

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Construção de um Sistema de Aquecimento Ôhmico e sua Aplicação no
Tratamento Térmico de Polpa de Mirtilo**

- Dissertação de Mestrado -

Júlia Ribeiro Sarkis

Porto Alegre

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Construção de um Sistema de Aquecimento Ôhmico e sua Aplicação no
Tratamento Térmico de Polpa de Mirtilo

Júlia Ribeiro Sarkis

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Área de concentração: Fenômenos de Transporte

Orientadores:

Prof.^a Dr.^a Lígia Damasceno Ferreira Marczak

Prof.^a Dr.^a Isabel Cristina Tessaro

Porto Alegre

2011

Agradecimentos

Às minhas orientadoras Ligia Damasceno Ferreira Marzack e Isabel Cristina Tessaro pela amizade e por terem me guiado e motivado ao longo da elaboração desta dissertação.

À colega Giovana Mercali pela parceria na execução deste trabalho e por ser uma companheira durante todo o mestrado.

Aos colegas do Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos pela ajuda e pelos bons momentos que passamos juntos.

À Débora Jaeschke, bolsista e aluna de graduação, pelo auxílio na execução dos experimentos.

A todos os professores que me impulsionaram na vida acadêmica e ao Departamento de Engenharia Química pela utilização da estrutura física dos laboratórios.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFRGS e ao CNPq pelo suporte contínuo.

Aos colegas de Pós-Graduação, pela convivência e amizade durante todo o curso.

Ao meu namorado, Daniel, pelo companheirismo e apoio incondicional.

Aos meus pais, Sarkis e Madalena, por todo carinho e por serem sempre fonte de inspiração na construção da minha carreira profissional e ao meu irmão, Marcelo, pela amizade.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Construção de um Sistema de Aquecimento Ôhmico e sua Aplicação no Tratamento Térmico de Polpa de Mirtilo*, elaborada por Júlia Ribeiro Sarkis, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto

Prof.^a Dr.^a Rosane Rech

Prof.^a Dr.^a Aline Schilling Cassini

Resumo

O aquecimento ôhmico consiste na passagem de corrente elétrica alternada através de um alimento, transformando energia elétrica em energia térmica, promovendo, assim, um aumento de temperatura em seu interior. A habilidade desse método de gerar calor internamente no alimento permite que o aumento de temperatura seja rápido e uniforme. Essa habilidade resulta em um produto de maior qualidade, tornando a tecnologia de aquecimento ôhmico uma alternativa aos processos convencionais. O mirtilo é rico em compostos fenólicos, dentre esses estão as antocianinas. As antocianinas são compostos fenólicos com alto potencial antioxidante, sendo esse potencial relacionado a efeitos benéficos para a saúde humana no tratamento e prevenção de diversas doenças. O objetivo deste trabalho foi elaborar um sistema de aquecimento ôhmico em escala de bancada e utilizá-lo no tratamento térmico da polpa de mirtilo, visando avaliar o efeito deste processo na degradação das antocianinas. Para tal, foi investigado o efeito da tensão (160–240 V) e do teor total de sólidos (4–16 %), utilizando um planejamento composto central. Foram determinadas algumas propriedades físicas do produto para posterior modelagem do processo. O sistema de aquecimento ôhmico construído opera em batelada e é composto por um variador de tensão, um sistema de aquisição de dados para monitoramento de temperatura, corrente elétrica e tensão e uma célula ôhmica. O teor total de antocianinas foi quantificado prévia e posteriormente ao aquecimento ôhmico, utilizando as metodologias de cromatografia líquida de alta eficiência e a espectrometria. O sistema de aquecimento ôhmico teve desempenho e validação satisfatórios. A degradação de antocianinas do mirtilo variou entre 5,71 e 14,67% nas faixas de tensão e de concentração de sólidos estudadas. O planejamento experimental demonstrou que apenas a tensão exerceu efeito significativo sobre a degradação. O aquecimento ôhmico, quando realizado utilizando altas tensões, apresentou níveis de degradação superiores ao aquecimento convencional. Por outro lado, quando aplicadas tensões mais baixas, a degradação de antocianinas foi inferior à apresentada pelo tratamento convencional.

Palavras-chave: mirtilo, antocianinas, aquecimento ôhmico, degradação, propriedades físicas.

Abstract

Ohmic heating is based on the passage of alternating electrical current through food, transforming electrical energy in thermal energy, promoting an increase in temperature. The ability of this method in generating heat from inside the product, allows the heating process to be fast and homogeneous. This ability results in a product of superior quality and presents itself as an alternative to conventional processing. Blueberry fruits contain an array of phenolics, including anthocyanins. Anthocyanins are phenolic compounds with high antioxidant capacity, being this potential related to benefits to human health in the treatment and prevention of several diseases. The aim of this work was to elaborate a bench ohmic heating system and apply it in the thermal treatment of blueberry pulp, in order to evaluate the effect of this process on anthocyanin degradation. For this purpose, the influence of different voltages (160–240 V) and total solids content (4–16 %) was evaluated using a central composite design. Some of the pulp physical properties were evaluated for posterior process modeling. The ohmic heating apparatus, operates in batch configuration and it consists of a voltage regulator; a system for temperature, tension and electrical current data acquisition; and an ohmic heating cell in which the pulp was inserted. Total anthocyanin content was determined previously and after ohmic heating by high performance liquid chromatography and spectrometry analysis. Satisfactory performance and validation were obtained considering the ohmic heating system built. Blueberry anthocyanins' degradation varied from 5.71 to 14.67% in the tensions and solids contend range analyzed in this study. The central design composite showed that only tension exerted significant influence over anthocyanin degradation. Ohmic heating experiments, when carried out with high voltages, presented higher degradation levels than conventional heating. However, when lower voltages were applied, anthocyanin degradation was inferior when compared to conventional heating.

Keywords: blueberry, anthocyanins, ohmic heating, degradation, physical properties.

Sumário

Capítulo 1 - Introdução	1
Capítulo 2 - Mirtilo	5
2.1 O Mirtilo.....	5
2.1.1 Classificação Botânica.....	6
2.1.2 Colheita e Pós-Colheita	7
2.1.3 Fatores Climáticos	9
2.1.4 Aspectos Econômicos.....	10
2.1.6 Composição Química	13
2.2 As Antocianinas.....	14
2.2.1 Propriedades Nutracêuticas	17
2.2.2. Estabilidade e Degradação	19
2.2.3 Análise e Quantificação de Antocianinas.....	25
2.3 Materiais e Métodos.....	28
2.3.1 Aquisição dos Frutos e Elaboração das Polpas	28
2.3.2 Determinação das Propriedades Físico-Químicas da Polpa	29
2.3.3 Extração das Antocianinas.....	30
2.3.4 Implementação do Método de Análise por HPLC.....	31
2.3.5 Implementação do Método de Análise por Espectrofotometria	34
2.4 Resultados e Discussão.....	35
2.4.1 Propriedades Físico-Químicas da Polpa	35
2.4.2 Teor de Antocianinas na Polpa	35
2.5 Conclusões	43
Capítulo 3 - Propriedades Físicas.....	45
3.1 Fundamentos Teóricos.....	46
3.1.1 Massa Específica	46
3.1.2 Condutividade Elétrica	47
3.1.3 Calor Específico	48
3.1.4 Difusividade Térmica	51
3.1.5 Condutividade Térmica	52
3.2 Materiais e Métodos.....	54
3.2.1 Massa Específica	54
3.2.2 Condutividade Elétrica	55
3.2.3 Calor Específico	55
3.2.4 Difusividade Térmica	57

