

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE EM FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE
DIFERENTES CULTIVARES DE MIRTILO**

TESE DE DOUTORADO

**ROBERTA OLIVEIRA SANTOS
Santa Maria, RS, Brasil**

2015

**COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM
FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE DIFERENTES CULTIVARES DE
MIRTILO**

Roberta Oliveira Santos

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Neidi Garcia Penna

**Santa Maria, RS, Brasil.
2015**

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Roberta Oliveira Santos. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Inconfidentes, n. 5 ap 101, Bairro Nossa Senhora Medianeira, Santa Maria, RS, Brasil. CEP: 97015-290

Fones: (55) 3027-5981; (55) 8408-3536; E-mail: roberta.santos@mail.ufsm.br

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos
Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de
Doutorado

**COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM
FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE DIFERENTES CULTIVARES DE
MIRTILO**

elaborada por

Roberta Oliveira Santos

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Comissão examinadora:

Neidi Garcia Penna, Dra.
(Presidente/Orientadora)

Carlos Eugenio Daudt, PhD. (UFSM)

Claudia Kaehler Sautter, Dra. (UFSM)

Rosane da Silva Rodrigues, Dra. (UPel)

Silvana Maria Michelin Bertagnolli, Dra. (UNIFRA)

*Aos meus pais Vera e Roberto Santos,
e ao meu companheiro Rodrigo
pelo amor, paciência e incentivo,*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me prova todos os dias que sem ele nada sou.

Agradeço à minha melhor amiga, minha mãe, Vera Regina Oliveira Santos, por não deixar transparecer a saudade e sempre me incentivar a seguir o meu caminho.

Ao meu pai Roberto Warlet Santos, por acreditar no meu potencial e ser o combustível do meu esforço.

Agradeço ao meu companheiro Rodrigo da Rocha Silva por me apoiar e estar de mãos dadas comigo desde o primeiro passo desta caminhada.

Aos meus familiares e amigos que não pouparam ligações, mensagens e apoio em todos os momentos.

À minha orientadora Neidi Garcia Penna, pela acolhida, paciência, dedicação e por ser exemplo de ética e profissionalismo.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) pela oportunidade.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos que contribuíram para o meu crescimento.

À professora Dr^a Claudia Kaeller Sautter pela paciência, amizade, ensinamentos e sem dúvida por ser muito mais que minha coorientadora.

Aos professores Carlos Eugenio Daudt, Rosane Rodrigues, Silvana Bertagnolli, Aline Fogaça e Cláudia Rosa pela disponibilidade de participar como banca de defesa de tese/qualificação e pelas valiosas considerações ao trabalho.

Aos colegas do PPGCTA, em especial ao grupo da sala 109, Fernanda Franco, Clarissa Obem, Marcia Silveira, Carine Comarella, Taísa Treptow, Rodrigo Gindri, Laura Mascarin, Luiz Hernandez e Marcia Arenhart, por terem me acompanhado, me ouvido e me puxado as orelhas quando foi necessário.

Ao meu eterno trio, Luana Maurer, Simone Trindade, Andriely Bersch, pela amizade, incentivo e momentos descontraídos que passamos juntas.

À Fundação de Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa para o desenvolvimento deste trabalho

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE DIFERENTES CULTIVARES DE MIRTILO

AUTOR: ROBERTA OLIVEIRA SANTOS

ORIENTADOR: NEIDI GARCIA PENNA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 18 de março de 2015.

O mirtilo é uma espécie frutífera originária do hemisfério norte, onde é cultivada e comercializada em larga escala, principalmente nos Estados Unidos, Canadá, França e Alemanha. Nos últimos anos o mirtilo tem recebido atenção especial, principalmente por apresentar potencialidades benéficas à saúde, devido à presença de compostos antioxidantes. Atualmente a produção vem crescendo progressivamente, no entanto por ser um fruto com curta vida de prateleira, faz-se necessário o estudo de novas formas de processamento, para obtenção de produtos que permitam que o sabor e as propriedades funcionais do fruto sejam desfrutados mesmo fora da safra. Neste sentido, as bebidas fermentadas de mirtilo apresentam-se como uma alternativa para a ampliação do setor das bebidas e oferecendo ao consumidor produtos de valor agregado, assim como um novo mercado aos produtores brasileiros de mirtilo. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo produzir fermentados alcoólicos de mirtilo, comparando as características físico-químicas e compostos fenólicos dos frutos com as bebidas obtidas. Além disso, objetivou-se analisar a influência da desacidificação e chaptalização nas características químicas e sensoriais dos fermentados, assim como acompanhar o comportamento dos compostos antioxidantes e cor durante o armazenamento. Dentre as cultivares estudadas, a cultivar Climax, apresentou a maior composição fenólica, no entanto não apresentou boa extração. Os fermentados das cultivares Darrow e Elliot apresentaram o maior conteúdo de antocianinas e a maior capacidade antioxidante. A desacidificação com carbonato de cálcio dos fermentados alcoólicos da cultivar Aliceblue promoveu aumento do pH, no entanto a chaptalização com glicose de milho originou fermentados com elevada quantidade de açúcar residual e conseqüentemente pouco álcool. Quanto à preferência de cor, os fermentados favoritos foram aqueles cujos tons vermelhos se sobressaíram em relação aos tons amarelos, indicando uma possível simpatia pelos vinhos jovens. Quando armazenados durante 150 dias, os fermentados alcoólicos apresentaram redução nos teores de antocianinas, coerente com a redução dos tons de vermelho. No entanto uma possível transformação destes compostos pode justificar o aumento do teor de compostos fenólicos, e manutenção da capacidade antioxidante, apesar da oscilação no decorrer dos 150 dias de armazenamento.

Palavras chave: Fermentação alcoólica. Antocianinas. Compostos Fenólicos.

ABSTRACT

Doctoral Thesis
Graduate Program in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BLUEBERRY WINES FROM DIFFERENT CULTIVAR

AUTHOR: ROBERTA OLIVEIRA SANTOS

ADVISOR: NEIDI GARCIA PENNA

Date and Venue of Thesis Defense: Santa Maria, march 18th, 2015

Blueberries are an original fruit from the northern hemisphere, where it is grown and marketed on a large scale, especially in the United States, Canada, France and Germany. In recent years the blueberry has received special attention especially for its beneficial health properties due to the presence of antioxidant compounds. Currently the production grows gradually, however due to low shelf life, it is necessary to study new ways of processing for products that allow the flavor and functional properties of the fruit to be enjoyed even outside of the crop. The blueberry wine making is an alternative to enlarge the beverage industry and offers to the consumer a value-added product as well as a new market for Brazilian blueberry producers. The objective of this study was to produce wines from blueberries cultivated in Brazil, explore their antioxidant properties and investigate the relationship between fruits and blueberry wines. They also analyze the influence of deacidification and chaptalization in the chemical and sensory characteristics of fermented and observe the behavior of antioxidants compounds and color during storage. Among the cultivars, the cultivar Climax, had the highest phenolic composition, however did not show good extraction. Blueberry wines of Darrow and Elliot cultivars showed the highest concentration of anthocyanins and the highest antioxidant capacity. The use of the calcium carbonate on blueberry wines of Aliceblue cultivar promoted an increase in pH, however the chaptalization with corn syrup originated fermented with high amount of residual sugar and consequently little alcohol. Regarding the preferred color the most preferred wines were those whose red tones stood out in relation to yellow tones, indicating a possible preference for young wines. When stored for 150 days, the alcoholic beverage decreased in anthocyanin content, consistent with the reduction in shades of red. However, a possible transformation of these compounds can justify the increased content of phenolic compounds and maintaining the antioxidant capacity in spite of the oscillation during 150 days of storage.

Keywords: Alcoholic fermentation. Anthocyanins. Phenolics Compounds.

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 - Análises físico-químicas de cultivares de mirtilos produzidos no RS, safra 2012.	47
Tabela 2 - Análises físico-químicas de fermentados de mirtilo produzidos no RS, safra 2012.	48
Tabela 3 - Composição fitoquímica de cultivares de mirtilos produzidos no RS, safra 2012.	49
Tabela 4 - Composição fitoquímica de fermentados de mirtilo produzidos no RS, safra 2012.	50
Tabela 5 - Capacidade antioxidante de cultivares de mirtilos produzidos no RS, safra 2012	51
Tabela 6 - Capacidade antioxidante de fermentados de mirtilo produzidos no RS, safra 2012.	52
Tabela 7 - Rendimento dos fermentados de mirtilo produzidos no RS, safra 2012.	53

Artigo 2

Tabela 1 - Composição química de fermentados de mirtilo cv. Aliceblue, Itaara-RS, safra 2012, com adição de carbonato de cálcio e diferentes fontes de chaptalização.....	59
Tabela 2 - Somatório das ordens do teste de ordenação dos fermentados de mirtilo cv. Aliceblue, Itaara-RS, safra 2012.	60

Artigo 3

Tabela 1 - Composição físico-química de fermentados de mirtilo cv. Aliceblue chaptalizados e desacidificados.	80
Tabela 2 - Valores médios de densidades óticas (420, 520 e 620 nm), intensidade e tonalidade de cor dos fermentados alcoólicos de mirtilo cv. Aliceblue no decorrer de 150 dias de armazenamento.	81

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Frutos de mirtilo.....	15
Figura 2 - Mirtilos cv. Climax.....	18
Figura 3 - Mirtilos cv. Aliceblue.....	18
Figura 4 - Mirtilos cv. Georgiagem.....	19
Figura 5 - Mirtilos cv. Elliot.....	19
Figura 6 - Mirtilos cv. Bluecrop.....	20
Figura 7 - Mirtilos cv. Darrow.....	20
Figura 8 - Classificação geral dos compostos fenólicos.....	22
Figura 9 - Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoico (a) e hidroxicinâmicos (b).....	23
Figura 10 - Estruturas das antocianidinas (A) e antocianinas (B).....	24
Figura 11 - Estrutura química das antocianinas.....	25

Artigo 1

Figura 1 - Curvas de fermentação das diferentes cultivares de mirtilo: acompanhamento dos sólidos solúveis totais (°Brix) ao longo do tempo.	46
---	----

Artigo 3

Figura 1 - Antocianinas totais em fermentados alcoólicos 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + 0,9 g L ⁻¹ CaCO ₃ , (T2) Sacarose + 1,8 gL ⁻¹ CaCO ₃ , (T3) Glicose de milho + 0,9 g gL ⁻¹ CaCO ₃ , (T4) Glicose de milho + 1,8 gL ⁻¹ CaCO ₃	82
Figura 2 - Antocianinas monoméricas em fermentados alcoólicos 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + 0,9 g L ⁻¹ CaCO ₃ , (T2) Sacarose + 1,8 gL ⁻¹ CaCO ₃ , (T3) Glicose de milho + 0,9 g gL ⁻¹ CaCO ₃ , (T4) Glicose de milho + 1,8 gL ⁻¹ CaCO ₃	83
Figura 3 - Compostos fenólicos totais em fermentados alcoólicos 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + 0,9 g L ⁻¹ CaCO ₃ , (T2) Sacarose + 1,8 gL ⁻¹ CaCO ₃ , (T3) Glicose de milho + 0,9 g gL ⁻¹ CaCO ₃ , (T4) Glicose de milho + 1,8 gL ⁻¹ CaCO ₃	84
Figura 4 - Capacidade antioxidante (DPPH) de fermentados alcoólicos 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + 0,9 g L ⁻¹ CaCO ₃ , (T2) Sacarose + 1,8 gL ⁻¹ CaCO ₃ , (T3) Glicose de milho + 0,9 g gL ⁻¹ CaCO ₃ , (T4) Glicose de milho + 1,8 gL ⁻¹ CaCO ₃	85

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Objetivos.....	14
1.1.1. Objetivos específicos.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. O mirtilo	15
2.2. Características das cultivares de mirtilo	17
2.2.1. Grupo Rabbiteye.....	17
2.2.2. Grupo Southern Highbush	18
2.2.3. Grupo Northern Highbush.....	19
2.3. Capacidade Antioxidante do Mirtilo	21
2.4. Fermentado alcoólico	26
3. ARTIGOS.....	30
Artigo 1: CARACTERIZAÇÃO E PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DE MIRTILOS E SEUS FERMENTADOS ALCOÓLICOS	31
Resumo.....	31
Introdução	34
Material e Métodos.....	35
Resultados e discussão	37
Conclusão	40
Referências bibliográficas	42
Artigo 2: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E AVALIAÇÃO SENSORIAL DE FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE MIRTILO	54
Resumo.....	54
Introdução	55
Material e Métodos.....	56
Resultados e Discussão.....	57
Conclusão	61
Referências Bibliográficas.....	62
Artigo 3: COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E EVOLUÇÃO DA COR DURANTE O ARMAZENAMENTO DE FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE MIRTILO cv. ALICEBLUE.....	65
Resumo.....	65
Abstract.....	66
Introdução	67
Resultados e Discussão.....	72
Conclusão	76
Referências Bibliográficas.....	77
4. DISCUSSÃO.....	86
5. CONCLUSÃO.....	92
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

1. INTRODUÇÃO

O mirtilo é uma espécie frutífera originária do hemisfério norte, onde é cultivada comercialmente em larga escala, principalmente nos Estados Unidos, Canadá, França e Alemanha, devido às propriedades funcionais e oportunidades de negócio que o fruto apresenta. A cultura do mirtilo vem se desenvolvendo de forma crescente em todo o mundo (FAO, 2013). Nas últimas décadas houve grande aumento do interesse científico pelos compostos antioxidantes de alimentos, principalmente devido à relação com a prevenção de doenças degenerativas e cardiovasculares (NETO, 2007; PEREIRA; CARDOSO, 2012). Conhecido como o fruto da longevidade, o mirtilo representa uma importante fonte de compostos bioativos, no que diz respeito às atividades antioxidantes, e tudo indica que este alto potencial antioxidante esteja relacionado com o elevado teor de antocianinas, pigmento responsável também pela cor púrpura (CASTREJÓN et al., 2008; KIM et al., 2013; NAMIESNIK et al., 2013). No entanto, sabe-se que diferenças genéticas entre cultivares, o estágio de maturação, condições ambientais no momento que antecede à colheita, condições de estocagem pós-colheita e processamento podem variar essas quantidades (EHLENFELDT; PRIOR, 2001).

No Brasil, o mirtilo foi inserido na década de 80, através de uma coleção de plantas provenientes da Universidade da Flórida pela Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS), porém a primeira iniciativa comercial no País deu-se a partir de 1990, em Vacaria (RS) (FACHINELLO, 2008) sendo as principais cultivares pertencentes ao grupo *Rabitleye* (ANTUNES; RASEIRA, 2007). Apesar de não existirem estatísticas oficiais, estima-se que atualmente a área plantada no Brasil seja de 400 hectares aproximadamente, e com aumento progressivo na área plantada (IBRAF, 2013).

Com a crescente demanda, o sabor exótico do mirtilo está cada vez mais popular entre os consumidores brasileiros, sendo possível observar no mercado diversos produtos com o fruto, como sucos, geleias, polpa de fruta, sorvetes e iogurtes (HOWARD et al., 2010; MORAES et al., 2007; PELEGRINE et al., 2012). No que diz respeito a vinhos, a legislação o define como a bebida resultante da fermentação do mosto de uvas frescas, não admitindo a fermentação de qualquer

outra fruta (BRASIL, 1988). Porém, devido ao teor de água, açúcares e presença de nutrientes suficientes para as leveduras, frutos e outros vegetais também podem servir de matéria prima para a produção de “vinhos”, no entanto, segundo o decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, essas bebidas são definidas como “fermentado de ...”, acrescido do nome da fruta utilizada, e devem ser obtidas da fermentação do mosto de fruta sã, fresca e madura e possuir graduação alcoólica de 4 a 14 % em volume, a 20 °C (BRASIL, 2009)

Com o aumento do cultivo e consumo, a produção de fermentados alcoólicos de fruta, em diversos países, têm sido largamente pesquisada e incentivada (ASSIS-NETO et al., 2010; MUNIZ et al., 2002; SEGTOEWICK; BRUNELLI; VENTURINI FILHO, 2013; SILVA et al., 2008). Os norte-americanos já produzem alguns tipos de fermentados alcoólicos de frutas, os denominados *Fruit Wines*, que são comercializados em diversos locais dos Estados Unidos, Canadá e pela internet, através de lojas virtuais (DHARMADHIKARI, 1996; RUPASINGHE; CLEGG, 2007).

Devido sua semelhança com a uva, a elaboração de fermentados alcoólicos de mirtilos, é uma opção de derivados do fruto, que além de ampliar o setor das bebidas, propicia o desenvolvimento de um produto diferenciado com possíveis benefícios relacionados à saúde. Além disso, produtos industrializados possuem maior vida de prateleira que a fruta fresca e permitem que o sabor e as propriedades funcionais do fruto sejam desfrutados mesmo fora de sua safra (JOHNSON; GONZALEZ DE MEJIA, 2012; SULLIVAN, 2003; YANG et al., 2012).

1.1. Objetivos

O objetivo principal desta pesquisa foi elaborar bebidas fermentadas a partir diferentes variedades de frutos de mirtilo comparando as características físico-químicas e compostos fenólicos dos frutos com as bebidas obtidas

1.1.1. Objetivos específicos

- Avaliar os potencial fenólico de frutos de mirtilo e sua relação com o teor de compostos fenólicos e cor dos fermentados obtidos ;
- Avaliar o efeito da adição de carbonato de cálcio e diferentes tipos de açúcares na chaptalização, nas características físico químicas, sensoriais e na atividade antioxidante dos fermentados de mirtilo;
- Acompanhar o comportamento nos teores de compostos antioxidantes e cor dos fermentados de mirtilos durante o armazenamento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O mirtilo

Mirtilos são plantas de clima temperado, que requerem invernos frios em função da sua classe e espécie (ALLEMANN; YOUNG, 2006). O fruto é uma baga de cor azul-escura, de formato achatado, com aproximadamente 1 a 2,5 cm de diâmetro e 1,5 a 4 g de peso. Sua aparência é semelhante ao araçá, porém com coloração azulada e tamanho de uma baga de uva (Figura 1). Apresentam em seu interior pequenas sementes e tem sabor doce-ácido a ácido (FACHINELLO, 2008). Adaptando-se às mais variadas condições climáticas, seu cultivo é oportuno desde regiões com 300 horas de frio abaixo de 7,2°C, até regiões com 1.100 horas de frio (KREWER; NESMITH, 2006). Com alta rentabilidade, o mirtilo é apreciado no mundo inteiro, sendo uma importante alternativa tanto para pequenos quanto para grandes produtores (PAYNE, 2005).



Figura 1: Frutos de mirtilo

Fonte: <http://www.gettyimages.com>

O gênero *Vaccinium* inclui 450 espécies de mirtilheiros, sendo que as que possuem expressão comercial são divididas em três grupos, de acordo com o genótipo, hábito de crescimento, tipo de fruto produzido e outras características. Os grupos são: mirtilheiros do grupo *Lowbush* (arbusto de porte baixo), mirtilheiros do grupo *Highbush* (arbusto de porte alto) e mirtilheiros do grupo *Rabbiteye* (“olho de coelho”), sendo as duas últimas as de mais ampla adaptação edafoclimática (FACHINELLO, 2008).

Os mirtilheiros do grupo *Lowbush* (arbusto de porte baixo), possuem plantas de até 50 cm de altura, com exigência de 650 a mais de 850 horas de frio anuais (<7,2

°C), sendo que a maioria pertence à espécie *V. angustifolium* e é responsável por 31% da produção mundial. No grupo *Highbush*, as plantas têm aproximadamente 2 m de altura, muitas delas são híbridos de *V. corymbosum* com outras espécies de mirtilheiros, apresentam exigência de 650 a 850 horas de frio anuais e representam 55% da produção mundial. Alguns autores os classificam em *Northern* e *Southern Highbush* em função da sua região de cultivo (KREWER; NESMITH, 2006). Dentre os demais grupos, é a de melhor qualidade, com frutos mais saborosos e de maior tamanho, atingindo até 2,5 cm de diâmetro e 4 g por fruto. Já os mirtilheiros do grupo *Rabbiteye*, são caracterizados pelas plantas de 2 a 4 m de altura, requerem menor exigência em frio, entre 300 e 400 horas de frio anuais e representam 15% da produção mundial. Originário do sul da América do Norte tem como representante a espécie *V. ashei* Reade. Em relação ao grupo anterior, produz frutos de menor tamanho, com maior produção por planta e frutos de maior conservação pós-colheita (SOUZA et al., 2007).

