Rodrigues¹; Ricardo Peraça Toralles², Claire Tondo Vendruscolo³

¹Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – DCTA – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Faem – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal de Pelotas - UFPel – sabrinaga2003@yahoo.com.br

² Departamento de Química, Instituto Federal Sul Riograndense - IFSUL, Pelotas-RS; torashow@cefetrs.tche.br.

³Departamento de Ciência dos Alimentos – DCA – Faculdade de Ciências Domésticas FCD – Universidade Federal de Pelotas – UFPel claire@ufpel.edu.br

Resumo

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito combinado de carboximetilcelulose (CMC), goma xantana e ácido cítrico sobre a estabilidade das antocianinas em *topping* de mirtilo *in vitro*. Para tal finalidade, implantaram-se dois experimentos consecutivos. Primeiramente, a partir de um grupo de três cultivares de mirtilo: Bluegem, Bluebelle e Powderblue, definiu-se aquela com maior teor de antocianinas, fenóis totais e potencial antioxidante. Em seguida foi verificado o efeito de CMC, goma xantana e ácido cítrico sobre as antocianinas em sistema modelo de *topping* de mirtilo em quatro períodos de armazenamento, com a cultivar definida no experimento anterior e usando Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). Todas as amostras apresentaram redução no teor de antocianinas totais ao longo do período de armazenamento. Na amostra 13 (0,1% CMC - 0,1% xantana - 0,16% ácido cítrico) observou-se o maior teor de antocianinas totais para todos os tempos de armazenamento, com perda por ação do calor de 1,91% , perda por armazenamento de 17,53% e perda final acumulada de 19,44%. A maior redução registrada foi de 48,1% para a amostra 8 (0,4%CMC - 0,4%xantana - 0,04%ácido cítrico) após 60 dias de armazenamento.

Palavras-chave: *topping de mirtilo*, sistema modelo, otimização, Metodologia de Superfície de Resposta.

Abstract

This study aimed to evaluate the combined effects of carboxymethylcellulose (CMC), xanthan gum, and citric acid on stability of anthocyanins of blueberry topping in vitro. For this purpose, were established two consecutive experiments. First, from a group of three blueberry cultivars: Bluegem, Bluebelle, and Powderblue, it was decided that with higher content of anthocyanins, total phenolics and antioxidant potential. First, from a group of three blueberry cultivars: Bluegem, Bluebelle, and Powderblue, it was selected the sample with higher content of total anthocyanins, total phenolics and antioxidant potential. In a second time was verified the effect of CMC, xanthan gum and citric acid on the levels of total anthocyanin in model system of blueberry topping, into four periods of storage, with the cultivar defined in the previous experiment, and using Response Surface Methodology (RSM). All samples showed reduction in total anthocyanins during the storage period. The sample 13 (0.1% CMC - 0.1% xanthan - 0.16% citric acid) had the highest content of total anthocyanins (30.86 ± 0.18 to 25.41 ± 0.06) in all storage times, with the loss by action of heat of 1.91%, 17.53% of loss during storage, and 19.44% of accumulated loss. The largest reduction recorded was 48.1% for sample 8 (CMC 0.4% - 0.4% xanthan - 0.04% citric acid) at 60 days of storage.

Key words: anthocyanins, blueberry topping, optimization, response surface methodology.

1. INTRODUÇÃO

Introduzido no Brasil em 1983, pela Embrapa Clima Temperado de Pelotas RS, o mirtilo (*Vaccinium myrtillus*), que até pouco tempo era desconhecido do produtor e do consumidor, vem se tornando cada vez mais popular (RASEIRA, 2006). No Brasil o Rio Grande do Sul é o estado que mais se destaca na produção de mirtilo, com 45 produtores rurais e produção de 150 toneladas/safra (FACHINELLO, 2008). A produção mundial de mirtilo, segundo a FAO, aumentou cerca de sete vezes nos últimos 40 anos. Em 2002 foram produzidas dois milhões de toneladas, o dobro do volume produzido em 1992.

Conhecida como a "fruta da longevidade", é uma das frutas com maior teor de antocianinas. Seu sabor único, cor inconfundível, elevada capacidade antioxidante e ação na prevenção de doenças degenerativas (DUFFY, et al. 2007; DUNLAP et al. 2006; SANTOS, 2004; HERTOGE, HOLLMAN, VAN DER PUTTE, 1997) além da alta rentabilidade ao produtor fazem com que o mirtilo esteja entre as frutas que mais crescem em consumo (RODRIGUES, 2006).

As antocianinas, no entanto, são altamente instáveis frente a diversos fatores, tais como pH, temperatura, atividade enzimática, presença de oxigênio e luz. Durante o processo de industrialização e também no armazenamento de alimentos ricos em antocianinas os níveis destes compostos são gradualmente reduzidos (TOURJEE et al., 1998; ASAMI et al., 2003; LIMA et al., 2002; HONG, BARRET, MITCHELL, 2004).

Topping é um tipo de cobertura alimentícia que se caracteriza pela presença de frutas inteiras ou em pedaços padronizados, imersas em uma fase líquida viscosa. Sua estrutura é fundamentada na ação de espessantes e acidulantes. Os espessantes conferem viscosidade à fase líquida tem a função de manter a distribuição uniforme das frutas na embalagem, controlar o espalhamento da cobertura e reduzir a absorção da mesma pelo alimento com o qual será consumido em conjunto; os acidulantes reduzem o pH, contribuindo para a conservação e permitindo a aplicação de temperaturas mais brandas no tratamento térmico, também intensificam o sabor e estabilizam a cor (RODRIGUES et al., 2007). O estudo *in vitro* permite maior interação entre os constituintes da fórmula e mais uniformidade na transferência de calor, uma vez que contém as frutas desintegradas.

Neste trabalho a hipótese testada é que a degradação das antocianinas presentes em mirtilo durante a elaboração e armazenamento de produtos processados (*topping*, geléias, sorvetes) é influenciada pela adição de CMC, goma xantana e ácido cítrico. Objetivou-se avaliar o efeito de carboximetilcelulose (CMC), goma xantana e ácido cítrico sobre a estabilidade das antocianinas em *topping* de mirtilo *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram implantados dois experimentos consecutivos. No primeiro foram testadas de três cultivares de mirtilo do grupo rabbiteye: Bluegem, Bluebelle e Powderblue; para as quais foi avaliado o teor de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante em solução *in vitro* equivalente ao *topping* sem tratamento térmico, a solução foi preparada adicionando-se solução de sacarose 50°Brix às frutas na proporção de 1:0,85; neste grupo de cultivares selecionou-se a que apresentou maior teor de antocianinas totais, compostos fenólicos e potencial

antioxidante. No segundo experimento, estudou-se o efeito da interação de CMC, goma xantana e ácido cítrico sobre antocianinas em *topping* de mirtilo *in vitro* usando a cultivar definida no experimento anterior.

Todas cultivares utilizadas foram provenientes de pomar da Embrapa Clima Temperado localizada na região de Pelotas/RS safra 2006/2007. Frutas sem defeitos e de aspecto maduro, as quais após colhidas foram selecionadas, limpas, imediatamente congeladas e mantidas sob congelamento (-18°C) até o momento da análise.

Para o segundo experimento, elaborou-se o *topping in vitro* com polpa de mirtilo, açúcar, CMC, goma xantana e ácido cítrico (Tabela 1). Foram elaborados 18 tratamentos resultantes do planejamento experimental segundo Box e Wilson (1951) citado por Gacula e Sing (1984). O planejamento experimental foi configurado com seis pontos axiais, oito pontos cúbicos e um ponto central por período, sendo o ponto central replicado 4 vezes. As variáveis foram X_1 = CMC, X_2 = goma xantana e X_3 = ácido cítrico e a variável resposta foi o teor de antocianinas para quatro períodos de armazenamento: zero, 15, 35 e 60 dias.

Tabela 1. Codificação dos níveis das variáveis independentes CMC, xantana e ácido cítrico

	CMC (%)	Xantana (%)	Ác. Cítrico (%)
Nível	X1	X2	X3
-1,682	0,00	0,00	0,00
-1	0,10	0,10	0,04
0	0,25	0,25	0,10
1	0,40	0,40	0,16
1,682	0,50	0,50	0,20

‰: m/m

Os dados foram ajustados a uma função polinomial de segunda ordem (Equação 1)

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i \cdot X_j \quad [\text{Eq. 1}]$$

sendo Y = ao teor de antocianinas; X_i ou X_j = variáveis entrada; β_0 = ponto central do sistema; β_i = coeficiente linear; β_{ii} =coeficiente quadrático e β_{ij} =coeficiente interativo.

Para o processamento das amostras referentes a cada ensaio foi elaborada uma solução de sacarose a 50°Brix, à esta solução foram adicionados os

espaesantes e ácidos (Tabela 2) e homogeneizados em agitador magnético até completa dissolução dos polímeros. As soluções foram aquecidas em banho-maria a 60°C por 15 minutos e deixadas em repouso durante duas horas para remoção do excesso de bolhas de ar. Os mirtilos foram triturados todos no mesmo lote, em processador doméstico (ARNO) e adicionados às soluções previamente preparadas na proporção de 1:0,85 (solução:mirtilo, m/m). Todas as amostras foram tratadas termicamente a 95°C por 10 minutos, imediatamente resfriadas em banho de gelo e refrigeradas ($\pm 10^\circ\text{C}$) até o momento da análise.

Para a determinação do teor de antocianinas totais nas amostras de *topping* de mirtilo foi utilizada o método pH-diferencial, de acordo com Lee, Durst e Wrolstad (2005). Foram elaboradas duas soluções tampão, uma de cloreto de potássio (0,025M) acidificada com ácido clorídrico até pH 1,0 (0,025M) outra de acetato de sódio (0,4M) e adição ácido clorídrico até pH 4,5 (0,4M). Após extração das antocianinas das amostras em solução extratora (etanol e HCl 1,5N na proporção de 85:15, pH 1,0), uma alíquota do extrato foi adicionada a cada uma das soluções tampão (2mL extrato:8mL solução tampão); a diluição foi preparada em proporção tal que a leitura observada no espectrofotômetro para a solução pH 1,0 resultasse em valores entre 0,2 e 1,4, intervalo de linearidade do espectrofotômetro. As amostras de pH 1,0 e 4,5 foram encaminhadas para leitura em espectrofotômetro (U-180 HITACHI) nas faixas de 520 e de 700nm. Para o cálculo da absorbância final foi utilizada a Equação 2.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \quad [\text{Eq.2}]$$

A concentração total das antocianinas monoméricas totais foi expressa em mg de cianidina-3-glicosídeo. 100g^{-1} da amostra (Equação 3). O cálculo foi feito com base no volume de extrato e peso da amostra (PM: 449,2 e ϵ : 26900).

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/100g)} = A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100 / (\epsilon \times 1) \quad [\text{Eq.3}]$$

Onde:

A= Absorbância (Eq.2);

PM= Peso molecular;

FD= Fator de Diluição;

ϵ = Coeficiente de absorvidade molar

O teor de fenóis totais foi determinado por método espectrofotométrico descrito por Singleton e Rossi (1965) que utiliza o reagente de Folin e Ciocalteu (1927) no qual a mistura dos ácidos fosfowolfrâmico e fosfomolibdico em meio básico se reduz ao oxidar os compostos fenólicos, originando óxidos azuis de wolframio (W_8O_{23}) e molibdeno (Mo_8O_{23}). Para a quantificação dos resultados, expressos em μmol de ácido gálico por grama de amostra ($\mu\text{mol.g}^{-1}$), foi construída uma curva padrão com ácido gálico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (U-180 HITACHI) no comprimento de onda de 765nm.

A atividade antioxidante de radicais livres foi realizada segundo método descrito por Ozgen et al. (2006) e expressa em $\mu\text{mol TEAC-DPPH}$ por grama de amostra, ou seja, capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) em DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Uma alíquota de 0,1mL da amostra foi adicionada a 3,9mL de solução do radical DPPH (100 μM dissolvido em metanol 80%), a absorbância foi medida em espectrofotômetro (U-180 HITACHI) a 517nm após 30 minutos de reação no escuro. Para a quantificação dos resultados foi construída curva de calibração com o reagente Trolox.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Fenóis totais, antocianinas e capacidade antioxidante

De acordo com os resultados do experimento 1, a cultivar com maior teor de antocianinas totais, compostos fenólicos e atividade antioxidante (Figura 1). O teor de antocianinas totais das cultivares Bluegem (31,40 mg.100g^{-1}) e Bluebelle (29,96 mg.100g^{-1}) foi significativamente superior ($p \leq 0,05$) a Powderblue (15,47 mg.100g^{-1}).

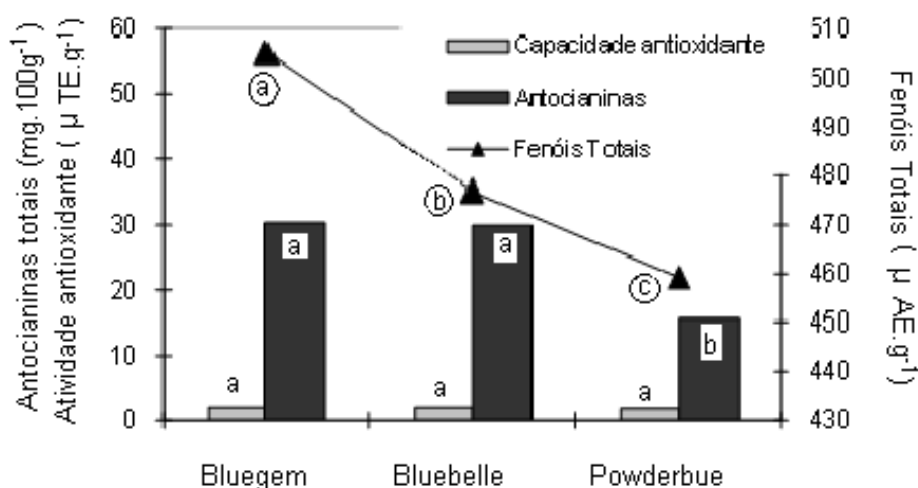


Figura 1. Teor de fenóis totais, antocianinas e capacidade antioxidante em sistema modelo de *topping* de mirtilo preparado com as cultivares Bluegem, Bluebelle e Powderblue. Letras iguais para as mesmas variáveis indicam que não há diferença estatística entre as amostras pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Quanto ao teor de fenóis e a capacidade antioxidante, não foi observado diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$), no entanto, os maiores valores para fenóis totais ($505,2 \mu\text{g.g}^{-1}$) e capacidade antioxidante ($2,08 \mu\text{mols.g}^{-1} \text{TE}$) foram encontrados para a cultivar Bluegem. Silva (2007), trabalhando com oito cultivares diferentes de mirtilo safra 2005, também encontrou valores superiores para antocianinas ($28,18 \text{ mg.100g}^{-1}$), fenóis totais ($635,4 \mu\text{g.g}^{-1} \text{GAE}$) e capacidade antioxidante ($5,27 \mu\text{mols.g}^{-1} \text{TE}$) para frutas da cultivar Bluegem. Utilizando o método ORAC, Ehlenfeldt e Prior (2001) relataram um valor médio de $15,9 \mu\text{mols.g}^{-1} \text{TE}$ para cultivares americanas de mirtilo, os mesmos autores avaliaram o conteúdo de antocianinas e fenóis, com resultados iguais a 179 mg.100g^{-1} e $950 \mu\text{g.g}^{-1} \text{GAE}$, respectivamente.

3.2 Efeito da CMC, xantana e ácido cítrico sobre antocianinas em sistema modelo de *topping* de mirtilo

No segundo experimento o teor de antocianinas totais oscilou entre $30,86$ e $21,17 \text{ mg.100g}^{-1}$ de sistema modelo de *topping* de mirtilo no tempo zero de armazenamento. O menor valor registrado foi para o ensaio 8 (0,4% CMC – 0,4% xantana – 0,04% ácido cítrico) aos 60 dias de armazenamento, que contém a menor

proporção de ácido com relação ao total de polímeros adicionados, no entanto não foi o que apresentou maior perda inicial, quando exposta ao tratamento térmico no tempo 0 de análise (Tabela 2).

Como referência para o cálculo da degradação de antocianinas totais com relação ao conteúdo inicial prévio ao tratamento térmico foi utilizado o valor de 31,40 mg cianidina-3-glicosídeo. $100g^{-1}$, referente à cultivar Bluegem obtido no experimento 1. Quando avaliada a redução no teor de antocianinas com relação ao período de armazenamento o valor de referência é o teor de antocianinas totais equivalente a cada ensaio no tempo 0 (zero) de análise.

Em todos os ensaios foi observado redução no teor de antocianinas totais após o tratamento térmico quando comparado ao sistema modelo sem tratamento. O ensaio 13 (0,1% CMC – 0,1% xantana – 0,16% ácido cítrico) apresentou teor mais elevado de antocianinas totais ($mg.100g^{-1}$) em todos os períodos de análise e também a menor degradação com relação à fruta e ao período de armazenamento. Provavelmente a diferença com relação às demais seja em função da proporção de ácido cítrico ser mais elevada em proporção aos polímeros.

Embora a ação do ácido cítrico seja importante na manutenção do teor elevado de antocianinas nos sistemas modelo no tempo 0 (zero) de análise, ou seja, frente à ação do calor, pode-se observar que esta ação é conjunta com os polímeros, uma vez que as amostras que mantiveram maior teor de antocianinas foram aquelas com concentração reduzida de espessantes. A degradação em virtude do armazenamento foi mais expressiva que a degradação em função do tratamento térmico, a maior diferença corresponde à amostra 10 (0,4% CMC-0,1%xantana e 0,16% de ácido cítrico) onde a perda inicial (tempo 0) em função do tratamento térmico foi de 8,22% e a perda por armazenamento em relação à amostra do tempo 0 foi de 34,77% com teor de antocianinas ao final do armazenamento de 18,80 $mg.100g^{-1}$, sendo considerado ao final do armazenamento o segundo pior em desempenho.

Tabela 2. Matriz do planejamento experimental com valores codificados, naturais e variáveis resposta para o teor de antocianinas totais em sistema modelo de *topping* de mirtilo Bluegem armazenados por 0, 15, 35 e 60 dias.

Ensaio	Variáveis codificadas			Variáveis naturais			Y _b			
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	0 Dias	15 Dias	35 Dias	60 Dias
1	1,682	0	0	0,5	0,25	0,1	25,17	24,13	21,43	20,42
2	-1,682	0	0	0,0	0,25	0,1	29,10	28,97	24,19	22,35
3	0	1,682	0	0,25	0,5	0,1	25,54	24,80	20,67	19,19
4	0	-1,682	0	0,25	0,0	0,1	26,58	26,13	23,37	22,97
5	0	0	1,682	0,25	0,25	0,2	28,20	26,27	21,25	19,20
6	0	0	-1,682	0,25	0,25	0,0	26,67	24,66	20,22	18,88
7	1	1	1	0,4	0,4	0,16	27,21	25,99	21,00	19,29
8	1	1	-1	0,4	0,4	0,04	26,13	24,70	18,80	16,28
9	1	-1	1	0,4	0,1	0,16	28,13	26,85	22,31	21,17
10	1	-1	-1	0,4	0,1	0,04	28,82	26,20	20,51	18,80
11	-1	1	1	0,1	0,4	0,16	26,65	26,89	23,42	23,22
12	-1	1	-1	0,1	0,4	0,04	26,68	26,13	21,61	19,26
13	-1	-1	1	0,1	0,1	0,16	30,86	30,22	26,33	25,41
14	-1	-1	-1	0,1	0,1	0,04	27,84	27,98	23,43	21,86
15	0	0	0	0,25	0,25	0,1	26,15	25,14	21,36	19,46
16	0	0	0	0,25	0,25	0,1	26,57	25,61	21,14	19,43
17	0	0	0	0,25	0,25	0,1	26,35	25,14	21,19	19,82
18	0	0	0	0,25	0,25	0,1	26,14	25,96	21,13	19,50

X₁ = carboximetilcelulose, X₂=xantana, X₃= ácido cítrico. Y_b= variável resposta em termos de teor de antocianinas totais expresso em mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ de sistema modelo de *topping* de mirtilo. Número de repetições n=2.