3.2.5 Condutividade Térmica.....	58
3.2.6 Análise estatística aplicada à avaliação das propriedades termofísicas.....	58
3.3 Resultados e Discussão.....	59
3.3.1 Massa Específica.....	59
3.3.2 Condutividade Elétrica.....	62
3.3.3 Calor Específico.....	65
3.3.4 Difusividade Térmica.....	67
3.3.5 Condutividade Térmica.....	68
3.4 Conclusões.....	69
Capítulo 4 - Aquecimento Ôhmico.....	71
4.1 Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica.....	71
4.1.1 Histórico do Desenvolvimento do Aquecimento Ôhmico.....	74
4.1.2 Princípios do Aquecimento Ôhmico.....	76
4.1.3 Parâmetros Críticos de Processo.....	79
4.1.4 Configurações e Equipamentos.....	82
4.2 Tratamentos Térmicos em Sucos e Polpas de Fruta.....	84
4.3 Materiais e Métodos.....	85
4.3.1 Montagem e Adequação do Sistema de Aquecimento Ôhmico.....	85
4.3.2 Tratamento Térmico da Polpa de Mirtilo.....	93
4.4 Resultados e Discussão.....	97
4.4.1 Montagem e Adequação do Sistema de Aquecimento Ôhmico.....	97
4.4.2 Tratamento Térmico da Polpa de Mirtilo.....	108
4.5 Conclusões.....	119
Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros.....	121
Referências Bibliográficas.....	125

Lista de Figuras

Figura 2.1 - Mirtilo. Fonte: Santos <i>et al.</i> (2007).	6
Figura 2.2 – Mapa de horas de frio estimadas para a região Sul do Brasil de maio a setembro. Fonte: Herter e Wrege (2004).	10
Figura 2.3– Cátion flavílico. R1 e R2 = -H, -OH ou -CH ₃ , R3 = açúcares, R4 = -H ou açúcares. Fonte: Fennema (2010).	15
Figura 2.4 – Estrutura das principais antocianidinas. Fonte: Shahidi e Naczk (2004).	16
Figura 2.5 – Reações de ligação das antocianinas (PP) aos radicais livres (ROO). Fonte: Bravo (1998).	17
Figura 2.6 – Comportamento da molécula de antocianina diante das mudanças de pH. Fonte: Yúfera (1998).	21
Figura 2.7 – Cromatograma da análise de polpa de mirtilo com TST 16 %.	38
Figura 2.8 – Teor total de antocianinas, teor de delphinidina e teor de malvidina, avaliados por HPLC, versus teor total de sólidos da polpa.	41
Figura 2.9 - Teor total de antocianinas avaliado por espectrometria <i>versus</i> teor total de sólidos da polpa.	42
Figura 3.1 – Picnômetro.	47
Figura 3.2 – Fotografia do calorímetro imerso em banho com agitação.	56
Figura 3.3 – Fotografia do saco de PEBD contendo polpa de mirtilo.	56
Figura 3.4 – Célula de cobre para determinação da difusividade; acima célula aberta, rolha de silicone, termopar e fio de nylon; abaixo célula fechada, com a amostra previamente inserida.	57
Figura 3.5 – Superfície de contorno para a massa específica em função do teor de sólidos totais e da temperatura.	61
Figura 3.6 - Massa específica da polpa de mirtilo em função da temperatura para diferentes teores de sólidos totais.	61
Figura 3.7 – Superfície de contorno para a condutividade elétrica em função do teor de sólidos totais e da temperatura.	64
Figura 3.8 – Condutividade elétrica da polpa de mirtilo em função da temperatura.	64
Figura 4.1– Diagrama esquemático de um aquecedor ôhmico. Fonte: Ruan et al.(2002).	77
Figura 4.2 – Configurações do processo de AO: (a) batelada, (b) transversa e (c) colinear. Fonte: Goullieux e Pain (2005).	82

Figura 4.3 – Esquema de processamento via aquecimento ôhmico de fluxo contínuo. Fonte: Ruan et al. (2001).....	83
Figura 4.4 – Diagrama esquemático do sistema de aquecimento ôhmico.	86
Figura 4.5 – Interface gráfica do software para aquisição de dados.	86
Figura 4.6 – Fotografias da célula ôhmica #1. (a) vista geral e (b) vista dos eletrodos.....	88
Figura 4.7 – Fotografia da célula ôhmica #2.	90
Figura 4.8 – Fluxograma simplificado do processo de desaeração da polpa de mirtilo.	91
Figura 4.9 – Fotografia do sistema de agitação da célula #2 – mesa agitadora, medidores de temperatura e célula ôhmica #2.	91
Figura 4.10 – Fotografias da célula ôhmica #3: (a) célula de vidro; (b) eletrodos de platina e sensores de temperatura.	92
Figura 4.11 – Fotografia do sistema completo de aquecimento ôhmico com a célula ôhmica #3.....	93
Figura 4.12 – Esquema demonstrando o posicionamento dos eletrodos e dos sensores de temperatura no interior da célula ôhmica #3.....	93
Figura 4.13 – Condutividade elétrica da polpa de mirtilo (<i>TST</i> 16 %) em função da temperatura, medida no condutivímetro e na célula #1 para polpa aerada e desaerada.	98
Figura 4.14 – Variação de temperatura no centro e na lateral da célula durante o aquecimento de solução NaCl 0,16M.....	101
Figura 4.15 - Condutividade elétrica da polpa de mirtilo (<i>TST</i> 16 %) em função da temperatura na célula ôhmica#2 para polpa não desaerada (ND), desaerada com ultrassom e bomba de vácuo (U+B) e desaerada com ultrassom, bomba de vácuo e aquecimento (U+B+A).....	104
Figura 4.16 – Variação da temperatura com o tempo para a polpa de mirtilo com teor de sólidos de 10% medida na célula ôhmica #2 sem agitação para duas posições: lateral e central.	105
Figura 4.17 - Variação da temperatura com o tempo para a polpa de mirtilo com teor de sólidos de 10% medida na célula ôhmica #2 com agitação para duas posições: lateral e central.....	105
Figura 4.18 – Diferenças máximas de temperatura entre o lado e o centro da célula ôhmica#2 durante o aquecimento da polpa de mirtilo em diferentes teores de sólidos totais (4, 10 e 16%).....	106

Figura 4.19 – Medidas de condutividade elétrica em função da temperatura na célula #3 para polpas de mirtilo com 4, 10 e 16% de sólidos totais.	108
Figura 4.20 – Variação da temperatura com o tempo durante o processamento para o ponto 9 do planejamento experimental.....	109
Figura 4.21 – Valores de degradação observados <i>versus</i> preditos pelo modelo proposto.	115
Figura 4.22 – Percentual de degradação de antocianinas presentes na polpa de mirtilo (10% <i>TST</i>) para o aquecimento convencional e para o aquecimento ôhmico em diferentes tensões: 160, 200 e 240 V.	117