No Brasil, a cultura do mirtilo foi introduzida na década de 80 no Rio Grande do Sul, embora a maior expansão do cultivo comercial na região Sul tenha se iniciado apenas no ano de 2000, devido a crescente demanda mundial e preços atrativos da fruta fresca no mercado europeu (FACHINELLO, 2008). As plantações concentram-se nos Estados do Rio Grande de Sul (RS), Santa Catarina (SC), Paraná (PR), São Paulo (SP) e Minas Gerais (MG). Em 2008, o mirtilo ganhou grande força no RS, com comprovado potencial produtivo principalmente das cultivares do grupo *Rabbiteye*, nas condições brasileiras (ANTUNES et al., 2008).

A cidade de Vacaria é a pioneira e a detentora da maior produção de mirtilo do RS, responsável por 75%, seguida por Caxias do Sul e Pelotas. Já a região de Itaara, localizada no centro do estado, não figura entre as maiores produtoras, no entanto suas condições climáticas (invernos rigorosos e verões secos) e localização (425 m acima do nível do mar) encorajaram alguns produtores a se dedicarem ao cultivo (PREFEITURA MUNICIPAL DE ITAARA-RS, 2010).

Apesar de não haver dados oficiais, estima-se que a área plantada atualmente esteja em torno de 400 ha. Entre 2003 e 2009, foi observado que tanto o volume quanto o valor das exportações brasileiras de mirtilo aumentaram significativamente (IBRAF, 2013). Além do aumento da produção, nas regiões

tradicionais, diversos estudos tem visado o desenvolvimento de variedades com menor exigência de frio. Com o melhoramento genético, estima-se a inclusão de novas regiões produtoras na América do Sul, obtendo cultivares com características agrônômicas satisfatórias (CANTUARIAS-AVILÉS et al., 2014).

2.2. Características das cultivares de mirtilo

Para a maior parte das regiões do Sul do Brasil, onde o mirtilo tem maior possibilidade de adaptação, a espécie *Vaccinium ashei* Reade é a mais promissora (FACHINELLO, 2008), no entanto algumas cultivares da espécie *Vaccinium corymbosum* apresentaram boa adaptação nas regiões mais frias do estado do RS (HOFFMANN; ANTUNES, 2004). A seguir algumas cultivares de mirtilo produzidas no estado.

2.2.1. Grupo Rabbiteye

- **Climax**

Originária de Tifton, na Geórgia, a cv Climax (Figura 2) foi desenvolvida pela Coastal Plain Experimental Station e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. A cv. Climax tem uma necessidade de frio de cerca de 400 a 450 horas, e produz bagas de tamanho pequeno a médio, coloração azul-escura e polpa saborosa (Figura 2). A firmeza da fruta é excelente, tornando este cultivar muito adequado para a colheita mecânica para o mercado de produtos frescos (KREWER; NESMITH, 2006). Amadurece de maneira relativamente uniforme. Em Pelotas - RS, o diâmetro e o peso médio dos frutos variam de 1,0 a 1,7 cm e 1,8 g, respectivamente. A película apresenta-se coberta por bastante pruína, dando o aspecto bem azulado à mesma; o teor de sólidos solúveis varia entre 10° e 12,4° Brix e o sabor definido como doce ácido (RASEIRA, 2004).



Figura 2: Mirtilos cv. Climax

Fonte: www.gardenerdirect.com

- **Aliceblue**

Originária de Gainesville, na Flórida, a cultivar Aliceblue (Figura 3) mostrou muito boa adaptação às condições do RS. Com uma necessidade de 300-400 horas de frio, produz frutos de sabor equilibrado tanto em acidez, quanto em açúcar. O teor de sólidos solúveis tem sido em média de 11,3 a 11,8°Brix. O peso médio do fruto tem variado entre 1,5 e 1,8 g. De maturação precoce, no Rio Grande do Sul floresce de meados de agosto a início de setembro e a colheita inicia em meados de novembro (RASEIRA, 2004).



Figura 3: Mirtilos cv. Aliceblue

Fonte: www.gardenerdirect.com

2.2.2. Grupo Southern Highbush

- **Georgiagem**

Com exigência de 350 a 500 horas de frio (KREWER; NESMITH, 2006), a cv Georgiagem (Figura 4) é originária da Geórgia, sendo basicamente *V. corymbosum*. Com produtividade de baixa a média, sua produção é precoce, iniciando no final de

outubro até segunda quinzena de novembro (ANTUNES et al., 2008). Produtora de frutos de muito boa cor e qualidade, com firmeza média e de sabor agradável (RASEIRA, 2004).



Figura 4: Mirtilos cv. Georgiagem

Fonte: www.starkbros.com

2.2.3. Grupo Northern Highbush

- **Elliot**

Apesar da maturação tardia em período muito curto, as plantas da cv. Elliot (Figura 5) são muito produtivas, com frutos de tamanho médio e coloração desde o azul claro ao azul escuro (KREWER; NESMITH, 2006). Exige mais de 800 horas de frio (NESMITH, 2008), sendo um arbusto muito vigoroso, ereto, com fruta firme, de sabor suave e ligeiramente agriçoso (KREWER; NESMITH, 2006).



Figura 5: Mirtilos cv. Elliot

Fonte: www.starkbros.com

- **Bluecrop**

A cv. Bluecrop (Figura 6) necessita mais de 800 horas de frio (KREWER; NESMITH, 2006). Arbusto vigoroso, ereto, muito produtivo, com frutas grandes, cor azul, apresenta boa firmeza, sendo resistente ao rompimento, além de saboroso e ligeiramente aromático (RASEIRA, 2004).



Figura 6: Mirtilos cv. Bluecrop

Fonte: www.starkbros.com

- **Darrow**

Com maturação tardia, as plantas de mirtilo da cv. Darrow são vigorosas e produtivas. O fruto é grande, de cor azul e sabor ligeiramente ácido. Bom para as vendas *in natura*, mas não é adequado para colheita mecânica devido a sensibilidade (KREWER; NESMITH, 2006).



Figura 7: Mirtilos cv. Darrow

Fonte: www.starkbros.com

2.3. Capacidade antioxidante do Mirtilo

Antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias, formado por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e, ainda, enzimas, que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres, formados nas reações metabólicas ou por fatores exógenos ao organismo humano. A geração de radicais livres, fisiológica ou não, é normalmente equilibrada pela ação dos antioxidantes endógenos e exógenos (OU et al., 2002).

A produção de radicais livres ocorre naturalmente no organismo, como um processo fisiológico. Esses compostos têm sido indicados como os principais responsáveis pelo envelhecimento, doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares e disfunções cerebrais (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Substâncias capazes de neutralizar os radicais livres são frequentemente encontradas nas frutas e hortaliças, o que resulta em uma crescente conscientização sobre a importância de inserir esses alimentos nos hábitos alimentares. Fazem parte dessas substâncias as vitaminas C e E, os carotenóides e os compostos fenólicos (JACQUES; ZAMBIAZI, 2011).

Os compostos fenólicos estão entre as mais difundidas classes de metabólitos secundários dos vegetais. A maior importância dada a estes compostos deve-se ao fato de muitos possuírem propriedades potencialmente benéficas para a saúde humana, o que os torna de grande importância para produtores, processadores e consumidores (ANGELO; JORGE, 2007). Devido às correlações positivas encontradas entre a atividade antioxidante e a concentração de compostos fenólicos, há indicação de que estes são os principais responsáveis pela ação antioxidante presente nos frutos (SELLAPPAN; AKOH; KREWER, 2002; VILLAÑO et al., 2007).

Os compostos fenólicos compreendem compostos químicos com estrutura contendo um anel aromático (benzeno) com pelo menos uma hidroxila (OH). Numerosos isômeros e outros compostos ocorrem em decorrência da adição de grupos OH e com a mudança de sua posição no anel, bem como pela substituição das OH e adição de grupos metila (CH₃) (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Frequentemente são classificados em dois grupos: os flavonóides e os não

flavonóides (Figura 8), ambos de baixo peso molecular, denominados metabólitos secundários. Dentre os fenólicos, destacam-se os flavonóis, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (KING; YOUNG, 1999). Sua presença nas frutas e hortaliças tem papel na coloração e no “flavor”, influenciando na adstringência, acidez, sabor amargo dos alimentos, além de contribuir para a estabilidade oxidativa dos produtos (GAROFULIĆ et al., 2012; VIDAL et al., 2004; WROLSTAD; DURST; LEE, 2005).

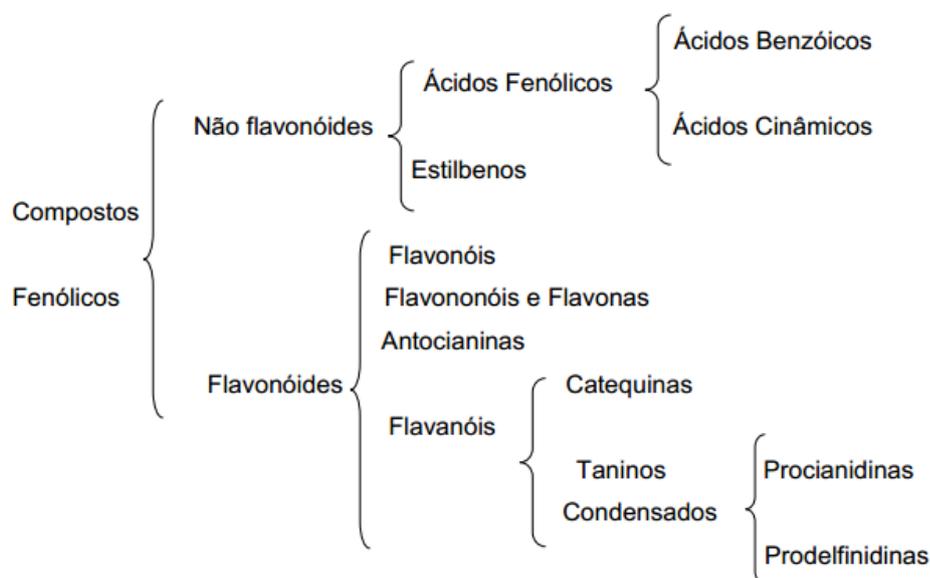


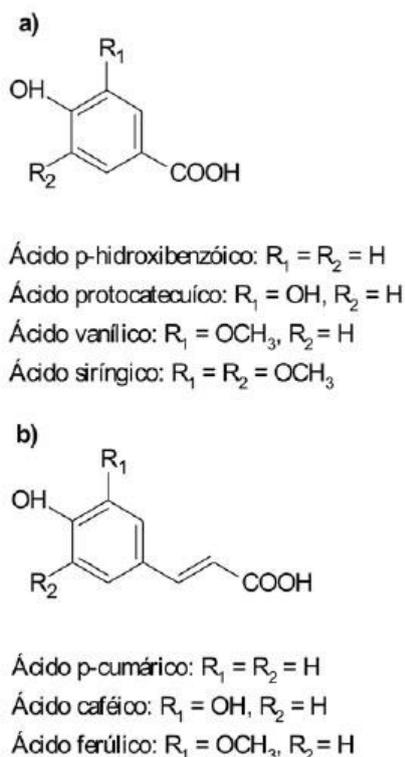
Figura 8: Classificação geral dos compostos fenólicos

Fonte: (ZAMORA, 2003)

Dentre os compostos fenólicos não flavonóides, destacam-se os ácidos fenólicos, classificados em ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos (Figura 8). Tais ácidos são representados pelos ácidos gálico, elágico, p-cumárico, ferrúlico e cafeico, além de se apresentarem sob sua forma natural, podem também ligarem-se entre si ou com outros compostos. A combinação mais importante destes ácidos ocorre com o ácido caféico, o qual, associado a um álcool-ácido cíclico, denominado ácido quínico, origina o ácido clorogênico (SOARES, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Em mirtilos, o ácido clorogênico foi reportado como o ácido fenólico mais abundante, atingindo níveis de 68 mg 100 g⁻¹ de fruto (WANG et al., 2012). No entanto compostos como a epicatequina, a cianidina e a quercetina, já foram

relatados por possuir atividade antioxidante maior que a do ácido clorogênico (HEO et al., 2007).



(b) Figura 9: Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoico (a) e hidroxicinâmicos

Fonte: (SOARES, 2002)

Os flavonóides englobam uma classe muito importante de pigmentos naturais e têm a estrutura química C6-C3-C6, sendo que as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos. Os pigmentos flavonóides são responsáveis pela coloração atrativa de muitos vegetais, com cores que variam entre o azul, vermelho e púrpura, podendo também apresentar coloração amarela. Essa coloração depende da sua estrutura e da presença de grupos hidroxílicos (-OH) e metoxilícos (-OCH₃), açúcares e açúcares acetilados, os quais tem efeito marcante na intensidade e na estabilidade da cor (CHITARRA; CHITARRA, 2005)

Dentre os flavonóides destacam-se as antocianinas, que são glicosídeos que apresentam em sua estrutura química um resíduo de açúcar na posição 3. Como produtos desta hidrólise, obtêm se o componente glicídico e a aglicona, denominada antocianidina (TAIZ; ZEIGER, 2004)(Figura 10).

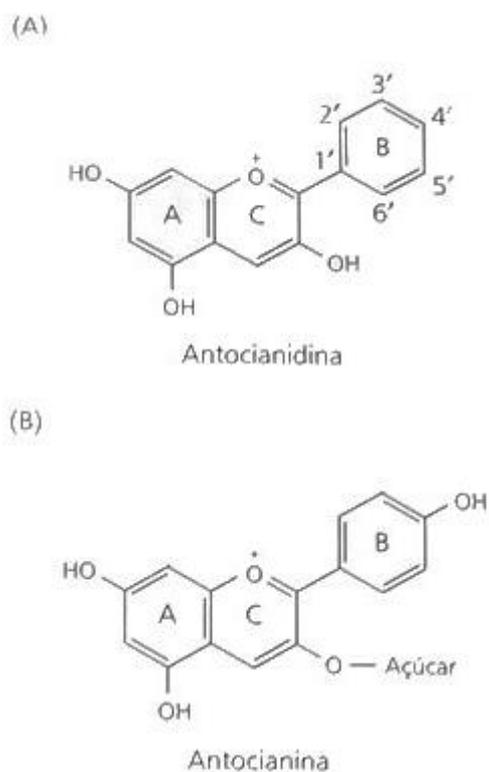
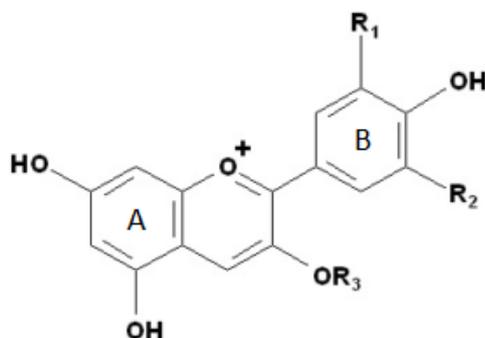


Figura 10: Estruturas das antocianidinas (A) e antocianinas (B)

Fonte:(TAIZ; ZEIGER, 2004)

Seu espectro de cor vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as cores resultando em tons de púrpura. As cores das antocianidinas dependem, em parte, dos substituintes ligados ao anel B. Um aumento no número de grupos hidroxila altera a absorção para um comprimento de onda mais longo, resultando na cor azul. A substituição do grupo hidroxila por um grupo metoxila (OCH_3) altera a absorção para um comprimento de onda um pouco mais curto, resultando na cor avermelhada (Figura 11).



Nome	R ₁	R ₂	R ₃
Pelargonidina	H	H	H
Cianidina	OH	H	H
Delfinidina	OH	OH	H
Peonidina	OCH ₃	H	H
Petunidina	OCH ₃	OH	H
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	Gli
Pelargonidina-3-O-glicosídeo	H	H	Gli
Cianidina-3-O-glicosídeo	OH	H	Gli
Delfinidina-3-O-glicosídeo	OH	OH	Gli
Peonidina-3-O-glicosídeo	OCH ₃	H	Gli
Petunidina-3-O-glicosídeo	OCH ₃	OH	Gli
Malvidina-3-O-glicosídeo	OCH ₃	OCH ₃	Gli

Figura 11: Estrutura química das antocianinas

Fonte: (HE et al., 2012)

A estabilidade desses pigmentos é afetada por fatores como pH, copigmentação, luz, temperatura, metais, oxigênio, além do estado em que se encontram: livres, condensadas ou combinadas com os taninos (LOPES et al., 2007).

Em mirtilos, além de atribuir a cor característica, as antocianinas foram reportadas como as principais responsáveis pela alta atividade antioxidante do fruto, correspondendo de 35 a 74% dos compostos antioxidantes totais (GAVRILOVA et al., 2011; KALT et al., 1999). A concentração de antocianinas totais é variável e frequentemente situa-se entre 89,0 e 495,0 mg de cianidina 3-glicosídeo 100 g⁻¹ de fruto. (EHLENFELDT; PRIOR, 2001; GARZÓN et al., 2010; SELLAPPAN; AKOH; KREWER, 2002). Tais variações são decorrentes do grau de maturação no momento da colheita, por diferenças genéticas entre cultivares, condições ambientais no momento que antecede à colheita, condições de estocagem pós-colheita (EHLENFELDT; PRIOR, 2001).

Em relação a composição, a pelargonidina já foi citada como a principal antocianidina presente no mirtilo, seguida pela malvidina, porém tal composição já

apresentou-se diferente em cada cultivar (PERTUZZATI, 2009). Yi et al. (2006) encontraram delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina, nas cultivares Briteblue e Powderblue, sendo a principal a petunidina, seguida pela malvidina. Já os glicosídeos de delphinidina, malvidina e petunidina estão presentes em maiores quantidades que cianidina-3 - glicosídeo em mirtilo cvs. Briteblue e Powderblue (YI ET AL. 2006).

Quanto à distribuição no fruto, a maior parte dos compostos fenólicos encontra-se nas cascas, com menores quantidades na polpa e sementes (LEE; WROLSTAD, 2006; RIIHINEN et al., 2008). Devido à retirada das cascas, durante o processamento de sucos e fermentados alcoólicos de mirtilo, são observadas reduções significantes nos teores de antocianinas e procianidinas (JOHNSON et al., 2011; REQUE et al., 2014; SU; CHIEN, 2007).

Durante a estocagem de alimentos contendo antocianinas, é possível observar a modificação da cor, isso porque a maioria dos compostos antocianínicos se associam para formar outra classe de moléculas de cor mais estável. Outra parte das antocianinas, no entanto relativamente pequena, desaparece, seja por degradação sob a ação de agentes exteriores (temperatura, luz, oxigênio, etc.), seja por precipitação (BROWNMILLER; HOWARD; PRIOR, 2009; HOWARD et al., 2010; REQUE et al., 2014). Uma vez que cada composto apresenta um potencial antioxidante particular, a capacidade antioxidante global será resultado da presença e interação entre eles (KURIN; MUČAJI; NAGY, 2012; PALAFOX-CARLOS et al., 2012).

2.4. Fermentado alcoólico

Durante o processo fermentativo ocorre a conversão dos açúcares em álcool através da ação da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, liberando CO₂ e calor. Tradicionalmente a fermentação alcoólica ocorre simultaneamente à maceração e durante essa fase, há dissolução de pigmentos, que conferem cor e sabor ao produto. Para facilitar essa dissolução, são realizadas remontagens – operações que consistem na movimentação das fases líquida e sólida para manter a massa homogeneizada. O controle da temperatura é realizado de modo a mantê-la entre 24°C e 30°C, de acordo com o tipo de fermentado a elaborar. Em uvas, esse período

pode ser de 6 a 20 dias, ou até mais, conforme a estrutura que se deseja dar ao vinho. Após esse período, ocorre então a descuba – a separação das partes líquida e sólida que estão no tanque – e a prensagem da parte sólida (HASHIZUME, 2001).

Além das uvas, outras frutas que possuem açúcar podem naturalmente passar pelo processo de fermentação, dando origem a outras bebidas alcoólicas que são denominadas de fermentados de frutas. De acordo com a legislação, o fermentado de fruta é a bebida com graduação alcoólica de 4% a 14% em volume, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura de uma única espécie, do respectivo suco integral ou concentrado, ou polpa, que poderá nestes casos, ser adicionado de água (BRASIL, 2009).

Dentre as frutas mais difundidas na produção de bebidas alcoólicas fermentadas está a maçã, utilizada para produção da *Sidra* e a pera, cujo mosto fermentado resulta no *Perry*. Apesar dos processos fermentativos poderem ser empregados eficazmente para a elaboração de fermentado de frutas, há a necessidade de testar os procedimentos apropriados para cada fruta, o que requer estudos mais detalhados para a determinação de métodos apropriados (VENTURINI-FILHO, 2010).