O ensaio 1 (0,5% CMC – 0,25% xantana – 0,1% ácido cítrico) apresentou a maior redução no teor de antocianinas totais após o tratamento térmico, quando comparada ao ensaio 13 a redução foi de 18,4%. Os ensaios 3 (0,25% CMC – 0,5% xantana e 0,1% ácido cítrico) e 8 (0,4% CMC – 0,4%xantana – 0,04% ácido cítrico) também apresentaram elevada redução no teor de antocianinas totais após o processamento térmico, provavelmente o elevado teor de polímeros no ensaio 8 foi extremamente prejudicial à preservação das antocianinas durante o período de armazenamento.

Quando observado o teor de antocianinas após 60 dias de armazenamento, ou seja, no produto final, este é superior ao apontado por Su e Chien (2007) para amostras de suco de mirtilo (4,52 mg.100ml⁻¹); e inferior aos valores apontados por Camire, Dougherty e Teh (2006) para purê de mirtilo (52 mg.100g⁻¹), estes autores

também avaliaram o teor de antocianinas em tortas geladas de mirtilo com adição de 7,4% de suco e apontaram a presença de 4,1 mg de antocianinas.100g⁻¹ da amostra. Potter et al. (2007) descreveram teor de antocianinas totais de 35mg.100g⁻¹ de bebida de soja adicionada de 12% de suco de mirtilo concentrado.

Srivastava et al. (2007) estudando extratos de mirtilo armazenado em diferentes temperaturas por até 60 dias, também apontam a redução do teor de antocianinas no extrato com relação à fruta e durante o armazenamento em todos os tratamentos e Kopjar et al. (2008) observou redução de 82,12% no teor de antocianinas totais em recheio de morango após seis meses de armazenamento.

De acordo com Brouillard e Dubois (1977) o mecanismo de degradação de antocianinas pelo calor provavelmente ocorre pela abertura do anel do cátion flavílio, seguida pela transformação para a forma chalcona, essa reação é irreversível e origina a perda de cor. Rizzolo, et al. (2003) apontaram teor de antocianinas em torno de 42,41mg em 100ml de suco de mirtilo, os autores afirmam que as antocianinas são principalmente afetadas pela temperatura e tempo de armazenamento, quanto menor a temperatura e quanto mais curto o tempo de armazenamento menores as perdas no teor de antocianinas. Os autores afirmam ainda não existir influência dos açúcares de baixo peso molecular testados (maltose, sorbitol, glicose + frutose) no teor de antocianinas das amostras.

A influência linear, quadrática e interativa do efeito inicial de CMC, da goma xantana e do ácido cítrico sobre as antocianinas em sistema modelo de *topping* de mirtilo Bluegem após tratamento térmico durante dez minutos a 95°C estão na Tabela 3.

O maior efeito observado com relação ao teor de antocianinas totais nas amostras de sistema modelo de *topping* de mirtilo foi o efeito linear negativo para as variáveis X₁ (CMC) e X₂ (Xantana), indicando que o aumento da concentração dos polímeros reduz o teor de antocianinas das amostras.

Tabela 3. Coeficientes de regressão não linear e de determinação (R^2) do modelo matemático de segunda-ordem para o efeito protetor inicial de CMC, goma xantana e ácido cítrico sobre as antocianinas em sistema modelo de *topping* de mirtilo Bluegem.

Coeficientes	0 Dias	15 dias	35 dias	60 dias
Intercepta (b_0)	26,26*	24,51*	21,19*	19,56*
Lineares				
$X_1(b_1)$	-1,23**	-2,28**	-2,46**	-2,56**
$X_2(b_2)$	-1,57**	-1,43**	-1,79**	-2,27**
$X_3(b_3)$	0,87*	1,11*	1,53*	1,96*
Quadráticos				
$X_1.X_1(b_{11})$	0,97*	1,21*	1,26*	1,34 ^{ns}
$X_2.X_2(b_{22})$	0,21 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,70 ^{ns}	1,12 ^{ns}
$X_3.X_3(b_{33})$	0,18*	0,44 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,31 ^{ns}
Interações				
$X_1.X_2(b_{12})$	0,44 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,19 ^{ns}
$X_2.X_3(b_{23})$	-0,65*	-0,45*	-0,23 ^{ns}	-0,20*
$X_1.X_3(b_{13})$	-0,32 ^{ns}	-0,26 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,16 ^{ns}
R^2	0,84	0,85	0,91	0,84
F Calculado/F tabelado	2,21	2,12	2,16	2,08

^a $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_1.X_2 + b_{23}X_2.X_3 + b_{31}X_3.X_1$; onde X_1 = CMC, X_2 = goma xantana e X_3 = ácido cítrico. Significativo ($p < 0,05$). ^{ns}Não significativo. *Significativo ($p < 0,05$). **Significativo ($p < 0,01$).

Para todas as amostras em estudo a relação entre $MQ_{\text{Regressão}}/MQ_{\text{Resíduo}}$ foi maior que F tabelado, o que indica que a regressão é significativa do ponto de vista do teste F e não houve evidência da falta de ajuste. No entanto, de acordo com Barros Neto, et al. (2007) uma regressão embora significativa em função do teste F pode não ser útil para realizar provisões por cobrir uma faixa de variação pequena dos fatores estudados. Box e Wetz (1973) sugeriram que para uma regressão ser significativa não apenas estatisticamente, mas também ser útil para fins preditivos, o valor de F calculado para a regressão deve ser cerca de quatro vezes maior que o valor de F tabelado, o que não ocorre neste trabalho.

O modelo matemático conseguiu explicar cerca de 84% da variância e, provavelmente, o aumento do número de pontos observados poderia melhorar a resposta do fenômeno em relação aos parâmetros e, também a capacidade de predição do modelo.

A concentração de 0,20% de ácido cítrico na formulação (Figura 2B) mostrou-se mais efetiva na preservação do teor de antocianinas totais no tempo 0 (zero) de análise quando na presença de goma xantana e CMC na concentração de até 0,1% cada. O aumento da concentração de ácido cítrico permite acrescentar maior teor de polissacarídeo com redução na degradação de antocianinas totais, essa redução é

muito importante uma vez que para manter a estrutura viscosa do *topping* faz-se necessário a adição de polissacarídeos.

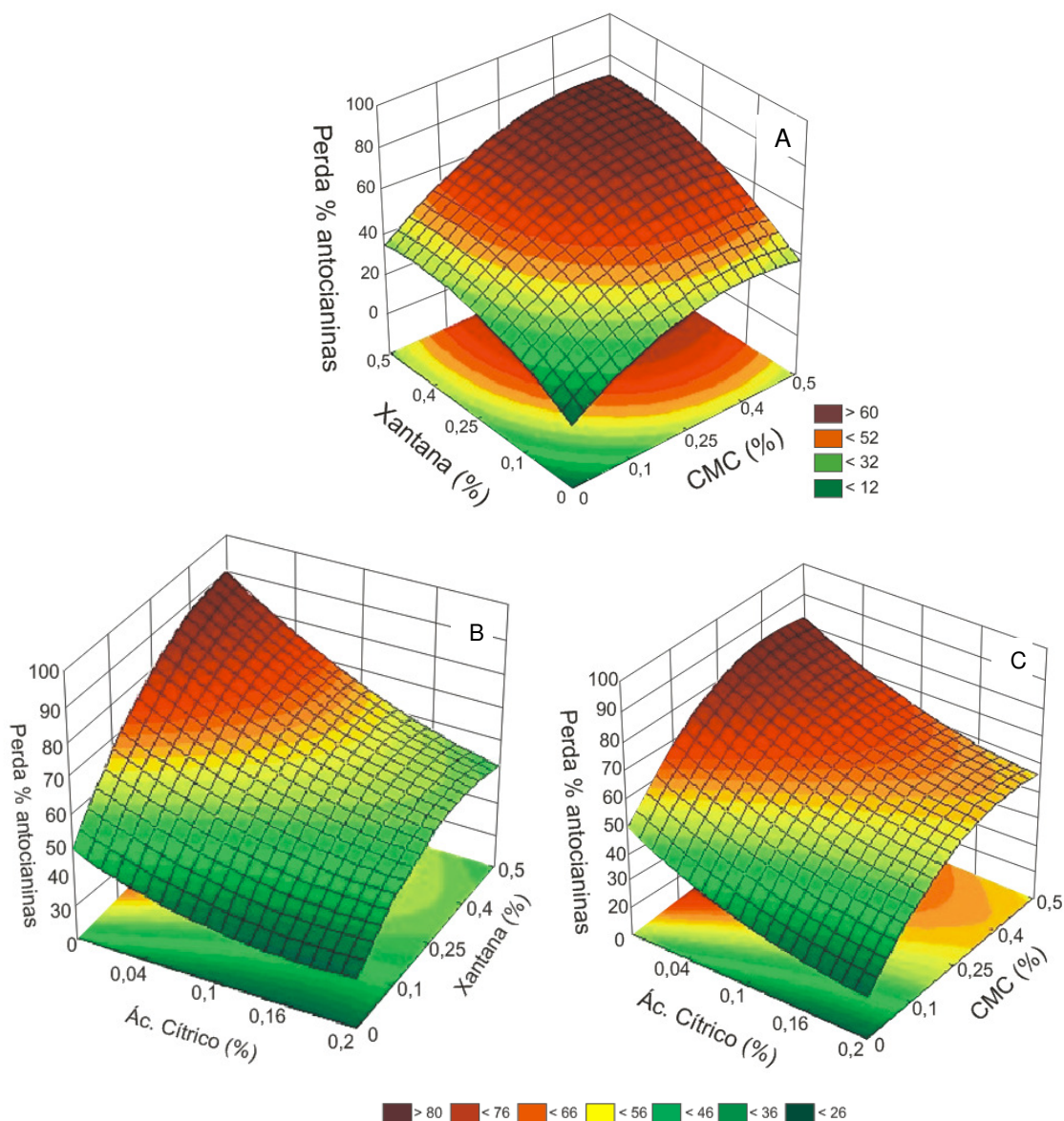


Figura 2. Efeito interativo das variáveis CMC, goma xantana e ácido cítrico sobre a perda inicial de antocianinas em sistema modelo de *topping* de mirtilo Bluegem com adição de 0,2% de ácido cítrico (A); 0% de CMC (B) e 0% de xantana (C).

Quando avaliada a interação da goma xantana e ácido cítrico sem adição de CMC (Figura 2B), pode-se observar que a degradação dos fitoquímicos é menor, permitindo utilizar concentrações próximas de 0,5% de xantana e 0,2% de ácidos com perda de antocianinas inferior a 36 % no período inicial. Para atingir retenção semelhante com adição de CMC e ácido cítrico sem goma xantana (Figura 2C) é

necessário utilizar 0,2% de ácido e CMC entre 0,1 e 0,2 %, segundo Rodrigues, et al. (2007) baixas concentrações de polissacarídeos podem prejudicar a textura do produto final, aumentando a absorção da fase viscosa pelo alimento com que a cobertura será consumida em conjunto, reduzindo o tempo de permanência das frutas na superfície, e diminuindo a capacidade desta fase de mascarar pequenos defeitos de aparência das frutas.

O mecanismo de preservação do ácido cítrico sobre antocianinas está relacionado com a redução do pH, uma vez que a proporção relativa de cada forma de equilíbrio varia em função do tipo de antocianina presente e do potencial hidrogeniônico do meio (HOUBIERS, et al. 1998). Kalt, McDonald e Donner (2000) no estudo de temperatura e pH diferenciados aplicados em suco de mirtilo, e ao final de duas semanas de armazenamento, verificaram que os sucos ajustados até pH 1,0 com HCl apresentaram teores de antocianinas de $118\mu\text{g.mL}^{-1}$, cerca de 87% superior às amostras ajustadas até pH 4,0 e 93% superior às amostras de pH 7,00. Bordignon, et al. (2009) estudando solução extratoras para antocianinas em morango e variando o pH das mesma de 1,0 até 13,0 observou diferença de até 90% no teor de antocianinas totais entre as amostras com pH 1,0 e 4,5.

Embora a redução do pH seja favorável à estabilização de compostos antociânicos, o processo também está relacionado à estrutura do agente acidificante, Chaovanalikt, et al. (2003) apontam a redução do teor de antocianinas quando utilizado ácido ascórbico para enriquecimento de vitamina C em cereais matinais com mirtilo. Rodrigues, et al. (2007) utilizando ácido ascórbico para acidificar *topping* de mirtilo também observou redução do teor de antocianinas totais na ordem de 50 a 80% ao longo de 120 dias de armazenamento. Su e Silva (2006) relatam a labilidade de antocianinas frente ao processo de acetificação, mas atribuem a degradação à presença de oxigênio, enzimas e temperaturas elevadas por período prolongado e não à presença do ácido.

4. CONCLUSÕES

A adição de ácido cítrico na formulação do *topping* é efetiva para reduzir a perda de antocianinas por ação do calor no tratamento térmico inicial e armazenamento, mas sua ação é influenciada pela adição de espessantes.

Na presença de ácido cítrico os compostos antociânicos apresentam taxas reduzidas de degradação quando comparado com a ausência do ácido nas mesmas concentrações de espessantes.

A degradação de antocianinas em virtude do tratamento térmico e do armazenamento é influenciada pela adição de carboximetilcelulose, goma xantana e ácido cítrico, podendo ser favorável ou desfavorável dependendo da concentração de uso.

A melhor condição experimental foi observada para o tratamento 13 (0,1% CMC, 0,1% xantana e 0,16% ácido cítrico).

O modelo matemático foi significativo para explicar a variância, no entanto, não pode ser considerado preditivo. Os maiores efeitos observados foram para os coeficientes lineares de xantana e carboximetilcelulose.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Capes e Fapergs pelo financiamento e bolsas concedidas e à Embrapa Clima Temperado – Pelotas/RS pela concessão das frutas.

6. REFERÊNCIAS

ASAMI, D.K.; HONG, Y.J.; BARRET, D.M.; MITCHELL, A.E. Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in cligstone peaches. **Journal of Science of Food and Agriculture**. v. 83, p. 56-63, 2003.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3 ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2007.

BORDIGNON Jr., C.L.; FRANCESCOTTO, v.; NIENOW A.A.; CALVETE, E.; REGINATTO, H. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.29, n.1, p.183-188. 2009.

BOX, G.E.P.; WILSON, K.B. On the experimental attainment of optimum condition. **Journal of Royal Statistical Society**. Series B 13, p 1-9, 1951.

BOX, G. E. P.; WETZ, J. **Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function**. University of Wisconsin Technical Report, Madison, n. 9, 1973.

BROUILLARD, R.; DUBOIS, J.E. Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acid media. **Journal American Chemical Society**, Easton, v.99, n.5, p.1359-1364. 1977.

CAMIRE, M.E.; DOUGHERTY, M.P.; TEH, Y. Frozen wild blueberry-tofu-soymilk desserts. **Journal of Food Science**. v.71, n.2, p.119-123. 2006.

CHAOVANALIKIT, A.; DOUGHERTY, M.P.; CAMIRE, M.E.; BRIGGS, J. Ascorbic acid fortification reduces anthocyanins in extruded blueberry-corn cereals. **Journal of Food Science**. v.68, n.6, p.2136-2140. 2003.

DUFFY, K.B.; SPANGLER, E.L.; DEVAN, B.D.; GUO, Z.; BOWKER, J.L.; JANAS, A.M.; HEGEPANOS, A.; MINOR, R.K.; DE CABO, R.; MOUNTON, P.R.; SHUKITT-HALE, B.; JOSEPH, J.A.; INGHAM, D.K. A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainate-induced learning impairment in rats, **Neurobiol Aging**. v.29, p.1680-1689, 2007.

DUNLAP, K. L; REYNOLDS, A. J.; DUFFY, L. K. Total antioxidant power in sled dogs supplemented with blueberries and the comparison of blood parameters associated with exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A. n. 143, p. 429 – 434, 2006.

EHLENFELDT, M.; PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.49, p. 2222-2227, 2001.

FACHINELLO, José Carlos. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. V.30, n.2, Jaboticabal, 2008.

Food and Agriculture Organization - FAO. **Statistical of blueberry production in world**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>> Acesso em: 20 Jun. 2007

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. On tyrosine on triptophane determinations in proteins. **Journal of Biol. Chem.**, v. 73, n. 2, p. 627-651. 1927.

GACULA, M.C.Jr; SINGH, J. **Statistical methods in food and consumer research**. Orlando: Academic Press, Inc., 1984. 505 p.

HERTOG, M. G. L.; HOLMANN, P. C. H.; VAN DE PUTTE, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 41, p.1242-1246. 1993.

HONG, Y.J.; BARRET, D.M.; MITCHELL, A.E. Liquid chromatography/mass spectrometry investigation of the impact of thermal processing and storage on peach procyanidins. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 2366-2371, 2004.

HOUBIERS, C.; LIMA, J. C.; MAÇANITA, A. L.; SANTOS, H. Color stabilization of malvidin-3-glucoside: self-aggregation of flavylum cation e copigmentation with the z-chalcone form. **Journal of Physic Chemistry**. v.102, p.3578-3585, 1998.

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

KOPJAR, M.; PILIZOTA, V.; HRIBAR, J.; SIMCIC, M.; ZLATIC, E.; NÉDIC TIBAN, N. Influence of trehalose addition and storage conditions on the quality of strawberry cream filling. **Journal of Food Engeneering**. v.87, n.3, p.341-350. 2008.

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

LIMA, V.L.A.; MELO, E.A.; LIMA, L.S.; LIMA, D.S. Polpa congelada de acerola: efeito da temperatura sobre os teores de antocianinas e flavonóis totais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n.3, p.669-670, 2002.

OZGEN, M.; REESE, R.N.; TULIO Jr, A.Z.; SCHEERENS, J.C.; MILLER, A.R. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbonzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.54, p. 1151-1157, 2006.

POTTER, R.M.; DOUGHERTY, M.P.; HALTEMAN, W.A.; CAMIRE, M.E. Characteristics of wild blueberry-soy beverages. **LWT**. v. 40, p.807-814. 2007

RASEIRA, M.C.B. Cultivares. In: **A cultura do Mirtilo**. Versão on-line. Disponível em: <<http://www.embrapa.cpact.br/publicações>> Acesso em março de 2010.

RESENDE, J.V.; SILVEIRA JÚNIOR, V. Medidas da condutividade térmica efetiva de modelos de polpas de frutas no estado congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.22 n.2, p.177-183. 2002.

RIZZOLO, A.; NAN, R.C.; VISCARDI, D.; BERTOLO, G.; TORREGIANI, D. Modification of glass transition temperature through carbohydrates addition and anthocyanin and soluble phenol stability of frozen blueberry juices. **Journal of Food Engineering**, n.56, p.229-231, 2003.

RODRIGUES, B.B. Top 10. **Hortifruti Brasil**. p. 5-13. 2006.

RODRIGUES, S. A.; GULARTE, M.A.; PEREIRA, E.R.B.; BORGES, C.D.; VENDRUSCOLO, C.T. Influência da cultivar nas características físicas, químicas e sensoriais de *topping* de mirtilo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v.1, n.1, p.09-27, 2007.