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 – Características físico-químicas de frutos de mirtilo.....	8
Tabela 2.2 - Informações nutricionais do mirtilo.....	13
Tabela 2.3 – Composição mássica percentual das diluições utilizadas: <i>TST</i> , polpa, água e goma xantana.	29
Tabela 2.4 – Valores médios para os teor de sólidos totais e solúveis e pH da polpa de mirtilo.	35
Tabela 2.5 – Concentrações inicial e final das curvas de calibração e tempo médio de eluição para as diferentes antocianidinas.....	36
Tabela 2.6 – Valores dos coeficientes angulares (<i>a</i>) e lineares (<i>b</i>) das curvas de calibração, seus desvios (DP_a e DP_b) e o coeficiente de determinação (R^2) para as diferentes antocianidinas.	36
Tabela 2.7 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para as análises de concentração das diferentes antocianidinas.	37
Tabela 2.8 – Teor de antocianinas da polpa de mirtilo com <i>TST</i> 16 %.	39
Tabela 2.9 – Teores totais de antocianinas para os diferentes <i>TST</i> obtidos na análise por HPLC.	40
Tabela 2.10 - Teores de antocianinas obtidos na análise por espectrofotômetro para os diferentes <i>TST</i>	42
Tabela 3.1 – Valores médios de massa específica da polpa de mirtilo com diferentes teores de sólidos e em diferentes temperaturas.	60
Tabela 3.2 – Regressão linear múltipla para a massa específica.	60
Tabela 3.3 - Valores médios de condutividade elétrica da polpa de mirtilo com diferentes teores de sólidos e em diferentes temperaturas.	63
Tabela 3.4 - Regressão linear múltipla para condutividade elétrica.	63
Tabela 3.5 – Valores de C_p para as polpas de mirtilo com <i>TST</i> de 16 e 14,24 %.	66
Tabela 3.6 – Valores de α para as polpas de mirtilo com <i>TST</i> de 16 e 14,24 %.	67
Tabela 3.7 – Valores de C_p , α e k para as polpas com <i>TST</i> 16 e 14,24 % e para a água, na temperatura de 40 °C.	69
Tabela 4.1 – Planejamento fatorial: valores codificados e originais das variáveis de estudo, tensão e teor de sólidos totais (<i>TST</i>).....	95

Tabela 4.2 – Valores de condutividade elétrica para as soluções de NaCl em diferentes concentrações medidas no condutivímetro e na célula #1.....	97
Tabela 4.3 - Valores de condutividade elétrica para as soluções de Na ₃ PO ₄ em diferentes concentrações medidos no condutivímetro e na célula #1.	98
Tabela 4.4 – Valores de condutividade elétrica para as soluções de NaCl em diferentes concentrações medidos no condutivímetro e na célula ôhmica #2.....	102
Tabela 4.5 - Valores de condutividade elétrica para as soluções de Na ₃ PO ₄ em diferentes concentrações medidos no condutivímetro e na célula ôhmica #2.....	103
Tabela 4.6 – Parâmetros do processamento ôhmico para os pontos do planejamento fatorial: tensão, teor de sólidos, tempo de aquecimento da polpa, temperatura média de pasteurização e diferença máxima de temperatura no interior da célula.	110
Tabela 4.7 – Teores de antocininas pré e pós aquecimento ôhmico e degradação percentual para as condições de tensão e teor de sólidos totais estabelecidas no planejamento fatorial.	111
Tabela 4.8 – Magnitude dos efeitos dos fatores sobre a degradação de antocianinas durante o aquecimento ôhmico.....	112
Tabela 4.9 – Resultados da análise de variância do modelo completo para a degradação de antocianinas.	112
Tabela 4.10 – Resultado da análise de variância do modelo reduzido para a degradação de antocianinas.	113
Tabela 4.11 – Teores de delfinidina e malvidina pré e pós aquecimento ôhmico e suas degradações percentuais para as condições de tensão e teor de sólidos totais estabelecidas no planejamento fatorial.	116

Lista de Símbolos

<i>A</i>	área (m ²)
b.u.	base úmida
<i>C</i>	calor específico (J kg ⁻¹ K ⁻¹)
<i>C_p</i>	calor específico a pressão constante (J kg ⁻¹ K ⁻¹)
<i>DP</i>	desvio padrão
<i>DPR</i>	desvio padrão relativo (%)
<i>E</i>	erro médio (%)
<i>H</i>	capacidade calorífica (J K ⁻¹)
<i>I</i>	intensidade de corrente (A)
<i>i</i>	número de termos da série
<i>k</i>	condutividade térmica (W m ⁻¹ K ⁻¹)
<i>L</i>	comprimento (m)
<i>LD</i>	limite de detecção (mg kg ⁻¹)
<i>LQ</i>	limite de quantificação (mg kg ⁻¹)
<i>m</i>	massa (kg)
<i>n</i>	número de observações
<i>Q</i>	taxa de calor gerado (J s ⁻¹)
<i>q</i>	taxa de transferência de calor por condução (J s ⁻¹)
<i>R</i>	resistência elétrica (Ω)
<i>r</i>	coordenada espacial do sistema cilíndrico
<i>Sc</i>	desvio padrão dos dados obtidos com as curvas de calibração (mg kg ⁻¹)
<i>T</i>	temperatura (°C)
<i>t_R</i>	tempo de retenção (min)
<i>TST</i>	teor de sólidos totais (%)
<i>V</i>	volume (mL ou m ³)
<i>x^w</i>	umidade (%)
<i>x, y</i>	coordenadas espaciais do sistema cartesiano
<i>x₁, x₂ e x₃</i>	variáveis independentes
<i>y_i</i>	variável de resposta

Símbolos Gregos

α	difusividade térmica ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)
β_n	coeficientes de regressão multilinear
γ	coeficiente de proporcionalidade
μ	concentração média de antocianinas (mg kg^{-1})
Π	propriedade genérica
ρ	massa específica (g mL^{-1})
σ	condutividade elétrica (S m^{-1})
θ	temperatura adimensional

Subscritos

0	inicial
a	amostra
e	equilíbrio
exp	experimental
f	final
k	calorímetro
$pred$	predito
w	água

Capítulo 1 - Introdução

O cultivo do mirtilo é recente no país, no entanto, a pesquisa envolvendo essa cultura tem se intensificado. A principal razão para o estudo do mirtilo está nos seus aspectos medicinais. A funcionalidade desse fruto está relacionada ao seu alto teor de antocianinas, compostos fenólicos contidos nos pigmentos de cor púrpura do mirtilo.

Os maus hábitos alimentares das populações vivendo em países desenvolvidos têm levado a altas incidências de doenças como câncer e doenças crônicas como hipertensão, diabetes, obesidade e problemas cardiovasculares. Para a maioria dos pesquisadores, a principal alternativa para a modificação deste status é o aumento do consumo de grãos, frutas e vegetais, o que causou um acréscimo do número de estudos envolvendo alimentos de origem vegetal com propriedades funcionais.

Para transformar os frutos, que são produtos perecíveis, em produtos armazenáveis é necessário seu processamento térmico. Além de aumentar a vida útil do produto, o processamento facilita a comercialização, evitando perdas através da venda dos excedentes de produção e aumentando a oferta do alimento. A polpa de fruta é obtida da parte comestível do fruto, após trituração e/ou despolpamento. Sua utilização é quase sempre como matéria prima para a produção de sucos, néctares, geleias e doces.

O conhecimento atual indica que, em geral, tratamentos envolvendo altas temperaturas podem afetar o nível de antocianinas em produtos a base de frutas ou vegetais. Estudos nessa área geram potencial para que os consumidores adquiram ainda mais benefícios à saúde a

partir de frutas ricas nesses compostos. Melhorias de processos envolvendo calor, em combinação com tecnologias não térmicas, tem sido foco de estudo nos últimos anos. A indústria de alimentos, atualmente, está aberta à adoção de novos conceitos e tecnologias que ofereçam vantagens aos sistemas convencionais. Dentre as novas tecnologias em estudo está o aquecimento ôhmico.