Os mirtilos, em geral, possuem teor de açúcares totais entre 8 a 12 %, com pH variável de 2,6 a 3,7. Considerando que a conversão dos açúcares em álcool pela levedura é de aproximadamente de 1,8 : 1, os açúcares naturais do mirtilo resultariam em um fermentado com teor alcoólico de 5 – 6 ° GL, porém sabe-se que é necessário que os fermentados possuam um teor alcoólico acima de 10 ° GL, para evitar prejuízos durante o armazenamento por longos períodos, sendo necessária, portanto, a adição de açúcares (SULLIVAN, 2003).

Em vinhos, quando uvas não atingem grau de maturação adequado, são utilizadas técnicas para a correção da deficiência de açúcar no mosto. Difundida por Jean Antoine Chaptal (1756 – 1832), a prática da chaptalização permite, através da adição de açúcares, a elevação do grau alcoólico, aumentando seu corpo e contribuindo com o paladar (HASHIZUME, 2001)

Além da chaptalização, a desacidificação também é uma alternativa para promover a melhoria de bebidas fermentadas. A prática consiste em diminuir a acidez total titulável e aumentar o pH do mosto com a finalidade de obter vinhos de composição equilibrada sob o ponto de vista gustativo (BRASIL, 1988). Apesar de possuir acidez semelhante à uva, algumas cultivares de mirtilo possuem pH em torno de 2,6, necessitando da redução da acidez do mosto (JOHNSON et al., 2011).

Em vinhos, a desacidificação pode ser realizada por processos físicos, químicos ou microbiológicos. Para a desacidificação química, poderá recorrer a adição de tartarato neutro de potássio, de bicarbonato de potássio ou de carbonato de cálcio (CURVELO-GARCIA, 2005). No entanto o aumento do pH pode acarretar em modificações nas antocianinas, resultando em alterações colorimétricas e depreciando a qualidade visual da bebida (HE et al., 2012).

A indústria de fermentados alcoólicos de mirtilos ainda é limitada, principalmente devido a dificuldades na padronização da fermentação alcoólica que resultem em sabores aceitáveis pelo consumidor (YAN et al., 2012). Em algumas regiões dos Estados Unidos (EUA), a vinificação de mirtilos surgiu devido à alta produção do fruto, o que estimulou a busca por um produto de maior valor agregado. Atualmente é possível encontrar algumas vinícolas produtoras de fermentados de mirtilo, o chamado "*blueberry wine*".

Em Hammon, New Jersey, a *Tomasello Winery*, produz uma grande variedade de fermentados de frutas, inclusive de mirtilo. Seu primeiro fermentado foi produzido em 1995 e atualmente são amplamente comercializados, com preço que varia entre US \$ 10 a US \$ 18. Na Flórida, a fazenda *Keel & Curley* possui um grande mercado consumidor, dos fermentados suaves, secos e demi-sec a cerca de \$ 10 com varejistas que incluem a WallMart e algumas lojas de bebidas. No mesmo estado também se encontra a *Island Grove Wine Co.*, responsável por 25% da produção estadual, elaborando fermentados suaves, secos, além de fermentados de outras frutas como morango, framboesa, amora, maçã e pêsego. Já no Alasca, está situada a *Bear Creek Winery*, onde são produzidos além de fermentados de mirtilos, fermentados de amoras pretas, morangos, framboesas e fermentados de misturas de bagas silvestres. Além dos EUA, no Canadá também podem ser encontradas algumas vinícolas fabricantes do *Blueberry wine*, como a *Mooberry*

Winery e a *Blue Moon Winery* ambas na Ilha de Vancouver, e as fazendas *Blue Gypsi Wines* e *Tuddenham Farms* localizadas à sudeste do país.

Avaliando *Blueberry wines* produzidos nos EUA, pesquisadores do Instituto de Alimentos e Ciências Agrárias da Universidade da Flórida verificaram que o teor de antioxidantes em fermentados alcoólicos de mirtilo é semelhante a de vinhos tintos considerados ricos nesses compostos e 20 vezes maior que vinhos brancos. Tais compostos são transferidos a partir do suco e das cascas dos mirtilos durante a vinificação (WELLS; YANG; WILLIAMSON, 2012), e estão altamente correlacionados com a capacidade antioxidante das bebidas (SÁNCHEZ-MORENO et al., 2003). Apesar do processo de vinificação resultar em bebidas com um teor de compostos antioxidantes inferior à fruta fresca (SU; SILVA, 2006), a produção de fermentados oferece aos produtores uma maneira de utilizar toda a sua cultura, inclusive os frutos com pequenas imperfeições ou amadurecimento tardio, inadequados ao mercado das frutas frescas (WELLS; YANG; WILLIAMSON, 2012).

3. ARTIGOS

Artigo 1: Caracterização e atividade antioxidantes de cultivares de mirtilos e seus fermentados alcoólicos.

Artigo submetido para a revista **Revista do Instituto Adolf Lutz**

Artigo 2: Características físico-químicas e avaliação sensorial de fermentados alcoólicos de mirtilo

Artigo aceito para publicação na revista **Higiene Alimentar**

Artigo 3: Compostos antioxidantes e evolução da cor durante o armazenamento de fermentados alcoólicos de mirtilo cv. Aliceblue

Artigo 1:
CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTES DE CULTIVARES
MIRTILOS E SEUS FERMENTADOS ALCOÓLICOS

Roberta Oliveira Santos¹, Simone Cezar Trindade², Andriely Moreira Bersch³, Luana Haselein Maurer¹, Claudia Kaehler Sautter⁴, Neidi Garcia Penna⁴

¹ Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFSM

² Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFSM

³ Farmacêutica Residente do Programa de Residência Multiprofissional e em área Profissional da UFSM

⁴ Professora do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – UFSM

Resumo

Conhecido como “fruto da longevidade”, o mirtilo tem recebido grande atenção nas últimas décadas devido à sua composição fenólica e atividade antioxidante e, assim, seu processamento tornou-se uma alternativa para melhor aproveitamento das características funcionais da fruta. A presente pesquisa teve como objetivo produzir fermentados alcoólicos a partir de 6 cultivares de mirtilo (Elliot, Bluecrop, Darrow, Aliceblue, Georgiagem e Climax) e investigar a relação dos seus parâmetros físico-químicos (acidez total titulável, pH, sólidos solúveis totais, açúcares totais) e fitoquímicos (compostos fenólicos totais, antocianinas totais e monoméricas e capacidade antioxidante) com os dos seus frutos de origem. Foi observada grande variação no conteúdo inicial de SST entre as cultivares, o que resultou em diferentes conversões alcoólicas durante o processo fermentativo. A cv. Climax apresentou um teor de SST inicial de 17,6 °Brix o que implicou em uma maior conversão alcoólica. No entanto, os fermentados mostraram graduação alcoólica baixa (em média 5,65°GL) e apresentaram quantidade de açúcares residuais totais que os classificaram como meio-secos ou suaves, de acordo com a legislação para vinhos. O processo de vinificação dos mirtilos durou cerca de 30 dias até a estabilização dos

SST e apresentou um rendimento médio de 68,2%. Os frutos da cv. Climax se destacaram com relação à sua composição fenólica e capacidade antioxidante, no entanto seus fermentados não apresentaram associação direta com o conteúdo fenólico dos frutos. Os fermentados das cultivares Darrow e Elliot apresentaram o maior conteúdo de antocianinas e a maior capacidade antioxidante. Assim, observa-se que a composição fenólica dos fermentados de mirtilo depende não só da composição de seus frutos de origem, mas da facilidade de extração que cada cultivar apresenta durante o processo fermentativo.

Palavras-chave: Pequenos frutos. Fermentação. Antocianinas. Compostos fenólicos.

CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BLUEBERRIES AND THEIR ALCOHOLIC BEVERAGES

Abstract

Known as “the longevity fruit”, the blueberry has received great attention over the last decades because of its antioxidant capacity and thus its processing has become an alternative for better use of the functional characteristics of the fruit. This research aimed to produce alcoholic beverages from 6 different cultivars of blueberries (cv. Elliot, Bluecrop Darrow, Aliceblue, Georgiagem and Climax) and investigate the relationship of their physicochemical (TTA, pH, TSS, total sugars) and phytochemicals parameters (total phenolics, total and monomeric anthocyanins and antioxidant capacity) with those of its fruit of origin. There was a wide variation in the initial TSS content, which resulted in different alcoholic conversions during the fermentation process. The cv. Climax showed an initial TSS content of 17.6 ° Brix and this resulted in a higher alcohol conversion, nevertheless, the alcoholic beverages showed low alcohol (on average 5.65 °GL). The blueberry wines were classified as semi-dry or sweet, according to the amount of total sugars. The blueberry winemaking process lasted about 30 days until stabilization of TSS and showed an average yield of 68.2 %. The cv. Climax fruits stood out with respect to their phenolic composition and antioxidant capacity, however its wine didn't show direct association with the phenolic content in the fruit. The alcoholic beverages from cv. Darrow and Elliot presented the highest content of anthocyanins and the highest antioxidant capacity. Thus, it is observed that the phenolic composition of blueberry alcoholic beverage depends not only on the composition of its fruit of origin, but the facility of extraction that each cultivar presents during the fermentation process.

Keywords: Berries. Fermentation. Anthocyanins. Phenolic compounds.

Introdução

O mirtilo é um fruto do gênero *Vaccinium*, nativo do hemisfério norte e amplamente comercializado e apreciado nos Estados Unidos e em países da Europa. Conhecido como o “fruto da longevidade”, o mirtilo é reconhecido pela alta capacidade antioxidante resultante dos flavonóides (principalmente antocianinas), taninos e ácidos fenólicos presentes na fruta (EHLENFELDT; PRIOR, 2001; KIM; UM, 2011; LI et al., 2013).

Com o intuito de melhorar a renda do pequeno produtor, cultivares com menor requerimento de frio foram inseridas no Rio Grande do Sul e apresentaram boa adaptação e produtividade (6 a 10 toneladas por hectare) na maior parte das regiões. As cultivares do grupo “Rabbiteye”, predominantes no estado, possuem frutos de tamanho inferior ao das cultivares do grupo “Highbush”, a maior relação casca/polpa, decorrente do menor tamanho, teoricamente resulta em produtos processados com maiores concentrações de compostos antioxidantes, uma vez que a maior parte destes compostos concentra-se na casca (FACHINELLO, 2008).

Em meados da década de 80, a região de Vacaria foi escolhida para dar início à produção e à comercialização de mirtilos no RS devido às suas características edafoclimáticas e, atualmente, essa região é referência na produção da fruta. Sequencialmente, Caxias do Sul e Pelotas também mostraram ser regiões favoráveis à produção, produzindo frutos com características semelhantes aos cultivados nos países de origem (RODRIGUES et al., 2011). Recentemente, produtores da cidade de Itaara, na região central do RS, vêm investindo no cultivo do mirtilo, uma vez que a altitude de mais de 425 m acima do nível do mar, as mais de 300 horas de frio, o solo ácido e a insolação conveniente fazem com que Itaara possua características promissoras para o desenvolvimento dessa cultura (PREFEITURA MUNICIPAL DE ITAARA-RS, 2010).

Com a expansão da área cultivada, a industrialização torna-se uma opção para aproveitamento das características funcionais da fruta quando fora de sua safra e diversificação de produtos do mercado. Fermentados alcoólicos de frutas já são populares em diversos países e a vinificação de mirtilos mostrou-se como uma alternativa de aproveitamento da produção excedente (MUNIZ et al., 2002). No Brasil, a fermentação alcoólica do fruto ainda está em fase experimental, contudo é importante conhecer o comportamento do fruto frente à fermentação e a viabilidade

de cada cultivar para garantir a obtenção de bebidas de qualidade (SU; CHIEN, 2007).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi determinar as características físico-químicas e fitoquímicas e a atividade antioxidante de cultivares de mirtilo produzidas no Rio Grande do Sul e correlacioná-las com seus respectivos fermentados alcoólicos.

Material e Métodos

Material vegetal

Frutos de mirtilheiro (safra 2012) foram obtidos em duas cidades do Rio Grande do Sul: três cultivares em Vacaria (Latitude 28°24'24.2" Longitude 50°51'34.4") (Elliot, Bluecrop e Darrow) e três cultivares em Itaara (Latitude 29°36'06.9" Longitude 53°48'16.8") (Georgiagem, Aliceblue e Climax) colhidos no ponto de maturação comercial. Após seleção e retirada dos frutos com defeitos visuais, os demais foram misturados e pesados para constituir as unidades amostrais. Cada unidade experimental consistiu em cerca de 1 kg e foi composta por três repetições para cada cultivar.

Preparo da amostra para as análises físico-químicas dos frutos de mirtilo

Dez gramas de cada unidade experimental foram triturados em Ultraturrax (16000 rpm, 1 min) com 20 mL de água destilada e centrifugados por 10 min a 1559.6 x g. O sobrenadante foi coletado e armazenado a -18 °C para posterior determinação do pH, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST) e açúcares totais.

Preparo da amostra para a extração dos compostos fitoquímicos

Para o preparo dos extratos, 10 g de mirtilo de cada unidade amostral foram triturados em Ultraturrax (16000 rpm, 1 min) com 20 mL de solução extratora etanol:água (70:30, v/v) acidificada com 0,1% de HCl. O homogeneizado foi centrifugado por 10 min a 1559.6 x g e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -18 °C para posterior análise de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e monoméricas e capacidade antioxidante (Di STEFANO, 1989).

Microvinificação

A vinificação dos mirtilos foi realizada em frascos de polietilenotereftalato (PET) de 1000 mL (microvinificação) e para cada cultivar foram realizadas três microvinificações. Todo o processo de microvinificação foi executado no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) do Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Aproximadamente 700 g de mirtilos recém colhidos foram esmagados e adicionados de 50 ppm de solução de dióxido de enxofre para inativação microbiana. Após, 3,5 g hL⁻¹ de enzima pectinolítica (Lafase FRUIT, Laffort®) e 20 g hL⁻¹ de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Zymaflore FX10, Laffort®), foram adicionadas conforme recomendações do fabricante. A fermentação ocorreu na ausência de luminosidade e oxigênio, na temperatura de 22 ± 2°C. As cascas estiveram presentes durante 12 primeiros dias, onde foram realizadas remontagens diárias e a descuba no 13° dia de fermentação. Após a retirada das cascas, o acompanhamento dos sólidos solúveis, continuou sendo monitorado até a estabilização dos seus valores (°Brix), sendo determinado o final da fermentação quando os SST apresentaram-se constantes. Concluída a fermentação, as bebidas foram levadas à câmara fria (3 ± 1°C), onde permaneceram durante um mês para estabilização. Após este período, os fermentados foram engarrafados e adicionados de 50 ppm de solução de dióxido de enxofre. As avaliações físico-químicas foram conduzidas momentos antes do engarrafamento.

Análises físico-químicas e fitoquímicas dos frutos e dos fermentados alcoólicos de mirtilo

O teor de SST foi medido com refratômetro portátil e expresso como °Brix a 20°C. As análises de pH e acidez total titulável (ATT) foram realizadas utilizando os métodos descritos por Amerine e Ough (1976), onde a ATT foi expressa como g% de ácido cítrico. Os açúcares totais foram feitos como descrito por Somogyi e Nelson (1945) e expressos como gramas de sacarose por 100 g de fruto e gramas de glicose por litro de fermentado. O teor alcoólico dos fermentados de mirtilo foi realizado utilizando o método de ebulliometria descrito por Amerine e Ough (1976) e expresso como graus Gay-Lussac (°GL). O rendimento dos fermentados foi

calculado a partir do quociente entre o volume de fermentado produzido e a quantidade de frutos utilizados.

Os compostos fenólicos totais foram quantificados de acordo com Singleton e Rossi, (1965), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e a absorvância determinada em 765 nm. O ácido gálico foi utilizado como padrão e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por 100 g de fruto (mg EAG 100 g⁻¹) ou por litro de fermentado (mg EAG L⁻¹). As antocianinas totais e monoméricas foram quantificadas espectrofotometricamente pelo método do pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001) e expressas em mg equivalentes de cianidina-3-glicosídeo por 100 g de fruto ou por litro de fermentado.

A capacidade antioxidante foi avaliada através dos métodos de redução do íon férrico (Fe⁺³) (FRAP) (BENZIE; STRAIN, 1996) e reação da remoção do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Os resultados foram expressos em µmol L⁻¹ equivalente a Trolox, um antioxidante sintético semelhante à vitamina E.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o software Statistica versão 9.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA), seguida do teste de Tukey, com resultados considerados significativos quando $p \leq 0,05$. As correlações apresentadas foram obtidas a partir do cálculo do coeficiente de Pearson (r).

Resultados e discussão

Na figura 1 pode ser observado o declínio dos valores de sólidos solúveis totais (SST) durante a fermentação dos mirtilos. A fermentação ocorreu rapidamente até a segunda semana de acompanhamento, reduzindo a velocidade progressivamente até o 30° dia. A variação entre as cultivares deveu-se principalmente aos diferentes teores iniciais de SST, com destaque para a cultivar Climax, com 17,6 °Brix (Tabela 1). As diferenças observadas entre as cultivares estudadas podem ocorrer devido às características inerentes a cada cultivar e em razão da influência da região de cultivo e das características de solo, temperatura, altitude e estágio de maturação já que foram colhidos em diferentes locais e diferentes técnicos (ANTUNES et al., 2008). No entanto um elevado conteúdo de açúcar nos frutos é desejável para a fermentação, uma vez que proporciona maior

teor alcoólico, aumenta o corpo e torna a bebida mais agradável ao paladar (HASHIZUME, 2001).

Quanto ao teor alcoólico (Tabela 2), todos os fermentados, exceto a cv Aliceblue, enquadraram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação brasileira para fermentados de frutas que é entre quatro e quatorze por cento (BRASIL, 2009).

Mesmo dentro da faixa exigida pela legislação, o teor alcoólico obtido para os fermentados de mirtilo foi relativamente baixo, quando comparado com vinhos. Uma vez que sua presença é de suma importância para garantir a estabilidade química dos vinhos, um baixo teor alcoólico pode implicar em menor estabilidade e maior dificuldade de conservação (VENTURINI-FILHO, 2010). O maior conteúdo alcoólico foi obtido no fermentado da cultivar Climax, que apresentava inicialmente maiores teores de SST e AT, o que comprova a melhor conversão de açúcar em álcool quando utilizada essa cultivar.

Já nos fermentados das cv. Elliot e Darrow foram observadas altas quantidades de açúcares totais residuais (Tabela 2). Os fermentados alcoólicos de mirtilo produzidos por Johnson et al. (2011) também apresentaram altos valores de SST, maiores que os do presente estudo, o que pode indicar uma má propagação das leveduras nas etapas iniciais da fermentação, ou a baixa afinidade com o mosto de mirtilo, resultando em uma fermentação lenta e com pouco consumo de açúcar (VIAN, 2011).

Em relação à acidez total dos fermentados (Tabela 2), esta variou entre 0,56 e 1,66 g de ácido cítrico 100 mL^{-1} enquanto o pH entre 3,04 e 3,71. Fermentados de mirtilo desenvolvidos por Johnson et al. (2011) apresentaram teor de ácidos totais bastante inferior aos observados ($0,62 \pm 0,25 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) e pH superior ($3,8 \pm 0,13$), que pode estar relacionado com as características das cultivares utilizadas no estudo. Segundo Ferreira et al. (2000), a acidez é um atributo importante, pois realça o sabor e aroma da fruta, no entanto deve apresentar-se de fraca a moderada, pois quando muito intensa causa fadiga e interfere de forma negativa na percepção do sabor.

Em relação aos compostos bioativos, dentre as cultivares estudadas, a cv. Climax foi a que apresentou maior conteúdo de fenólicos e antocianinas (Tabela 3). Apesar de Rodrigues et al. (2011) também terem observado os maiores valores para esta cultivar, o autor ressalta que os conteúdos destes compostos variam tanto entre as cultivares quanto entre as regiões de cultivo. Já Kim et al. (2013), analisando as

mesmas cultivares do presente estudo, encontraram teores antocianinas superiores, que podem estar relacionados com o método de extração utilizado. De modo geral, há grande variação nos teores de compostos fenólicos totais e antocianinas encontrados em frutos de mirtilo (EHLENFELDT; PRIOR, 2001; KIM et al., 2013) e tais diferenças podem estar relacionadas tanto a fatores ambientais (insolação, temperatura, práticas agronômicas e estresse) quanto à forma de extração (CASTREJÓN et al., 2008; KIM et al., 2013; KIM; UM, 2011; KRUPA; TOMALA, 2007; NICOUÉ; SAVARD; BELKACEMI, 2007).