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

SILVA, R.S. **Potencial antioxidante correlacionado com fenóis totais e antocianinas de cultivares de amora-preta, mirtilo, morango e pêssego.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (Pelotas), 2007, 58p.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144-158. 1965.

SRIVASTAVA, A. AKOH, C.C.; YI, W.; FISCHER, J.; KREWER, G. Effect of Storage Conditions on the Biological Activity of Phenolic Compounds of Blueberry Extract Packed in Glass Bottles. **Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, n.7, p. 2705-2713. 2007.

SU, M.S.; CHIEN, P.J. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. **Food Chemistry**, v. 104, p.182-187, 1997.

SU, M.S.; SILVA, J. L. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. **Food Chemistry**. v.97, n.3, 2006.

TOURJEE, K.; BARRETT, D.M.; ROMERO, M.V.; GRADZIEL, T.M. Measuring flesh color variability among processing clingstone peach genotypes differing in carotenoid composition. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v.123, n.3, p. 433-437, 1998.

Artigo 2

ESTABILIDADE DE ANTOCIANINAS, FENÓIS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM *TOPPING* DE MIRTILO

Sabrina Ávila Rodrigues¹; Ricardo Peraça Toralles², Claire Tondo Vendruscolo³

¹Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – DCTA – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Faem – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal de Pelotas - UFPel –

sabrinaqa2003@yahoo.com.br

² Departamento de Química, Instituto Federal Sul Riograndense - IFSUL, Pelotas-RS; torashow@cefetrs.tche.br.

³Departamento de Ciência dos Alimentos – DCA – Faculdade de Ciências Domésticas FCD – Universidade Federal de Pelotas – UFPel claire@ufpel.edu.br

Resumo

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito combinado da carboximetilcelulose (CMC), goma xantana e ácido cítrico sobre a estabilidade de antocianinas totais em *topping* de mirtilo, através do uso de metodologia de superfície de resposta (MSR). O teor de CMC e goma xantana variou entre 0 e 0,5% e de ácido cítrico entre 0 e 0,2%. Foram elaboradas 18 amostras de *topping* de mirtilo, em todas as amostras foi quantificado o teor de antocianinas totais; a partir do melhor modelo experimental e do modelo otimizado foram elaboradas duas amostras, armazenadas por 90 dias, nas quais também foram quantificados compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. A influência da CMC, goma xantana e ácido cítrico no teor de antocianinas totais indicou efeitos linear, quadrático e interativo. O modelo polinomial de segunda ordem explicou a degradação de antocianinas totais com uma variância explicada acima de 96%. O modelo experimental com melhor desempenho foi aquele em que utilizou-se 0,1% de CMC, 0,4% de xantana e 0,16% de ácido cítrico. A partir do modelo otimizado e do ensaio com melhor desempenho foi possível obter amostras com boa retenção de antocianinas, fenóis totais e elevada capacidade antioxidante ao final de 90 dias de armazenamento.

Palavras chave: mirtilo, *topping*, otimização, superfície de resposta.

Abstract

This study aimed to evaluate the combined effect of carboxymethylcellulose (CMC), xanthan gum and citric acid on the total anthocyanins preservation in blueberry topping, through the use of response surface methodology (RSM). The content of CMC and xanthan gum ranged between 0 and 0.5%, citric acid between 0 and 0.2%. Were prepared 18 samples of blueberry topping, in all samples was quantified the total anthocyanins content, from the best experimental model and the optimized model two samples were prepared, stored for 90 days, in which were also quantified phenolic compounds and total antioxidant activity. The influence of CMC, xanthan gum and citric acid content in anthocyanins indicated linear, quadratic and interactive effects. The second order polynomial model explained the degradation of anthocyanins with an explained variance above 96%. The experimental model was the best performing one in which we used 0.1% CMC, 0.4% xanthan and 0.16% citric acid. From the optimized model and test with better performance was possible to obtain samples with good anthocyanins retention, total phenolics and antioxidant capacity to the end of 90 days of storage.

Key words: anthocyanins, blueberry topping, optimization, response surface methodology.

1. INTRODUÇÃO

A produção de mirtilo (*Vaccinium* spp.) está em franca expansão nos países da América do Sul, em virtude da grande demanda na contra estação de produção dos países do hemisfério norte (BAÑADOS, 2006; SILVA et al. 2008). Segundo dados da FAO, divulgados em 2006, a produção mundial de pequenas frutas representa cerca de 7 milhões de toneladas ao ano (CAMINT 2008).

Conhecida como a fruta da longevidade, o mirlo apresenta elevado teor de antocianinas, sendo este superior à outras pequenas frutas cultivadas no Rio Grande do Sul (JACQUES, et al, 2009) estes compostos estão presentes de maneira mais expressiva na casca dos frutos de mirtilo, enquanto na polpa as procianidinas encontram-se em maior quantidade (KAISU et al., 2008).

Recentemente Zhang, Vareed e Nair (2005) constataram o efeito inibitório das antocianinas cianidina, delphinidina, pelargonidina, petunidina e malvidina na proliferação de células cancerígenas humanas, originadas em diferentes órgãos do corpo: estômago, cólon, mama, pulmão e sistema nervoso central.

Mirtilos são consumidos não apenas *in natura* mas também na forma de diversos alimentos processados, como geléias, sucos, polpas, tortas e sobremesas. *Topping* é um tipo de cobertura alimentícia de sabor doce levemente acidificado,

obtida por concentração via aquecimento de uma fase líquida viscosa contendo as frutas inteiras no caso do mirtilo, ou em pedaços padronizados em se tratando de frutas maiores. As frutas entram em equilíbrio osmótico com a fase líquida transferindo sabor, aroma e cor, e absorvendo os sólidos dissolvidos. O pH final apresenta-se na faixa de 2,9 a 3,5 e o teor de sólidos de 40 a 45°Brix. A estrutura física do produto é baseada na ação de espessantes como goma xantana e CMC; a acidificação auxilia no processo de preservação permitindo a aplicação de tratamento térmico mais brando quando comparado à alimentos com pH acima de 4,5 (RODRIGUES et al. 2007).

O aquecimento necessário durante o processo tecnológico para obtenção do *topping* influencia na estabilidade das antocianinas naturalmente presentes no mirtilo (KHANAL, HOWARD, PRIOR, 2010).

A goma xantana pode ser utilizada como agente encapsulante de ingredientes alimentícios, tendo como prováveis mecanismos de liberação a ação mecânica e térmica (FAVARO-TRINDADE, PINHO, ROCHA, 2008). Cunha, Paula e Feitosa (2009) utilizaram goma xantana como agente de liberação controlada de fármacos e indicam o uso da CMC como agente retentor de umidade. Assis, Brito e Fotaro (2009) apontam para o uso de CMC e xantana como recobrimento comestível protetor para conservação de frutas e hortaliças *in natura* e minimamente processadas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante em *topping* de mirtilo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Frutas

Para a elaboração do *topping* foi utilizado mirtilo da cultivar Bluegem safra 2007/2008, proveniente de pomares Embrapa Clima Temperado/Pelotas-RS. As frutas após colhidas foram imediatamente transportadas para o laboratório de Biopolímeros do Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Núcleo de Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, onde o experimento foi realizado. As frutas foram selecionadas, limpas e armazenadas em embalagens plásticas de 300 gramas sob congelamento até o momento do uso.

2.2 Elaboração do *topping*

Os *toppings* foram elaborados a partir da dissolução dos espessantes (Tabela 1) em água, seguido da adição de sacarose até 50° Brix sob aquecimento em tacho aberto, em seguida foi adicionado as frutas inteiras e concentrado novamente até atingir 50°Brix na fase líquida, quando foi retirada a fonte de calor e adicionado o ácido cítrico diluído em 5mL de água. As amostras foram envasadas em sistema hermético, tratadas a 95 °C por 10 minutos e imediatamente resfriadas por submersão em água fria, e armazenadas sob temperatura controlada $24 \pm 0,1$ °C.

2.3 Delineamento experimental

Foram elaborados dois experimento consecutivos, no primeiro os 18 tratamentos resultantes do planejamento experimental segundo Box e Wilson (1951) citado por Gacula e Sing (1984) foram avaliados quanto ao teor de antocianinas totais, e comparados com o teor de antocianinas presentes em uma mistura de frutas, sacarose e água nas mesmas proporções do *topping* porém sem tratamento térmico.

O planejamento experimental para o primeiro experimento foi configurado com seis pontos axiais, oito pontos cúbicos e um ponto central por período, sendo o ponto central replicado 4 vezes (Tabela 1). As variáveis de entrada foram X_1 = CMC, X_2 = goma xantana e X_3 = ácido cítrico e as variáveis resposta foram o teor de antocianinas totais nos tempos de armazenamento de 48 horas, 30 e 60 dias (Tabela 2).

Os dados foram ajustados a uma função polinomial de segunda ordem (Equação 1)

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i \cdot X_j, \quad [\text{Eq. 1}]$$

sendo Y = ao teor de antocianinas; X_i ou X_j = variáveis entrada; β_0 = ponto central do sistema; β_i = coeficiente linear; β_{ii} =coeficiente quadrático e β_{ij} =coeficiente interativo.

Tabela 1. Codificação e níveis das variáveis independentes

Código de Nível	CMC*	Xantana*	Ác. Cítrico*
	X ₁	X ₂	X ₃
-1,682	0,00	0,00	0,00
-1	0,10	0,10	0,04
0	0,25	0,25	0,10
1	0,40	0,40	0,16
1,682	0,50	0,50	0,20

* % m/m no produto pronto para consumo

No segundo experimento, o ensaio com melhor desempenho no primeiro experimento e outro adaptado do modelo foram elaborados em triplicata para 5 tempos de análise ao longo de 120 dias de armazenamento e analisado quanto ao teor de AT, fenóis totais e atividade antioxidante.

2.4 Antocianinas totais

O teor de antocianinas totais da fruta *in natura* e das amostras através do método pH-diferencial, de acordo com Lee, Durst e Wrolstad (2005). Foram elaboradas duas soluções tampão, uma de cloreto de potássio (0,025M) acidificada com ácido clorídrico até pH 1,0 (0,025M) outra de acetato de sódio (0,4M) e adição ácido clorídrico até pH 4,5 (0,4M). Após extração das antocianinas das amostras em solução extratora (etanol e HCl 1,5N na proporção de 85:15, pH 1,0), uma alíquota do extrato foi adicionada a cada uma das soluções tampão (2mL extrato:8mL solução tampão); a diluição foi preparada em proporção tal que a leitura observada no espectrofotômetro para a solução pH 1,0 resultasse em valores entre 0,2 e 1,4, intervalo de linearidade do espectrofotômetro. As amostras de pH 1,0 e 4,5 foram encaminhadas para leitura em espectrofotômetro (U-180 HITACHI) nas faixas de 520 e de 700nm. Para o cálculo da absorbância final foi utilizada a Equação 2.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \quad [\text{Eq.2}]$$

A concentração total das antocianinas monoméricas totais foi expressa em mg de cianidina-3-glicosídeo. 100g^{-1} da amostra (Equação 3). O cálculo foi feito com base no volume de extrato e peso da amostra (PM: 449,2 e ϵ : 26900)

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/100g)} = A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100 / (\epsilon \times 1) \quad [\text{Eq.3}]$$

Onde:

A= Absorbância (Eq.2);

PM= Peso molecular;

FD= Fator de Diluição;

ϵ = Coeficiente de absorvidade molar

2.5 Fenóis totais

O teor de fenóis totais (FT) foi mensurado segundo o método Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965), com adaptações. Para a quantificação dos resultados foi construída uma curva padrão com ácido gálico, realizando leituras em espectrofotômetro a 725 nm (U-180 HITACHI) e os resultados expressos em mg GAE. 100g^{-1} de *topping*.

2.6 Capacidade antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante de radicais livres das frutas foi realizada segundo Ozgen et al. (2006) e expressa em μmol TEAC-DPPH por grama de amostra, ou seja, capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) em DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Uma alíquota de 0,1mL da amostra foi adicionada a 3,9mL de solução do radical DPPH (100 μM dissolvido em metanol 80%), a absorbância foi medida em espectrofotômetro (U-180 HITACHI) a 517nm após 30 minutos de reação no escuro. Para a quantificação dos resultados foi construída curva de calibração com o reagente Trolox e os resultados expressos como TE. 100g^{-1} .

2.7 Análise estatística

No primeiro experimento os coeficientes de cada parâmetro foram determinados por regressão não linear e os dados foram analisados por ANOVA

utilizando *software* Statistica. A análise canônica das superfícies de resposta ajustadas foi realizada de acordo com Myers e Montgomery (1995).

Para o segundo experimento as médias foram comparadas por análise de variância ANOVA e teste de Tukey.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As frutas congeladas da cultivar Bluegem utilizadas neste estudo apresentaram $112,96 \pm 1,45$ mg de antocianinas totais em cada 100g da fruta, esses valores aproximam-se aos descritos por Oliveira et al. (2006) e Ristow et al. (2004) para a mesma cultivar. Ballinger e Kushman (1970) informam que mirtilos Rabbiteye (*Vaccinium virgatum*) tem marcante efeito do estágio de maturação no teor de antocianinas, e analisando a cultivar Bluegem verificaram a presença de 272mg de antocianinas totais.100g⁻¹ da fruta. Resultados estes muito inferiores aos descritos por Severo, et. al. (2009) para a cultivar Bluegem. Jacques, et al (2009) analisando mirtilos de outras cultivares cultivados em Pelotas/RS apontam cerca de 72 até 128 mg de antocianinas em cada 100 gramas da fruta, enquanto Brackmann et al. (2010) estudando o efeito de atmosfera controlada e refrigerada com absorção e inibição do etileno em mirtilos Bluegem, apontam teores de antocianinas totais de 942,2 mg por litro, ou seja, semelhantes aos descritos neste trabalho.

Após a adição de sacarose e água ao mirtilo nas mesmas proporções utilizadas na composição do *topping* e sem tratamento térmico o teor de antocianinas foi de 39,53 mg de cianidina-3-glicosídeo por 100g da mistura. Este valor foi utilizado como referência para avaliar a degradação das antocianinas após a elaboração do *topping* e durante o armazenamento.

3.1 Adição de CMC, goma xantana e ácido cítrico e o teor de antocianinas totais

O teor de antocianinas totais mais elevado foi detectado no ensaio 11, com 0,1% de CMC, 0,4% de xantana e 0,16% de ácido cítrico que apresentou 30,31 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ de *topping*, o que representa uma redução de 23,3% com relação a AT no período anterior ao tratamento térmico. O ensaio 14, com 0,1% de CMC, 0,1% de xantana e 0,04% de ácido cítrico apresentou o pior

desempenho na retenção de AT, com 28,95mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ de *topping* no período inicial de análise.

A diferença entre o teor de antocianinas totais para os ensaios com melhor e pior desempenho após 48 horas de estabilização é de apenas 5%. Este valor é bastante reduzido quando comparado à diferença de 18,4% entre as amostras com maior e menor teor de antocianinas totais em sistema modelo de *topping* de mirtilo (ARTIGO1). Este resultado provavelmente está relacionado à forma de apresentação das frutas, onde no *topping* as mesmas apresentam-se inteiras, ou seja, não há desintegração da casca, ao contrário do sistema modelo onde as frutas estavam desintegradas.

Tabela 2. Matriz do planejamento experimental com valores codificados, naturais e variáveis resposta para o teor de antocianinas totais em *topping* de mirtilo após 48 horas de estabilização, 30 dias e 60 dias.

Ensaio	Variáveis Codificadas			Variáveis Naturais (% m/m)			Y _b		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	48horas	30dias	60dias
1	1,682	0	0	0,5	0,25	0,1	29,18	27,82	24,62
2	-1,682	0	0	0,0	0,25	0,1	29,85	28,45	25,22
3	0	1,682	0	0,25	0,5	0,1	29,12	27,71	24,72
4	0	-1,682	0	0,25	0,0	0,1	29,63	28,25	25,11
5	0	0	1,682	0,25	0,25	0,2	30,11	28,67	25,54
6	0	0	-1,682	0,25	0,25	0,0	29,13	27,74	24,72
7	1	1	1	0,4	0,4	0,16	29,21	27,85	24,30
8	1	1	-1	0,4	0,4	0,04	29,07	27,66	24,04
9	1	-1	1	0,4	0,1	0,16	30,13	28,71	25,52
10	1	-1	-1	0,4	0,1	0,04	29,36	28,00	24,81
11	-1	1	1	0,1	0,4	0,16	30,31	28,93	26,41
12	-1	1	-1	0,1	0,4	0,04	29,87	28,46	25,31
13	-1	-1	1	0,1	0,1	0,16	30,18	28,79	25,60
14	-1	-1	-1	0,1	0,1	0,04	28,95	27,50	24,37
15	0	0	0	0,25	0,25	0,1	29,13	27,75	24,58
16	0	0	0	0,25	0,25	0,1	29,22	27,74	24,61
17	0	0	0	0,25	0,25	0,1	29,21	27,51	24,64
18	0	0	0	0,25	0,25	0,1	29,17	27,76	24,57

X₁=Carboximetilcelulose, X₂= xantana, X₃=ácido cítrico. Y= variável resposta em termos de teor de antocianinas totais mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ de *topping*. Numero de repetições n=3. Valor de referência 39,53 mg.100g⁻¹.

De acordo com Kaisu, et al. (2008) as antocianinas estão presentes de modo mais expressivo na casca do mirtilo. Tendo em vista que para a elaboração do *topping* a mesma não sofreu desintegração, a liberação de antocianinas para o meio se dá por permeabilidade celular. Uma vez que as células mantenham-se íntegras, e uma menor quantidade de antocianinas migrem para o meio, a probabilidade das mesmas manterem-se inalteradas durante o período de estocagem é mais elevada, permitindo a preservação por período maior.

Todas os ensaios apresentaram redução no teor de AT durante o período de armazenamento com relação ao tempo zero de armazenamento, a redução apresentada variou de 12,8% (ensaio 11 – 0,1%CMC, 0,4% xantana, 0,16% ácido cítrico) a 17,3% (ensaio 8 – 0,4%CMC, 0,4% xantana, 0,04% de ácido cítrico). Estes resultados convergem para a teoria de diversos autores que estudam a influência no pH na estabilidade das antocianinas, sendo tais compostos mais estáveis quando presentes em meio com pH reduzido (BROUILLARD, 1982; KALT, McDONALD, DONNER, 2000; MAZZA, OOMAH, 2000; SARNI-MANCHADO, CHEVNIER, MOUTOUNET, 1997).

O ensaio 7, embora com elevado teor de ácido cítrico adicionado (0,16%), apresentou o segundo maior índice de degradação, indicando que a ação da redução do pH na degradação de antocianinas é influenciada por outros fatores, por exemplo, como ocorre nos ensaios 7 e no 8 o elevado teor de polissacarídeos espessantes de 0,8% considerada a soma das gomas CMC e xantana. A alta concentração de polissacarídeos pode ter provocado uma desidratação maior na parede celular em função do equilíbrio osmótico e da elevada quantidade de água ligada aos polímeros. Uma vez que maior quantidade de água é requerida para hidratar os polímeros, esta migra da parede celular para o meio, levando consigo compostos hidrossolúveis entre eles as antocianinas; assim como as antocininas que permanecem no interior da célula estão em meio mais concentrado, aumentando a possibilidade de degradação por interação com outras moléculas.

A degradação de antocininas durante o processamento e armazenamento é relatada por diversos autores. Kopjar et al. (2008) observaram redução de 82,12% no teor de antocianinas totais em recheio de morango após seis meses de armazenamento e Srivastava et al (2007) estudando extratos de mirtilo armazenado em diferentes temperaturas por até 60 dias, também apontam a redução do teor de

antocianinas no extrato com relação à fruta e durante o armazenamento em todos os tratamentos.