Recentemente, a tecnologia de aquecimento ôhmico tem recebido um maior interesse, pois os produtos obtidos a partir dessa tecnologia possuem qualidade superior aos produzidos utilizando os métodos convencionais. Essa melhoria na qualidade dos produtos está relacionada à sua habilidade em aquecer materiais de maneira rápida e uniforme, através da geração interna de calor. No entanto, o estudo dos efeitos do aquecimento ôhmico sobre as antocianinas e outros nutrientes deve ser aprofundado, visando o melhor entendimento das reações envolvidas nesse processo. Além dos aspectos nutricionais, o aquecimento ôhmico se destaca por aspectos ambientais. Os aquecimentos convencionais envolvem, geralmente, trocadores de calor que utilizam água ou vapor como meio de troca térmica com o alimento. O aquecimento ôhmico, por sua vez, gera calor diretamente no interior do produto, minimizando os gastos energéticos e a utilização de água.

A princípio, o processamento ôhmico de polpa de mirtilo se apresenta como uma alternativa que permite a obtenção de produtos com maior teor de antocianinas e, ainda, como uma melhoria no aspecto ambiental em relação aos métodos de aquecimento convencionais.

O objetivo geral deste trabalho foi construir e validar um sistema de aquecimento ôhmico de bancada e avaliar a influência desse processo na degradação de antocianinas da polpa mirtilo. Para tal, foi investigado o efeito da tensão (160 – 240 V) e do teor de sólidos totais da polpa de mirtilo (4 – 16 %), através de um planejamento composto central 2^2 , utilizando a metodologia de superfície de resposta para avaliação estatística dos resultados.

Dentro desse contexto, os objetivos específicos deste trabalho foram:

- quantificar o teor de umidade, o teor de sólidos solúveis e totais e o pH da polpa de mirtilo elaborada e utilizada na execução desse trabalho;
- extrair de forma satisfatória e determinar o teor total de antocianinas presente na polpa de mirtilo para diferentes concentrações de sólidos totais;
- caracterizar o extrato antociânico do fruto em análise;

-
- validar a metodologia de análise por cromatografia líquida de alta eficiência para quantificação de antocianinas;
 - estimar as propriedades físicas, massa específica, condutividade elétrica, calor específico, difusividade térmica e condutividade térmica da polpa de mirtilo, em diferentes temperaturas, para posterior aplicação na modelagem e simulação do processo de aquecimento ôhmico;
 - projetar, construir e validar um sistema de aquecimento ôhmico em escala de bancada capaz de processar termicamente polpas de fruta e que opere de forma segura;
 - avaliar a degradação de antocianinas após a aplicação de aquecimento ôhmico em polpas de mirtilo com diferentes teores de sólidos totais, aplicando tensões entre 160 e 240 V;
 - verificar o efeito dos parâmetros em análise sobre a degradação das antocianinas e elaborar um modelo que represente esta relação;
 - aquecer mediante tratamento térmico convencional a polpa de mirtilo e verificar o percentual de degradação de antocianinas;
 - comparar a influência dos dois métodos utilizados na determinação da degradação de antocianinas do mirtilo.

O presente texto está estruturado da forma descrita a seguir. No capítulo 2 é apresentada uma introdução sobre dois aspectos: o mirtilo, abordando aspectos botânicos, de colheita e econômicos do fruto, e as antocianinas, englobando as suas propriedades nutraceuticas, estabilidade e métodos de análise. A seguir, são descritos os materiais e métodos empregados na avaliação das propriedades físico-químicas do fruto e na quantificação e caracterização de suas antocianinas. Por fim, são apresentados os resultados obtidos.

O Capítulo 3 apresenta uma revisão sobre as propriedades físicas avaliadas, bem como a metodologia utilizada para determiná-las e os resultados obtidos através das análises realizadas.

No Capítulo 4, é realizada uma revisão sobre o processo de aquecimento ôhmico, que inclui seu histórico, princípios e aplicações, além de uma pequena abordagem de tratamentos térmicos de sucos e polpas. Posteriormente, são demonstrados os materiais e métodos

envolvidos na construção do sistema de aquecimento ôhmico e no processamento térmico da polpa de mirtilo, seguidos dos resultados dessas análises.

Finalmente, são apresentadas as conclusões sobre os resultados obtidos e as sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2 - Mirtilo

Nesse capítulo são apresentadas características do mirtilo, aspectos relacionados à colheita e pós-colheita, composição química e aspectos econômicos. Além disso, é realizada uma revisão sobre as antocianinas, componente do mirtilo que é o foco deste trabalho. Esta revisão abrange suas propriedades nutraceuticas, estabilidade em diferentes meios e métodos de extração e análise. Posteriormente, são apresentadas as metodologias para determinação de algumas propriedades físico-químicas do fruto e, em seguida, é descrito o método utilizado para determinação do teor de antocianinas por cromatografia líquida de alta eficiência e método do pH diferencial. Finalmente, são apresentados e discutidos os resultados obtidos.

2.1 O Mirtilo

O mirtilo (*Vaccinium spp*), apresentado na Figura 2.1, pertence ao grupo das pequenas frutas ou, em inglês, *berries*. Deste grupo, além dos mirtilos (*blueberries*), fazem parte amoras (*blackberries*), morangos (*strawberries*), framboesas (*raspberries*), uvas-do-monte (*cranberries*), groselhas (*gooseberries*) e passas de corinto (*currants*), entre outras frutas (Kotecha e Madhavi, 1995). O termo “pequenas frutas” é empregado para um grupo de espécies já consagradas em países tradicionalmente produtores, porém frequentemente novas espécies são inseridas neste conjunto (Pagot e Hoffman, 2003).

Esta espécie frutífera é originária da Europa e da América do Norte. A cultura do mirtilo ainda é recente no Brasil, os primeiros cultivares foram introduzidos em 1983 pela

Embrapa Clima Temperado. No entanto, a pesquisa desta cultura tem se intensificado recentemente por suas propriedades nutraceuticas e principalmente pelas oportunidades de negócio que o fruto apresenta, despertando interesse de técnicos e produtores brasileiros (Ayala, 1999; Pagot e Hoffman, 2003; Santos *et al.*, 2007). O mirtilo pode ser comercializado *in natura*, processado como polpa para sucos, iogurtes, doces, sorvetes e geleias, ou congelado (Raseira, 2004).



Figura 2.1 - Mirtilo. Fonte: Santos *et al.* (2007).

O mirtilo é bastante apreciado devido ao seu exótico sabor, alto valor econômico e seus aspectos medicinais, sendo considerado como “fonte de longevidade”. Os aspectos medicinais deste fruto estão relacionados especialmente ao alto teor de antocianidinas, que estão contidas nos pigmentos de cor púrpura e oferecem benefícios no tratamento e prevenção de diferentes problemas de saúde (Santos *et al.*, 2007; Fachinello, 2008).

2.1.1 Classificação Botânica

O mirtilo é uma planta de porte arbustivo ou rasteiro que pertence à família *Ericaceae*, à subfamília *Vaccinoideae* e ao gênero *Vaccinium*. As bagas possuem diâmetro entre 10 e 30 mm, coloração azul escura, massa de 1,5 a 4,0 g e formato achatado, sendo coroadas pelos lóbulos persistentes do cálice. Esta fruta apresenta em seu interior diversas sementes e tem sabor doce-ácido a ácido (Raseira, 2004; Fachinello, 2008). Galletta e Ballington (1996) classificaram os mirtilos plantados comercialmente em cinco grupos, de acordo com o genótipo, hábito de crescimento, tipo de fruto produzido e outras características, conforme apresentado a seguir.

- *Highbush* (arbusto alto): este grupo é composto por plantas de dois ou mais metros de altura que necessitam de 650 a 800 h em frio hibernal e é composto principalmente por

frutos da espécie *V. corymbosum*. Este tipo mirtilo é o que tem maior importância comercial nos Estados Unidos, sendo produzido em 17 estados americanos.