Assim como em vinhos, durante a maceração, ocorre a extração dos compostos fenólicos especialmente das antocianinas da casca, resultando na cor característica das bebidas fermentadas (JOHNSON; GONZALEZ DE MEJIA, 2012; KIM; UM, 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012; SULLIVAN, 2003). No entanto, em alguns casos, mesmo com a alta concentração de compostos nas cascas, algumas cultivares de uva já apresentaram dificuldade quanto a extração, resultando em vinhos de capacidade antioxidante regular (ORTEGA-REGULES et al., 2008). Tal fato também foi observado no presente estudo, onde os frutos da cultivar Climax destacaram-se frente às demais cultivares em relação ao seu conteúdo fenólico, porém seu fermentado não apresentou o mesmo destaque (Tabela 4). Possivelmente o pH mais baixo das cultivares Darrow e Elliot (Tabela 1), que apresentaram melhor extração, pode ter auxiliado na manutenção das antocianinas durante a fermentação, já que níveis elevados de pH podem depreciar a intensidade de cor e estabilidade destes compostos (VIZZOTO et al., 2012). Além disso, a facilidade de extração também pode ter sido influenciada pela firmeza do fruto, uma vez que as cultivares com menor firmeza, segundo a literatura, obtiveram maior extração de compostos antociânicos (KIM et al., 2013).

O conteúdo de antocianinas e compostos fenólicos totais (Tabela 4) dos fermentados de mirtilo do presente estudo foi bastante inferior ao dos frutos (cerca de 12 vezes), no entanto foram superiores aos encontrados por Su e Chien (2007), que utilizando semelhante método de vinificação de mirtilos, encontraram $99,6 \pm 0,11$ mg cianidina-3-glicosídeo g L^{-1} e $1150 \pm 3,06$ mg EAG L^{-1} , respectivamente. Em produtos, onde são retiradas as cascas, como sucos e fermentados alcoólicos, frequentemente parte dos compostos ficam retidos nos resíduos, subestimando a potencialidade do fruto (REQUE et al., 2014; SU; CHIEN, 2007). Porém algumas pesquisas já desenvolveram fermentados de mirtilo com teores de compostos

fenólicos similares ao vinho e superiores a fermentados de outras frutas, como fermentados de cereja, framboesa, maçã e pêsego (RUPASINGHE; CLEGG, 2007).

Em relação à atividade antioxidante (Tabela 5), os frutos da cultivar Climax destacaram-se mais uma vez ao apresentar uma capacidade antioxidante superior, 2,7 a 5,3 vezes às demais cultivares. Houve alta correlação entre o teor de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante em ambas as técnicas utilizadas, FRAP ($r = 0,98$) e DPPH ($r = 0,97$). Já em relação a capacidade antioxidante dos fermentados (Tabela 6), assim como os compostos fenólicos, também observou-se uma redução marcante quando comparadas com os frutos (Tabela 5), no entanto houve uma alta correlação com os compostos fenólicos totais ($r=0,936$), sugerindo que os compostos que foram melhores extraídos foram aqueles que possuíam maior capacidade antioxidante (HEO et al., 2007; IACOPINI et al., 2008).

O rendimento médio dos fermentados de mirtilo foi de 68,2% (Tabela 7), semelhante ao da uva, que figura entre 65 e 80%. (RIZZON, 2006). Assim, como em uvas, o rendimento em mosto é extremamente variável em função das cultivares e das condições climáticas, como a frequência de precipitações pluviométricas, durante a fase de maturação. Dentre as cultivares estudadas, a Climax apresentou um rendimento significativamente superior às demais e tal característica, aliada ao seu conteúdo de SST, seu alto conteúdo fenólico e alta capacidade antioxidante sustentam a possibilidade de essa cultivar ser a mais indicada à vinificação.

Conclusão

Neste trabalho, dentro das condições apresentadas, o processo fermentativo das diferentes cultivares de mirtilo estudadas levou cerca de 30 dias e foi influenciado pelo conteúdo de sólidos solúveis totais inicialmente presente nos frutos. A cv. Climax apresentou o maior rendimento e a maior conversão de açúcar em álcool durante a fermentação, no entanto, apesar de seus frutos terem mostrado maior conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, seu fermentado não apresentou essa mesma característica. Pode-se concluir que o conteúdo fenólico dos fermentados de mirtilo depende não somente da composição fenólica das matérias primas, mas também das características físico-químicas e propriedades mecânicas dos frutos, que vão implicar em maior ou menor extração e

estabilidade desses compostos. Além disso, para a escolha da cultivar mais adequada para fermentação é importante que, além das propriedades funcionais dos fermentados, sejam estudadas a avaliação sensorial e a aceitação por parte do consumidor.

Referências bibliográficas

AMERINE, M. A.; OUGH, C. S. **Análisis de vinos y mostos. V.1.** Zaragoza: Acríbia, 1976. p. 158

ANTONIO, G. C. et al. Rheological behavior of blueberry. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 732–737, dez. 2009.

ANTUNES, L. E. C. et al. Fenologia , produção e qualidade de frutos de mirtilo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1011–1015, 2008.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRASIL 1988. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Complementação de padrões de identidade e qualidade de vinho.** Portaria nº 229 de 25 de outubro de 1988.

BRASIL 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Padronização, a classificação, o registro, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas.** Decreto nº 6871 de 04 de junho de 2009.

CASTREJÓN, A. D. R. et al. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 564–572, 2008.

DI STEFANO R., CRAVERO M.C., GENTILINI N. Metodi per lo studio dei polifenoli dei vini. **L’Enotecnico**, v. 25, n. 5, p. 83-89, 1989.

EHLENFELDT, M. K.; PRIOR, R. L. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Phenolic and Anthocyanin Concentrations in Fruit and Leaf Tissues of Highbush Blueberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 2222–2227, 2001.

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

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: Profíqua, 2000. p. 127

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E. et al. (Eds.). **Biotechnologia Industrial: Biotechnologia na produção de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 21–68.

HEO, H. J. et al. Antioxidant capacities Food, of individual and combined phenolics in a model system. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 87–92, 2007.

IACOPINI, P. et al. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 8, p. 589–598, dez. 2008.

JOHNSON, M. H. et al. Cultivar evaluation and effect of fermentation on antioxidant capacity and in vitro inhibition of α -amylase and α -glucosidase by highbush blueberry (*Vaccinium corombosum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 16, p. 8923–30, 24 ago. 2011.

JOHNSON, M. H.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Comparison of chemical composition and antioxidant capacity of commercially available blueberry and blackberry wines in Illinois. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 1, p. C141–8, jan. 2012.

KIM, J. G. et al. Fruit quality , anthocyanin and total phenolic contents , and antioxidant activities of 45 blueberry cultivars grown in Suwon , Korea. **Biomed & Biotechnol**, v. 14, n. 9, p. 793–799, 2013.

KIM, S. M.; UM, B.-H. Evaluation of the antioxidant activity of phenolic compounds among blueberry cultivars by HPLC-ESI / MS and on-line HPLC-ABTS system. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 20, p. 5008–5016, 2011.

KRUPA, T.; TOMALA, K. Antioxidant Capacity, Anthocyanin Content Profile in “Bluecrop” Blueberry Fruit. **Vegetable Crops Research Bulletin**, v. 66, n. -1, p. 129–141, 1 jan. 2007.

LI, C. et al. Composition of polyphenols and antioxidant activity of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) in Nanjing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 3, p. 523–31, 23 jan. 2013.

MUNIZ, C. R. et al. Bebidas fermentadas a partir de frutas tropicais. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 309–322, 2002.

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

NICOUÉ, E. E.; SAVARD, S.; BELKACEMI, K. Anthocyanins in wild blueberries of Quebec: extraction and identification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5626–35, 11 jul. 2007.

ORTEGA-REGULES, A. et al. Changes in skin cell wall composition during the maturation of four premium wine grape varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 420 – 428, 2008.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146–152, 2012.

PREFEITURA MUNICIPAL DE ITAARA-RS. **Município de Itaara-RS**. Disponível em: <<http://www.itaara.rs.gov.br/>>. Acesso em: 9 out. 2013.

RASEIRA, M. DO C. B. **A cultura do mirtilo**. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/744895/1/documento121.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2014.

REQUE, P. M. et al. Cold storage of blueberry (*Vaccinium spp.*) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, n. 1, p. 111–116, fev. 2014.

RIZZON, L. A. **Sistemas de Produção de vinho tinto: Recebimento da uva**.

RODRIGUES, E. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of blueberry cultivars grown in Brazil. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 31, n. 4, p. 911–917, 2011.

RUPASINGHE, H. P. V.; CLEGG, S. Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements, and histamine concentrations in wines of different fruit sources. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 2, p. 133–137, 2007.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144 – 258, 1965.

SOMOGYI, M. A New Reagent for Determination of Sugars. A new Sugar Reagent. **The Journal of biological chemistry**, v. 160, p. 61 – 68, 1945.

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, n. 1, p. 182–187, 2007.

SULLIVAN, J. H. **Blueberry wine production**New England Vegetable & Fruit Conference. **Anais...**2003

VENTURINI-FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. 1ª ed. São Paulo: Blucher, 2010.492 p.

VIAN, M. L. **Análise Físico-Química, sensorial e Capacidade Antioxidante de Fermentado de Mirtilo**..2011. 41 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

VIZZOTO, M. et al. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). **Acta Horticulturae**, v. 972, p. 111–115, 2012.

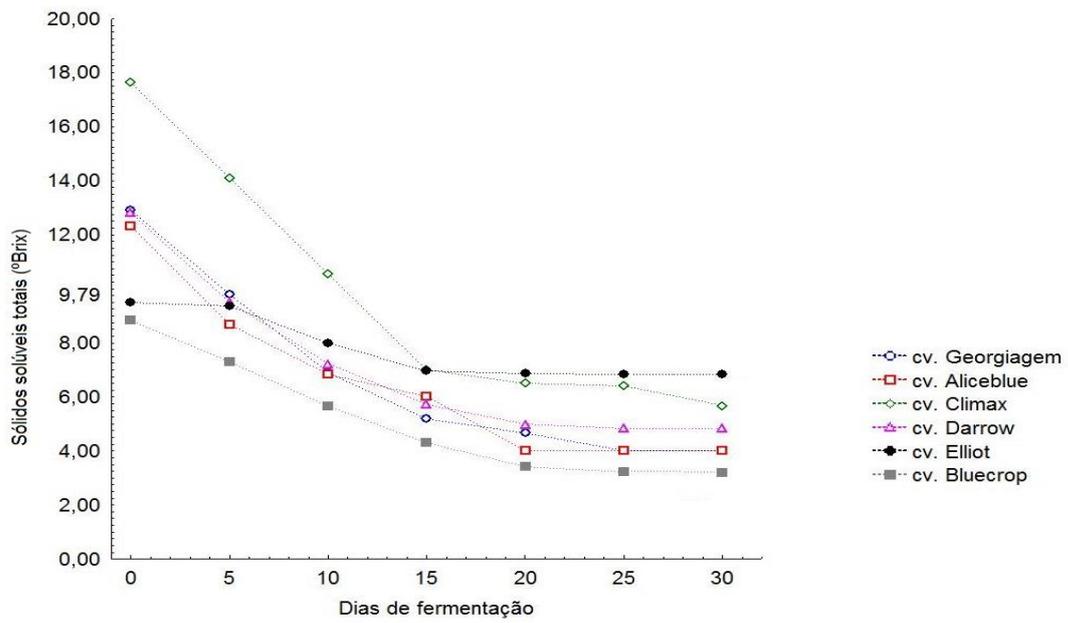


Figura 1 - Curvas de fermentação das diferentes cultivares de mirtilo: acompanhamento dos sólidos solúveis totais (°Brix) ao longo do tempo.

Tabela 1 - Análises físico-químicas de cultivares de mirtilos produzidos no RS, safra 2012.

Cultivar	ATT (g % ácido cítrico)	pH	SST (°Brix)	AT (g 100 g ⁻¹)
Georgiagem	0,93 ± 0,01 a	2,67 ± 0,03 d	12,93 ± 0,12 b	10,41 ± 0,26 d
Aliceblue	0,51 ± 0,01 d	3,22 ± 0,15 bc	12,33 ± 0,29 b	11,50 ± 0,72 cd
Climax	0,57 ± 0,01 c	3,15 ± 0,13 c	17,63 ± 0,15 a	14,02 ± 1,34 bcd
Darrow	0,42 ± 0,01 e	3,42 ± 0,08 b	12,83 ± 0,29 b	19,30 ± 1,33 a
Elliot	0,23 ± 0,01 f	4,03 ± 0,08 a	9,50 ± 0,50 c	17,10 ± 1,61 ab
Bluecrop	0,68 ± 0,01 b	3,47 ± 0,06 b	8,83 ± 0,29 c	16,30 ± 1,31 abc
Média ± desvio padrão	0,67 ± 0,01	3,33 ± 0,09	12,34 ± 0,27	14,75 ± 1,09

Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). ATT: acidez total titulável, SST: sólidos solúveis totais, AT: açúcares totais.

Tabela 2 - Análises físico-químicas de fermentados de mirtilo produzidos no RS, safra 2012.

Fermentados	ATT (g% ácido cítrico)		pH	AT (g L ⁻¹)		ÁLCOOL (°GL)	
Georgiagem	1,58	± 0,12 a	3,26 ± 0,18 bc	5,52 ± 0,24 bc	5,22 ± 0,59 bc		
Aliceblue	1,66	± 0,07 a	3,53 ± 0,04 ab	1,73 ± 0,70 c	3,80 ± 0,40 c		
Climax	0,56	± 0,07 c	3,64 ± 0,14 a	2,85 ± 1,37 c	7,40 ± 0,66 a		
Darrow	0,74	± 0,05 c	3,05 ± 0,21 c	13,09 ± 2,23 b	6,80 ± 1,18 ab		
Elliot	1,10	± 0,04 b	3,04 ± 0,07 c	48,99 ± 1,25 a	5,53 ± 0,25 abc		
Bluecrop	0,58	± 0,04 c	3,71 ± 0,10 a	6,78 ± 3,79 bc	4,97 ± 0,81 bc		
Média ± desvio padrão	0,75	± 0,05	3,39 ± 0,11	13,16 ± 1,59	5,65 ± 1,02		

Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). ATT: acidez total titulável; AT: açúcares totais, expressos como g de glicose L⁻¹.

Tabela 3 - Composição fitoquímica de cultivares de mirtilos produzidos no RS, safra 2012.

Cultivar	Antocianinas Totais*			Antocianinas Monoméricas*			Fenólicos Totais**		
Georgiagem	76,57	± 6,26	d	75,90	± 5,42	d	390,32	± 34,91	b
Aliceblue	117,14	± 7,27	c	115,97	± 7,28	c	432,02	± 42,30	b
Climax	320,29	± 5,93	a	319,37	± 5,86	a	678,37	± 59,97	a
Darrow	105,79	± 4,83	cd	105,50	± 4,90	cd	213,56	± 24,26	c
Elliot	167,89	± 22,98	b	165,13	± 23,86	b	276,55	± 34,22	c
Bluecrop	85,83	± 10,05	d	85,75	± 9,91	cd	179,57	± 27,99	c
Média ± desvio padrão	145,58	± 9,55		144,60	± 9,54		361,73	± 37,27	

Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância $p > 0,05$ (Teste de Tukey). * Expressas como mg equivalentes cianidina-3-glicosídeo 100 g^{-1} ; ** expressos em mg equivalentes ácido gálico 100 g^{-1} .

Tabela 4 - Composição fitoquímica de fermentados de mirtilo produzidos no RS, safra 2012.

Fermentados	Antocianinas totais*			Antocianinas monoméricas*			Fenólicos Totais **		
	Média	±	Letras	Média	±	Letras	Média	±	Letras
Georgiagem	11,05	± 0,55	b	5,78	± 1,23	b	188,31	± 15,81	a
Aliceblue	12,90	± 2,40	b	6,94	± 2,53	b	167,66	± 1,51	ab
Climax	10,80	± 1,80	b	5,47	± 0,75	b	167,22	± 12,49	ab
Darrow	21,17	± 2,15	a	16,28	± 2,13	a	159,39	± 5,13	b
Elliot	24,37	± 2,22	a	19,52	± 1,44	a	154,31	± 9,53	b
Bluecrop	12,22	± 0,90	b	9,87	± 0,87	b	101,66	± 3,45	c
Média ± desvio padrão	16,29	± 1,90		11,62	± 1,54		150,05	± 6,42	

Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância $p > 0,05$ (Teste de Tukey). * Expressas como mg equivalente cianidina-3-glicosídeo 100 mL⁻¹. ** Expressos como mg equivalente ácido gálico 100 mL⁻¹.

Tabela 5 - Capacidade antioxidante de cultivares de mirtilos produzidos no RS, safra 2012

Cultivar	FRAP ($\mu\text{ mol}^{-1}$ Trolox)			DPPH ($\mu\text{ mol}^{-1}$ Trolox)		
Georgiagem	285,8	\pm 24,33	ab	798,29	\pm 70,04	b
Aliceblue	307,8	\pm 8,32	ab	817,99	\pm 70,49	b
Climax	307,0	\pm 59,36	ab	1457,29	\pm 108,35	a
Darrow	249,23	\pm 7,00	ab	320,78	\pm 30,56	c
Elliot	314,84	\pm 2,55	a	404,39	\pm 11,93	c
Bluecrop	235,05	\pm 7,48	b	274,79	\pm 4,14	c
Média \pm desvio padrão	355,49	\pm 21,40		678,92	\pm 49,25	

Resultados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância $p > 0,05$ (Teste de Tukey).

Tabela 6 - Capacidade antioxidante de fermentados de mirtilo produzidos no RS, safra 2012.

Fermentados	FRAP ($\mu\text{ mol L}^{-1}$ Trolox)			DPPH ($\mu\text{ mol L}^{-1}$ Trolox)		
Georgiagem	203,61	± 13,40	a	630,08	± 73,82	a
Aliceblue	197,53	± 26,59	a	429,72	± 32,88	b
Climax	169,98	± 7,92	ab	389,65	± 36,59	b
Darrow	160,8	± 9,43	ab	387,67	± 31,46	b
Elliot	182,1	± 28,06	a	418,72	± 54,94	b
Bluecrop	107,8	± 38,13	b	388,26	± 4,13	b
Média ± desvio padrão	1064,02	± 170,68		402,80	± 32,00	

Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância $p>0,05$ (Teste de Tukey).

Tabela 7 - Rendimento dos fermentados de mirtilo produzidos no RS, safra 2012.

Cultivar	Rendimento (%)		
Georgiagem	67,7	± 2,08	b
Aliceblue	65,8	± 2,60	b
Climax	77,5	± 2,50	a
Darrow	66,2	± 1,65	b
Elliot	68,1	± 0,82	b
Bluecrop	63,8	± 4,36	b
Média	68,2	± 2,30	

Resultados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância (Teste de Tukey; $p>0,05$).

Artigo 2:
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E AVALIAÇÃO SENSORIAL DE
FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE MIRTILO

Physicochemical parameters and sensory quality of blueberry wines

Roberta Oliveira Santos¹, Fernanda Wouters Franco², Luana Haselein Maurer¹,
Claudia Kaehler Sautter³, Neidi Garcia Penna³

¹ Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFSM

² Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFSM

³ Professora do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – UFSM

Resumo

No grupo das pequenas frutas, o mirtilo destaca-se como importante fonte de compostos bioativos. Devido às suas características únicas, tecnologias de processamento vêm sendo empregadas tanto para incrementar esses compostos quanto aperfeiçoar os atributos sensoriais. Neste estudo, fermentados de mirtilo elaborados com adição de carbonato de cálcio e diferentes tipos de açúcares foram analisados quanto aos parâmetros físico químicos de pH, acidez, álcool, açúcares, cor e compostos fenólicos, objetivando correlacioná-los com as preferências sensoriais. A adição do carbonato de cálcio elevou o pH, parâmetro importante, que assim como o teor alcoólico, contribuíram com o sabor das bebidas. Já a chaptalização com glicose de milho originou fermentados com elevada quantidade de açúcar residual e conseqüentemente pouco álcool. Quanto ao atributo cor, os fermentados mais preferidos foram aqueles com maiores tons vermelhos.

Palavras-chave: bebida alcoólica, pequenas frutas, preferência.

Introdução

O vinho é uma das bebidas mais antigas e apreciadas mundialmente. A variedade das castas, região de cultivo, processamento e armazenamento são fatores que obviamente fazem com que essas bebidas sejam tão peculiares (PÉREZ-LAMELA et al., 2007). Comparável aos vinhos tintos, os fermentados de frutas vermelhas vem ganhando destaque na América do Norte e em alguns países da Europa, principalmente devido às suas características associadas à saúde (DHARMADHIKARI, 1996).