Quando avaliados os efeitos individuais de CMC, xantana e ácido cítrico, é possível observar que com o aumento da concentração de CMC o teor de antocianinas totais tende a ser reduzido (Figura 1A), comportamento semelhante é observado para goma xantana (Figura 1B), no entanto a adição desse polímero na concentração de 0,4% permite obter resultados semelhantes àqueles obtidos quando em concentração menor que 0,1%. A adição de ácido cítrico foi efetiva para manter o teor de antocianinas elevado em todas as concentrações, a concentração ótima do acidulante foi de 0,2% (Figura 1C).

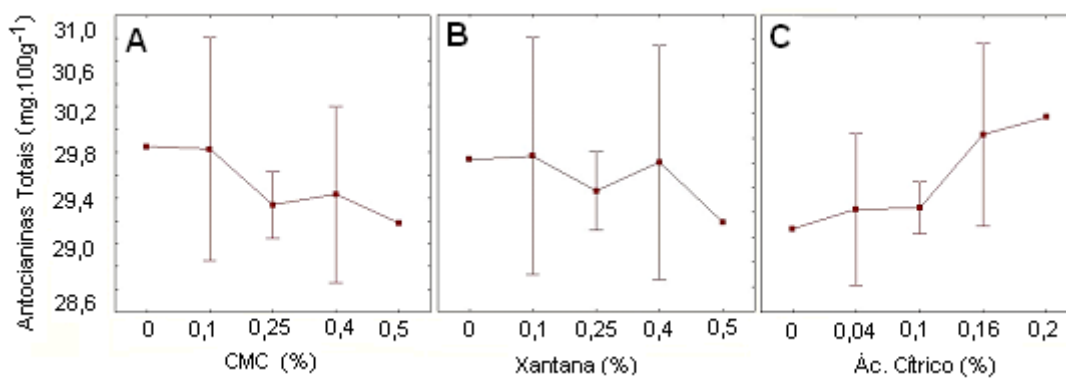


Figura 1: Gráfico de médias, máximos e mínimos do tipo Box e Whiskers para teor de antocianinas totais (mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) em *topping* de mirtilo: efeito individual da CMC (A), Xantana (B) e Ácido Cítrico (C).

3.2 Efeito interativo da CMC, goma xantana e ácido cítrico no teor de antocianinas totais

As influências linear, quadrática e interativa da CMC, xantana e ácido cítrico no teor de antocianinas totais (mg cianindina-3-glicosídeo.100g⁻¹) nas amostras após 48 horas de estabilização e 30 e 60 dias de armazenamento estão indicadas na Tabela 3.

A adição de ácido cítrico, CMC, e goma xantana influenciaram o teor de antocianinas totais nas amostras no tempo zero de armazenamento, sendo mais expressivo o efeito linear do ácido cítrico, seguido pela interação CMC x goma xantana e ácido cítrico x goma xantana e pelos demais efeitos quadráticos e lineares das variáveis ($p < 0,05$).

Tabela 3. Coeficientes de regressão não linear e de determinação (R^2) do modelo matemático de segunda ordem para o teor de antocianinas totais em *topping* de mirtilo.

Coeficientes	48 horas	30 dias	60 dias
Intercepta (b_0)	29,17**	27,68**	24,59**
Lineares			
$X_1(b_1)$	-0,19**	-0,36**	-0,59**
$X_2(b_2)$	-0,07**	-0,14 ^{ns}	-0,12 ^{ns}
$X_3(b_3)$	0,31**	0,61**	0,68**
Quadráticos			
$X_1.X_1(b_{11})$	0,14**	0,36**	0,24**
$X_2.X_2(b_{22})$	0,09**	0,25**	0,23**
$X_3.X_3(b_{33})$	0,18**	0,40**	0,40**
Interações			
$X_1.X_2(b_{12})$	-0,28**	-0,57*	-0,93**
$X_2.X_3(b_{23})$	-0,17*	-0,33*	-0,14 ^{ns}
$X_1.X_3(b_{13})$	-0,09 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,34*
R^2	0,9746	0,9547	0,9616

$aY = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_{12} + b_{22}X_{22} + b_{33}X_{32} + b_{12}X_1.X_2 + b_{23}X_2X_3 + b_{31}X_3X_1$, em que X_1 = CMC, X_2 = xantana e X_3 = ácido cítrico. Significativo ($p < 0,05$).
^{ns}Não significativo. * Significativo ($p < 0,05$). ** Significativo ($p < 0,01$)

O modelo expresso pela Equação 1, com coeficiente de determinação de $R^2=0,975$ foi estatisticamente significativo para descrever a estabilidade no teor de antocianinas após 48 horas de estabilização, uma vez que o F calculado foi onze vezes maior que F tabelado, não havendo evidencia da falta de ajuste.

Tabela 4. Análise de Variância para o ajuste de um modelo de segunda ordem aos dados experimentais para 48 horas de armazenamento.

Origem da Variação	Soma Quadrática (SQ)	Graus de Liberdade (GL)	Média Quadrática (MQ)	F_{calc}
Regressão	3,673	9	0,408	39,61
Resíduo	0,104	8	0,013	
Falta de ajuste	0,012	5		0,08
Erro puro	0,093	3		
Total	3,580	17		
R^2	0,975			

$F_{Tab} (9;8) = 3,39$, $F_{Tab} (5;3) = 9,01$, nível de confiança de 95%

A relação da média dos quadrados da regressão/média dos quadrados do resíduo é cerca de 9 vezes maior que o F tabelado, confirmando assim a significância do modelo ($p < 0,05$).

O efeito interativo das variáveis de entrada ficou evidente na Figura 2, sendo esta informação muito importante pois o equilíbrio na adição de espessantes e ácido de forma a preservar o teor de AT nas amostras é fundamental, uma vez que a viscosidade ideal é obtida mediante a ação destes aditivos, que também contribuem para o sabor e aroma, e entre os principais atrativos para o consumo está o elevado teor de fitoquímicos do mirtilo.

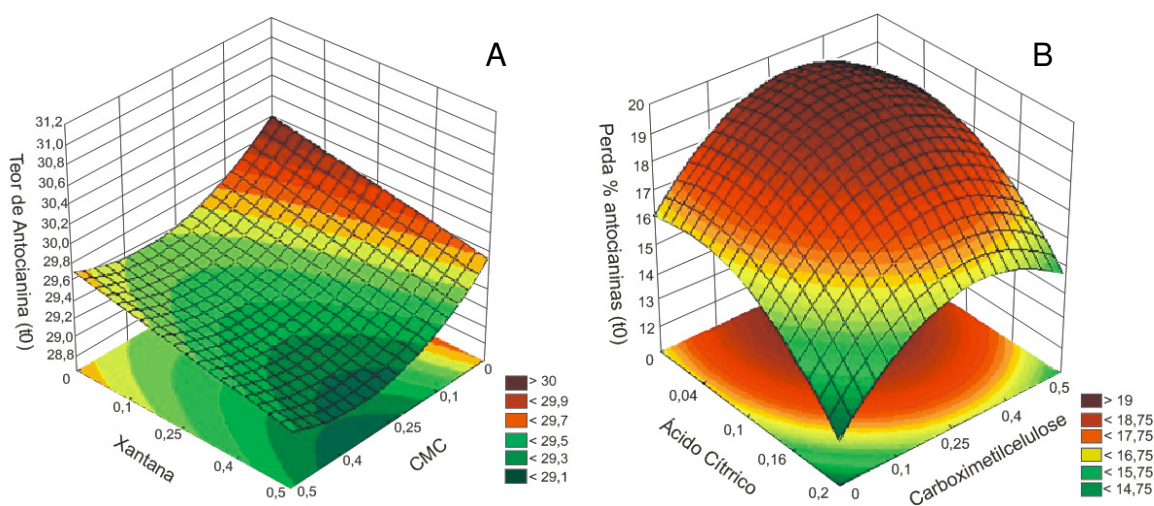


Figura 2: Gráfico dos efeitos estimados de (A) Carboximetilcelulose (%) e goma xantana (%) no teor de antocianinas totais em *topping* de mirtilo no após tratamento térmico com adição de 0,2% de ácido cítrico; e (B) Carboximetilcelulose (%) e Ácido Cítrico (%) na perda percentual de antocianinas totais após tratamento térmico com adição de 0,4% de xantana.

A inclinação da curva (Figura 2A) indica que a adição de goma xantana até 0,48% permite a obtenção de teores elevados de antocianinas totais nas amostras, sendo possível obter teor de antocianinas totais superiores a 29,7mg.100g⁻¹ de *topping* com a adição 0,5% ou mais de goma xantana. Enquanto que a adição a partir de 0,1% até 0,48% de CMC resulta em índices de antocianinas no produto final reduzidos.

Quando analisada a perda percentual de antocianinas totais após o tratamento térmico (Figura 2B), fixando a adição de 0,4% de goma xantana ao *topping* de acordo com a tendência anterior, a adição de CMC em concentrações superiores a 0,1% é extremamente prejudicial à preservação das antocianinas. E a adição de ácido cítrico é efetiva para preservar o teor de antocianinas totais quando em concentração acima de 0,12%.

Mota (2007) em estudo realizado com diferentes composições de edulcorantes em geléias de amora-preta registrou a interferência dos mesmos na manutenção dos índices de antocianinas no produto. A redução no teor de antocianinas totais após o processamento foi de 8,8% em média.

Embora tenha havido redução de AT após o tratamento térmico e no armazenamento, o teor de antocianinas apresentado pelas amostras ao fim de 60 dias de estocagem é elevado quando comparado com outras fontes deste composto. Su e Silva (2006) apontam teores de 4,52 mg de antocianinas em cada 100 para amostras de suco de mirtilo, valores estes inferiores aos do *topping* em estudo neste trabalho ao final do período de armazenamento. Camire, Dougherty e Teh (2006) estudando purê de mirtilo encontraram teores de antocianinas de 52 mg.100g⁻¹, estes autores também avaliaram o teor de antocianinas em tortas geladas de mirtilo com adição de 7,4% de suco e apontaram a presença de 4,1 mg de antocianinas.100g⁻¹ da amostra. Potter et al. (2007) descreveram teor de antocianinas totais de 35mg.100g⁻¹ de bebida de soja adicionada de 12% de suco de mirtilo concentrado. Os valores variam muito em função da fonte e forma de adição do mirtilo na formulação bem como do tratamento térmico e tempo de armazenamento estudado, sendo que os maiores teores foram encontrados em formulações com maior proporção de mirtilo ou adição de suco concentrado, bem como nas amostras armazenadas em menor temperatura e durante menor tempo.

O teor de antocianinas no *topping* ainda que com o efeito deletério do calor e do armazenamento (Tabela 2) permanece elevado quando comparado à outras frutas *in natura*, como pitanga vermelha com 9,6 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ (JACQUES, et al., 2009) e algumas cultivares de morango (CALVETE et al., 2008).

Através da análise canônica da superfície de resposta ajustada foram determinados os valores ótimos das variáveis que levaram à mínima redução no teor de antocianinas. A partir da obtenção das raízes (todas foram negativas) constatou-se que o ponto estacionário para o teor de antocianinas totais após o tratamento térmico era um ponto de máximo. Desta forma, os valores da resposta maximizada de X_1 , X_2 e X_3 na forma codificada foram, respectivamente, -1,27, 0,96 e 1,47, sendo os valores das concentrações das variáveis $X_1= 0,04$, $X_2=0,39$ e $X_3= 0,19$. Nestas condições o teor de antocianinas totais após o tratamento térmico poderá atingir 31,06 mg.100g⁻¹ com uma redução de antocianinas de cerca de 21,4% com relação à etapa anterior ao tratamento térmico.

O uso de 0,04% de CMC, no entanto, não se justifica tecnologicamente, uma vez que nessas proporções o polímero pouco contribui com o incremento na viscosidade, que é o motivo pela qual é aplicada no *topping*, podendo desta forma ser suprimida reduzindo assim os insumos empregados no processo de fabricação.

3.3 Estabilidade de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante

A partir da necessidade de obter um *topping* com viscosidade, pH e teor de antocianinas adequado, foram elaboradas duas formulações de *topping* de mirtilo, uma a partir do melhor modelo experimental (Ensaio 11) e outra apenas com a adição de goma xantana (0,4%) e ácido cítrico (0,2%), foi avaliado nas amostras o teor de antocianinas totais, capacidade antioxidante, compostos fenólicos totais ao longo de 120 dias de armazenamento (Figura 3).

Houve redução significativa ($p < 0,05$) no teor de antocianinas, fenóis totais e na capacidade antioxidante para todos os ensaios durante o armazenamento, o ensaio B, sem adição de CMC, apresentou médias mais elevadas nos três parâmetros no tempo zero e no armazenamento, exceto para AA aos 90 dias, o conteúdo desta diferença só foi significativa ($p < 0,05$) para AT e AA até 30 dias de armazenamento. Estes resultados estão de acordo com o modelo otimizado neste trabalho, cuja adição de até 0,1% de CMC em amostras contendo goma xantana e ácido cítrico não prejudica a estabilidade das antocianinas (Figura 2A).

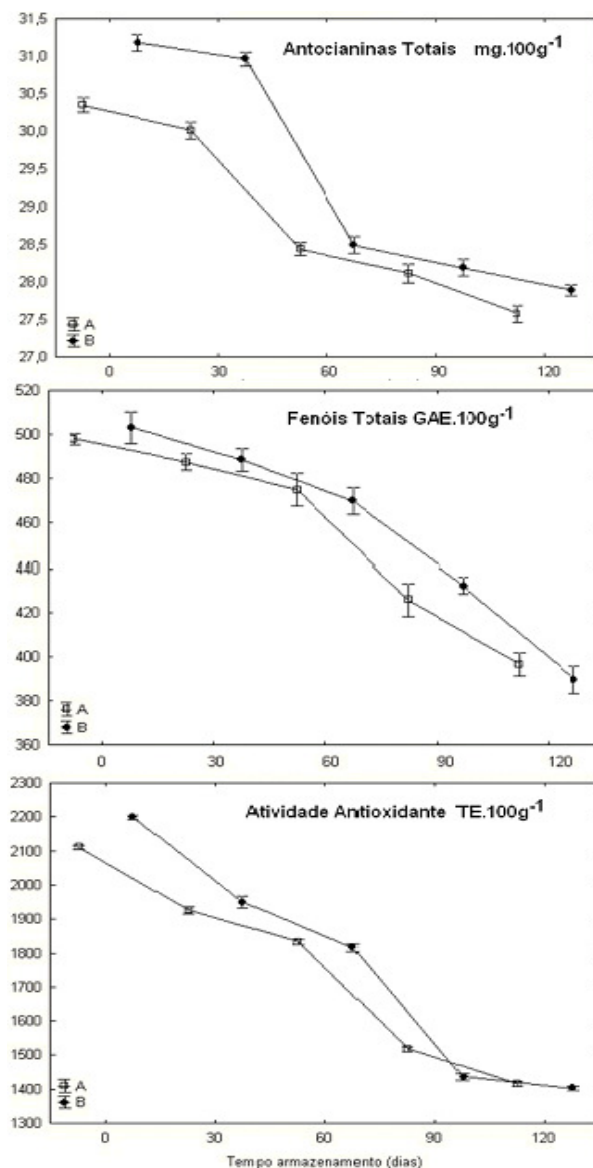


Figura 3: Médias do teor de antocianinas totais, fenóis totais e capacidade antioxidante em *topping* de mirtilo elaborado com 0,1% de CMC, 0,4% de xantana e 0,16% de ácido cítrico (A) e com 0,4% de xantana e 0,2% de ácido cítrico (B) ($p < 0,05$).

Os níveis de antocianinas totais das amostras mantiveram-se entre 30,39(B) e 27,50(A) mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹. Estes resultados assemelham-se aos divulgados por Teh et al. (2005) para sobremesa de mirtilo e soja, o mesmo autor aponta atividade antioxidante de 1279 a 1779 TE.100g⁻¹, valores inferiores aos apresentados pelo *topping* até os 60 dias de armazenamento. A redução do teor de AT e FT geralmente corresponde à queda da atividade antioxidante, embora alguns polifenóis possam exibir esta atividade mesmo após oxidados (SPANOS, WROLSTAD, 1992; MANZOCCO, et al., 2001)

4. CONCLUSÕES

A função polinomial de segunda ordem foi preditiva para descrever o efeito das variáveis CMC, xantana e ácido cítrico sobre o teor de antocianinas totais em *topping* de mirtilo. Com variação explicada superior a 96%.

Todas as amostras apresentaram redução no teor de antocianinas totais por ação do tratamento térmico e do armazenamento, sendo que a menor redução foi observada no ensaio 11 com 0,1% de CMC, 0,4% de xantana e 0,16% de ácido cítrico. A adição de carboximetilcelulose em concentrações superiores a 0,1% combinada com goma xantana prejudica a estabilidade das antocianinas.

O ponto estacionário é um ponto de mínima degradação de antocianinas em 0,04% de CMC, 0,39% de xantana e 0,19% de ácido cítrico.

5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Embrapa CPACT pela doação dos mirtilos, ao CNPq, CAPES e Fapergs pelo apoio financeiro e bolsa concedidos.

6. REFERÊNCIAS

ASSIS, O.B.G.; BRITTO, D.; FOTARO, L.A. Uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Instrumentação, n.29, 2009, 24p.

BALLINGER, W.E., KUSHMAN, L.J. Relationship of Stage of Ripeness to Composition and Keeping Quality of Highbush Blueberries. **Journal American Society Horticultural Science**. v.95, p.239-242. 1970.

BANÃDOS, M. P. Blueberry production in South America. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.715, p.165-172. 2006.

BRACKMAN, A.; WEBER, A.; GIESL, R.F.H.; EISERMANN, A.C.; SAUTTER, C.K.; GONÇALVES, E.D.; ANTUNES, L.E.C. Armazenamento de mirtilo 'Bluegem' em atmosfera controlada e refrigerada com absorção e inibição do etileno. **Revista Ceres**, Viçosa, v.57, n.1, p. 006-011, 2010.

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

BROUILLARD, R. in p.Markakis (Ed), **Anthocyanins as Food Colors**, Academic Press, New York.1982.

CALVETE, E.O.;MARIANI, F.;WESP, C.L.; NIENOW, A.A.; CASTILHOS, T.; CECHETTI, D. Fenologia, produção e teor de antocianinas de cultivares de morangueiro em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.396-401, 2008.

CAMINITI, A. Producción y mercados de berries, perspectivas para el mercosur. In: IV SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO III ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2008, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008, p. 12-14.

CAMIRE, M.E.; DOUGHERTY, M.P.; TEH, Y. Frozen wild blueberry-tofu-soymilk desserts. **Journal of Food Science**. v.71, n.2, p.119-123. 2006.

CUNHA, P.L.R.; PAULA, R.C.M.; FEITOSA, J.P.A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**. v.32, n.3, p.649-660. 2009.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; PINHO, S.C.; ROCHA, G.A. Revisão: iroencapsulação de agentes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v.11, n.2, p.103-112, 2008.

GACULA, M.C.Jr; SINGH, J. **Statistical methods in food and consumer research**. Orlando: Academic Press, Inc., 1984. 505 p.

HOUBIERS, C.; LIMA, J. C.; MAÇANITA, A. L.; SANTOS, H. Color stabilization of malvidin-3-glucoside: self-aggregation of flavylum cation e copigmentation with the z-chalcone form. **Journal of Physic Chemistry. Chem.**, v.102, p.3578-3585, 1998.

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

KAISU, R.; JAAKOLA, L.; KÄRENLAMPI, S.; HOHTOLA, A. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and 'northblue' blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. Angustifolium*). **Food Chemistry**, Barking,v. 110, n. 1, p. 156-160, 2008.