- *Half high* (arbusto de médio porte): tem plantas de 0,5 a 1,0 m de altura, envolve híbridos de *V. angustifolium* e *V. corymbosum* e exige menos frio que o grupo *highbush*.
- *Southern highbush* (arbusto de porte alto, originário do sul de Estados Unidos): também neste grupo predomina a espécie *V. corymbosum* e é conhecido como *highbush* de baixa necessidade de frio.
- *Rabbiteye* (olho de coelho): possuem alturas entre 2,0 e 4,0 m e seus frutos são da espécie *V. ashei*. Algumas das características dessa espécie são vigor, longevidade, produtividade e baixa necessidade de frio. Além disso, a espécie é tolerante a fatores como calor, seca, problemas com fungos e variações de solo; os frutos são ácidos, firmes e de longa conservação.
- *Lowbush* (arbusto de pequeno porte): é composto por plantas de menos de meio metro de altura, e em sua maioria pertencente à espécie *V. angustifolium*, sendo esta a *lowbush* de maior importância comercial nos Estados Unidos. Além disso, está neste grupo o mirtilo do Canadá, *V. myrtilloides* e *V. boreale*.

As cultivares introduzidos pela Embrapa no Brasil pertencem principalmente ao grupo *rabbiteye*, no entanto, algumas variedades dos grupos *highbush* e *southern highbush* também foram plantadas (Pagot, 2006). As cultivares pertencentes ao grupo *rabbiteye* são de elevado vigor, no entanto o tamanho da fruta é inferior ao das provindas do grupo *highbush*, no qual se enquadram a maior parte das cultivares de importância comercial nos Estados Unidos e Europa (Pagot e Hoffman, 2003; Vizzoto e Pereira, 2009).

2.1.2 Colheita e Pós-Colheita

A colheita representa a maior parte dos custos envolvendo mão de obra no cultivo de mirtilo, sendo seu planejamento bastante importante. A frutificação se dá em ramos de um ano de idade e a colheita deve ser feita semanalmente ou, preferencialmente, duas vezes por semana, quando 90 % das bagas estiverem com a epiderme de cor azulada (Raseira, 2004; Pagot, 2006). Nos mirtilos do grupo *rabbiteye* cultivados em Pelotas pela Embrapa, a floração ocorre ao final de agosto ou início de setembro e a colheita começa na segunda quinzena de

dezembro e é realizada até janeiro. É recomendável que os frutos de mirtilo, quando colhidos, possuam as características físico-químicas apresentadas na Tabela 2.1 (Coutinho e Flores, 2004).

Tabela 2.1 – Características físico-químicas de frutos de mirtilo.

Características	Valor Médio
Peso (g)	1,0 – 1,3
Sólidos solúveis totais (°Brix)	13,0 – 14,0
Acidez titulável (AT) (% ácido cítrico)	0,4 – 0,5
Relação °Brix/AT	36,0 – 37,0
Firmeza (lbf)	9,0 – 10,0

Fonte: Coutinho e Flores (2004).

Na pós-colheita os frutos mantêm ativas as funções do metabolismo vegetal, como respiração e transpiração, que causam uma série de alterações químicas e físicas, diminuindo a qualidade do produto até a senescência. Além disso, a ação de micro-organismos pode afetar a qualidade do produto. As modificações ocorridas pós-colheita nas frutas podem ser divididas em (Coutinho e Flores, 2004):

- processos físicos: a principal alteração física é a transpiração, que se dá devido à alta umidade relativa do fruto se comparado ao ambiente externo, esta modificação causa perda de peso do mirtilo. Dentre os fatores que condicionam a perda de água estão a temperatura, a umidade relativa, a pressão atmosférica, o tamanho do fruto, a presença de ceras naturais ou danos na superfície, entre outros.
- processos químicos e bioquímicos: o principal é a respiração, que consiste na degradação oxidativa de moléculas complexas, como amido, açúcares e ácidos orgânicos, em moléculas mais simples como dióxido de carbono e água, liberando energia. Os frutos respiram na pós-colheita e esta respiração aumenta, em média, de duas a três vezes com um aumento de 10 °C na temperatura de armazenamento.
- ação de micro-organismos: é um dos principais fatores de perdas qualitativas e quantitativas de frutos. Fungos e bactérias são agentes causadores de doenças que surgem após a colheita e durante o armazenamento.

Estas alterações podem ser aceleradas por fermentos que rompem a casca dos frutos, facilitando o ataque de fungos e a perda de água. No intuito de minimizar as modificações

ocorridas pós-colheita, as frutas podem ser previamente resfriadas e armazenadas em ambientes propícios. O pré-resfriamento é uma eliminação rápida do calor que o fruto possui ao ser colhido para redução dos processos de transpiração e respiração, realizada 4 h após a colheita por água fria ou circulação de ar frio (Coutinho e Flores, 2004). O método ideal de resfriamento é a utilização do ar forçado com temperatura entre 0,5 e 1,0 °C e umidade relativa entre 90 e 95 % (Pagot, 2006).

O armazenamento pode ser realizado a temperatura ambiente durante, no máximo, 10 dias, no entanto, se armazenado sob refrigeração, o mirtilo tem uma diminuição na taxa de respiração, prolongando sua vida útil. Armazenar o fruto sob refrigeração pode também ser combinado com outros métodos de conservação, como atmosfera modificada e controlada (Coutinho e Flores, 2004).

2.1.3 Fatores Climáticos

O arbusto do mirtilo adapta-se a climas que vão do frio ao muito frio e prefere solos ligeiramente ácidos, com elevado teor de húmus e pouco profundos, crescendo em altitudes compreendidas entre 2.500 e 7.000 m. (Ayala, 1999). A Região Sul do Brasil se caracteriza por apresentar uma diversidade climática considerável, com zonas de clima tropical e zonas de clima temperado, entre as últimas estão áreas com clima ameno, próprias para o plantio do mirtilo. Outros estados, como São Paulo e Minas Gerais, têm condições para produzir algumas cultivares de mirtilo em suas regiões altas, por serem regiões com um relativo acúmulo de frio. O frio é o fator mais importante afetando o potencial de produção durante a fase de repouso. Durante a fase vegetativa a temperatura, a precipitação e a radiação solar são também importantes (Herter e Wrege, 2004).

Na Região Sul do país, conforme é possível observar na Figura 2.2, as regiões mais altas, desde o sul do Paraná até o Rio Grande do Sul possuem um número elevado de horas de frio, sendo consideradas horas de frio os momentos com temperatura menor que 7,2°C. Nestas regiões, ocorrem mais de 500 h de frio, sendo propícias para cultivares que exigem este tipo de clima (Santos *et al.*, 2007).

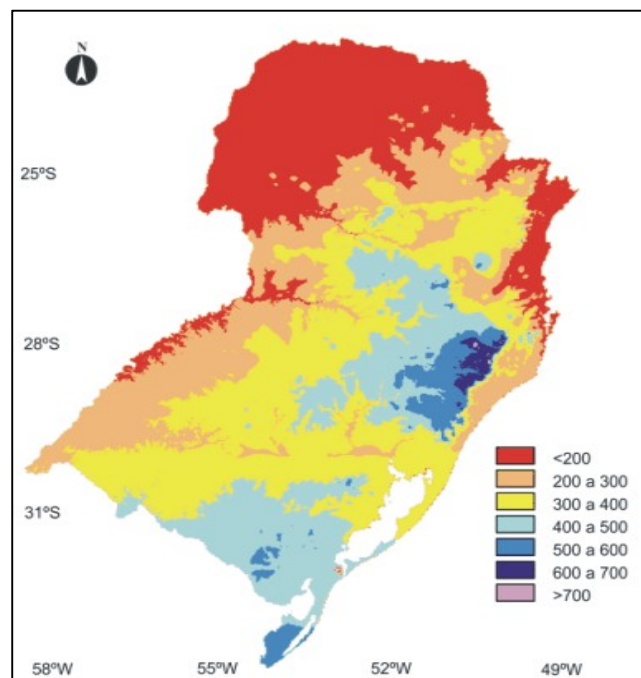


Figura 2.2 – Mapa de horas de frio estimadas para a região Sul do Brasil de maio a setembro. Fonte: Herter e Wrege (2004).