Dentre os pequenos frutos, o mirtilo representa uma das mais importantes fontes de compostos bioativos, apresentando uma alta capacidade antioxidante e tudo indica que esse potencial esteja associado à presença de compostos como as antocianinas (KALT et al., 1999). Além disso, as antocianinas são responsáveis por conferir a cor das frutas vermelhas, porém quando processadas podem sofrer modificações (BALÍK, 2006). Assim como em vinhos, diversas tecnologias vêm sendo empregadas tanto para aperfeiçoar seu potencial benéfico à saúde quanto para promover características sensoriais mais agradáveis e aceitas pelo consumidor (CAILLÉ et al., 2010; HE et al., 2012; PERKINS-VEAZIE; COLLINS; HOWARD, 2008; RIZZON; GASPARIN, 2005).

Apesar de quimicamente semelhante à uva, algumas características específicas dos mirtilos podem resultar em fermentados desagradáveis ao paladar, portanto surge a necessidade de atentar às formulações e técnicas fermentativas para produzir fermentados alcoólicos de qualidade (SULLIVAN, 2003). Segundo Ferreira et al. (2000), a acidez é um atributo importante, pois realça o sabor e aroma da fruta, no entanto deve apresentar-se de fraca a moderada, pois quando muito intensa causa fadiga e interfere de forma negativa na percepção do sabor.

O uso de carbonato de cálcio e diferentes tipos de açúcares na chaptalização é uma alternativa para aprimorar os atributos sensoriais, no entanto o aumento do pH pode acarretar em modificações nas antocianinas, resultando em alterações colorimétricas e depreciando a qualidade visual da bebida (HE et al., 2012; SIMS; MORRIS, 1984).

Com o objetivo de elaborar um fermentado alcoólico de mirtilo com características apreciáveis, nesta pesquisa foi analisado o efeito da adição de

carbonato de cálcio e diferentes tipos de açúcares na chaptalização, nos parâmetros químicos e atributos sensoriais das bebidas, bem como suas correlações.

Material e Métodos

Os fermentados de mirtilo foram produzidos a partir de frutos da cultivar Aliceblue (*Vaccinium ashei* Reade), produzidos no município de Itaara-RS, Brasil, safra 2012.

Para cada fermentação foram utilizados aproximadamente 700 g de mirtilos recém colhidos, em estado de maturação fisiológica, que foram esmagados e em cada tratamento foi adicionado ao mosto 30 g L⁻¹ de diferentes tipos de açúcares e doses distintas de carbonato de cálcio (CaCO₃) como segue: (T0) Controle – sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + 0,9 g L⁻¹ CaCO₃, (T2) Sacarose + 1,8 g L⁻¹ CaCO₃, (T3) Glicose de milho comercial Karo[®] + 0,9 g L⁻¹ CaCO₃, (T4) Glicose de milho comercial Karo[®] + 1,8 g L⁻¹ CaCO₃. Em seguida adicionou-se 3,5 g hL⁻¹ de enzima pectinolítica Lafase FRUIT (Laffort[®]) e 20 g hL⁻¹ de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Zymaflore FX10, Laffort[®]). Os sólidos solúveis totais (SST) foram verificados diariamente, durante toda a fermentação, cujo final foi constatado a partir da observação de valores constantes. Todo o processo ocorreu em temperatura controlada (22 ± 2 °C). Após o processamento, as bebidas foram acondicionadas em frascos âmbar em câmara fria (3 ± 2 °C) durante um mês para estabilização a frio.

Os fermentados obtidos foram avaliados quanto aos parâmetros físico-químicos de pH, acidez total titulável (ATT) e teor alcoólico (AOAC, 1995) e açúcares totais (AT) (NELSON, 1944; SOMOGYI, 1945). Para avaliação da cor, as densidades óticas (DO) 420, 520 e 620 nm foram determinadas por meio da leitura espectrofotométrica (FEMTO 600 plus[®]), em cubeta de quartzo (1 mm). A intensidade de cor é obtida a partir da soma das leituras em todos os comprimentos de onda e a tonalidade pelo quociente entre a DO 420 e 520 nm (RIBÉREAU-GAYON, 1998).

Para as análises antocianinas e de compostos fenólicos totais, foram preparados extratos a partir de 10 g de mirtilo triturados em Ultraturrax (16000 rpm, 1 min) com 20 mL de solução extratora etanol:água (70:30, v/v) acidificada com 0,1%

de HCl. O homogeneizado foi centrifugado por 10 min a 1559.6 x g e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -18 °C para posterior análise.

As antocianinas totais e monoméricas foram quantificadas espectrofotometricamente pelo método do pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001) e expressas em mg L⁻¹ de cianidina-3-glucosídeo. Os compostos fenólicos totais foram quantificados de acordo com Singleton e Rossi (1965), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e absorvância determinada em 765 nm. O ácido gálico utilizado para a obtenção da curva padrão e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por L de amostra (mg GAE L⁻¹).

Todos os resultados foram submetidos à análise multivariada (ANOVA) utilizando o software Statistica versão 9.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) seguida do teste de Tukey, com resultados considerados significativos quando $p \leq 0,05$.

Para análise sensorial foi utilizado teste afetivo de ordenação, onde vinte avaliadores, homens e mulheres, maiores de 18 anos, pré-selecionados em função do hábito de consumo de vinhos, avaliaram os fermentados quanto aos atributos de cor e sabor. Os provadores foram orientados a organizar as amostras em ordem decrescente de acordo com sua preferência. Os resultados foram calculados através da diferença entre as somas de pares de amostras e estatisticamente avaliados pelo teste de Friedman a 5% de valor crítico, utilizando dados tabelados de Newell e Macfarlane (1987) (AOAC, 1995). O protocolo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (16587313.5.0000.5346) e todos os assessores deram o seu consentimento informado antes da inclusão no estudo.

Resultados e Discussão

A composição química dos fermentados de mirtilo da cv. Aliceblue estão representados na tabela 1. Como esperado, a adição de carbonato de cálcio promoveu a redução da acidez total titulável e aumento significativo do pH.

A partir das características dos fermentados obtidos, observou-se também que o uso da glicose de milho resultou em um elevado teor de açúcares residuais e conseqüentemente um baixo teor alcoólico (Tabela 1). Em experimento semelhante, vinhos da cultivar 'Isabel', corrigidos com glicose de milho também demonstraram rendimento alcoólico inferior, que foi justificado pela quantidade considerável de açúcar não fermentescível contida nesse produto (RIZZON; MIELE, 2005). No

mesmo estudo, vinhos corrigidos com sacarose resultaram em maior teor alcoólico, o que parece ter contribuído para melhor extração dos compostos fenólicos. Esta associação também foi observada nos fermentados de mirtilo deste estudo, uma vez que o teor de compostos fenólicos totais foi maior nos fermentados com maior teor alcoólico (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química de fermentados de mirtilo cv. Aliceblue, Itaara-RS, safra 2012, com adição de carbonato de cálcio e diferentes fontes de chaptalização

	Controle	Sacarose + 0,9 g L ⁻¹ CaCO ₃	Sacarose + 1,8 g L ⁻¹ CaCO ₃	Glicose + 0,9 g L ⁻¹ CaCO ₃	Glicose + 0,9 g L ⁻¹ CaCO ₃
ATT (g ac. cítrico 100 mL ⁻¹)	1,7±0,1 ^a	1,5±0,1 ^{ab}	1,3 ± 0,3 ^{ab}	1,2 ± 0,1 ^b	1,2 ± 0,5 ^b
pH	3,5±0,1 ^b	4,0±0,1 ^a	4,1 ± 0,1 ^a	3,9 ± 0,2 ^a	4,1 ± 0,1 ^a
AT (g L ⁻¹)	1,7±1,7 ^b	3,0±1,7 ^b	5,1 ± 1,2 ^b	11,0 ± 2,6 ^a	10,7 ± 2,5 ^a
Álcool (° GL)	3,8±0,4 ^c	7,4±0,2 ^a	7,2 ± 0,4 ^a	6,0 ± 0,1 ^b	5,7 ± 0,6 ^b
DO 420 (nm)	0,41±0,01 ^a	0,35±0,01 ^{ab}	0,33±0,03 ^b	0,39±0,02 ^{ab}	0,40±0,01 ^a
DO 520 (nm)	0,50±0,01 ^{ab}	0,47±0,01 ^{ab}	0,37±0,07 ^b	0,59±0,01 ^a	0,49±0,01 ^{ab}
DO 620 (nm)	0,10±0,01 ^b	0,09±0,01 ^b	0,09±0,01 ^b	0,13±0,01 ^a	0,11±0,01 ^{ab}
Intensidade	1,00±0,01 ^a	0,91±0,02 ^{ab}	0,79±0,10 ^b	1,11±0,03 ^a	1,00±0,01 ^a
Tonalidade	0,83±0,01 ^{ab}	0,75±0,02 ^{ab}	0,90±0,10 ^a	0,66±0,02 ^b	0,82±0,01 ^{ab}
Ant T.*	129,0±24,0 ^b	143,9±22,2 ^{ab}	152,0±14,0 ^{ab}	188,1±6,1 ^a	186,6±15,7 ^a
Ant. M.*	69,4±25,3 ^c	87,1±22,4 ^{cb}	96,9±11,7 ^{abc}	128,4±9,9 ^{ab}	134,0±11,1 ^a
Compostos Fenólicos					
Totais (g GAE L ⁻¹)	1,67±0,01 ^b	1,75±0,02 ^{ab}	1,79±0,08 ^{ab}	1,80±0,03 ^{ab}	1,89±0,01 ^a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) comparando os dias de armazenamento. ATT: Acidez Total Titulável; Ant.T: antocianinas totais; Ant.M: antocianinas monoméricas (mg L^{-1} de cianidina-3-glucosídeo); GAE: Equivalentes em ácido gálico.

A partir dos índices de cor (Tabela 1), foi possível observar que a adição de CaCO_3 na dose de $1,8 \text{ g L}^{-1}$ foi responsável pela redução da cor amarela do fermentado chaptalizado com sacarose. Já a cor vermelha (DO520) parece ter sido mais influenciada em função do tipo de açúcar e não pela adição do carbonato, uma vez que a adição de sacarose juntamente com doses altas de CaCO_3 ($1,8 \text{ g L}^{-1}$) resultaram valores menores de DO520, que os fermentados elaborados com glicose de milho e doses baixas de CaCO_3 ($0,9 \text{ g L}^{-1}$). Igualmente a cor azul (DO 620) não apresentou modificações em função das doses de carbonato porém apresentou-se mais pronunciada nos fermentados produzidos com glicose de milho.

Em estudos conduzidos por Rizzon e Gasparin (2005) em vinhos de 'Isabel', foi constatado que estes apresentaram redução dos parâmetros colorimétricos os quais foram atribuídos à possíveis oxidações do vinho decorrentes da elevação do

pH . Entretanto, este comportamento não foi constatado para os fermentados de mirtilo.

Quanto à tonalidade (Tabela 1), o fermentado elaborado com glicose de milho e $0,9 \text{ g L}^{-1}$ de carbonato demonstrou ter tonalidade vermelha predominante e obteve o maior somatório na análise sensorial (Tabela 2), porém esta fonte de açúcar e doses mais elevada de CaCO_3 resultou em bebidas menos preferidas pelos consumidores.

Tabela 2 - Somatório das ordens do teste de ordenação dos fermentados de mirtilo cv. Aliceblue, Itaara-RS, safra 2012.

	Controle	Sacarose + $0,9 \text{ g L}^{-1}$ CaCO_3	Sacarose + $1,8 \text{ g L}^{-1}$ CaCO_3	Glicose + $0,9 \text{ g L}^{-1}$ CaCO_3	Glicose + $1,8 \text{ g L}^{-1}$ CaCO_3
Sabor	39 ^b	78 ^a	60 ^{ab}	56 ^{ab}	66 ^{ab}
Cor	71 ^{ab}	61 ^{ab}	49 ^{ab}	74 ^a	45 ^b

Valores seguidos da mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença estatística de acordo com a tabela de Newell e MacFairlane's (1987). Valor crítico tabelado: 28. A maior soma representa maior preferência.

A cor é um dos atributos mais importantes em vinhos tintos e está diretamente relacionado com a concentração e tipo de antocianinas extraídas ou formadas durante a vinificação (MAZZA; FRANCIS, 1995). A relação observada entre os tons azuis (DO620) e as antocianinas totais ($r= 0,76$), pode ser devido à possível presença de antocianinas como malvidina, delphinidina e petunidina, que conforme relatado por Wang et al. (2012), conferem coloração azulada característica (HE et al., 2012).

Na análise sensorial, quanto ao sabor (Tabela 2), todos os fermentados adicionados de CaCO_3 demonstraram maior aprovação, independente da dose e tipo de açúcar utilizado. A adição de $0,9 \text{ g L}^{-1}$ de CaCO_3 e chaptalização com sacarose (T1) apresentou o maior somatório porém não pode ser considerado o favorito, pois não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Essa preferência possivelmente está relacionada com o teor alcoólico e aumento do pH ($r= 0,8$ para ambos parâmetros), no entanto doses excessivas de carbonato de cálcio reduzem a sensação de frescor características dos vinhos e podem causar problemas de turvação devido ao excesso de cálcio (RIBÉREAU-GAYON, 1998).

Conclusão

A adição do carbonato de cálcio promoveu o aumento do pH e resultou em características sensoriais positivas, principalmente relacionadas ao sabor. A chaptalização com sacarose resultou em fermentados com maior teor alcoólico, diferentemente da glicose de milho que apresentou elevada quantidade de açúcar residual e baixo teor alcoólico não demonstrando ser a fonte mais adequada de açúcar. No entanto o uso da glicose de milho apresentou direta relação com a quantidade de antocianinas, auxiliando na extração destes compostos para os fermentados. Quanto à preferência de cor, valores baixos de tonalidade revelam a simpatia dos provadores por “vinhos” cujos tons de vermelho sobrepõem os tons amarelos, no entanto os provadores podem ter expressado sua preferência considerando sua memória sensorial, preferindo fermentados cuja cor se assemelha à de seus vinhos favoritos.

Referências Bibliográficas

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists International - AOAC. Official methods of analysis**. 16 ed ed. Washington: Arlington, 1995. p. 474

BALÍK, J. Dynamics of changes in total anthocyanins during the fermentative maceration of grapes. **Hort Science (Prague)**, v. 33, n. 3, p. 103–107, 2006.

CAILLÉ, S. et al. Sensory characteristics changes of red Grenache wines submitted to different oxygen exposures pre and post bottling. **Analytica chimica acta**, v. 660, n. 1-2, p. 35–42, 15 fev. 2010.

DHARMADHIKARI, M. Wines from Cherries and Soft Fruits. **Vineyard & Vintage View**, v. 11, n. 2, p. 1–9, 1996.

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: PROFÍQUA, 2000. p. 127

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

HE, F. et al. Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 2, p. 1571–601, jan. 2012.

KALT, W. et al. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4638–44, nov. 1999.

MAZZA, G.; FRANCIS, F. J. Anthocyanins in grapes and grape products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 4, p. 341–371, 1995.

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

NEWELL, G. J.; MACFARLANE, J. D. Expanded tables for multiple comparison procedure on the analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 6, p. 1721–1725, 1987.

PÉREZ-LAMELA, C. et al. Influence of grape variety, vine system and enological treatments on the colour stability of young red wines. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 601–606, jan. 2007.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.; HOWARD, L. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 280–285, mar. 2008.

RIBÉREAU-GAYON, P. ET AL. **Chimie du vin: stabilisation et traitements**. Paris: Dunod, 1998. p. 519

RIZZON, L. A.; GASPARIN, A. M. O carbonato de cálcio na desacidificação do vinho Isabel. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 720–723, jun. 2005.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Correção do mosto da uva Isabel com diferentes produtos na Serra Gaúcha. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 450–454, 2005.

SIMS, C. A.; MORRIS, J. R. Effects of pH , Sulfur Dioxide , Storage Time , and Temperature on the Color and Stability of Red Muscadine Grape Wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 35, p. 35–39, 1984.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144 – 258, 1965.

SOMOGYI, M. A New Reagent for Determination of Sugars. A new Sugar Reagent. **The Journal of biological chemistry**, v. 160, p. 61 – 68, 1945.

SULLIVAN, J. H. **Blueberry wine production**New England Vegetable & Fruit Conference. **Anais...**2003

WANG, S. Y. et al. Flavonoid constituents and their contribution to antioxidant activity in cultivars and hybrids of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). **Food Chemistry**, v. 132, n. 2, p. 855–864, maio 2012.

Autor(a) a ser contatado: Roberta Oliveira Santos, Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFSM, Av. Roraima nº 1000, Prédio 42 – CCR, e-mail: eng.robertasantos@gmail.com.

Artigo 3:
COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E EVOLUÇÃO DA COR DURANTE O
ARMAZENAMENTO DE FERMENTADOS ALCOÓLICOS DE MIRTILO cv.
ALICEBLUE

COLOR AND ANTIOXIDANTS COMPOUNDS DURING STORAGE OF
BLUEBERRY WINES CV. ALICEBLUE

Roberta Oliveira Santos¹, Simone Cezar Trindade², Andriely Moreira Bersch³, Luana Haselein Maurer¹, Claudia Kaehler Sautter⁴, Neidi Garcia Penna⁴

¹ Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFSM

² Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFSM

³ Farmacêutica Residente do Programa de Residência Multiprofissional e em área Profissional da UFSM

⁴ Professora do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – UFSM

Resumo

A vinificação de mirtilos é uma alternativa que contribui para o aproveitamento das características funcionais do fruto e diversificação do mercado. A cor característica é devida a presença de antocianinas que, durante o processamento e armazenamento podem sofrer modificações resultando em benefícios ou depreciação do produto. Assim, o objetivo desta pesquisa foi analisar a evolução da cor e do teor de compostos fenólicos de fermentados de mirtilo durante o armazenamento. Foram avaliados os parâmetros de cor, teor de antocianinas totais, compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante. O armazenamento resultou em uma redução no teor de antocianinas totais e monoméricas em todos os fermentados, condizente com a redução dos tons de vermelho. No entanto o aumento do teor de compostos fenólicos pode ser decorrente da polimerização dos pigmentos antociânicos, resultando em compostos incolores ou tons amarelos. Durante o armazenamento houve uma oscilação na atividade antioxidante, sendo incrementada nas bebidas com maior quantidade de açúcares residuais após 150 dias de armazenamento.

Palavras-chave: bebida alcoólica, antocianinas, estabilidade.

Abstract

The blueberry wine is an alternative that contributes to the use of the functional characteristics of the fruit and market diversification. The characteristic color is due to the presence of anthocyanins that during processing and storage may change resulting in benefits or depreciation of the product. The objective of this work was to analyze the evolution of color and phenolic content of blueberry wine during storage. Was evaluated the color parameters, total and monomeric anthocyanin content, total phenolic compounds and the antioxidant capacity. The storage resulted in a reduction in total anthocyanins and monomer content in all wines, consistent with the reduction in shades of red. However, the increase of phenolic compounds may be caused for a possible formation of polymer of anthocyanin, resulting in colorless compounds. During storage, there was a fluctuation in the antioxidant capacity being increased in beverages with higher amounts of residual sugars after 150 days of storage.

Keywords: alcohol, anthocyanins stability.

Introdução

Nos últimos anos os fermentados alcoólicos de frutas vêm ganhando espaço no mercado consumidor. A possibilidade de aproveitamento das características funcionais das frutas, assim como o seu incremento através do processamento, têm estimulado produtores e pesquisadores a se dedicarem à compreensão dos processos bioquímicos envolvidos na obtenção de fermentados alcoólicos de frutas (SU; CHIEN, 2007). Durante a vinificação ocorre a conversão do açúcar em álcool e a extração e desenvolvimento de compostos característicos dos fermentados alcoólicos, no entanto, durante o período de armazenamento os constituintes das bebidas alcoólicas fermentadas continuam sofrendo modificações, que podem resultar em benefícios ou perdas de características importantes sob o ponto de vista do consumidor (KALLITHRAKA; SALACHA; TZOUROU, 2009; KITCHEN, 2013). Apesar de não haver prazo de validade definido, especialistas indicam que o período mais adequado para consumo de fermentados alcoólicos, é aquele onde as características estão mais pronunciadas, resultando em harmonia entre os componentes.

Como primeiro atributo a ser observado nos alimentos, a cor representa um aspecto significativo na percepção da qualidade, sendo um indicador útil para as fases relativas ao armazenamento (MARQUEZ; SERRATOSA; MERIDA, 2014). Em vinhos e fermentados alcoólicos de frutas vermelhas, essa característica provém da presença das antocianinas, um composto antioxidante, que em uvas, jabuticabas e mirtilos estão presentes principalmente nas cascas, mas também são encontrados na polpa de outros frutos como amoras e framboesas (BARNES, 2009). Além de conferir pigmentação, diversas pesquisas tem reportado efeito positivo na saúde humana a partir do consumo de frutas contendo estes compostos, como a prevenção de doenças cardiovasculares e envelhecimento precoce, devido sua capacidade antioxidante (KIM; UM, 2011).