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

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

KOPJAR, M.; PILIZOTA, V.; HRIBAR, J.; SIMCIC, M.; ZLATIC, E.;NÉDIC TIBAN, N. Influence of trehalose addition and storage conditions on the quality of strawberry cream filling. **Journal of Food Engeneering**. v.87, n.3, p.341-350. 2008.

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

MANZOCCO, L.; CALLIARIS, S.; MASTROCOLA, D.; NICOLI, M.C.; LERICI, C.R. Review of nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends in Food Science and Thecnology**, v.11, p.340-346, 2001.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v.25, n.1, p.207-225, 1987.

MAZZA, G., OOMAH, B.D. Functional Foods & Nutraceuticals Series: Herbs, Botanicals & Teas," **Technomic Publishing Company**, Inc. Lancaster.2000.

MOTA, R.V. Características químicas e aceitabilidade de geleias de amora-preta de baixo teor de sólidos solúveis. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.10, n.2, p.116-121, 2007.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. Canada: John Wiley & Sons, 1995.

OLIVEIRA, A.F.; SOLDI, V.; SILVEIRA, C.B.; ERNANI, P.R. Desenvolvimento, caracterização e aplicação de biofilmes obtidos a partir de carboximetilcelulose e alginato de sódio na liberação de nutrientes. Trabalho apresentado no 17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. In: **Anais do 17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 2006, p.7858-7869. Foz do Iguaçu, PR, Brasil

OZGEN, M.; REESE, R.N.; TULIO Jr, A.Z.; SCHEERENS, J.C.; MILLER, A.R. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.54, p. 1151-1157, 2006.

POTTER, R.M.; DOUGHERTY, M.P.; HALTEMAN, W.A.; CAMIRE, M.E. Characteristics of wild blueberry-soy beverages. **LWT**, v. 40, p.807-814. 2007

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

RODRIGUES, S. A.; GULARTE, M.A.; PEREIRA, E.R.B.; BORGES, C.D.; VENDRUSCOLO, C.T. Influência da cultivar nas características físicas, químicas e sensoriais de *topping* de mirtilo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.1, n.1, p.09-27, 2007.

SARNI-MANCHADO, P. CHEVNIER, V., MOUTOUNET, M. "Reactions of Polyphenoloxidase Generated Caftaric Acid o-Quinone with Malvidin 3-o-Glucoside," **Journal of Phytochemistry**, v. 45, n. 7, p.1635-1369.1997.

SEVERO, J.; GALARÇA, S.P.; AIRES, R.F.CANTILLANO, R.F.F.; ROMBALDI, C.V.; SILVA, J.A. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal of Food Technology**. II SSA, p. 65-70, 2009.

SILVA, S.D.A.; ANTUNES, L.D.C.; ANTHONISEN,D.G.; LEMÕES, J.S.; GONÇALVES, E.D. Caracterização de genótipos de mirtilo utilizando marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.30, n.1, p. 180-184, 2008.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.J. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, n.3, p.144-158, 1965.

SPANOS, G.A.; WROLSTAD, R.E. Phenolics of Apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.40, p.1478-1487, 1992.

SRIVASTAVA, A. AKOH, C.C.; YI, W.; FISCHER, J.; KREWER, G. Effect of Storage Conditions on the Biological Activity of Phenolic Compounds of Blueberry Extract Packed in Glass Bottles. **Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, n.7, p. 2705-2713. 2007.

STRIK, B.C. Horticultural practices of growing highbush blueberries in the ever-expanding U.S. and global scene. **Journal of the American Pomological Society**, v.61, p.148-150, 2007.

SU, M.S.; SILVA, J. L. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. **Food Chemistry**. v.97, n.3, 2006.

TEH,Y.H.; DOUGHERTY,M.P., CAMIRE, M.E. Frozen blueberry-soy dessert quality. **Journal of Food Science**. v.70, n.2, p.119-122. 2005.

TODD, R. D. Microencapsulation and flavour industry. **Flavour Industry**, London, v. 1, n. 11, p. 768-771, 1970.

ZHANG, Y.; VAREED, S.K.; NAIR, M.G. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetable. **Life Science**, v.76, n.13, p.1465-1472, 2005.

Artigo 3

ESTUDO DA CINÉTICA E PERFIL DE DEGRADAÇÃO DE ANTOCIANINAS EM *TOPPING* DE MIRTILO: EFEITO DA TEMPERATURA E DA FORMA DE APRESENTAÇÃO DAS FRUTAS

Sabrina Ávila Rodrigues¹; Ricardo Peraça Toralles², Claire Tondo Vendruscolo³

¹Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – DCTA – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Faem – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal de Pelotas - UFPel – sabrinaqa2003@yahoo.com.br

² Departamento de Química, Instituto Federal Sul Riograndense - IFSUL, Pelotas-RS; torashow@cefetrs.tche.br.

³Departamento de Ciência dos Alimentos – DCA – Faculdade de Ciências Domésticas FCD – Universidade Federal de Pelotas – UFPel claire@ufpel.edu.br

Resumo

A cinética de degradação de antocianinas totais e a influência da temperatura no perfil da degradação de antocianinas individuais em *topping* de mirtilo foram avaliadas neste estudo. Foram elaboradas 4 formulações, sendo duas de sistema modelo contendo as frutas desintegradas e duas de *topping* contendo as frutas inteiras, variando em cada grupo a concentração de goma xantana. As temperaturas estudadas variaram de 60 a 90°C. A cinética de degradação das antocianinas nas amostras segue modelo de primeira ordem. A energia de ativação variou de 47,56 a 55,87 KJ.mol⁻¹ sendo mais elevada para o *topping*. A análise das antocianinas monoméricas nas amostras indica que o perfil de degradação é dependente da forma como as frutas se apresentam: inteiras ou desintegradas.

Palavras-chave: antocianinas, *topping* de mirtilo, cinética de degradação, perfil de degradação.

Abstract

The degradation kinetics of anthocyanins and the influence of temperature on the degradation of individual anthocyanins in blueberry topping were evaluated in this study. Four samples were prepared, two model system with triturated blueberries, and two blueberries toppings with whole fruits, in each group the concentrate of xanthan gum were varied. The temperatures ranged from 60 to 90°C. The degradation kinetics of anthocyanins in blueberry topping follows a first order model. The

activation energy ranged from 47.56 to 55.87 KJ.mol⁻¹ and were highest for blueberry topping. Analysis of monomeric anthocyanins in the samples indicates that the profile of degradation is dependent on how the fruits are presented: whole or triturated.

Keywords: anthocyanins, blueberry topping, degradation kinetics, degradation profile.

1. INTRODUÇÃO

Mirtilo é uma fruta que pertence ao grupo dos berries, pertencente a família Ericacea e ao gênero *Vaccinium*. As frutas apresentam-se na forma de bagas com coloração azul escura e formato achatado, a polpa, de coloração esbranquiçada, contém muitas sementes. O sabor das frutas é doce levemente ácido e, em geral, elas apresentam entre 1 e 2,5 cm de diâmetro e 1 a 4 g de peso (ECK; CHILDERS, 1966; KLUGE et al., 1994; SAFTNER et al., 2008). Pode ser consumido *in natura* ou processado sob diversas formas.

O *topping* é uma das formas de processamento do mirtilo. O nome refere-se a um tipo de cobertura alimentícia, na qual as frutas encontram-se inteiras ou em pedaços padronizados suspensas em uma base líquida e viscosa. Utilizada como cobertura para tortas, mousses e sorvetes assim como saborizantes e agentes de cor em iogurtes (Rodrigues, 2006).

O processo de fabricação do *topping* é semelhante ao processo de elaboração de geléias. A viscosidade é conferida pela adição de espessantes e a acidificação não participa do processo de gelificação como ocorre em geléias. O ácido é adicionado com a função de reduzir o pH para que possa ser utilizado tratamento térmico com temperaturas mais brandas, ele também participa como agente de saborização (Rodrigues et al., 2007).

Entre as pequenas frutas o mirtilo destaca-se por apresentar elevado teor de antocianinas cuja principal função biológica é a atividade antioxidante. As antocianinas apresentam considerável atividade anticarcinogênica e antiangiogênica (SUN et al., 2002; MEYERS et al., 2003; KALT et al., 1999). Nos últimos anos pesquisas apontam que o consumo de antocianinas reduz o risco de doenças coronarianas e podem auxiliar na prevenção de uma série de doenças crônicas (KATSUBE et al., 2003; SU, XIA, 2005).

Antocianinas são compostos bioativos que fazem parte do grupo dos flavonóides e estes do grande grupo dos compostos fenólicos (NYMAN; KUMPULAINEN, 2001; WALTON et al., 2006). Estão presentes em tecidos vegetais e são os principais agentes cromóforos para as cores vermelho azul e púrpura. Por serem hidrossolúveis despertam o interesse para o uso como corantes em alimentos (PAZMIÑO-DURÁN et al., 2001).

A estabilidade das antocianinas é altamente afetada pelo aumento de temperatura (FRANCIS, MARKAKIS, 1989; SKREDE, WROLSTAD, DURST, 2000). O aquecimento, no entanto, é amplamente utilizado na industrialização de alimentos, com o objetivo de eliminar microorganismos, promover mudanças de cor e textura e principalmente aumentar a vida útil dos produtos (FRANCIS, MARKAKIS, 1989; BORDIGNON et al., 2009).

O concentração por evaporação mediante aquecimento é uma das etapas do processamento dos *toppings*, causando grande impacto na redução de antocianinas do mirtilo no produto final. O aquecimento também está presente no processamento de alguns produtos derivados do *topping* (Rodrigues et al., 2007). Para que os benefícios das antocianinas se manifestem mesmo no consumo de mirtilos industrializados, faz-se necessário preservar quantidades elevadas destes compostos no alimento pós-processamento e no final de sua vida de prateleira. Por isso o conhecimento dos parâmetros cinéticos é importante para predizer as perdas que podem ocorrer durante o tratamento térmico. A degradação térmica de antocianinas tem sido estudada para diversos alimentos, como framboesa (OCHOA et al., 1999) amora (WANG, XU, 2007) uvas (MORAIS et al., 2002) e também para o mirtilo (KECHINSKI et al., 2010).

Trabalhos anteriores indicam que há influência da composição química do *topping* e do tratamento térmico sobre antocianinas totais em *topping* de mirtilo (RODRIGUES, RODRIGUES, VENDRUSCOLO, 2010). Este trabalho teve por objetivo estudar os parâmetros cinéticos da degradação térmica de antocianinas em sistema modelo e *topping* de mirtilo bem como avaliar o perfil da degradação de antocianinas monoméricas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Frutas

Mirtilos maduros da cultivar Bluegem safra 2007/2008 foram obtidos em pomar da Embrapa Clima Temperado – Pelotas/RS. Após a colheita foram selecionados de acordo com a aparência armazenados sob congelamento (-18°C) até o momento das análises. O experimento foi realizado no Laboratório de Biopolímeros, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.

2.3 Preparo das amostras

As amostras foram elaboradas em duas formas de apresentação das frutas (desintegradas e inteiras) e duas concentrações de xantana (0,1 e 0,4%), totalizando 4 amostras. As quantidades de ácido cítrico e CMC foram fixadas em 0,16 e 0,1% respectivamente. A proporção de mirtilo acrescentada foi de 0,85 partes para cada parte de solução de sacarose a 50°Brix, conforme proposto por Rodrigues et al. (2007).

Tabela 1. Delineamento experimental para proporção de goma xantana e forma de apresentação das frutas em *topping* de mirtilo.

Amostras	Forma de apresentação das frutas	Goma Xantana (% m/m)
SM A	Desintegradas	0,1
SM B	Desintegradas	0,4
<i>Topping A</i>	Inteiras	0,1
<i>Topping B</i>	Inteiras	0,4

A carboximetilcelulose e a goma xantana juntamente com a sacarose foram misturados em água e agitados em agitador orbital por 3 horas até completa dissolução dos polímeros. Logo após, os frascos contendo as soluções foram aquecidas em banho-maria a 60°C por 60 minutos com o objetivo de eliminar bolhas de ar formadas durante a agitação. As soluções permaneceram em temperatura ambiente até o dia seguinte. Posteriormente adicionando-se o ácido cítrico e as frutas. Nas amostras SM A e SM B as frutas foram desintegradas em um mesmo lote em processador doméstico (ARNO) imediatamente antes da mistura. Para as amostras *Topping A* e *Topping B* as frutas foram adicionadas inteiras. Finalmente

porções de 25 gramas de amostra foram acondicionadas em tubos Falcon com capacidade para 50mL com tampa.

2.3 Tratamento térmico

Os tubos contendo as amostras foram colocados em banho de circulação e aquecidos entre 60 e 90 °C, para diferentes períodos de tempo. A temperatura foi monitorada com termômetro digital no centro térmico de um tubo específico para este fim. Posteriormente as amostras foram rapidamente resfriadas em banho de gelo e a concentração de antocianinas totais e por HPLC foi determinada. Os tratamentos foram:

- Amostras: SM A, SM B, *Topping* A, *Topping* B
- Temperatura: 60, 70, 80 e 90 °C
- Tempo: 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 e 200min

2.4 Determinação de antocianinas totais

Foi avaliado o teor de antocianinas totais das amostras através do método pH-diferencial, de acordo com Lee, Durst e Wrolstad (2005). Foram elaboradas duas soluções tampão, uma de cloreto de potássio (0,025M) acidificada com ácido clorídrico até pH 1,0 (0,025M) outra de acetato de sódio (0,4M) e adição ácido clorídrico até pH 4,5 (0,4M). Após extração das antocianinas das amostras em solução extratora (etanol e HCl 1,5N na proporção de 85:15, pH 1,0), uma alíquota do extrato foi adicionada a cada uma das soluções tampão (2mL extrato:8mL solução tampão); a diluição foi preparada em proporção tal que a leitura observada no espectrofotômetro para a solução pH 1,0 resultasse em valores entre 0,2 e 1,4, intervalo de linearidade do espectrofotômetro. As amostras de pH 1,0 e 4,5 foram encaminhadas para leitura em espectrofotômetro (U-180 HITACHI) nas faixas de 520 e de 700nm. Para o cálculo da absorbância final foi utilizada a Equação 2.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{520} - A_{700})_{pH4,5} \quad [Eq.1]$$

A concentração das antocianinas monoméricas totais foi expressa em mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ da amostra (Equação 2). O cálculo foi feito com base no volume de extrato e peso da amostra (PM: 449,2 e ε: 26900)

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/100g)} = A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100 / (\epsilon \times 1) \quad [\text{Eq.2}]$$

onde A é absorvância (Eq.2), PM é o peso molecular, FD fator de diluição e ϵ é o coeficiente de absorvidade molar.

2.5 Identificação de antocianinas por HPLC

A identificação de antocianinas individuais foi realizada por HPLC, e o preparo da amostra realizada de acordo com método descrito por Silva et al.(2007) com modificações. O cromatógrafo consistiu no sistema CLAE-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 280 nm, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5 μm x 4,6 mm x 150 mm) com fase estacionária octadecil e uma coluna de guarda CLC-GODS com fase estacionária de superfície octadecil, ambas acondicionadas em forno a 25 °C. Após centrifugada, foi injetada uma alíquota de 20 μL da amostra tendo como fase móvel uma solução aquosa de acetonitrila (99:1 v/v) com vazão de 0,8 mL/ min, com um tempo total de corrida de 40 min. Os picos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões e quantificados através de curvas de calibração dos padrões de pelargonidina, kuromanina (cianidina-3-glicosídeo), keracianina (cianidina-3-rutinosídeo) e delphinidina.

2.6 Determinação das constantes cinéticas

A degradação térmica das antocianinas totais foi estudada em temperaturas variando de 60 a 90 °C. Aliquotas de 25 gramas foram colocadas em banho termostático ajustado para cada uma das temperaturas em estudo ± 1 °C. Em cada intervalo de tempo previsto no delineamento experimental três frascos foram retirados do banho e imediatamente resfriados em banho de gelo, conforme adaptações do método proposto por Wang e Xu (2007). A determinação do teor de antocianinas totais foi realizada imediatamente após o resfriamento das amostras.

Estudos anteriores indicam que a degradação térmica de antocianinas segue modelo de primeira ordem (Wang, Xu, 2007), descrito nas equações 3 e 4.

$$C_t = C_0 \exp(-kt) \quad [\text{Eq.3}]$$

$$t_{1/2} = -\ln 0,5/k \quad [\text{Eq. 4}]$$

onde C_0 é o conteúdo inicial de antocianinas, totais, C_t é o conteúdo de antocianinas totais após determinado tempo t (min) de aquecimento a uma determinada temperatura, k é a constante de cinética de primeira ordem e $t_{1/2}$ é o tempo no qual terá se degradado metade do conteúdo de antocianinas totais na amostra.

A dependência da temperatura para a degradação de antocianinas foi determinada de acordo com a equação de Arrhenius, através do cálculo da energia de ativação (Equação 5). O efeito da temperatura sobre a velocidade da reação também pode ser caracterizado pelo coeficiente de temperatura (Q_{10}), que representa a mudança na degradação quando a temperatura aumenta 10°C (Equação 6).

$$\ln(k) = -E_a/RT + \ln A \quad [\text{Eq.5}]$$

$$Q_{10} = \frac{k_{(T+10)}}{k_T} \quad [\text{Eq.6}]$$

onde R é a constante universal dos gases ($8.314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$), T é a temperatura em Kelvin e A é o fator de frequência, Q_{10} é o coeficiente de temperatura e k é a constante de degradação.

Os coeficientes de regressão foram estimados por regressão linear usando o software STATISTICA (STATSOFT, 1998). Quando necessário, os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo de primeira ordem foi estatisticamente significativo ($p < 0,01$) para descrever a degradação térmica das antocianinas em todas as condições experimentais estudadas.

O teor de antocianinas nas amostras SM A, SM B, *Topping A* e *Topping B* durante o aquecimento foi representado graficamente em função do tempo (Figura

1). A análise da Figura 1 permite concluir que a degradação térmica de antocianinas para as quatro formulações segue cinética de primeira ordem de reação com relação à temperatura. Outros estudos também demonstram que a degradação térmica de antocianinas segue cinética de primeira ordem (CEMEROGLU, VELIOGLU, ISIK, 1994; GARZÓN, WROLSTAD, 2002; KIRKA, CEMEROGLU, 2003; KECHINSKI et al., 2010; WANG, XU, 2007).

Os parâmetros cinéticos k e $t_{1/2}$ para a degradação térmica de antocianinas estão na Tabela 2. As constantes cinéticas de primeira ordem variaram de $0,53 \cdot 10^{-3}$ a $6,37 \cdot 10^{-3}$ e o tempo de meia vida de 1,81 a 21,78 horas na faixa de temperatura de 60 a 90°C. Nos ensaios contendo as frutas desintegradas os valores de k foram mais elevados que nos ensaios contendo as frutas inteiras, o que demonstra que as antocianinas estão menos susceptíveis à degradação no *topping* de mirtilo do que no sistema modelo.