No entanto, os dois grupos principais aos quais podem pertencer os mirtilos, *rabbiteye* e *highbush*, possuem diferentes necessidades referentes às horas de frio. O grupo *rabbiteye* adapta-se em regiões de pouco frio, brotando e florescendo bem com apenas 360 h abaixo de 7,2°C, enquanto o grupo *highbush* necessita entre 650 e 800 h de frio. Por necessitarem de menos horas de frio que o tipo *highbush*, as cultivares do grupo *rabbiteye* são mais indicados para o plantio no Rio Grande do Sul (Herter e Wrege, 2004).

Além das baixas temperaturas, o mirtilo necessita de uma boa disponibilidade de água, por se tratar de uma planta arbustiva. Para obtenção de um bom teor de açúcar o mirtilo requer até 50 mm de água, semanalmente, durante o período de desenvolvimento das frutas. Devido a isso, pode ser necessária irrigação complementar em determinadas regiões para regularização da distribuição da água (Herter e Wrege, 2004).

2.1.4 Aspectos Econômicos

Apesar de pouco conhecido, o mercado desta fruta é bastante promissor, tanto no Rio Grande do Sul, quanto no restante do país. Dentre os fatores que contribuem para isto, estão o aumento da demanda do produto pelos brasileiros, sendo, atualmente, a procura maior que a

oferta; o bom retorno econômico às propriedades rurais e a adaptação do fruto às condições sócio-culturais, econômicas e ambientais do Brasil. Além disso, a cultura do mirtilo é facilmente adaptável à produção sem utilização de agroquímicos, sendo esta uma exigência crescente do mercado (Poltronieri, 2003).

Dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) mostram que a produção mundial de mirtilo aumentou sete vezes nos últimos 40 anos; neste mesmo período, a área cultivada teve um acréscimo ao redor de 15 vezes. Considerando o período entre 1992 e 2002, o cultivo desse fruto passou de 105 para 207 mil toneladas. Este crescimento está relacionado ao crescente interesse dos consumidores norte-americanos, europeus e asiáticos, que têm pressionado os produtores mundiais a aumentar a oferta do fruto (Madail e Santos, 2004; Santos *et al.*, 2007).

Os Estados Unidos detêm 50% da produção mundial de mirtilo, seguidos pelo Canadá, com 33%, e pela Europa com 16%, cabendo aos demais países 1% de participação no volume produzido em 2002. Apesar de serem os maiores produtores do fruto, os norte americanos são também os maiores importadores, importando, nos períodos de entre safra, cerca de 80% da produção dos demais países (Santos *et al.*, 2007). Dentre esses países estão o Chile, a Argentina, o Uruguai e, mais recentemente, o Brasil. O Chile é o país que mais se destaca, produzindo cerca de 7.500 toneladas anuais em 2.500 hectares (ha); a produção argentina ocupa 1.500 ha e a uruguaia 200 ha (Pagot, 2006; Fachinello, 2008).

A cultura do mirtilo no Brasil ainda está em desenvolvimento, buscando um sistema de produção eficiente e competitivo (Madail e Santos, 2004). O quadro produtivo atual deste fruto no país está estimado em cerca de 60 toneladas, concentradas em Vacaria (RS), Caxias do Sul (RS), Barbacena (MG) e Campos do Jordão (SP), totalizando uma área de aproximadamente 35 ha. Da área total brasileira de cultivo de mirtilo, 20 ha estão no Rio Grande do Sul, sendo 13 ha em Vacaria e 7 ha em Caxias do Sul. A produção total do fruto no Estado do Rio Grande do Sul, em 2003, foi de 12 toneladas (Santos *et al.*, 2007). A primeira iniciativa de comercialização deste fruto no país se deu em 1990 no município de Vacaria, que é pioneiro no cultivo de mirtilo, tendo se tornado referência na sua produção (Santos *et al.*, 2007; Fachinello, 2008). Nos dias atuais, os mirtilos produzidos em Vacaria são exportados em pequenos volumes para países europeus e parte destes se destina ao processamento industrial (Pagot, 2006).

Uma análise realizada recentemente no mercado norte americano indica que este momento é ideal para realizar formulações contendo mirtilo. Existe suprimento do fruto congelado em abundância e com alta qualidade e as vendas estão em alta, sendo a situação favorável a produtores e consumidores. Em adição a isso, com o crescimento do conhecimento em relação aos benefícios à saúde oferecidos pelos mirtilos, aumenta a procura pelos frutos frescos, assim como pelos frutos processados. O consumo aumentou 70 % em 10 anos e a ingestão de mirtilo per capita atingiu o nível recorde de 500 g, sendo um excelente momento para inovações utilizando mirtilo (USHBC, 2010).

Mercado de Frutas Processadas

As frutas processadas foram incorporadas à rotina dos indivíduos na sociedade atual em diferentes formas e a evolução das mesmas no Brasil aponta o caminho da agregação de valor (Pereira, 2006). O Brasil está entre os três maiores produtores mundiais de frutas, produzindo aproximadamente 38 milhões de toneladas por ano. O mercado de sucos prontos vem recebendo crescentes investimentos e teve um aumento de 15,6 % em 2004, superando o de refrigerantes. Este mercado movimenta R\$ 900 milhões, o que explica o ingresso de empresas nacionais e multinacionais no setor, aumentando os investimentos em instalações e desenvolvimento de novos produtos para o setor (Monteiro, 2006).

O mercado internacional de frutas processadas é significativamente maior que o de frutas *in natura*, passando de US\$ 7,3 bilhões para US\$ 28 bilhões se consideradas as frutas processadas (Monteiro, 2006). Além disso, de acordo com Simarelli (2006), em reportagem publicada na revista Frutas e Derivados, o mercado de sucos cresce cerca 14 % a cada ano e a tendência é de que sabores não tradicionais se destaquem no futuro. O Brasil exportou um valor de US\$ 80 milhões em polpas e sucos concentrados em 2005, sem considerar as exportações com suco de laranja. No entanto, o país ainda importa mais polpas do que exporta, apresentando um déficit de US\$ 163 mil (Simarelli, 2006).

De acordo com o conselho americano de mirtilos *highbush* (*Unitades States Highbush Blueberry Council*, USHBC), no ano de 2008, mais de 1300 produtos contendo mirtilo entraram no mercado norte americano, gerando um aumento de 3,59 % no número de produtos contendo o fruto entre 2007 e 2008. Uma pesquisa realizada pela *Heber Research* em 2008 mostrou que os consumidores norte-americanos gostam do sabor do mirtilo e sabem

que o fruto é rico em compostos antioxidantes e fibras. Além disso, 88,8 % dos consumidores estão dispostos a pagar até 50 centavos de dólar a mais por um produto contendo mirtilo e alguns grupos podem pagar de 15 a 25 % a mais para obter um alimento processado contendo o fruto (USHBC, 2009).