Estudos reportam os mirtilos como frutos com elevada capacidade antioxidante, tal propriedade associada ao sabor característico doce-ácido, tem contribuído com o aumento do seu consumo ao redor do mundo (FACHINELLO, 2008; PAYNE, 2005). Pesquisas sobre adaptação climática e técnicas de cultivo no

Brasil têm se intensificado, especialmente no estado do Rio Grande do Sul (RS), onde a área plantada vem aumentando progressivamente (FACHINELLO, 2008). Apesar de não existirem estatísticas oficiais atualizadas, estima-se que atualmente a área cultivada no Brasil seja de aproximadamente 400 hectares (FACHINELLO, 2008). Com o crescimento da produção, a industrialização torna-se uma alternativa para melhor aproveitamento das características funcionais da fruta e diversificação de produtos do mercado.

Fermentados alcoólicos de mirtilo ou *Blueberry wine*, já são populares em diversos países, onde a vinificação surgiu como forma de aproveitamento da produção excedente (MUNIZ et al., 2002). Já no Brasil, a fermentação alcoólica do fruto ainda está em fase experimental, com pesquisas entorno das cultivares mais adequadas à vinificação e aprimoramento das técnicas de processamento para melhor atender às expectativas sensoriais do consumidor.

As cultivares de mirtilos produzidas no RS apresentam teor de açúcar inferior se comparado ao das uvas destinadas à vinificação, o que resulta em um fermentado com baixo teor alcoólico (RASEIRA, 2004). A presença do álcool é importante, pois contribui com corpo e estrutura dos fermentados, além de auxiliar na conservação (SULLIVAN, 2003). Em alguns países produtores de vinho, durante a vinificação, quando as uvas não atingem níveis suficientes de açúcares são utilizadas técnicas como a “chaptalização”, que consiste na adição de sacarose (BRASIL, 1988). Além da chaptalização, a desacidificação também pode servir como uma alternativa para promover a melhoria das bebidas fermentadas de mirtilo. Com pH variável de 2,6 a 3,7, a prática reduz a acidez total titulável e aumenta o pH do mosto com a finalidade de obter fermentados de composição equilibrada sob o ponto de vista gustativo (BRASIL, 1988). Fermentados alcoólicos de ‘Aliceblue’ chaptalizados e desacidificados foram mais preferidos sensorialmente que os produzidos sem a utilização destas técnicas (SANTOS et al., 2015). No entanto, além da aceitação sensorial, é importante conhecer o comportamento das bebidas durante seu armazenamento, uma vez que o armazenamento influencia nas características químicas e estruturais dos fermentados, sendo possível prever a viabilidade de sua fabricação e conservação.

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi analisar a evolução da cor, a presença de compostos fenólicos, assim como a capacidade antioxidante durante o armazenamento de fermentados alcoólicos de mirtilo da cultivar Aliceblue chaptalizados e desacidificados.

Material e Métodos

Foram utilizados frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) da cultivar Aliceblue, produzidos no município de Itaara-RS, Brasil, safra 2012. Para a obtenção do fermentado alcoólico, aproximadamente 700 g de mirtilos frescos, em estágio de maturação fisiológica foram esmagados, transferidos para frascos de polietileno de 1000 mL, e adicionados de 50 ppm de solução de dióxido de enxofre para inativação microbiana. Após, foram adicionados 30 g L⁻¹ de açúcar, do tipo sacarose ou glicose, e doses distintas de carbonato de cálcio (CaCO₃). Os tratamentos foram definidos como T1-sacarose comercial e 0,9 g L⁻¹ CaCO₃, T2-sacarose comercial e 1,8 g L⁻¹ CaCO₃, T3- glicose de milho Karo[®] e 0,9 g L⁻¹ CaCO₃, T4- glicose de milho Karo[®] e 1,8 g L⁻¹ CaCO₃ e T0-sem chaptalização e sem adição de carbonato de cálcio. Em seguida foram adicionados em todos os tratamentos, 3,5 g hL⁻¹ de enzima pectinolítica Lafase FRUIT (Laffort[®]) e 20 g hL⁻¹ da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, (Zymaflore FX10, Laffort[®]).

A fermentação foi realizada durante 30 dias com acompanhamento da concentração de sólidos solúveis totais (SST) com refratômetro portátil (Carlzeiss Jena[®] 338909, 0 a 30%) até a observação de valores constantes. Durante a presença das cascas foram realizadas remontagens diárias seguida da descuba no 12º dia. O processo ocorreu em temperatura controlada (22 ± 2 °C), e ao término da fermentação, as bebidas foram acondicionadas em câmara fria (3 ± 2 °C) durante 30 dias para estabilização a frio. Os fermentados alcoólicos foram, então, engarrafados, adicionados de 50 ppm de solução de dióxido de enxofre e armazenados em frascos âmbar a temperatura ambiente (22 ± 2 °C), durante 150 dias. As análises físico-químicas foram realizadas momentos antes do engarrafamento (dia 0) e após 30, 60, 90, 120 e 150 dias de armazenamento das bebidas.

No momento do engarrafamento foram realizadas análises de pH, acidez total titulável (ATT), com ATT expressa como g% de ácido cítrico (Amerine e Ough,

1976), açúcares totais expressos como gramas de glicose por litro de fermentado (Somogyi e Nelson, 1945) e teor alcoólico utilizando o método de ebulliometria descrito por Amerine e Ough (1976) e expresso como graus Gay-Lussac (°GL).

Para avaliação da cor dos fermentados, as densidades óticas (DO) 420, 520 e 620 nm foram determinadas através da leitura espectrofotométrica (FEMTO 600 plus[®]), em cubeta de quartzo (1 mm). A intensidade de cor foi obtida a partir da soma das leituras em todos os comprimentos de onda e a tonalidade pelo quociente entre a DO 420 e 520 nm (RIBÉREAU-GAYON, 1998).

As antocianinas totais e monoméricas foram quantificadas espectrofotometricamente (FEMTO 600 plus[®]) pelo método do pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001) e expressas em mg L⁻¹ de cianidina-3-glicosídeo. Duas alíquotas de amostras foram diluídas em 0,025 M de cloreto de potássio, pH 1,0 e em 0,4 M de solução de acetato de sódio pH 4,5, ajustados previamente com ácido clorídrico PA. A absorvância de cada diluição foi mensurada a 520 e 700 nm (FEMTO 600 plus[®]), contra sua respectiva solução (Branco). A absorvância (A) foi calculada de acordo com as equação 1 e utilizada para o cálculo das antocianinas monoméricas (Equação 2), enquanto que a absorvância A' calculada (Equação 3) para a quantificação das antocianinas totais (Equação 4).

Equação 1

$$A = (A_{\lambda \max} - A_{700})_{pH \ 1.0} - (A_{\lambda \max} - A_{700})_{pH \ 4.5}$$

Equação 2

$$\text{Antocianinas Monoméricas (mgL}^{-1}\text{)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\varepsilon \times 1}$$

Equação 3

$$A' = (A_{\lambda \max} - A_{700})_{pH \ 1.0}$$

Equação 4

$$\text{Antocianinas Totais (mgL}^{-1}\text{)} = \frac{A' \times MW \times DF \times 1000}{\varepsilon \times 1}$$

Os compostos fenólicos totais foram quantificados de acordo com Singleton e Rossi (1965), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e absorvância determinada em 765 nm. O ácido gálico foi utilizado para a obtenção da curva padrão e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por litro de amostra (mg EAG L⁻¹).

A capacidade antioxidante foi determinada através do método do sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). A porcentagem de inibição do radical livre DPPH^{*} foi mensurada pelo decréscimo da absorvância em 517 nm após 24 horas de reação em temperatura ambiente, livre de luminosidade e calculada a partir da equação 5.

Equação 5

$$\% \text{ inibição do DPPH} = \frac{(\text{abs controle}) - (\text{abs amostra})}{(\text{abs controle})} \times 100$$

A capacidade antioxidante foi calculada conforme a curva de calibração obtida por regressão linear e os resultados foram expressos em µM Trolox L⁻¹.

Os resultados foram submetidos à análise multivariada (ANOVA) utilizando o software Statistica versão 9.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) seguida do teste de Tukey, com resultados considerados significativos quando p ≤ 0,05.

Resultados e Discussão

A adição de carbonato de cálcio (CaCO_3) ao mosto resultou na elevação do pH ($p \leq 0,05$), assim como significativa redução da acidez dos fermentados alcoólicos de mirtilo (T3 e T4) (Tabela 1). Apesar de não terem sido observadas diferenças significativas em relação às doses de CaCO_3 utilizadas, observou-se que os valores de pH foram superiores nos fermentados com maiores concentrações de CaCO_3 (T2 e T4). Na produção de vinhos, a adição de CaCO_3 é uma prática enológica possível e ser realizada conforme a legislação, e tem por objetivo melhorar os constituintes naturais do vinho, reduzindo a acidez e resultando em uma melhor percepção sensorial, porém pouco utilizada (BRASIL, 1988).

A chaptalização com glicose de milho (T3 e T4) resultou em fermentados com elevada concentração de açúcares totais (AT), que possivelmente não foram consumidos durante o processo fermentativo (Tabela 1). A presença de açúcares como a maltose e maltotriose na glicose de milho comercial (DOMINQUE et al., 2013), pode ter reduzido a velocidade da fermentação, já que seus consumos pela levedura *Saccharomices cereviseae* ocorrem em velocidade inferior, quando comparado à frutose e sacarose (D'AMORE; RUSSELL; STEWART, 1988; WANG et al., 2004), resultando assim, em baixa produção alcoólica e alta concentração de açúcares residuais (Tabela 1).. Teoricamente, a maior concentração inicial de açúcar do mosto proporciona maior teor alcoólico (HASHIZUME, 2001), porém observou-se que o tipo de açúcar utilizado teve grande influência na fermentação, sendo os mostos chaptalizados com sacarose (T1 e T2), os que resultaram em fermentados com maior graduação alcoólica ($p \leq 0,05$), o que de certa forma pode vir a contribuir para conservação dos fermentados (VENTURINI-FILHO, 2010). Todas as bebidas, exceto o fermentado de mirtilo não chaptalizado (T0), obtiveram graduação alcoólica dentro do exigido pela legislação (BRASIL, 1988), o que enfatiza a necessidade da chaptalização para a cultivar estudada.

Quanto aos parâmetros cromáticos, avaliados no decorrer do tempo (Tabela 2), observou-se que os tons de amarelo (DO420) apresentaram uma leve oscilação, diferindo em alguns casos entre os tratamentos. Já o parâmetro vermelho (DO520) foi influenciado tanto tratamento utilizado quanto pelo tempo de armazenamento, com reduções mais expressivas nos valores dos fermentados chaptalizados com glicose de milho ($p > 0,05$). Este resultado explica o aumento da tonalidade no 90° dia

de armazenamento, que se manteve até o 150º dia (Tabela 2), resultante do desenvolvimento e a predominância da cor amarela, e/ou a redução dos tons de vermelho. Em vinhos de 'Isabel', Rizzon e Gasparin (2005) atribuíram a redução de parâmetros colorimétricos (DO520) às possíveis oxidações do vinho decorrentes da elevação do pH entretanto nos fermentados de mirtilo do presente trabalho não foi observada relação com a adição de carbonato de cálcio.

A característica colorimétrica de um vinho está diretamente relacionada com a concentração e tipo da antocianina majoritária presente (WANG et al., 2012). Em relação às antocianinas totais (Figura 1) foi observada uma redução no tempo de armazenamento e diferença entre os tratamentos utilizados ($p < 0,0001$). Os fermentados chaptalizados com glicose de milho (T3 e T4) apresentaram teores de antocianinas totais significativamente maiores no momento do engarrafamento (dia 1) quando comparados com os demais dias de armazenamento. Esse resultado insinua que a presença de açúcares nas bebidas talvez esteja protegendo as antocianinas glicosiladas durante o tratamento, no entanto, existe a necessidade de maiores estudos para confirmar essa hipótese.

Apesar dos elevados teores de antocianinas totais e monoméricas verificados no início do armazenamento (dia 1), em 150 dias de armazenamento houveram reduções significativas nestes valores (Figura 1 e 2), com reduções de 51% e 77%, respectivamente. Esses resultados assemelham-se ao observado por Kitchen (2013), onde as antocianinas monoméricas presentes em fermentados alcoólicos de mirtilo desapareceram quase completamente após 6 meses de armazenamento. Em vinhos, o decréscimo das antocianinas é mais acentuado quando o pH encontra-se com valores mais elevados (DALLAS; LAUREANO, 1994). Nos fermentados de mirtilo do presente trabalho também foi observada maior redução das antocianinas totais com o aumento do pH porém não houveram diferenças entre as doses de carbonato de cálcio utilizadas na desacidificação (Figura 1).

A diminuição da estabilidade das antocianinas ocorre devido a interações com outros compostos, como ácido ascórbico, metais, açúcares e a fatores como oxigênio, luz, e temperatura produzindo polímeros de produtos de degradação (BARBA; ESTEVE; FRIGOLA, 2013; BROWNMILLER; HOWARD; PRIOR, 2008; MALIEN-AUBERT; DANGLES; AMIOT, 2001). Purês de mirtilo armazenados durante 6 meses apresentaram perdas de antocianinas monoméricas acompanhadas pelo aumento de compostos poliméricos desta forma pode-se entender que as

antocianinas presentes em mirtilos são polimerizadas devido a reações de condensação com outros fenólicos durante o armazenamento (BROWNMILLER; HOWARD; PRIOR, 2008). Em vinhos, a formação de compostos poliméricos durante o armazenamento ocorre juntamente com a redução dos tons vermelhos e ao aparecimento de tons amarelos. A redução das antocianinas é resultado de diversas reações graduais que levaram a formação de compostos mais estáveis como oligômeros e polímeros (MARQUEZ; SERRATOSA; MERIDA, 2014).

Para os compostos fenólicos (Figura 3), pode-se observar um aumento a partir do 30^o e 60^o dia de armazenamento para todos os tratamentos. Os valores mais elevados foram observados no 60^o dia em todos os tratamentos com posterior redução e estabilização até o 120^o dia. Comportamento semelhante ao observado no presente trabalho para fermentados de mirtilo, foi relatado por Kitchen (2013). Já em vinhos, a maior parte dos compostos fenólicos é reduzida com o tempo, no entanto os ácidos cafeico, p-cumárico e ferúlico, por exemplo, já tiveram suas concentrações aumentadas durante o armazenamento (KALLITHRAKA; SALACHA; TZOUROU, 2009). A manutenção do valor dos compostos fenólicos totais também pode estar relacionada com os compostos poliméricos formados, mais estáveis durante o armazenamento.

A capacidade antioxidante dos fermentados de mirtilo, foi influenciada tanto pela chaptalização quanto pela desacidificação ($p < 0,00067$) no decorrer do armazenamento. Após 150 dias de armazenamento não foi observada modificação da atividade antioxidante, quando comparado ao dia do engarrafamento, no entanto, foram observadas oscilações durante o período, as quais podem ser atribuídas às modificações químicas entre os constituintes do fermentado. Em vinhos brancos também foi observado comportamento semelhante (KALLITHRAKA; SALACHA; TZOUROU, 2009), assim como em sucos de mirtilo elaborados por Reque et al. (2014), que embora tenham constatado a degradação das antocianinas, pela oxidação ou condensação com outros compostos fenólicos, observaram que os sucos mantiveram uma elevada atividade antioxidante. Em vinhos, Roginsky et al., (2006) observaram que apesar de ocorrerem reações de condensação dos compostos fenólicos durante o armazenamento, o número de grupos hidroxilas (-OH) ativos responsáveis pela atividade antioxidante permaneceu inalterada. Além disso, o aumento da capacidade antioxidante pode ser atribuído a maior capacidade dos compostos poliméricos formados, como as procianidinas que já foram relatadas

por possuírem de 15 a 30 vezes maior capacidade antioxidante quando comparadas com os compostos monoméricos (HAGERMAN et al., 1998). No presente estudo, assim como as antocianinas, a capacidade antioxidante foi maior nos fermentados com maior quantidade de açúcares residuais, em comparação com aqueles que desenvolveram maior graduação alcoólica, isto sugere que durante a vinificação de mirtilos o álcool não exerce influência na extração e manutenção dos compostos antioxidantes.

Conclusão

O fermentado alcoólico da cultivar Aliceblue pode ser armazenado durante 120 dias sem decréscimo da sua capacidade antioxidante, no entanto ocorre a redução expressiva das antocianinas totais e monoméricas. A chaptalização e a desacidificação não causaram efeitos durante o armazenamento, no entanto a adição de glicose de milho ao mosto aparentemente extraiu mais pigmentos antociânicos. Assim como em vinhos tintos, os tons vermelhos dos fermentados alcoólicos de mirtilo da cultivar Aliceblue tendem a reduzir no decorrer do armazenamento, porém sugere-se o acompanhamento por período superior a fim de verificar se a modificação dos parâmetros colorimétricos em maior tempo de armazenamento influenciará na capacidade antioxidante.

Referências Bibliográficas

BARBA, F. J.; ESTEVE, M. J.; FRIGOLA, A. Physicochemical and nutritional characteristics of blueberry juice after high pressure processing. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 545–549, mar. 2013.

BARNES, J. S. General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography - electrospray ionization-ion trap-time of flight-mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 1216, n. 23, p. 4728, 2009.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRASIL 1988. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Complementação de padrões de identidade e qualidade de vinho**. Portaria nº 229 de 25 de outubro de 1988.

BROWNMILLER, C.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 5, p. 72–79, jun. 2008.

D'AMORE, T.; RUSSELL, I.; STEWART, G. G. Sugar utilization by yeast during fermentation. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 4, p. 315–323, 1988.

DALLAS, C.; LAUREANO, O. Effects of pH, sulfur dioxide, alcohol content, temperature and storage time on the colour composition in a young Portuguese red wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 65, p. 477–485, 1994.

DOMINQUE, B. et al. Sugar Profile, Mineral Content, and Rheological and Thermal Properties of an Isomerized Sweet Potato Starch Syrup. **International Journal of Food Science**, v. 2013, p. 1–8, 2013.

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

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

HAGERMAN, A. E. et al. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 1887–1892, 1998.

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E. et al. (Eds.). **Biotechnologia Industrial: Biotechnologia na produção de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 21–68.

KALLITHRAKA, S.; SALACHA, M. I.; TZOUROU, I. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. **Food Chemistry**, v. 113, n. 2, p. 500–505, mar. 2009.

KIM, S. M.; UM, B.-H. Evaluation of the antioxidant activity of phenolic compounds among blueberry cultivars by HPLC-ESI / MS and on-line HPLC-ABTS system. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 20, p. 5008–5016, 2011.

KITCHEN, K. **Polyphenolic-rich products made with Georgia-grown rabbiteye blueberries**. Dissertation (Food Science and Technology) University of Georgia, Athens, USA., 2013.

MALIEN-AUBERT, C.; DANGLES, O.; AMIOT, M. J. Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 170–6, jan. 2001.

MARQUEZ, A.; SERRATOSA, M. P.; MERIDA, J. Influence of bottle storage time on colour, phenolic composition and sensory properties of sweet red wines. **Food Chemistry**, v. 146, n. 1, p. 507–514, 2014.

MUNIZ, C. R. et al. Bebidas fermentadas a partir de frutas tropicais. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 309–322, 2002.

PAYNE, T. J. Formulating with Blueberries for Health. **Cereal Foods World**, v. 50, n. 5, p. 2620–0264, 2005.

RASEIRA, M. DO C. B. **A cultura do mirtilo**. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/744895/1/documento121.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2014.

REQUE, P. M. et al. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, n. 1, p. 111–116, fev. 2014.

RIBÉREAU-GAYON, P. ET AL. **Chimie du vin: stabilisation et traitements**. Paris: Dunod, 1998. p. 519

RIZZON, L. A.; GASPARIN, A. M. O carbonato de cálcio na desacidificação do vinho Isabel. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 720–723, jun. 2005.

ROGINSKY, V. et al. The antioxidant activity of Californian red wines does not correlate with wine age. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 5, p. 834–840, 15 abr. 2006.

SANTOS, R. O. et al. Características físico-químicas e avaliação sensorial de fermentados alcoólicos de mirtilo. **Higiene alimentar**, v. 29, n. 242/243, 2015.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144 – 258, 1965.