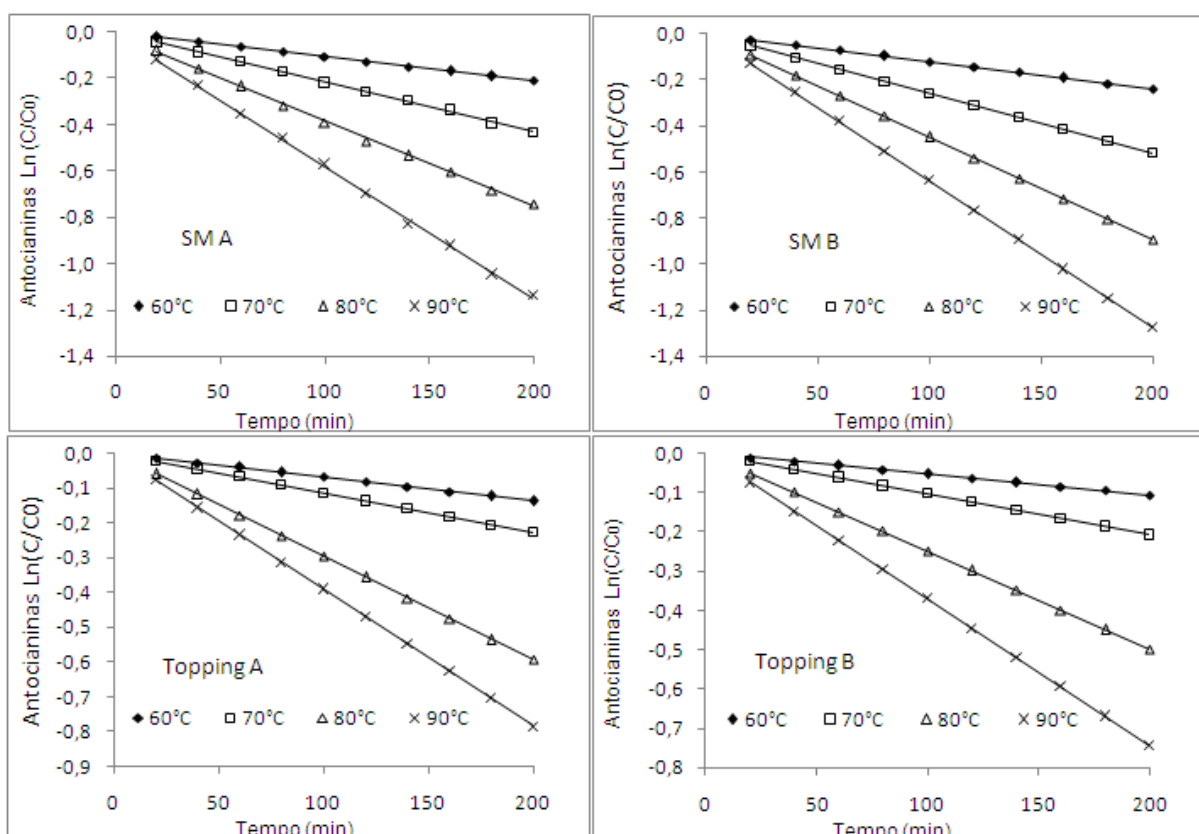


Figura 1. Cinética de degradação de antocianinas em *topping* de mirtilo contendo as frutas desintegradas (SM A e SM B) e inteiras (Topping A e B) entre 60 e 90°C.

Isto pode ser explicado pelo fato das antocianinas estarem presentes de maneira mais expressiva nas células da casca do mirtilo (KAISU et al., 2008)

fazendo com que as antocianinas fiquem mais expostas quando as frutas são desintegradas aumentando a reatividade com os demais componentes do meio. No *topping* contendo as frutas inteiras a casca não é totalmente desintegradas, o que evita a completa exposição das antocianinas ao meio, de acordo com o descrito por Rodrigues, Rodrigues e Vendruscolo (2010) cerca de 65% do teor de antocianinas totais no *topping* encontram-se nas frutas de mirtilo enquanto apenas cerca de 35% estão na porção fluída.

Os valores da constante de degradação térmica (K) para *Topping A* e *Topping B* são inferiores aos encontrados por Kechinski et al. (2010) para suco de mirtilo rabbiteye a 70 e 80 °C, enquanto que para SM A e SM B o valor da constante cinética foi mais elevado.

Tabela 2. Efeito da temperatura na constante de degradação térmica e valores de $t_{1/2}$ para antocianinas em sistema modelo e *topping* de mirtilo com diferentes composições.

Amostra	Temperatura (°C)	$K \times 10^3$ (min ⁻¹)	R ²	$t_{1/2}$ (h)
SM A	60	1,05 ± 0,12	0,994	11,00
	70	2,15 ± 0,21	0,996	5,37
	80	3,87 ± 0,18	0,990	2,98
	90	5,80 ± 0,46	0,986	1,99
SM B	60	1,20 ± 0,17	0,998	9,62
	70	2,60 ± 0,14	0,998	4,44
	80	4,48 ± 0,23	0,997	2,58
	90	6,37 ± 0,30	0,993	1,81
<i>Topping A</i>	60	0,69 ± 0,11	0,998	16,73
	70	1,15 ± 0,18	0,997	10,04
	80	2,97 ± 0,21	0,997	3,89
	90	4,12 ± 0,32	0,993	2,80
<i>Topping B</i>	60	0,53 ± 0,16	0,998	21,78
	70	1,04 ± 0,26	0,996	11,10
	80	2,49 ± 0,31	0,994	4,64
	90	3,71 ± 0,44	0,989	3,11

Os valores de k aumentam conforme a temperatura é elevada (Tab. 2), corroborando com a idéia de que quanto maior a temperatura utilizada maior será a degradação das antocianinas. Kirka e Cemeroglu (2003) encontraram para suco de laranja vermelha valores de k de duas a dez vezes mais elevado que os descritos neste trabalho, indicando que as antocianinas nas amostras testadas por eles são mais sensíveis ao calor que as antocianinas de mirtilo.

Kechinski, et al. (2010) ao comparar a constante cinética e tempo de meia vida para suco de mirtilo com sucos de outras frutas afirma que as antocianinas de mirtilo são menos susceptíveis que as demais à degradação térmica. Wang e Xu (2007) estudando a degradação térmica de antocianinas em suco de amora aponta valores de k e $t_{1/2}$ semelhantes ao encontrados nas amostras de *Topping* A e B.

O Gráfico de Arrhenius para constante de velocidade de degradação de antocianinas em sistema modelo e *topping* de mirtilo é apresentado na Figura 2. Os dados foram analisados por regressão linear, a variação em torno da média foi superior a 98%, e o modelo de Arrhenius foi estatisticamente significativo ($p < 0,01$) para as quatro amostras em estudo. Os valores de E_a obtidos a partir da inclinação da reta obtida bem como o coeficiente de reação Q_{10} podem ser vistos na Tabela 3.

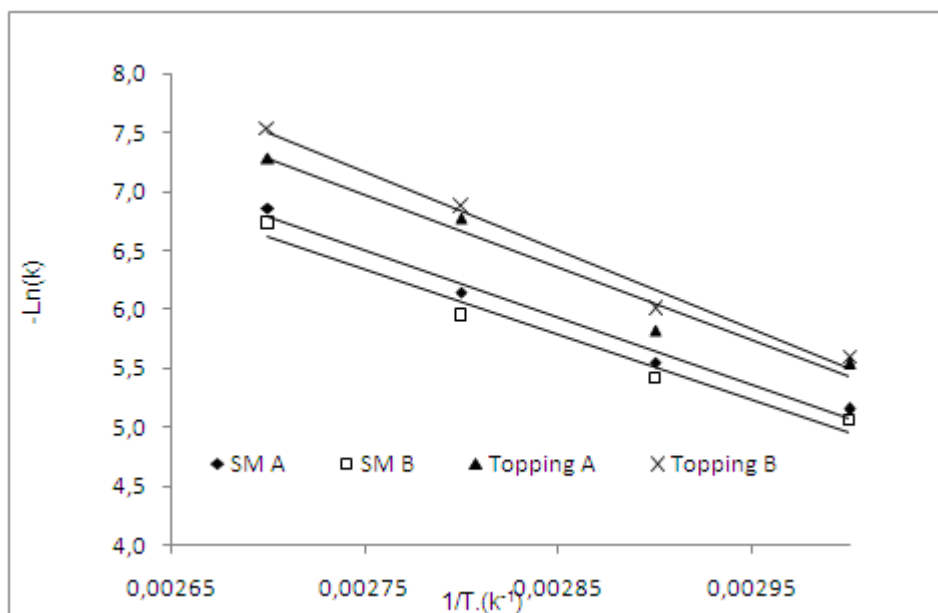


Figura 2. Representação gráfica de Arrhenius da constante cinética de primeira ordem para degradação térmica de antocianinas em sistema modelo e *topping* de mirtilo com diferentes composições.

Os valores da energia de ativação reportados por Wang e Xu (2007) para degradação térmica de antocianinas em suco de amora são semelhantes aos encontrados nas amostras de *Topping* A e B, no entanto a E_a para os sistemas modelo SM A e SM B é inferior à descrita e pelos autores para suco de amora. Kechinski et al. (2010) avaliando a cinética de degradação de antocianinas em suco de mirtilo em temperaturas de 40 a 80 °C relatam uma E_a de 80,42, ou seja, superior a descrita neste trabalho para todas as amostras, indicando que quando presentes

no suco as antocianinas do mirtilo são menos susceptíveis à elevação da temperatura do que na forma de *topping* ou sistema modelo. Este fato, no entanto, pode ser explicado em função da forma de obtenção do suco descrita pelos autores que utiliza temperaturas elevadas e também ao processamento da amostra ter ocorrido cerca de uma semana após a elaboração do suco, dessa forma, é possível que tenha permanecido na fração submetida ao experimento de degradação térmica apenas as moléculas cuja resistência ao calor seja mais elevada.

Tabela 3. Valores de Q_{10} e E_a para degradação térmica de antocianinas totais em sistema modelo e *topping* de mirtilo com diferentes composições

Amostra	Temperatura (°C)	Q_{10}	E_a (KJ.mol ⁻¹)	R^2
SM A	60 – 70	2,05	47,56	0,978
	70 – 80	1,80		
	80 – 90	1,50		
SM B	60 – 70	2,17	46,23	0,986
	70 – 80	1,77		
	80 – 90	1,42		
<i>Topping</i> A	60 – 70	1,67	51,05	0,980
	70 – 80	2,58		
	80 – 90	1,39		
<i>Topping</i> B	60 – 70	1,96	55,87	0,982
	70 – 80	2,39		
	80 – 90	1,49		

Quando avaliado o efeito da temperatura na taxa de reação, representado por Q_{10} , para as faixas estudadas na degradação de antocianinas em sistema modelo e *topping* de mirtilo foi observado que este efeito é diferenciado para os dois grupos de amostras (Tabela 3). Para as amostras SM A e SM B o maior efeito é observado na faixa de 60 a 70°C, enquanto que para as amostras *Topping* A e *Topping* B o maior efeito foi observado para a faixa de 70 a 80°C. Este fato pode ser decorrente da presença de uma fina camada de cera que recobre a casca do mirtilo (BRACKMANN et al., 2010). Possivelmente com a elevação da temperatura acima de 70°C a redução da viscosidade da cera permita maior permeabilidade das células da casca ocasionando a interação de um número maior de moléculas de antocianinas com o meio ficando mais expostas às reações de degradação. A permeabilidade das antocianinas das células da casca para o meio pode ainda ter sido influenciada pela viscosidade na porção fluida do *topping*. Diversos autores afirmam que a viscosidade da solução diminui com o aumento da temperatura

(BEZERRA ET AL., 2009; FERREIRA, GUIMARÃES, MAIA, 2008; TORALLES, VENDRUSCOLO, VENDRUSCOLO, 2006) . Desta forma, com o aumento na fluidez da amostra é possível que uma taxa maior de moléculas de antocianinas migrem do interior da casca para a porção fluida do *topping*. Se esta hipótese for verdadeira os produtos se elaborados em faixas de temperatura inferior a 70 °C poderão apresentar defeitos na cor, uma vez que a coloração final do *topping* é conferida exclusivamente pelas antocianinas naturalmente presentes na fruta.

Considerando-se ainda a probabilidade de que a viscosidade influencia na permeabilidade da casca do mirtilo no *topping*, e de que quanto menor a permeabilidade menor a degradação, então esta poderá ser a causa para a que a amostra *Topping B* apresente menor susceptibilidade à degradação térmica quando comparada ao *Topping A*, uma vez que *Topping B* apresenta teores mais elevados de espessantes na formulação.

Tabela 4. Teor e percentual de redução de antocianinas em amostras de sistema modelo e *topping* de mirtilo em fase anterior e posterior ao tratamento térmico.

Amostra		Perlagonidina µg/g	Kuromanina ^a µg/g	Keracianina ^b µg/g	Delfinidina µg/g
SM A	Pré-tratamento	92,421	40,465	48,458	6,494
	Pós-tratamento	47,457	22,729	24,977	5,994
	% Redução	48,65	43,83	48,46	7,70
SM B	Pré-tratamento	92,120	40,090	48,111	6,703
	Pós-tratamento	52,997	22,748	24,998	6,179
	% Redução	42,47	43,26	48,04	7,82
<i>Topping A</i>	Pré-tratamento	92,236	41,052	48,381	6,941
	Pós-tratamento	69,968	28,738	32,988	5,247
	% Redução	24,14	30,00	31,82	24,41
<i>Topping B</i>	Pré-tratamento	91,989	40,946	48,249	7,14
	Pós-tratamento	70,99	30,49	33,995	4,999
	% Redução	22,83	25,54	29,54	29,99

a: cianidina 3-glicosídeo

b: cianidina 3-rutinosídeo

O perfil das antocianinas presentes nas amostras foi avaliado anteriormente ao tratamento térmico e após 200 minutos a 90 °C. Para cada amostra foi avaliado por HPLC o teor das antocianinas monoméricas e calculado o percentual de redução

(Tabela 4). Para os padrões analisados foi possível identificar e quantificar pelargonidina, kuromanina (cianidina-3-glicosídeo), keracianina (cianidina-3-rutinosídeo) e delphinidina.

A degradação térmica das antocianinas individuais nas amostras de sistema modelo e de *topping* de mirtilo apresentou perfis diferenciados. A maior degradação foi observada para cianidina-3-rutinosídeo, e esta foi mais elevada para as amostras SM A e SM B do que para os *toppings*, o mesmo ocorreu para pelargonidina e cianidina-3-glicosídeo. Para delphinidina, no entanto, perda substancialmente mais elevada foi observada para as amostras com frutas inteiras quando comparadas com aquelas com as frutas desintegradas. Lee, Durst e Wrolstad (2002) avaliando o impacto do processamento de suco de mirtilo sobre o perfil antociânico dos mesmos aponta para um perfil semelhante de degradação para sucos com diferentes aditivos e mesmo teor de sólidos solúveis totais. Para as amostras mais concentradas, no entanto, o perfil de degradação foi diferenciado; fato este que corrobora com os resultados apresentados neste trabalho visto que o perfil de redução de antocianinas individuais está relacionado com a forma como as antocianinas estão distribuídas na amostra.

4. CONCLUSÕES

A velocidade de degradação de antocianinas foi mais elevada a 90°C para todas as amostras. O modelo de primeira ordem descreveu bem a degradação das antocianinas, e a dependência da temperatura foi significativamente representada pela equação de Arrhenius.

A forma de apresentação das frutas influencia a cinética de degradação das antocianinas. Quando utilizadas frutas trituradas as antocianinas apresentam-se mais sensíveis à degradação térmica em comparação com a adição das frutas inteiras.

A concentração de goma xantana influencia a degradação das antocianinas, sendo recomendadas concentrações de 0,4% para produtos onde a fruta será utilizada inteira e de 0,1% para aqueles em que a fruta apresenta-se desintegrada ambas em conjunto com 0,1% de CMC e 0,16% de ácido cítrico.

O perfil da degradação de antocianinas monoméricas é dependente da forma de apresentação das frutas.

5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Embrapa CPACT pela doação dos mirtilos, ao CNPq, CAPES e Fapergs pelo apoio financeiro e bolsa concedidos.

6. REFERÊNCIAS

AOAC. Official methods of analysis, 15th Ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 1990.

BEZERRA, J.R.M.V.; RIGO, M.; JUNIOR, B.D.; CÓRDOVA, K.R.V. Estudo do efeito da temperatura nas propriedades reológicas da polpa de morango (*Fragaria ananassa*). **Ambiência**, v.5, n.1, p.37-47, 2009.

BORDIGNON, C.L.; FRANCESCOTTO, V.; NIENOW, A.A.; CAVVETE, E.; REGINATTO, F.H. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, p. 183-188, 2009.

BRACKMANN, A.; WEBER, A.; GIEHL, R.F.H.; EISERMANN, A.C.; SAUTTER, C.K.; GONÇALVES, E.D.; ANTUNES, L.E.C. Armazenamento de mirtilo 'bluegem' em atmosfera controlada e refrigerada com absorção e inibição do etileno. **Revista Ceres**, v.57, n.1, p.006-011, 2010.

CEMEROGLU, B.; VELIOGLU, S.; ISIK, S. degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. **Journal of Food Chemistry**, v.59, n.6, p.1216-1218, 1994.

FERREIRA, G.M.; GUIMARÃES, M.J.O.C.; MAIA, M.C.A. Efeito da temperatura e taxa de cisalhamento nas propriedades de escoamento da polpa de cupuaçu (*T. grandifolium* Schum) integral. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.385-389, 2008.

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

GARZÓN, G.A.; WROLSTAD, R.E. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. **Journal of Food Science**, v.67, n.5, p.1288-1299, 2002.

KALT W.; FORNEY C.F.; MARTIN A.; PRIOR R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.47 p. 4638-4644.1999.

KATSUBE, N.; IWASHITA, K.; TDUSHIDA, T.; YAMAKI, K.; KOBORI, M. Induction of apoptosis in câncer cells by bollberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.1, p.68-75, 2003.

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. **Food Chemistry**, v.75, n.2, p.173-176, 2010.

KIRKA, A.; CEMEROGLU, B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood Orange juice concentrate. **Food Chemistry**, v.81, n.3, p.583-587, 2003.

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

MEYERS, K. J.; WATIKINS, C.B.; PRITTS, M.P.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 23, p. 6887-6892, 2003.

MORAIS, H. ; RAMOS, C.; FORGÁCS, E.; CSERHÁTI, T.; OLIVEIRA, J. Influence of storage conditions on the stability of monomeric anthocyanins studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v.770, n.2, p. 297-301, 2002.

NYMAN, N. A.; KUMPULAINEN, J.T. Determination of Anthocyanidins in Berries and Red Wine by High-Performance Liquid Chromatography **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n.49, p.4183-4187. 2001.

OCHOA, M.R.; KESSELER, A.G.; VULLIQUOD, M.B.; LOZANO, J.E. Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: storage effect on composition and color. **Lebenson Wiss Technol**, v.32, n.3, p.149-153, 1999.

PAZMIÑO-DURAN, E.A.; GIUST, M.M.; WROLSTAD, R.E.; GLÓRIA, M.B.A. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. **Food Chemistry**, v.75, n.2, p.211-216, 2001.

RODRIGUES, S. A.; GULARTE, M.A.; PEREIRA, E.R.B.; BORGES, C.D.; VENDRUSCOLO, C.T. Influência da cultivar nas características físicas, químicas e sensoriais de *topping* de mirtilo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v.1, n.1, p.09-27, 2007.

RODRIGUES, S.A.; RODRIGUES, A.A.; VENDRUSCOLO, C.T. Efeito de espessantes e acidulantes nas características físicas química e sensoriais de *topping* de mirtilo. **Brazilian Journl of Food Technology**, v. 13, n.E01, IISSA, p. 56-63.

SILVA, F.L.; ESCRIBANO-BAILÓN, M.T.; ALONSO, J.J.P.; RIVAS-GONZALO, J.C.; SANTOS BUELGA, C. Anthocyanin pigments in strawberry. **Lebenson Wiss Technol**, v.40, n.1, p.374-382, 2007.

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

SU, L.; XIA, W.; Food phenolics, pros and cons: a review. **Food Review International**, v.21, n.4, p.368-388, 2005.

SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; LIU, R.H. . Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 25, p. 7449-7454, 2002

TORALLES, R.P.; VENDRUSCOLO, J.L.; VENDRUSCOLO, C.T. Reologia de purê homogeneizado de pêssego: efeito da temperatura e da concentração. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.1, p.1-8, 2006.

WALTON, M. C. et al. Anthocyanins absorption and antioxidant status in pigs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 20, p. 7940-7946, 2006

WANG, W.D.; XU, S.Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. **Journal of Food Engineer**, v.82, n.3, p. 271-275, 2007.

CONCLUSÕES

A adição de CMC, goma xantana e ácido cítrico influencia a estabilidade de antocianinas em *topping* de mirtilo.

A adição de ácido cítrico em *topping* é efetiva para reduzir a perda de antocianinas por ação do calor e do armazenamento, mas sua ação é influenciada pela adição dos espessantes.

A degradação de antocianinas decorrente do armazenamento é reduzida quando as frutas são adicionadas inteiras no *topping*.

A função polinomial de segunda ordem foi preditiva para descrever o efeito de CMC, xantana e ácido cítrico sobre o teor de antocianinas totais em *topping* de mirtilo.

A adição de CMC em concentrações superiores a 0,1% combinada com goma xantana prejudica a estabilidade das antocianinas.

O aumento da temperatura ocasiona aumento na taxa de degradação das antocianinas, e este efeito é mais elevado quando as frutas encontram-se desintegradas, assim como o perfil de degradação de antocianinas monoméricas também é dependente da forma de apresentação das frutas.

Recomenda-se o uso de até 0,4% de goma xantana, até 0,1% de CMC e 0,16 a 0,2% de ácido cítrico para reduzir as perdas de antocianinas decorrentes da ação do calor e do tempo de armazenamento em *topping* de mirtilo.

Para utilização do *topping* como ingrediente em outras formulações que sejam submetidas à ação do calor, recomenda-se manter as frutas inteiras a fim de preservar a estabilidade das antocianinas.

REFERÊNCIAS

- ADLERCREUTZ, H.; MAZUR, W. Phyto-estrogens and Estern diseases. **Annals of Medicine**. n.29.95-120. 1997.
- ALMENAR, E., SAMSUDIN, H., AURAS, R., HARTE, B., RUBINO, M. Postharvest shelf life extension of blueberries using a biodegradable package. **Food Chemistry**, n.110, v.1, p.120-127. 2008.
- ANDRIAMBELOSOM, E.; KLESCHYOV, A.; MULLER, B.; BERETZ, A.; STOCLET, J.; ANDRIANTSITOHAINA, R. nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. **Journal of Pharmacology**, v.120,p.1053-1058, 1997.
- ANDRIAMBELOSOM, E.; MAGNIER, C.; HAAN-ARCHIPOFF, G.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R.; BERETZ, A.; BERETZ, A.; STOCLET, J. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. **Journal of Nutrition**, v.128, p. 2324-2333, 1998.
- AOAC. Oficial methods of analysis, 15th Ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 1990.
- ASAMI, D.K.; HONG, Y.J.; BARRET, D.M.; MITCHELL, A.E. Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in cligstone peaches. **Journal of Science of Food and Agriculture**. v. 83, p. 56-63, 2003.
- ASSIS, O.B.G.; BRITTO, D.; FOTARO, L.A. Uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Instrumentação, n.29, 2009, 24p.
- BALLINGER, W.E., KUSHMAN, L.J. Relationship of Stage of Ripeness to Composition and Keeping Quality of Highbush Blueberries. **Journal American Society Horticultural Science**. v.95, p.239-242. 1970.
- BANÃDOS, M. P. Blueberry production in South America. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.715, p.165-172. 2006.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3 ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2007.

BATFORD, J.; ROSSMANN, J.M. Sodium carboxymethylcellulose. In: **Industrial Gums**. Ed. Whistler, R.L. Associed Press, New York. p.695. 1973.

BERBARI, S.A.G.; SILVEIRA, N.F.A.; OLIVEIRA, L.A.T. Avaliação do comportamento de pasta de alho durante o armazenamento (*Allium sativum* L.). **Ciência Tecnologia Alimentos**, v.23, n.3, p.468-472. 2003.

BERRY, C.; TARDIF, J.; BOURASSA, M.G. Coronary Heart Disease in Patients With Diabetes: Part I: Recent Advances in Prevention and Noninvasive Management. **Journal of the American College of Cardiology**, v.49, n.6, p.631-642, 2007.

BEZERRA, J.R.M.V.; RIGO, M.; JUNIOR, B.D.; CÓRDOVA, K.R.V. Estudo do efeito da temperatura nas propriedades reológicas da polpa de morango (*Fragaria ananassa*). **Ambiência**, v.5, n.1, p.37-47, 2009.

BORDIGNON, C.L.; FRANCESCOTTO, V.; NIENOW, A.A.; CAVVETE, E.; REGINATTO, F.H. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, p. 183-188, 2009.

BORGES, C.D.; BASTOS, C.P.; VENDRUSCOLO, C.T. Avaliação das características físicas e químicas de gomas xantanas. **Semina: Ciências exatas e tecnológicas**. v.28, n.2, p.107-114. 2007.

BOX, G. E. P.; WETZ, J. **Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function**. University of Wisconsin Technical Report, Madison, n. 9, 1973.

BOX, G.E.P.; WILSON, K.B. On the experimental attainment of optimum condition. **Journal of Royal Sataistical Society**. Series B 13, p 1-9, 1951.

BRACKMANN, A.; WEBER, A.; GIEHL, R.F.H.; EISERMANN, A.C.; SAUTTER, C.K.; GONÇALVES, E.D.; ANTUNES, L.E.C. Armazenamento de mirtilo 'bluegem' em atmosfera controlada e refrigerada com absorção e inibição do etileno. **Revista Ceres**, v.57, n.1, p.006-011, 2010.

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

BRASIL. **Portaria** nº 540 - SVS/MS, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego.

BRAUN, D.B.; ROSEN, M.R. **Rheology Modifiers Handbook**. Practical Use and Aplication. New York William Andrew Publishing. 505p. 2003.

BROUILLARD, R, in p.Markakis (Ed), **Anthocyanins as Food Colors**, Academic Press, New York.1982.

BROUILLARD, R, in p.Markakis (Ed), **Anthocyanins as Food Colors**, Academic Press, New York.1982.

BROUILLARD, R.; DUBOIS, J.E. Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acid media. **Journal American Chemical Society**, Easton, v.99, n.5, p.1359-1364. 1977.

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

CALEGUER, V.F.; BENASSI, M.T. Efeito da adição de polpa, carboximetilcelulose e goma arábica nas características sensoriais e aceitação de preparados em pó para refresco sabor laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, n.2, p.270-277. 2007.

CALVETE, E.O.; MARIANI, F.; WESP, C.L.; NIENOW, A.A.; CASTILHOS, T.; CECHETTI, D. Fenologia, produção e teor de antocianinas de cultivares de morangueiro em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.396-401, 2008.

CAMINITI, A. Producción y mercados de berries, perspectivas para el mercosur. In: IV SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO III ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2008, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008, p. 12-14.

CAMIRE, M.E.; DOUGHERTY, M.P.; BRIGGS, J.L. Functionality of fruit powders in extruded corn breakfast cereals. **Food Chemistry**. v.101, p. 765-770. 2007.

CAMIRE, M.E.; DOUGHERTY, M.P.; TEH, Y. Frozen wild blueberry-tofu-soymilk desserts. **Journal of Food Science**. v.71, n.2, p.119-123. 2006.

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

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

CEMEROGLU, B.; VELIOGLU, S.; ISIK, S. degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. **Journal of Food Chemistry**, v.59, n.6, p.1216-1218, 1994.

CEPEDA, E., HERMOSA, M., LLORENZ, F., VOLLARÁN, M.C. Rheological behaviour of blueberry cloudy juice (*Vaccinium corimbosum* L.). **International Journal of Food Science and Thecnology**. n. 37. p. 271-276. 2002.

CHAOVANALIKIT, A.; DOUGHERTY, M.P.; CAMIRE, M.E.; BRIGGS, J. Ascorbic acid fortification reduces anthocyanins in extruded blueberry-corn cereals. **Journal of Food Science**. v.68, n.6, p.2136-2140. 2003.

CHAOVANALIKIT, A.; DOUGHERTY, M.P.; CAMIRE, M.E.; bRIGGS, J. Ascorbic acid fortification reduces anthocyanins in extruded blueberry-corn cereals. **Journal of Food Science**. v.68, n.6, p.2136-2140. 2003.

CIGNARELLA, A.; NASTASI, M.;CAVALLI,E.;PUGLISI, L. Novel lipid-lowering properties of *Vaccinium myrtillus* L. leaves, a traditional antidiabetic treatment, in several models of rat dyslipidaemia: a comparison with ciprofibrate. **Thrombosis Research**. v.84, n.5, p.311-322, 1996.

CUNHA, P.L.R.; PAULA, R.C.M.; FEITOSA, J.P.A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**. v.32, n.3, p.649-660. 2009.

DE VUYST, L., VERMEIRE, A. Use of industrial medium components for xanthan production by *Xanthomonas campestris*. **Applied Microbiology Biotechnology**. v.42, p.187-191, 1994.

DREISEITEL, P.; SCHREIER, A.; OEHME, A.; LOCHER, S.; ROGLER, G.; PIBERGER, H.; HAJAK, G.; SAND, P. G. Inhibition of proteasome activity by anthocyanins and anthocyanidins. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.372, n.1, p.57-61, 2008.

DUFFY, K.B.; SPANGLER, E.L.; DEVAN, B.D.; GUO, Z.; BOWKER, J.L.; JANAS, A.M.; HEGEPANOS, A.; MINOR, R.K.; DE CABO, R.; MOUNTON, P.R.; SHUKITT-HALE, B.; JOSEPH, J.A.; INGHAM, D.K. A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainate-induced learning impairment in rats, **Neurobiol Aging**. v.29, p.1680-1689, 2007.

DUNLAP, K. L; REYNOLDS, A. J.; DUFFY, L. K. Total antioxidant power in sled dogs supplemented with blueberries and the comparison of blood parameters associated with exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A. n. 143, p. 429 – 434, 2006.

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

ECK, P., CHILDERS, N.F. **Blueberry culture**. New Brunswick: Rutgers University Press,p.378. 1966.

EHLENFELDT, M.; PRIOR, R.L. Oxigen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.49, p. 2222-2227, 2001.

FACHINELLO, José Carlos. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. V.30, n.2, Jaboticabal, 2008.

FALCÃO, L.D. Estabilidade de antocianinas extraídas de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinífera* L.) em solução tampão, bebida isotônica e iogurte. Florianópolis. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina. 113p. 2003.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; PINHO, S.C.; ROCHA, G.A. Revisão: microencapsulação de agentes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v.11, n.2, p.103-112, 2008.

FENNEMA O.R. **Food Chemistry**, 3 ed, New york , NY: Mevel Dekker, p. 389. 1996.

FERREIRA, G.M.; GUIMARÃES, M.J.O.C.; MAIA, M.C.A. Efeito da temperatura e taxa de cisalhamento nas propriedades de escoamento da polpa de cupuaçu (*T. grandifolium* Schum) integral. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.385-389, 2008.

FERREIRA, V.L.P.; ALMEIDA, T.A.C.; PETTINELLI, M.L.C.V.; SILAVA, M.A.A.P.; CHAVES, J.B.P.; BARBOSA, E.M.M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas, SP. SBCTA, 2000. 127p.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. On tyrosine on triptophane determinations in proteins. **Journal of Biol. Chem.**, v. 73, n. 2, p. 627-651. 1927.

Food and Agriculture Organization - FAO. **Statistical of blueberry production in world**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>> Acesso em: 20 Jun. 2007

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

FURTADO, P., FIGUEIREDO, P., NEVES, H. C., & PINA, F. (1993). Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. **Journal Photochemistry Photobiology A: Chemistry**, v.75, p.113-118. 1993.

GACULA, M.C.Jr; SINGH, J. **Statistical methods in food and consumer research**. Orlando: Academic Press, Inc., 1984. 505 p.

GACULA, M.C.Jr; SINGH, J. **Statistical methods in food and consumer research**. Orlando: Academic Press, Inc., 1984. 505 p.

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

GARCIA-VIGUERA, C. ZAFRILLA, P. and Tomas-barberan. The use of Acetone as an Extraction Solvent for Anthocyanins from Strawberry Fruit. **Phytochemistry Analitica**. v. 9, p.274-277. 1998.

GARCIA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; ROMERO, R.; ABELLAN, P. Artes, F. and Tomas-Barberan, F.A. Color Stability of Strawberry Jam as Affected by Cultivar and Storage Temperature.” **Journal of Food Science**. v. 64, n. 2, 1999.

GARZÓN, G.A.; WROLSTAD, R.E. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. **Journal of Food Science**, v.67, n.5, p.1288-1299, 2002.

GOTO, T. “Structure, stability and color variation of natural anthocyanins”, **Progress Chem Org. Nat. Prod.** v. 52, p.113-158.1987.

HAGER, T.T.; HOWARD, L.R.; PRIOR, R.L. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.3, p. 689-695. 2008.

HÄKKINEN, S. H.; KÄRENLAMPI, S. O.; MYKKÄNEN, H. M.; TÖRRÖNEN, A. R. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. **Journal of Food Agricultural**. v. 48, p. 2960-2965, 2000.

HÄKKINEN, S. H.; TÖRRÖNEN, A. R. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. **Food Research International**. v.33. p. 517-524. 2000.

HARBOURNE, N.; JACQUIER, J.C.; MORGAN, D.J.; LYING, J.G. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juyce system using isothermal and non-isothermal methods. **Food Chemistry**. v.111, n.1, p.204-208. 2008.

HARNLY, J.M., DOHERTY, R.F.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; BHAGWAT, S. ; GEBHARDT, S. Flavonoid Content of U.S. Fruits, Vegetables, and Nuts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, n.6, p.9966-9977. 2006.

HERTOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study. **Lancet**, v.342, p.1007-1011. 1993

HERTOG, M. G. L.; HOLMANN, P. C. H.; VAN DE PUTTE, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 41, p.1242-1246. 1993.

HERTOG, M. G. L.; HOLMANN, P. C. H.; VAN DE PUTTE, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 41, p.1242-1246. 1993.

HEYDARZADEH, H.D.; NAJAFPOUR, G.D.; NAZARI-MOGHADDAM, A.A. Catalyst-Free conversion of alkali cellulose to fine carboxymethyl cellulose at mild conditions. **World Applied Sciences Journal**, v.6, n.4, p. 564-569, 2009.

HILL, M.A.; MITCHELL, J.R.; SHERMAN, P.A. The relationship between the rheological and sensory properties of a lemon pie filling. **Journal of a Texture Studies**, v.26, p.457-470, 1995.

HOFFMANN, A.; ANTUNES, L.E.C. Mirtilo: Grande Potencial. **Cultivar – hortaliças e frutas**. v.5, p. 28-30. 2004

HONG, Y.J.; BARRET, D.M.; MITCHELL, A.E. Liquid chromatography/mass spectrometry investigation of the impact of thermal processing and storage on peach procyanidins. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 2366-2371, 2004.

HOUBIERS, C.; LIMA, J. C.; MAÇANITA, A. L.; SANTOS, H. Color stabilization of malvidin-3-glucoside: self-aggregation of flavylum cation e copigmentation with the z-chalcone form. **Journal of Physic Chemistry. Chem.**, v.102, p.3578-3585, 1998.

HOWELL, A.B. , Cranberry proanthocyanidins and the maintainece of urinary tract health. **CRC Critical Review of Food Science Nutrition**, n.42, p.273–278. 2002.

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

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

JAYLE, G.E.; AUBRY, M.; GAVINI, H.; BRACCINI, G.; DE LA BAULE, C. Study concerning the action of anthocyanoside extracts of *Vaccinium Myrtillus* on night vision. **Ann Ocul**, v.168, n.6, p.556-562, 1965.

JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides-new hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, Chicago, v. 28, n. 5, p. 34-40, 1974.

KADER,F.; HALUK,J.P.; NICOLAS,J.P.; METCHE, M. Degradation of cyanidin-3-glucoside by blueberry polyphenol oxidase: kinetic studies and mechanisms. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.46, p.3060-3065, 1998.

KAISU, R.; JAAKOLA, L.; KÄRENLAMPI, S.; HOHTOLA, A. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and 'northblue' blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. Angustifolium*). **Food Chemistry**, Barking,v. 110, n. 1, p. 156-160, 2008.

KALT W.; FORNEY C.F.; MARTIN A.; PRIOR R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.47 p. 4638-4644.1999.

KALT, W. Health functionality of blueberries. **HortTechnology**, v.7, n.3, p.216–221, 1997.

KALT, W., RYAN, D. A. J., DUY, J. C.; PRIOR, R.L.; EHLENFELDT, M. K., VANDER KILLET S. P. Interspecific Variation in Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity among Genotypes of Highbush and Lowbush Blueberries (*Vaccinium* Section *cyanococcus* spp.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**., n.49 p. 4761-4767. 2001

KALT, W.; DUFOUR, D. Health funcionality of blueberries. **HortTechnology**, v.7, n.3, p.216 – 221, 1997.

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

KATSUBE, N.; IWASHITA, K.; TDUSHIDA, T.; YAMAKI, K.; KOBORI, M. Induction of apoptosis in câncer cells by bollberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.1, p.68-75, 2003.

KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. **Polymer Degradation and Stability**, Essex, v. 59, n.1-3, p. 81-84, sep. 1998.

KECHINSKI, C.P.; GUIMARÃES, P.V.R.; NOREÑA, C.P.Z.; TESSARO, I.C.; MARCZAK, L.D.F. Cinética de degradação da antocianina em suco de mirtilo durante o tratamento térmico. Trabalho apresentado no Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - VII-Oktober Fórum **In: Anais do Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - VII-Oktober Fórum**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008.

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. **Food Chemistry**, v.75, n.2, p.173-176, 2010.

KELI, S. O.; HERTOOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.; KROMHOUT, D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins and incidence of stroke: The Zutphen study. **Archives of Internal Medicine**. v.156, p.637-642. 1996.

KENNEDY, J.F.; BRADSHAW, I.J. Production, properties and applications of xanthana. **Progress Ind. Microbiology**, v.1, n.19, p.319-371, 1984.

KHANAL, R.C.; HOWARD, L.R.; PRIOR, R.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.

KIRKA, A.; CEMEROGLU, B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood Orange juice concentrate. **Food Chemistry**, v.81, n.3, p.583-587, 2003.

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

KNEKT, P.; JARVINEN, R.; REUNANEN, A.; MAATEKA, J. Flavonoids intake and coronary mortality in Finland: A cohort study. **Brazilian Medical Journal**, v.312, p.478-481.1996.

KONG, J.M.; CHIA, L.S.; GOH, N.K.; CHIA, T.F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**. v.64, n.5, p.923-933. 2003.

KOPJAR, M.; PILIZOTA, V.; HRIBAR, J.; SIMCIC, M.; ZLATIC, E.; NÉDIC TIBAN, N. Influence of trehalose addition and storage conditions on the quality of strawberry cream filling. **Journal of Food Engineering**. v.87, n.3, p.341-350. 2008.

KRUPA, T.; TOMALA, K. Antioxidant capacity, anthocyanin content profile in 'bluecrop' blueberry fruit. **Vegetable Crops Research Bulletin**. v.66, p.129-141. 2007.

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

LAPLAUD, P.M.; LELUBRE, A.; CHAPMAN, M.J. Antioxidant action of *Vaccinium myrtillus* extract on human low density lipoproteins in vitro: initial observations. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.11, n.1, p.35-40, 1997.