2.1.6 Composição Química

O mirtilo apresenta em média 82% de água em sua composição (Sousa, 2007). Além de água, o fruto é composto por carboidratos, fibras e outros nutrientes, conforme a Tabela 2.2. Esta fruta se destaca por apresentar bons teores de vitamina C e betacaroteno e, principalmente, por ser rica em compostos fenólicos (em especial as antocianinas) com potencial antioxidante ainda maior que as vitaminas citadas (Kowalczyk *et al.*, 2003; Salgado, 2003). O conteúdo de compostos fenólicos do mirtilo é afetado pelo grau de maturidade na colheita, diferenças genéticas de cada cultivar, condições ambientais do local de plantio e também pelo armazenamento e processamento pós-colheita (Häkkinen e Törrönen, 2000; Shahidi e Naczki, 2004). Em geral, esta fruta apresenta entre 135 e 280 mg de compostos fenólicos por 100 g de produto em base úmida (Bravo, 1998).

Tabela 2.2 - Informações nutricionais do mirtilo.

Porção de 100 g		% VD (*)
Valor energético	70 kcal	3
Carboidratos	14 g	3
Proteínas	1 g	0,56
Gorduras totais	0 g	0
Gorduras saturadas	0 g	0
Gorduras trans	0 g	0
Cálcio	6,34 mg	1
Ferro	3,7 mg	26,4
Fibra alimentar	3 g	6
Sódio	6,34 mg	1
Vitamina C	30 mg	2,5

(*) Valores diários baseados em uma dieta de 2000 calorias.
Fonte: Italbraz (2010).

2.2 As Antocianinas

Os compostos fenólicos compreendem um grande grupo de substâncias orgânicas, sendo os flavonoides um subgrupo importante; do qual fazem parte as antocianinas. O grupo das antocianinas está distribuído em larga escala no reino vegetal; elas são responsáveis por diversas cores nas plantas como azul, roxo, violeta, magenta, vermelho e laranja. A palavra antocianina deriva de duas palavras gregas: *anthos* (flor) e *kyanos* (azul) (Fennema, 2010). Dentre os compostos fenólicos, os flavonoides possuem o maior potencial antioxidante (Salgado, 2003). As antocianinas pertencem a esse grupo devido a sua característica de esqueleto carbônico, sendo a sua estrutura composta por dois anéis aromáticos ligados por três carbonos, $C_6C_3C_6$ (Bravo, 1998; Fennema, 2010). Apesar de serem amplamente encontradas na natureza, tendo sido identificados mais de 600 tipos de antocianinas, são poucas as fontes comerciais desses compostos.

A estrutura básica de uma molécula de antocianina, o 2-fenilbenzopirílio do sal flavílico, está representada na Figura 2.3. Essa estrutura básica, sem substituições nos radicais 3 e 4, é chamada de antocianidina. As antocianinas são provenientes das ligações mono e diglicosídicas das antocianidinas. As antocianinas diferem entre si no número de hidroxilas ou metoxilas presentes, no tipo, número e lugares onde estão ligados os açúcares e, ainda, nos tipos e números de ácidos alifáticos ou aromáticos que podem estar ligados aos açúcares da molécula (Kowalczyk *et al.*, 2003; Fennema, 2010). Os açúcares mais comumente ligados a esses compostos são glicose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose, podendo ocorrer como mono, di e triglicosídeos, glicosilados diretamente na aglicona. Essa ligação ocorre geralmente no carbono 3; se existe mais de um açúcar na molécula ele fica ligado ao carbono 5. Os açúcares, conforme citado anteriormente, podem ou não, estar acilados pelos ácidos aromáticos: *p*-cumárico, ferúlico, caféico, *p*-hidroxibenzóico, gálico e sinápico; ou pelos ácidos alifáticos: malônico, acético, succínico, oxálico e málico. Na maioria dos casos, os ácidos estão ligados aos açúcares do carbono de número três (Francis e Markakis, 1989; Fennema, 2010).

As principais antocianidinas são a pelargonidina (Pl), a malvinidina (Mv), a cianidina (Ci), a peonidina (Pe), a delphinidina (Df) e a petunidina (Pt). A hidrólise dos açúcares ligados à molécula faz com que as antocianinas se tornem antocianidinas, fazendo com que sejam

obtidos esses compostos separadamente (Francis e Markakis, 1989; Bravo, 1998; Da Costa, Horton e Margolis, 2000; Shahidi e Naczki, 2004). Existem 19 antocianidinas na natureza, no entanto, apenas as seis citadas anteriormente ocorrem comumente em alimentos. Essas estão representadas na Figura 2.4 e diferem entre si pelas substituições do anel B da Figura 2.3. É possível observar que o aumento no tom da coloração se dá de acordo com as substituições nos radicais 1 e 2; amostras com mais substituições resultam em compostos com coloração mais acentuada, sendo que as amostras com radicais metoxila apresentam tons ainda mais fortes de cor.

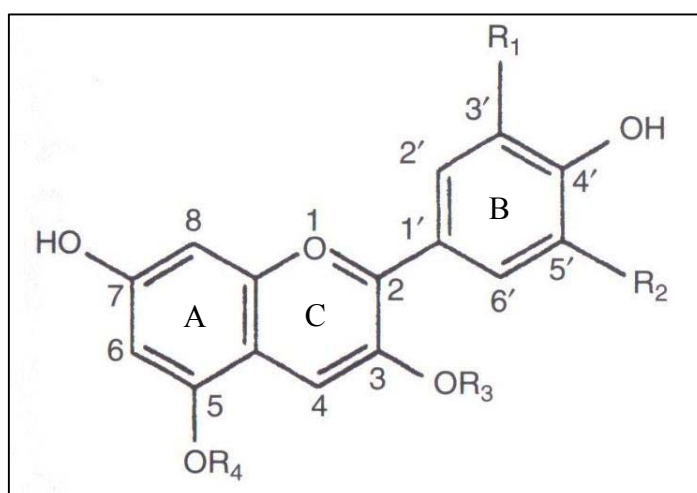


Figura 2.3– Cátion flavílico. R1 e R2 = -H, -OH ou -CH3, R3 = açúcares, R4 = -H ou açúcares. Fonte: Fennema (2010).

A cor das antocianinas ou das antocianidinas resulta da excitação de uma molécula pela luz visível. A facilidade com a qual uma molécula é excitada depende da mobilidade eletrônica de sua estrutura. As ligações duplas, presentes nas antocianinas e nas antocianidinas, são facilmente excitáveis, sendo sua presença essencial para a cor. O aumento da tonalidade resulta de uma mudança batocrômica, ou seja, a banda de absorção da luz na faixa de espectro visível muda de um comprimento de onda pequeno para um grande. Os efeitos batocrômicos são causados por grupos auxocromos, que não têm propriedades de cromóforo por si só, mas causam aumento da tonalidade quando ligados à molécula. Os grupos auxocromos são doadores de elétrons, nas antocianidinas eles são os grupos metoxi e hidroxila. A presença de grupos metoxi leva a uma maior mudança batocrômica que os grupos hidroxila, devido à sua grande capacidade de doar elétrons, o que explica a variação de cor indicada na Figura 2.4.