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, n. 1, p. 182–187, 2007.

SULLIVAN, J. H. **Blueberry wine production**New England Vegetable & Fruit Conference. **Anais...**2003

VENTURINI-FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. 1/2010. ed. São Paulo: Blucher. p. 492

WANG, D. et al. Fermentation Kinetics of Different Sugars by Apple Wine Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 110, n. 4, p. 340–346, 2004.

WANG, S. Y. et al. Flavonoid constituents and their contribution to antioxidant activity in cultivars and hybrids of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). **Food Chemistry**, v. 132, n. 2, p. 855–864, maio 2012.

Tabela 1 - Composição físico-química de fermentados de mirtilo cv. Aliceblue chaptalizados e desacidificados.

Tratamentos	ATT	pH	AT	Álcool (° GL)
T0	1,7±0,1 a	3,5 ± 0,1 b	1,7 ± 1,7 b	3,8 ± 0,3 c
T1	1,5±0,1 ab	4,0 ± 0,1 a	3,0 ± 1,7 b	7,4 ± 0,2 a
T2	1,3 ± 0,3 ab	4,1 ± 0,1 a	5,1 ± 1,2 b	7,2 ± 0,4 a
T3	1,2 ± 0,1 b	3,9 ± 0,2 a	11,0 ± 2,6 a	6,0 ± 0,1 b
T4	1,2 ± 0,5 b	4,1 ± 0,1 a	10,7 ± 2,5 a	5,7 ± 0,6 b

Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). ATT: acidez total titulável, expressa como g % ácido cítrico; AT: açúcares totais; g % de glicose. ° GL: graus Gay Lussac. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + 0,9 g L⁻¹ CaCO₃, (T2) Sacarose + 1,8 g L⁻¹ CaCO₃, (T3) Glicose de milho + 0,9 g L⁻¹ CaCO₃, (T4) Glicose de milho + 1,8 g L⁻¹ CaCO₃.

Tabela 2 - Valores médios de densidades óticas (420, 520 e 620 nm), intensidade e tonalidade de cor dos fermentados alcoólicos de mirtilo cv. Aliceblue no decorrer de 150 dias de armazenamento.

Trat.	Armazenamento (dias)					
	1 dia	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
DO420						
T0	0,409±0,01A	0,312±0,02 A	0,319±0,02 A	0,347±0,03 A	0,360±0,05 A	0,324±0,03 B
T1	0,351±0,01AB	0,322±0,03 A	0,322±0,03 A	0,342±0,03 A	0,321±0,04 A	0,337±0,03 AB
T2	0,330±0,03B	0,349±0,04 A	0,328±0,02 A	0,361±0,03 A	0,327±0,02 A	0,350±0,03 AB
T3	0,387±0,02AB	0,349±0,02 A	0,357±0,03 A	0,420±0,05 A	0,376±0,04 A	0,373±0,02 AB
T4	0,402±0,01A	0,371±0,02 A	0,370±0,01 A	0,426±0,01 A	0,400±0,01 A	0,401±0,02 A
DO520						
T0	0,495±0,01 B	0,527±0,04 A	0,510±0,04 A	0,533±0,03 A	0,500±0,06 A	0,463±0,03 A
T1	0,470±0,01AB	0,457±0,07 AB	0,446±0,04 ABC	0,453±0,05 B	0,412±0,04 B	0,418±0,05 AB
T2	0,370±0,07 B	0,374±0,03 B	0,376±0,01 C	0,398±0,02 AB	0,358±0,02 AB	0,349±0,02 B
T3	0,587±0,01 A	0,476±0,01 AB	0,478±0,01 AB	0,527±0,03 A	0,454±0,02 AB	0,449±0,01 A
T4	0,488±0,01 AB	0,421±0,03 AB	0,420±0,03 BC	0,480±0,03 AB	0,420±0,03 AB	0,426±0,03 AB
DO620						
T0	0,097±0,01 B	0,094±0,01 A	0,088±0,01 A	0,111±0,02 AB	0,117±0,03 A	0,092±0,02 A
T1	0,094±0,01 B	0,093±0,01 A	0,096±0,01 A	0,104±0,01 B	0,091±0,01 A	0,126±0,04 A
T2	0,094±0,01 B	0,094±0,01 A	0,092±0,01 A	0,106±0,01 B	0,090±0,01 A	0,093±0,01 A
T3	0,131±0,01 A	0,098±0,01 A	0,098±0,01 A	0,149±0,03 A	0,101±0,01 A	0,104±0,01 A
T4	0,112±0,01 AB	0,105±0,01 A	0,099±0,01 A	0,141±0,01 AB	0,101±0,01 A	0,109±0,01 A
Intensidade						
T0	0,904±0,01 A	0,839±0,05 A	0,829±0,06 A	0,880±0,06 AB	0,859±0,11 A	0,787±0,07 A
T1	0,821±0,01 AB	0,779±0,10 A	0,769±0,08 A	0,795±0,08 AB	0,733±0,09 A	0,754±0,08 A
T2	0,700±0,10 B	0,723±0,06 A	0,704±0,04 A	0,759±0,05 B	0,685±0,03 A	0,699±0,05 A
T3	0,974±0,02 A	0,825±0,02 A	0,835±0,04 A	0,947±0,09 A	0,830±0,06 A	0,822±0,03 A
T4	0,890±0,01 A	0,792±0,05b A	0,791±0,04 A	0,906±0,04 AB	0,820±0,04 A	0,826±0,05 A
Tonalidade						
T0	0,076±0,04 A	0,059±0,01 C	0,063±0,01 C	0,065±0,01 C	0,072±0,01 C	0,070±0,01 C
T1	0,075±0,04 A	0,071±0,01 BC	0,072±0,01 B	0,075±0,01 B	0,078±0,01 C	0,081±0,01 B
T2	0,090±0,05 A	0,093±0,01 A	0,087±0,01 A	0,091±0,01 A	0,091±0,01 AB	0,100±0,01 A
T3	0,066±0,04 A	0,073±0,01 B	0,075±0,01 B	0,079±0,01 B	0,083±0,01 BC	0,083±0,01 B
T4	0,076±0,04 A	0,088±0,01 A	0,088±0,01 A	0,089±0,01 A	0,095±0,01 A	0,094±0,01 A

Resultados apresentados como média ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) comparando os tratamentos. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T2) Sacarose + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T3) Glicose de milho + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T4) Glicose de milho + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$.

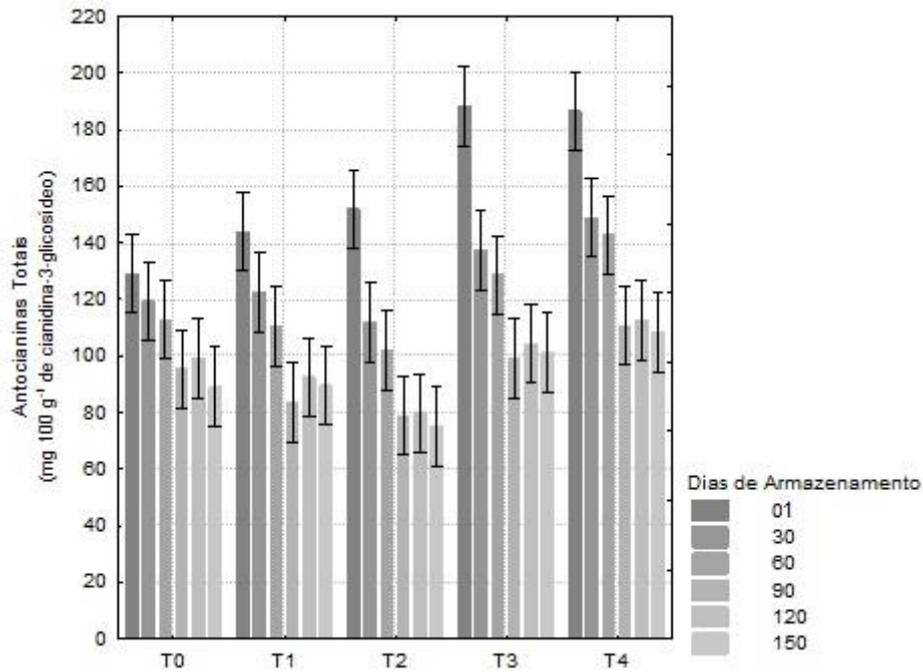


Figura 1 - Antocianinas totais em fermentados alcoólicos 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T2) Sacarose + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T3) Glicose de milho + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T4) Glicose de milho + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$.

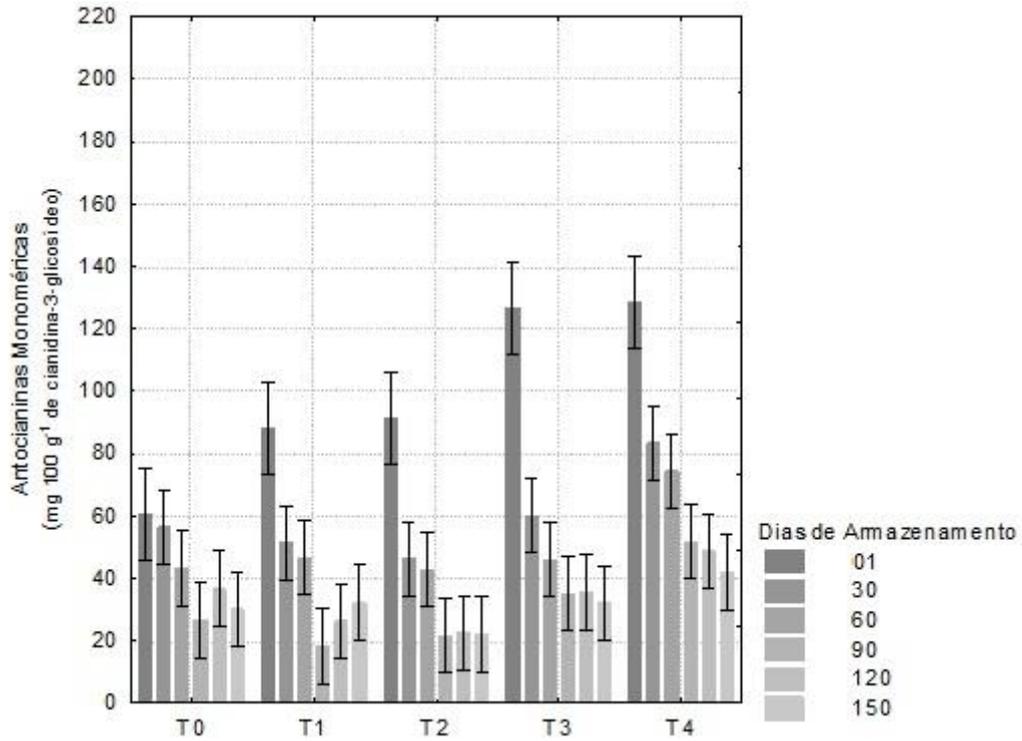


Figura 2 - Antocianinas monoméricas em fermentados alcoólicos 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T2) Sacarose + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T3) Glicose de milho + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T4) Glicose de milho + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$.

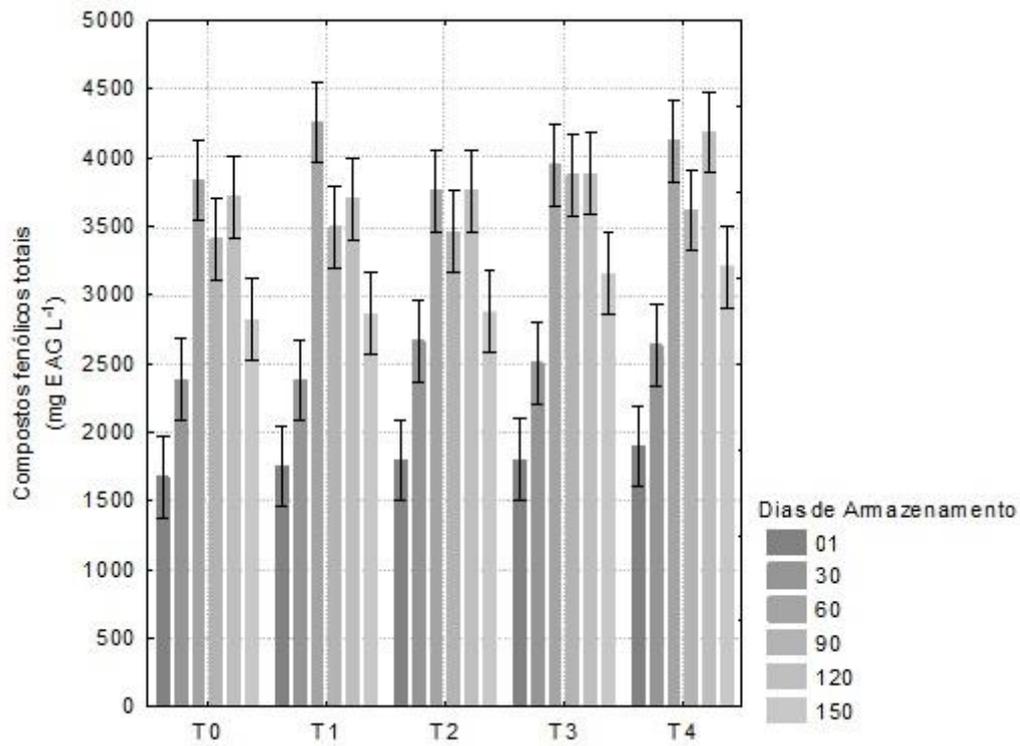


Figura 3 - Compostos fenólicos totais em fermentados alcoólicos 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T2) Sacarose + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T3) Glicose de milho + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T4) Glicose de milho + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$.

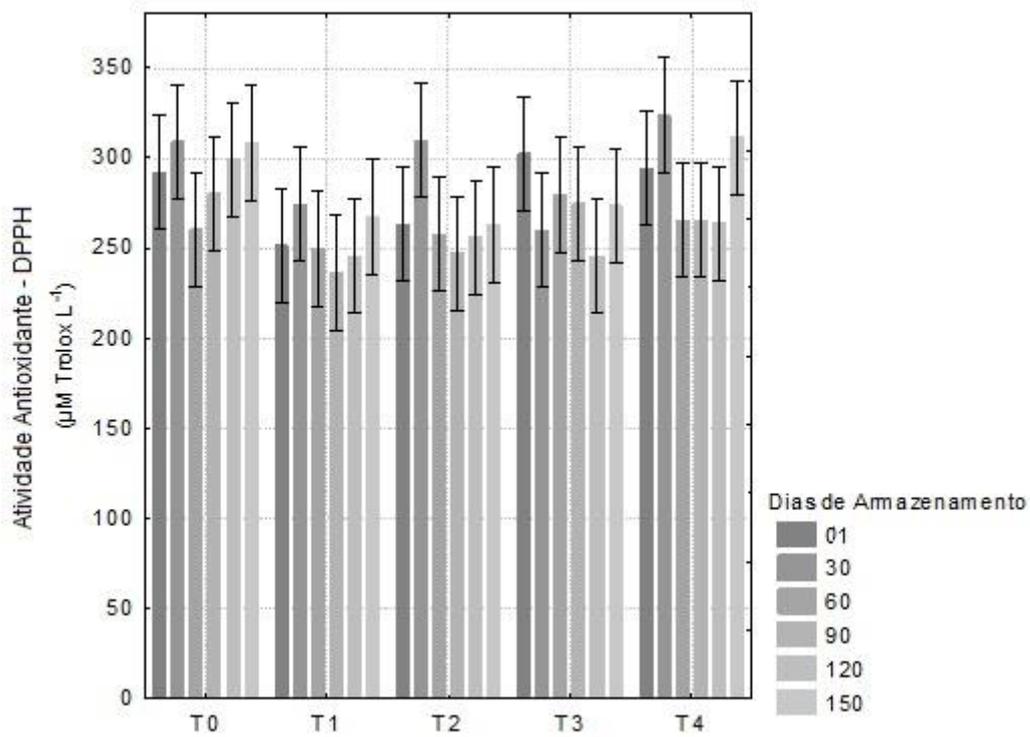


Figura 4 - Capacidade antioxidante (DPPH) de fermentados alcoólicos 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias. (T0) Sem chaptalização e sem carbonato, (T1) Sacarose + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T2) Sacarose + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T3) Glicose de milho + $0,9 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, (T4) Glicose de milho + $1,8 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$.

4. DISCUSSÃO

Nos últimos tempos nota-se uma crescente conscientização sobre o benefício da inserção de frutas que promovem benefício à saúde no hábito alimentar, resultando em um aumento do consumo tanto *in natura* como processados, em quase todo o mundo. Devido à exigência do mercado, a indústria está cada vez mais preocupada em buscar alternativas e formas de processamento que atendam as expectativas do consumidor, oferecendo um produto de qualidade e com propriedades nutricionais.

Com área estimada em 400 ha, a produção de mirtilos no Brasil tem crescido de forma exponencial e o maior destino ainda é o mercado *in natura* (FACHINELLO, 2008). Apesar das constatadas potencialidades do fruto, em relação aos benefícios à saúde, pouco se sabe a respeito destas qualidades em produtos derivados da fermentação alcoólica.

Em vinhos é sabido que durante a vinificação os compostos antioxidantes presentes nas uvas, principalmente nas cascas e nas sementes, são transferidos para a bebida durante a vinificação com o auxílio das operações de remontagens e da presença do álcool resultante da fermentação. Em mirtilos a maior parte dos compostos antioxidantes pertence a classe dos flavonóides, que concentram-se nas cascas dos frutos, portanto também são necessárias remontagens diárias para auxiliar na extração dos pigmentos que irão caracterizar a cor do fermentado alcoólico (JOHNSON et al., 2012).

Apesar de alguns estudos terem constatado baixa extração destes compostos durante a vinificação de mirtilo (SU e CHIEN, 2007, JOHNSON et al., 2012), acredita-se que assim como em uvas, cada cultivar possui um comportamento específico frente à fermentação alcoólica. Analisando as variações encontradas nas características físico-químicas dos frutos de mirtilos produzidos no Rio Grande do Sul (Artigo 1) observa-se que apesar da similaridade muitas características são particulares de cada cultivar, como por exemplo, o conteúdo de sólidos solúveis totais, pH e concentração de compostos fenólicos.

Em relação ao comportamento frente ao processo fermentativo, todas as cultivares foram fermentadas lentamente, necessitando de 25 a 30 dias para a redução dos sólidos solúveis totais (SST), porém a concentração inicial de açúcares foi coerente com a graduação final (Artigo1, Figura 1). A lentidão do processo fermentativo de mirtilos já foi relatada por outros autores, que atribuíram o fato à baixa afinidade da levedura com o mosto de mirtilo (VIAN, 2011). Fatores como pH, temperatura e concentração do inóculo, também são determinantes para a eficácia da fermentação (YAN et al., 2012).

Quanto a extração dos compostos antioxidantes durante a vinificação de mirtilo, apesar do extenso tempo de maceração, foram extraídos em média 49% dos compostos fenólicos totais, sendo que a cv Darrow foi a cultivar que apresentou a melhor extração, em torno de 74% (Artigo 1, Tabelas 2 e 5). Já a cv. Climax, apesar de possuir o maior conteúdo de compostos fenólicos totais e antocianinas, foi a que menos transferiu seus compostos para os fermentados, apenas 3,4 % das antocianinas totais e 24,7% dos compostos fenólicos. Em produtos onde são retiradas as cascas como sucos e fermentados alcoólicos, frequentemente parte dos compostos ficam retidos nos resíduos, subestimando a potencialidade do fruto (REQUE et al., 2014; SU; CHIEN, 2007). A facilidade de extração também pode estar relacionada com outros fatores como, por exemplo, a firmeza do fruto e integridade da parede celular, uma vez que os compostos foram mais facilmente extraídos nos fermentados de cultivares característicos de menor firmeza (KIM et al., 2013).

A capacidade antioxidante dos fermentados também foi menor que a dos frutos correspondentes, porém demonstrou alta correlação com os compostos fenólicos totais ($r=0,936$), sugerindo com isso, que os compostos fenólicos que foram melhores extraídos foram aqueles que possuíam maior capacidade antioxidante, uma vez que cada composto apresenta um potencial antioxidante específico (HEO et al., 2007; IACOPINI et al., 2008). Nota-se, portanto, que a quantificação dos compostos fenólicos e determinação da atividade antioxidante dos frutos de mirtilo não são suficientes para predizer tais conteúdos nos fermentados resultantes, devendo ser consideradas outras características intrínsecas as varietais. Apesar da recorrente fermentação de mostos de mirtilos utilizando cultivares mistas,

o estudo de cultivares separadamente permite aprimorar as características das bebidas.