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

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

LEHESKA, J. M.; BOYCE, J.; BROOKS, J.C.; HOOVER, L.C.; THOMPSON, L. D.; MILLER, M. F. Sensory attributes and phenolic content of precooked pork breakfast sausage with fruit purees. **Journal of Food Science**. v.71, n.3, p.249-252. 2006.

LEWIS, C.E.; WALKER, J.R.L. Effect of polysaccharides on the colour of anthocyanins. **Food Chemistry**. v.54, p.315-319. 1995.

LICHTENTHALER, R.; MARX, F. Total antioxidant scavenging capacities of common European fruit and vegetables juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 53, p.103-110, 2005.

LIMA, V.L.A.; MELO, E.A.; LIMA, L.S.; LIMA, D.S. Polpa congelada de acerola: efeito da temperatura sobre os teores de antocianinas e flavonóis totais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n.3, p.669-670, 2002.

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

MÄÄTTÄ-RIIHINEN, K.R.; KAMAL-ELDIN, A.; TÖRRÖNEN, A.R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.6178-6187, 2004.

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

MAGA, J.A.; KIM, C.H. Co-extrusion of rice flour with dried fruits and fruit juice concentrates. **Food Science and Technology**. v.22, n.4, p.182-187. 1999.

MAKUS, D.J. , BALLINGGER, W.E.. Characterization of Anthocyanins During Ripening of Fruit of *Vaccinium corymbosum* L. **Journal of American Society Horticultural Science**, v. 98, p.99- 101. 1973.

MALDONADO, S.; SINGH, J.C. Efecto de gelificantes en la formulación de dulce de yacón. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.28, n.2, p.429-434, 2008.

MANZOCCO, L.; CALLIARIS, S.; MASTROCOLA, D.; NICOLI, M.C.; LERICI, C.R. Review of nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends in Food Science and Technology**, v.11, p.340-346, 2001.

MARTINEAU, L. C. ; COUTURE, A.; SPOOR, D.; BENHADDOU-ANDALOUSSI, A.; HARRIS, C.; MEDDAH, B.; LEDUC, C.; BURT, A.; VUONG, T.; MAI LE, P.; PRENTKI, M.; BENNETT, S.A.; ARNASON, J.T.; HADDAD, P.S. Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. **Phytomedicine**, v.13, n.9-10, p.612-623, 2006.

MATTILA, P.; HELLSTRÖM, J.; TÖRRÖNEN, R. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, n.19, p.7193-7199. 2006.

MAUGERI FILHO, F. **Produção de polissacarídeos**. In: Lima, U. A., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W. Biotecnologia Industrial, Ed. Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 1ª ed., v. 3, 2001, 593p.

MAZZA, G., MINIATI, E. **Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains**. CRC Press Inc. Boca Ratan, FL. p.85-130.1993.

MAZZA, G., OOMAH, B.D. Functional Foods & Nutraceuticals Series: Herbs, Botanicals & Teas," **Technomic Publishing Company**, Inc. Lancaster.2000.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**. v.25, n.1, p.207-225, 1987.

MAZZARACCHIO, P. ; PIFFERI, P.; KINDT, M.; MUNYANEZA, A.; BARBIROLI, G. Interactions between anthocyanins and organic food molecules in model systems. **International Journal of Food Science and Technology**. v.39, p.53-59. 2004.

MEYERS, K. J.; WATIKINS, C.B.; PRITTS, M.P.; LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 23, p. 6887-6892, 2003.

MODA, E.M.; SPOTO, M.H.F. ; HORII, J. Uso de peróxido de hidrogênio e ácido cítrico na conservação de cogumelos *Pleurotus sajor-caju* in natura. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p.291-296.2005.

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

MORAIS, H. ; RAMOS, C.; FORGÁCS, E.; CSERHÁTI, T.; OLIVEIRA, J. Influence of storage conditions on the stability of monomeric anthocyanins studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v.770, n.2, p. 297-301, 2002.

MORRIS, E. R. Molecular origin of xanthan solution properties. **American Chemical Society**, Washington, v.172, p.19-19, 1976.

MORRIS, V. J. Bacterial polysaccharides. In: STEPHEN, A. M. Food polysaccharide and their applications. New York: Basel Marcel Dekker, 1995. p. 341-375.

MORRIS, V. J. Science, structure and applications of microbial polysaccharides. In: : PHILLIPS, G.O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. Gums and Stabilisers for the Food Industry. Oxford: Pergamon Press, 1992. p.315.

MOTA, R.V. Características químicas e aceitabilidade de geleias de amora-preta de baixo teor de sólidos solúveis. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.10, n.2, p.116-121, 2007.

MOYER, R.A.; HUMMER, K.E.; FINN, C.E. et al. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.22, n.2, p.337-354, 2002.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. *Response surface methodology*: process and product optimization using designed experiments. Canada: John Wiley & Sons, 1995.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**. v. 1054, n.1, p.95-111.2004

NANDAKUMAR, V.; SINGH, T.; KATIYAR, S. Multi-targeted prevention and therapy of câncer by proanthocyanidins. **Cancer Letters**. In Press, Corrected Proof, Available online 23 May 2008.

NETZEL, G.; TIAN, Q.; SCHAWRTZ, S.; KONCZAK, I. Native Australian fruits – a novel source of antioxidants for food. **Inovative Food Science & Emerging Technologies**. v.8, p. 339-346. 2007.

NETZEL, M.; NETZEL, G.; TIAN, Q.; SCHAWRTZ, S.; KONCZAK, I. Sources of antioxidant activity in australian native fruits. Identification and quantification of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, p. 9820-9826. 2006.

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

NIE, H.; LIU, M; ZHAN, F.; GUO, M. Factors on the preparation of carboxymethylcellulose hydrogel and its degradation behavior in soil. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p 185-189, 2004.

NYMAN, N. A.; KUMPULAINEN, J.T. Determination of Anthocyanidins in Berries and Red Wine by High-Performance Liquid Chromatography **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n.49, p.4183-4187. 2001.

OCHOA, M.R.; KESSELER, A.G.; VULLIOUD, M.B.; LOZANO, J.E. Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: storage effect on composition and color. **Lebenson Wiss Technol**, v.32, n.3, p.149-153, 1999.

OFEK, I.; GOLDHAR,; SHARON, N. Anti-Eschericia coli adhesion activity of cranberry and blueberry juices. In: Toward Anti-Adhesion Therapy for Microbial Diseases. Kahane & Ofek (eds). Plenum Press, N.Y. p. 179-183. 1996.

OFEK, I; GOLDHAR, D.; ZAFRIRI D.; LIS, H.; ADAR, R.; SHARON, N. Anti-*Escherichia coli* adhesion activity of cranberry and blueberry juices, **Journal of Medicine**, v. 324, n. 22, p.1599. 1991.

OLIVEIRA, A.F.; SOLDI, V.; SILVEIRA, C.B.; ERNANI, P.R. Desenvolvimento, caracterização e aplicação de biofilmes obtidos a partir de carboximetilcelulose e alginato de sódio na liberação de nutrientes. Trabalho apresentado no 17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. In: **Anais do 17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 2006, p.7858-7869. Foz do Iguaçu, PR, Brasil.

OZGEN, M.; REESE, R.N.; TULIO Jr, A.Z.; SCHEERENS, J.C.; MILLER, A.R. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.54, p. 1151-1157, 2006.

PAZMIÑO-DURAN, E.A.; GIUST, M.M.; WROLSTAD, R.E.; GLÓRIA, M.B.A. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potencial food colorants. **Food Chemistry**, v.75, n.2, p.211-216, 2001.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K. HOWARD, L. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. **Postharvest Biology and Technology**. v.47, n.3, p. 280-285. 2007

PHILLIPS, G.O.; WILLIAMS, P.A. **Handbook of hydrocolloids**, New York. CRC Press. 2002.

POTTER, R.M.; DOUGHERTY, M.P.; HALTEMAN, W.A.; CAMIRE, M.E. Characteristics of wild blueberry-soy beverages. **LWT**. v. 40, p.807-814. 2007

PRADELLA, J.G.C. **Biopolímeros e intermediários químicos**. Centro de Gestão e estudos estratégicos: Ciência, Tecnologia e Inovação. São Paulo. 2006. 119p.

PRIEUR C.; RIGAUD, J; CHEVNIER, V.; MOUTOUNET, M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. **Journal Phytochemistry**, v. 36, n. 3, p.781-784. 1994.

PRIOR, R. L., CAO, G., MARTIM, 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.

RASEIRA, M.C.B. Cultivares. In: **A cultura do Mirtilo**. Versão on-line. Disponível em: <<http://www.embrapa.cpact.br/publicações>> Acesso em março de 2010.

REDIES, C. R., RODRIGUES, S. Á., BORGES, C. D., PEREIRA, E. R. B., VENDRUSCOLO, C. T. Influência de diferentes espessante e acidulantes na viscosidade de topping de mirtilo In: XIV Congresso de Iniciação Científica e VII

Encontro de Pós-Graduação, 2006, Pelotas. In: Anais do **XIV CIC e VII ENPOS**, 2006.

RESENDE, J.V.; SILVEIRA JÚNIOR, V. Medidas da condutividade térmica efetiva de modelos de polpas de frutas no estado congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.22 n.2, p.177-183. 2002.

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

RISTOW, N.C.; MACHADO, N.P.; COUTINHO, E.F.; CANTILLANO, F.R.F.; MALGARIN, M.B. Comportamento pós-colheita de mirtilo Brite Blue durante armazenamento refrigerado. **II Simpósio Nacional do Morango e I Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul**. In: Anais do... p.294-198. 2004^a

RIZZOLO, A.; NANI, R.C.; VISCARDI, D.; BERTOLO, G.; TORREGGIANI, D. Modification of glass transition temperature through carbohydrates addition and anthocyanin and soluble phenol stability of frozen blueberry juices. **Journal of Food Engineering**. v.56, p. 229-231. 2003.

RODRIGUES, B.B. Top 10. **Hortifruti Brasil**. p. 5-13. 2006.

RODRIGUES, S. A. **Influência de espessantes e estabilizantes nas propriedades físicas, químicas e sensoriais de topping de mirtilo**. 2006. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

RODRIGUES, S. A.; GULARTE, M.A.; PEREIRA, E.R.B.; BORGES, C.D.; VENDRUSCOLO, C.T. Influência da cultivar nas características físicas, químicas e sensoriais de *topping* de mirtilo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v.1, n.1, p.09-27, 2007.

RODRIGUES, S.A.; RODRIGUES, A.A.; VENDRUSCOLO, C.T. Efeito de espessantes e acidulantes nas características físicas química e sensoriais de *topping* de mirtilo. **Brazilian Jourl of Food Technology**, v. 13, n.E01, IISSA, p. 56-63, 2010.

ROLLER, S., DEA, I. C. M. Biotechnology in the production and modification of biopolymers for foods. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 2161-277. 1992.

ROMERO, I.; SANCHEZ-BALLESTA, M. T.; ESCRIBANO, M. I.; MERODIO, C. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 1-9. 2008.

ROSSI, M.; GIUSSANI, E.; MORELLI, R.; LO SACALZO, R.; 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.

SAFTNER, R.; POLASHOCK, J.; EHLENFELDT, M.; VINYARD, B. Instrumental and sensory quality characteristics of blueberry fruit from twelve cultivars, **Postharvest Biology Technology**, v.49, p.19-26. 2008.

SANDERSON, G.R. Polyssacharides in foods. **Food Technology**. v.35, n.5, p. 50-57. 1981.

SANDFORD, P. A.; PITTSLEY, J. E.; KNUTSON, C. A.; WATSON, P. R.; CADMUS, M. C.; JEANES, A. Variation in *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459: characterization of xanthan products of differing pyruvic acid content. In: SANDFORD, P.A.; LASKIN, A. *Extracellular Microbial Polysaccharides*. Washington: American Chemical Society, 1977. p. 192–210.

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

SAPERS.G.M.; BURHER, A.M.; PHILLIPS, J.G.; JONES, S. B.; STONE E. G. Color and composition of highbush blueberry cultivares. **Journal of American Society Horticultural Science** n.109, p. 105-111. 1984.

SARNI-MANCHADO, P. CHEVNIER, V., MOUTOUNET, M. “Reactions of Polyphenoloxidase Generated Caftaric Acid o-Quinone with Malvidin 3-o-Glucoside,” **Journal of Phytochemistry**, v. 45, n. 7, p.1635-1369.1997.

SATUE-GARCIA, M.T.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E.N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 3362-3367, 1997.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130 n.8, p.2073-2085.2000.

SEERAM, N.P. Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n. 3, p. 627-629. 2008.

SEERAM, N.P.; AVIRAM,M.; ZHANG,Y.; HENNING,S.M.; FENG, L.; DREHER, M.; HEBER, D. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.4, p.1415-1422. 2008.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n.50, p. 2432-2438.2002.

SETCHELL, K.D.R.; CASSIDY, A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **Journal of Nutrition**, v.129, p.758-767. 1999.

SEVERO, J.; GALARÇA, S.P.; AIRES, R.F.CANTILLANO, R.F.F.; ROMBALDI, C.V.; SILVA, J.A. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal of Food Technology**. II SSA, p. 65-70, 2009.

SHARMA, S.C. Gums and hydrocolloids in oil-water emulsions. **Food Technology**. v.35, n.1, p. 59-67. 1981.

SILVA, F.L.; ESCRIBANO-BAILÓN, M.T.; ALONSO, J.J.P.; RIVAS-GONZALO, J.C.; SANTOS BUELGA, C. Anthocyanin pigments in strawberry. **Lebenson Wiss Technol**, v.40, n.1, p.374-382, 2007.

SILVA, P.R. Mercado e comercialização de amora, mirtilo e framboesa. **Análise e Indicadores do Agronegócio**. v.2, n.12, p. 1-6, 2007.

SILVA, R.S. **Potencial antioxidante correlacionado com fenóis totais e antocianinas de cultivares de amora-preta, mirtilo, morango e pêssego**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (Pelotas), 2007, 58p.

SILVA, S.D.A.; ANTUNES, L.D.C.; ANTHONISEN, D.G.; LEMÕES, J.S.; GONÇALVES, E.D. Caracterização de genótipos de mirtilo utilizando marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.30, n.1, p. 180-184, 2008.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.J. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, n.3, p.144-158, 1965.

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

SLONEKER, J.H.; JEANES, A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL – 1459. **Can. Journal of Chemistry**. 1962.

SPANOS, G.A.; WROLSTAD, R.E. Phenolics of Apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.40, p.1478-1487, 1992.

SRIVASTAVA, A. AKOH, C.C.; YI, W.; FISCHER, J.; KREWER, G. Effect of Storage Conditions on the Biological Activity of Phenolic Compounds of Blueberry Extract Packed in Glass Bottles. **Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, n.7, p. 2705-2713. 2007.

STANKOWSKI, J.; MUELLER B.; ZELLER, S. Location of a second O-acetyl group in xanthan gum by the reductive-cleavage method. **Carbohydrate Research**, n. 241, p. 321-326, 1993.

STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. Vegetables, fruit and cancer 1. Epidemiology. **Cancer Cause Control**., v.2, n.5, p.325-357, 1991.

STOJANOVIC, J.; SILVA, J.L. Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**. v. 101. p.898-906. 2007.

STONER, G.D.; WANG, L.; ZIKRI, N.; CHEN, T.; HECHT, S.S.; HUANG, C.; SARDO, C.; LECHNER, J.F. Cancer prevention with freeze-died berries and berry components. **Seminars in Cancer Biology**, v.17, n. 5, p.403-410, 2007.

STRIK, B.C. Horticultural practices of growing highbush blueberries in the ever-expanding U.S. and global scene. **Journal of the American Pomological Society**, v.61, p.148-150, 2007.

SU, L.; XIA, W.; Food phenolics, pros and cons: a review. **Food Review International**, v.21, n.4, p.368-388, 2005.

SU, M.S.; CHIEN, P.J. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. **Food Chemistry**, v. 104, p.182-187, 1997.

SU, M.S.; SILVA, J. L. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. **Food Chemistry**. v.97, n.3, 2006.

SUN, C.; GUNASEKARAN, S.; RICHARDS, M.P. Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**. v.21, p.555–564. 2007.

SUN, C.; GUNASEKARAN, S.; RICHARDS, M.P. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. **Food Hydrocolloids**. v.23, p.165-174. 2009.

SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; LIU, R.H. . Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 25, p. 7449-7454, 2002

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

TAKUYA, B. MEGUMI, I.; KIMIKO, °; MASAATSU, Y.; HISAFUMI, U. HPLC analysis of anthocyanins in fresh blueberry fruit and jams. **Food Preservation Science**. v.29, n.3, p. 153-157. 2003.

TANCHEV, S.; LONCHEVA, N. Products of Thermal Degradation of the anthocyanins Cyanidin-3-glucoside, Cyanidin-3-rutinoside, and Cyanidin-3- sophoroside. **Die Nahrung**, v. 20, n. 10, p.889-893.1974.

TEH,Y.H.; DOUGHERTY,M.P., CAMIRE, M.E. Frozen blueberry-soy dessert quality. **Journal of Food Science**. v.70, n.2, p.119-122. 2005.

THEBAUDIN, J.Y. Dietary fibres: Nutritional and technological interest. **Trends in Food Science and Technology**. v.8, n.2, p.41-47. 1997.

TODD, R. D. Microencapsulation and flavour industry. **Flavour Industry**, London, v. 1, n. 11, p. 768-771, 1970.

TORALLES, R.P.; VENDRUSCOLO, J.L.; VENDRUSCOLO, C.T. Reologia de purê homogeneizado de pêssgo: efeito da temperatura e da concentração. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.1, p.1-8, 2006.

TOURJEE, K.; BARRETT, D.M.; ROMERO, M.V.; GRADZIEL, T.M. Measuring flesh color variability among processing clingstone peach genotypes differing in carotenoid composition. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v.123, n.3, p. 433-437, 1998.

VENDRUSCOLO, C. T., RODRIGUES, S. Á., PEREIRA, E. R. B., REDIES, C. R., VENDRUSCOLO, J. L. Characterization of blueberry topping using xanthan gum as thickening agent In: IFT - Annual Meeting + Food Expo, 2006, Orlando.

WALTON, M. C. et al. Anthocyanins absorption and antioxidant status in pigs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 20, p. 7940-7946, 2006

WALTON, N.J.; BROWN, D.E. **Chemicals from plants-Perspectives on plant secondary products**. London, 1999. 425p.

WANG, W.D.; XU, S.Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. **Journal of Food Engineer**, v.82, n.3, p. 271-275, 2007.

WESCHE EBELING, P.; MONTGOMERY, M.W. Strawberry polyphenoloxidase: its role in anthocyanin degradation. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 3, p.731-734, 745, 1990.

WHISTLER; J.N.; BEMILLER, R.L. 1993. Xanthan, gellan, wellan, e rhamosan. In: KANG, K.S.; PETTIT, D.J., **Industrial gums – Polysaccharides and their derivatives**. New York, Academic Press, p. 342-371.

WONG, D.W.S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 1995.

XUE, J.; NGADI, M. Effects of methylcellulose, xanthan gum and carboxymethylcellulose on thermal properties of batter systems formulated with different flour combinations. **Food Hydrocolloids**. v.23, p.286-295. 2009.

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

ZHANG, H.L.; BUSHWAY, A.; WORK, T.; CAMIRE, M.E.; WORK, R. Prevention of anthocyanin leakage of individually quick frozen (IQF) lowbush blueberries in blueberry muffins. **Acta Horticulture**, v. 446, p.211-217, 1997.

ZHANG, Y.; VAREED, S.K.; NAIR, M.G. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetable. **Life Science**, v.76, n.13, p.1465-1472, 2005.