Uma parte dos frutos amostrados nesse estudo foi vinificada utilizando técnicas para promover o aumento da graduação alcoólica e a desacidificação, com o objetivo de promover melhorias sensoriais e avaliar sua influencia nos compostos fenólicos (Artigo 2). Mostos de 'Aliceblue', foram submetidos à técnica de chaptalização, com diferentes tipos de açúcares (sacarose e glicose de milho), e utilizada a desacidificação com a adição de carbonato de cálcio (CaCO_3) em duas concentrações ($0,9 \text{ g L}^{-1}$ e $1,8 \text{ g L}^{-1}$). A chaptalização com sacarose promoveu um aumento na graduação alcoólica nos fermentados de mirtilo, enquanto que o uso da glicose de milho resultou em menor rendimento alcoólico e conseqüentemente maior concentração de açúcares residuais. Em uvas 'Isabel' a utilização da glicose de milho na chaptalização também apresentou o mesmo comportamento, o qual os autores justificaram pela quantidade considerável de açúcar não fermentescível contida nesse produto (RIZZON; MIELE, 2005). Açúcares como a maltose e maltotriose presentes na glicose de milho comercial (DOMINQUE et al., 2013), possuem uma velocidade de consumo pela levedura *Saccharomices cereviseae* inferior, quando comparado à frutose e a sacarose (D'AMORE; RUSSELL; STEWART, 1988; WANG et al., 2004), o que provavelmente retardou a fermentação (Artigo 1, Figura 1). Quanto ao pH, não houveram diferenças entre as doses de CaCO_3 utilizadas, sendo a dose de $0,9 \text{ g L}^{-1}$ suficiente para diferir dos fermentados não submetidos a este tratamento.

Na análise sensorial dos fermentados, podemos constatar que a chaptalização e a desacidificação resultaram em fermentados de maior preferência pelos avaliadores em relação ao sabor, no entanto a preferencia demonstrou ser mais influenciada pelo aumento do pH (Artigo 2, Tabela 2). No entanto é importante ressaltar que doses excessivas de carbonato de cálcio reduzem a sensação de frescor características e podem causar problemas de turvação e desestabilização dos pigmentos antociânicos (RIBÉREAU-GAYON, 1998).

Em relação á preferência de cor manifestada pelos provadores não foi observada nenhuma relação direta com os parâmetros avaliados. Uma vez que cada vinho possui uma característica colorimétrica especifica (em função do tipo e

quantidade de antocianinas presentes) possivelmente os provadores manifestaram seu favoritismo a partir da comparação com seus vinhos preferidos.

Os parâmetros colorimétricos dos fermentados chaptalizados e desacidificados foram semelhantes ao controle, com variação mais expressiva apenas na DO620, correspondente aos tons azuis. A cor é um dos atributos mais importantes em vinhos tintos e está diretamente relacionado com a concentração e tipo de antocianinas extraídas ou formadas durante a vinificação (MAZZA; FRANCIS, 1995). Quanto às antocianinas, foi observada maior concentração nos mostos chaptalizados com glicose de milho (Artigo 2, Tabela 1). Essa chaptalização pode ter provocado a glicosilação dessas moléculas, solubilizando-as e promovendo maior extração, enquanto que a presença de açúcares residuais nos fermentados protegeu a degradação destes pigmentos. Aparentemente a alta concentração de açúcares nos mostos chaptalizados com a glicose de milho promoveu uma proteção das antocianinas, auxiliando na sua estabilidade. No entanto não protegeu ao longo do armazenamento (Artigo 3, Figura 1 e 2)

Embora a presença de açúcares residuais decorrentes da chaptalização com glicose de milho tenha promovido uma possível proteção nos compostos antociânicos, sabe-se que é necessário que os fermentados possuam um teor alcoólico acima de 10 ° GL, para evitar prejuízos durante o armazenamento por longos períodos (SULLIVAN, 2003). A fim de prever a viabilidade de conservação de fermentados alcoólicos de mirtilos da cultivar Aliceblue chaptalizados e desacidificados foram armazenados durante 150 dias para verificação das modificações cromáticas e comportamento dos compostos antioxidantes (Artigo 3). A partir dos resultados foi possível prever a viabilidade de conservação de fermentados alcoólicos de mirtilos.

Analisando o comportamento colorimétrico durante o período de armazenamento observa-se o aumento da tonalidade, resultante da redução dos tons de vermelho (DO520) (Artigo 3, Tabela 2). Em vinhos, a redução dos tons vermelhos durante o armazenamento ocorre juntamente com a formação de compostos poliméricos e o aparecimento de tons amarelos, compostos resultantes de reações poliméricas, com formação de compostos mais estáveis como oligômeros e polímeros (MARQUEZ; SERRATOSA; MERIDA, 2014). A DO520 está

relacionada à presença de pigmentos antociânicos, que reduziram expressivamente durante o armazenamento de fermentados de mirtilo, em todos os tratamentos de forma similar. Apesar da estabilidade das antocianinas reduzirem em pH elevados (DALLAS; LAUREANO, 1994), o declínio em 150 dias não demonstrou relação com a desacidificação. Mesmo com a redução das antocianinas, observou-se aumento dos compostos fenólicos totais durante o armazenamento (Artigo 3, Figura 3), sugerindo que em fermentados alcoólicos de mirtilo também ocorre um mecanismo de condensação com outros fenólicos, como já observados em outros derivados do fruto, como sucos e geleias (BROWNMILLER; HOWARD; PRIOR, 2008)

Em relação à capacidade antioxidante, mesmo com as oscilações observadas nos conteúdos de compostos fenólicos, esta se manteve estatisticamente igual ao dia do engarrafamento (Artigo 3, Figura 4). Comportamento semelhante foi observado em vinhos brancos (KALLITHRAKA; SALACHA; TZOUROU, 2009) e em suco de mirtilo (REQUE et al., 2014). Embora ocorram reações de condensação dos compostos fenólicos durante o armazenamento, o número de grupos hidroxilas (-OH) ativos responsáveis pela atividade antioxidante permanecem inalterados, mantendo seus possíveis benefícios funcionais (ROGINSKY et al., 2006). Alguns compostos poliméricos formados já foram relatados por possuírem de 15 a 30 vezes maior capacidade antioxidante quando comparadas com os compostos monoméricos (HAGERMAN et al., 1998). Assim como a concentração de antocianinas, a capacidade antioxidante foi melhor nos fermentados com maior quantidade de açúcares residuais, em comparação com aqueles que desenvolveram maior graduação alcoólica, sugerindo que durante a vinificação de mirtilos o álcool não exerce influência na extração e manutenção destes compostos antioxidantes.

Apesar dos resultados desse estudo não permitirem esclarecer totalmente quais os compostos antioxidantes envolvidos nas reações que ocorrem durante a fermentação e no armazenamento de fermentados alcoólicos de mirtilos, observou-se uma melhor solubilidade dos compostos antociânicos ao chaptalizar os mostos de mirtilo com glicose de milho (Artigos 2 e 3). Mesmo com a redução de alguns parâmetros colorimétricos a capacidade antioxidante não foi alterada durante o armazenamento, o que permite afirmar que os fermentados de mirtilo podem ser

armazenados durante 150 dias sem alteração destes parâmetros (Artigo 3, Figura 4).

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e nas condições do experimento, pode-se chegar à conclusão que existe a possibilidade dos mirtilos cultivados no Rio Grande do Sul atender a indústria processadora no setor de produtos fermentados. Porém é importante a seleção de cultivares adequadas, com rendimento viável, como a cultivar Climax, com boa extração de compostos antioxidantes, como demonstrou a cultivar Darrow, e com bom comportamento fermentativo. No entanto além das cultivares, também é importante a aplicação de técnicas que aperfeiçoem as qualidades gustativas e suficiente conservação.

Fermentados de mirtilos cultivados no Rio Grande do Sul, e produzidos sob as mesmas técnicas adotadas para a fermentação de mostos de uva, apresentaram uma quantidade razoável de compostos antioxidantes, com a melhor extração de compostos fenólicos durante a vinificação de mostos da cultivar Darrow.

A técnica de chaptalização aumenta o teor alcoólico dos fermentados alcoólicos de 'Aliceblue' enquanto a adição de carbonato de cálcio reduz o pH das bebidas. A adoção dessas técnicas resulta em fermentados alcoólicos mais preferidos, em relação ao sabor, pelos consumidores.

Fermentados alcoólicos de 'Aliceblue' armazenados durante 150 dias tem seu teor de antocianinas significativamente reduzido, porém a chaptalização dos mostos auxilia a extração de compostos antociânicos. Mesmo com a redução de antocianinas a capacidade antioxidante das bebidas é mantida, concluindo que fermentados alcoólicos de mirtilo da cultivar Aliceblue podem ser armazenadas durante que 150 dias sem alteração deste parâmetro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEMANN, L.; YOUNG, B. Fruit & nut production in Kwazulu-Natal. **KZN Agri-Report**, p. 37, 2006.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos- Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolf Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.

ANTUNES, L. E. C. et al. Fenologia , produção e qualidade de frutos de mirtilo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1011–1015, 2008.

ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B. **Cultivo do mirtilo (*Vaccinium spp.*)**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 7 ago. 2011.

ASSIS-NETO, E. F. et al. Elaboração de bebida alcoólica fermentada de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 04, n. 02, p. 186–197, 2010.

BRASIL 1988. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Complementação de padrões de identidade e qualidade de vinho**. Portaria nº 229 de 25 de outubro de 1988.

BRASIL 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Padronização, a classificação, o registro, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas**. Decreto nº 6871 de 04 de junho de 2009.

BROWNMILLER, C.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 5, p. 72–79, jun. 2008.

BROWNMILLER, C.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Processing and storage effects on procyanidin composition and concentration of processed blueberry products. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1896–902, 11 mar. 2009.

CANTUARIAS-AVILÉS, T. et al. Cultivo do mirtilo: atualizações e desempenho inicial de variedades de baixa exigência em frio no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 139–147, mar. 2014.

CASTREJÓN, A. D. R. et al. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 564–572, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós Colheita de Frutas e Hortaliças - Fisiologia e Manuseio**. 2ª edição ed. Lavras - MG: UFLA, 2005. p. 785

CURVELO-GARCIA. Práticas enológicas internacionalmente reconhecidas. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 20, n. 2, p. 105–130, 2005.

D'AMORE, T.; RUSSELL, I.; STEWART, G. G. Sugar utilization by yeast during fermentation. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 4, p. 315–323, 1988.

DALLAS, C.; LAUREANO, O. Effects of pH, sulfur dioxide, alcohol content, temperature and storage time on the colour composition in a young Portuguese red wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 65, p. 477–485, 1994.

DHARMADHIKARI, M. Wines from Cherries and Soft Fruits. **Vineyard & Vintage View**, v. 11, n. 2, p. 1–9, 1996.

DOMINQUE, B. et al. Sugar Profile, Mineral Content, and Rheological and Thermal Properties of an Isomerized Sweet Potato Starch Syrup. **International Journal of Food Science**, v. 2013, p. 1–8, 2013.

EHLENFELDT, M. K.; PRIOR, R. L. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Phenolic and Anthocyanin Concentrations in Fruit and Leaf Tissues of Highbush Blueberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 2222–2227, 2001.

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

FAO. **FAO - Food and Agriculture organization of the United Nations**.

GAROFULIĆ, I. E. et al. The Influence of Processing on Physico-chemical Parameters , Phenolics , Antioxidant Activity and Sensory Attributes of Elderberry (*Sambucus nigra* L .) Fruit Wine. **Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition**, v. 7, n. Special Issue, p. 9–13, 2012.

GARZÓN, G. A. et al. Chemical composition, anthocyanins, non-anthocyanin phenolics and antioxidant activity of wild bilberry (*Vaccinium meridionale* Swartz) from Colombia. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 980–986, out. 2010.

GAVRILOVA, V. et al. Separation, characterization and quantification of phenolic compounds in blueberries and red and black currants by HPLC-DAD-ESI-MSn. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 8, p. 4009–18, 27 abr. 2011.

HAGERMAN, A. E. et al. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 1887–1892, 1998.

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E. et al. (Eds.). . **Biotechnologia Industrial: Biotechnologia na produção de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p. 21–68.

HE, F. et al. Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 2, p. 1571–601, jan. 2012.

HEO, H. J. et al. Antioxidant capacities Food, of individual and combined phenolics in a model system. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 87–92, 2007.

HOFFMANN, A.; ANTUNES, L. E. C. Grande Potencial. **Cultivar Hortaliças e Frutas Especial – Como Cultivar mirtilo**, v. 27, 2004.

HOWARD, L. R. et al. Jam processing and storage effects on blueberry polyphenolics and antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 4022–4029, 2010.

IACOPINI, P. et al. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 8, p. 589–598, dez. 2008.

IBRAF. **Instituto Brasileiro de Frutas**. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br>>.

JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus spp*)
Phytochemicals in blackberry. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 245–260,
2011.

JOHNSON, M. H. et al. Cultivar evaluation and effect of fermentation on antioxidant
capacity and in vitro inhibition of α -amylase and α -glucosidase by highbush blueberry
(*Vaccinium corombosum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n.
16, p. 8923–30, 24 ago. 2011.

JOHNSON, M. H.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Comparison of chemical composition
and antioxidant capacity of commercially available blueberry and blackberry wines in
Illinois. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 1, p. C141–8, jan. 2012.

KALLITHRAKA, S.; SALACHA, M. I.; TZOUROU, I. Changes in phenolic composition
and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test
versus bottle storage. **Food Chemistry**, v. 113, n. 2, p. 500–505, mar. 2009.

KALT, W. et al. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after
fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n.
11, p. 4638–44, nov. 1999.

KIM, J. G. et al. Fruit quality , anthocyanin and total phenolic contents , and
antioxidant activities of 45 blueberry cultivars grown in Suwon , Korea. **Biomed &
Biotechnol**, v. 14, n. 9, p. 793–799, 2013.

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

KREWER, G.; NESMITH, D. S. **Blueberry Cultivars for Georgia**. Disponível em:
<http://www.smallfruits.org/Blueberries/production/06bbcvproc_Nov0206.pdf>.
Acesso em: 15 dez. 2014.

KURIN, E.; MUČAJI, P.; NAGY, M. In vitro antioxidant activities of three red wine
polyphenols and their mixtures: an interaction study. **Molecules (Basel,
Switzerland)**, v. 17, n. 12, p. 14336–48, jan. 2012.

LEE, J.; WROLSTAD, R. E. Extraction of Anthocyanins and Polyphenolics from Blueberry Processing Waste. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 7, p. 564–573, 31 maio 2006.

LOPES, T. J. et al. ANTOCIANINAS : UMA BREVE REVISÃO DAS CARACTERÍSTICAS. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 3, p. 291–297, 2007.

MARQUEZ, A.; SERRATOSA, M. P.; MERIDA, J. Influence of bottle storage time on colour, phenolic composition and sensory properties of sweet red wines. **Food Chemistry**, v. 146, n. 1, p. 507–514, 2014.

MAZZA, G.; FRANCIS, F. J. Anthocyanins in grapes and grape products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 4, p. 341–371, 1995.

MORAES, J. O. DE et al. Study of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) in the process of food products. v. 27, n. supl., p. 18–22, 2007.

MUNIZ, C. R. et al. Bebidas fermentadas a partir de frutas tropicais. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 309–322, 2002.

NAMIESNIK, J. et al. Antioxidant activities and bioactive components in some berries. **European Food Research and Technology**, p. 11, 20 jul. 2013.

NESMITH, D. S. **A summary of current and past blueberry cultivars grown in Georgia**In: **SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 4.; ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL**Pelotas. Palestras e resumos... Pelotas: Embrapa Clima Temperado, , 2008.

NETO, C. C. **Cranberry and blueberry: Evidence for protective effects against cancer and vascular diseases****Molecular Nutrition and Food Research**, 2007.

OU, B. et al. Analysis of Vegetables, antioxidant activities of common Capacity, employing oxygen radical absorbance Power, (ORAC) and ferric reducing antioxidant Study., (FRAP) assays: a comparative. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 11, p. 3122 – 3128, 2002.

PALAFIX-CARLOS, H. et al. Antioxidant interactions between major phenolic compounds found in “Ataulfo” mango pulp: chlorogenic, gallic, protocatechuic and vanillic acids. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 11, p. 12657–64, jan. 2012.

PAYNE, T. J. Formulating with Blueberries for Health. **Cereal Foods World**, v. 50, n. 5, p. 2620–0264, 2005.

PELEGRINE, D. H. G. et al. Geleia de Mirtilo elaborada com frutas da variedade climax: desenvolvimento e análise dos parametros sensoriais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, n. 3, p. 225–231, 2012.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146–152, 2012.

PERTUZZATI, Paula Becker. Compostos bioativos em diferentes cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 86f, 2009

PREFEITURA MUNICIPAL DE ITAARA-RS. **Município de Itaara-RS**. Disponível em: <<http://www.itaara.rs.gov.br/>>. Acesso em: 9 out. 2013.

RASEIRA, M. DO C. B. **A cultura do mirtilo**. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/744895/1/documento121.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2014.

REQUE, P. M. et al. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, n. 1, p. 111–116, fev. 2014.

RIBÉREAU-GAYON, P. ET AL. **Chimie du vin: stabilisation et traitements**. Paris: Dunod, 1998. p. 519

RIIHINEN, K. et al. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and “northblue” blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. angustifolium*). **Food Chemistry**, v. 110, n. 1, p. 156–160, 2008.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Correção do mosto da uva Isabel com diferentes produtos na Serra Gaúcha. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 450–454, 2005.

ROGINSKY, V. et al. The antioxidant activity of Californian red wines does not correlate with wine age. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 5, p. 834–840, 15 abr. 2006.

RUPASINGHE, H. P. V.; CLEGG, S. Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements, and histamine concentrations in wines of different fruit sources. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 2, p. 133–137, 2007.

SÁNCHEZ-MORENO, C. et al. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 17, p. 4889–96, 13 ago. 2003.

SEGTOEWICK, E. C. D. S.; BRUNELLI, L. T.; VENTURINI FILHO, W. G. Avaliação físico-química e sensorial de fermentado de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 2, p. 147–154, jun. 2013.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 8, p. 2432–2438, abr. 2002.

SILVA, P. H. A. DA et al. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jaboticaba (*myrciaria jaboticaba*). **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 595–600, 2008.

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

SOUZA, M. B. et al. Mirtilo- Qualidade pós colheita. **Folhas de divulgação AGRO**, v. 556, n. 8, p. 32, 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, n. 1, p. 182–187, 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, p. 447–451, 2006.

SULLIVAN, J. H. **Blueberry wine production**New England Vegetable & Fruit Conference. **Anais...**2003

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3^a. ed. Porto Alegre - RS: Artmed, 2004. p. 719

VENTURINI-FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. 1/2010. ed. São Paulo:Blucher, 2010. p. 492

VIAN, M. L. **Análise Físico-Química, sensorial e Capacidade Antioxidante de Fermentado de Mirtilo**. 2011. 41 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

VIDAL, S. et al. Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, n. 1, p. 57–65, 2004.

VILLANO, D. et al. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 230–235, 2007.

WANG, D. et al. Fermentation Kinetics of Different Sugars by Apple Wine Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 110, n. 4, p. 340–346, 9 out. 2004.

WANG, S. Y. et al. Flavonoid constituents and their contribution to antioxidant activity in cultivars and hybrids of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). **Food Chemistry**, v. 132, n. 2, p. 855–864, maio 2012.

WELLS, R. H.; YANG, W.; WILLIAMSON, J. **UF research: Blueberry wine has more antioxidants than many grape-based wines**. Disponível em: <<http://news.ufl.edu/2012/02/01/blueberry-wine/>>. Acesso em: 23 out. 2013.

WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W.; LEE, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 9, p. 423–428, set. 2005.

YAN, H. et al. Optimization of the alcoholic fermentation of blueberry juice by AS 2.316 *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 15, p. 3623–3630, 21 fev. 2012.

YANG, W. et al. Prospecting Antioxidant Capacities and Health-Enhancing Phytonutrient Contents of Southern Highbush Blueberry Wine Compared to Grape Wines and Fruit Liquors. **Sustainable Agriculture Research**, v. 1, n. 1, p. 26–35, 29 jan. 2012.

YI, W.; AKOH, C. C.; FISCHER, J.; KREWER, G. Effects of phenolic compounds in blueberries and muscadine grapes on HepG2 cell viability and apoptosis. **Food Reserch International**, v.39, p.628-638, 2006.

ZAMORA, F. **ELABORACIÓN Y CRIANZA DEL VINO TINTO: Aspectos científicos y prácticos**. 1^a. ed. Madrid: AMV Ediciones. Ediciones Mundi-Prensa. 2003 p. 255