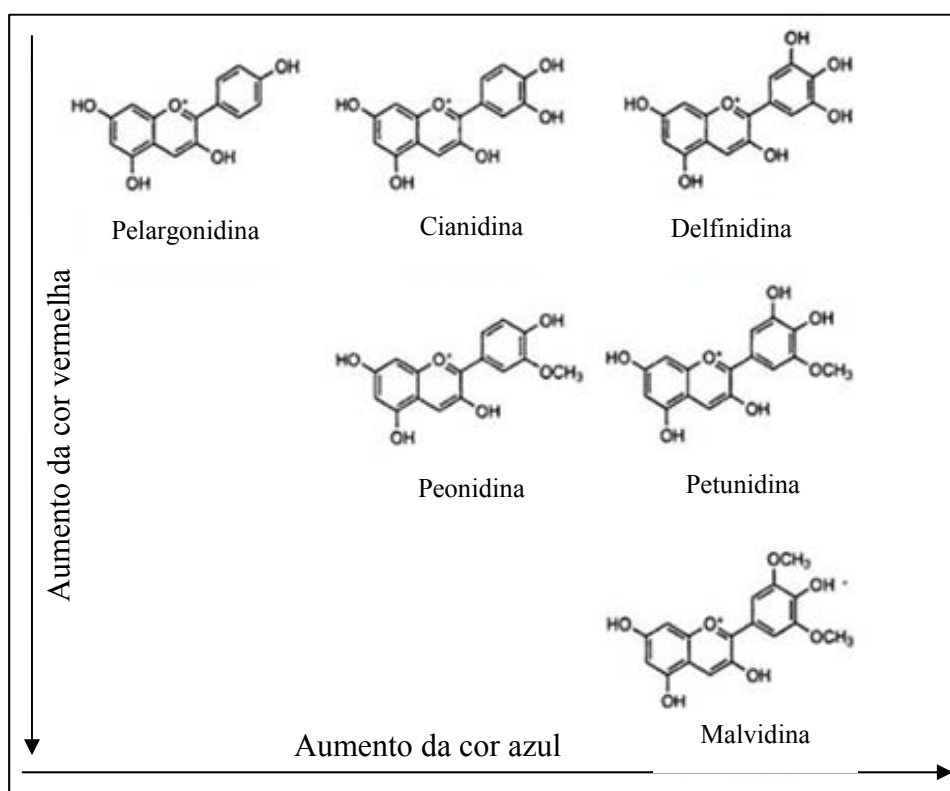


Figura 2.4 – Estrutura das principais antocianidinas. Fonte: Shahidi e Naczki (2004).

As antocianinas que, predominantemente, estão presentes em frutas e vegetais são: cianidina-3-o-glucosídeo, delfinidina-3-o-glucosídeo, malvidina-3-o-glucosídeo, pelargonidina-3-o-glucosídeo e petunidina-3-o-glucosídeo; sendo que, no mirtilo, a delfinidina-3-o-glucosídeo aparece em maior quantidade. De acordo com Mazza e Miniati (1993) a quantidade de antocianinas presentes no mirtilo pertence a uma faixa ampla, que pode variar entre 25 e 495 mg/100 g em base úmida para mirtilos *highbush*. No entanto, Gao e Mazza (1994) verificaram uma faixa menor, variando entre 110 e 260 mg/100 g de fruta. Espera-se, ainda, que frutas com uma razão área/volume maior tenham maior teor de antocianinas, devido ao fato das mesmas se concentrarem na casca do fruto, o que foi comprovado na maioria dos casos por Prior *et al.* (1998). Dentre as antocianidinas que ocorrem na natureza, experimentos demonstraram que os glucosídeos de delfinidina e malvidina são os que se apresentam em maior quantidade no *V. corymbosum* (Kader *et al.*, 1996; Kalt *et al.*, 1999; Lee, Durst e Wrolstad, 2002).

2.2.1 Propriedades Nutraceuticas

A propriedade das frutas de prevenir doenças se deve, em parte, à presença de compostos fenólicos. Pesquisas sugerem que o teor de polifenóis de frutas e vegetais, e sua atividade antioxidante correspondente, contribui para o efeito protetor desses alimentos contra doenças crônicas e degenerativas. Além dos polifenóis, fitoquímicos que têm atividade antioxidante incluem os compostos nitrogenosos (como derivados de clorofila), tocoferóis, carotenoides e ácido ascórbico (Nichenametla *et al.*, 2006). Estudos demonstraram que as antocianinas possuem poder antioxidante ainda maior que esses compostos (Bagchi *et al.*, 1998).

O potencial antioxidante está relacionado a efeitos benéficos para a saúde humana no tratamento e prevenção de câncer, doenças cardiovasculares e neurológicas, entre outras patologias (Bravo, 1998; Konczak e Zhang, 2004). Além disso, as antocianinas favorecem a visão, oferecem benefícios à pele, vasos sanguíneos, problemas circulatórios, feridas externas e internas, edemas, artrites e artroses (Santos *et al.*, 2007; Fachinello, 2008).

Atualmente, as evidências levam a crer que radicais livres causam dano oxidativo a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, podendo estar no centro da causa de doenças como câncer, doenças cardíacas, vasculares e neurodegenerativas. Portanto, os compostos antioxidantes, que têm a capacidade de neutralizar estes radicais, podem ser de grande importância na prevenção destas doenças (Prior *et al.*, 1998; Kowalczyk *et al.*, 2003).

Os antioxidantes presentes nos fenóis são importantes porque se ligam a radicais livres e quelam íons metálicos. Estes compostos impedem a oxidação de diversas moléculas pela doação de um hidrogênio aos radicais, conforme as reações apresentadas na Figura 2.5 (Bravo, 1998):

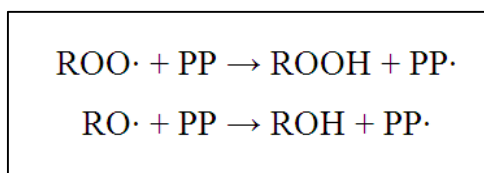


Figura 2.5 – Reações de ligação das antocianinas (PP) aos radicais livres (ROO). Fonte: Bravo (1998).

Os radicais fenoxi, produtos desta reação, são relativamente estáveis, mas podem ainda reagir com outros radicais livres.

Madail e Santos (2004) verificaram que os altos conteúdos de antocianinas contidas nos pigmentos hidrossolúveis de cor azul-púrpura favorecem a síntese do colágeno e os mucopolissacarídeos, componentes principais da estrutura do tecido conectivo. Ramirez *et al.* (2005) realizaram um estudo avaliando o efeito de mirtilos na memória, ansiedade e locomoção de ratos adultos e observaram que o uso de fitoquímicos, dentre estes as antocianinas, foi eficaz na reversão de déficits relacionados à idade como equilíbrio, coordenação motora e memória. A influência do consumo de antocianinas na memória também foi estudada por Andres-Lacueva *et al.* (2005).

Além destes, estudos envolvendo frutas ricas em antioxidantes demonstraram um efeito benéfico destas frutas em doenças como diabetes e obesidade (Grace *et al.*, 2009; Vuong *et al.*, 2009) e em tratamentos antienvhecimento (Shukitt-Hale *et al.*, 2007). Destacam-se também pesquisas relacionadas ao tratamento e prevenção de câncer como as realizadas por Kamei *et al.* (1998), Hagiwara *et al.* (2001) e Seeram, Zhang e Nair (2003). A função preventiva do câncer, exercida pelas antocianinas, se deve ao seu potencial de capturar radicais livres, a sua habilidade de prevenir quebras no DNA e a sua influência em fatores relacionados ao crescimento celular (Nichenametla *et al.*, 2006). Revisões apresentadas na literatura compreendem de forma resumida e avaliam criticamente os benefícios à saúde das antocianinas (Clifford, 2000; Duthie, Duthie e Kyle, 2000).

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas envolvendo a capacidade antioxidante do mirtilo, entre outros frutos. Zheng e Wang (2002) observaram que o mirtilo é rico em compostos fenólicos e tem alta atividade antioxidante; esta atividade depende da estrutura do composto e da quantidade em que este está presente na fruta. Anteriormente, foi verificado por Prior *et al.* (1998) que o total de antocianinas e compostos fenólicos do mirtilo apresenta uma relação linear com a capacidade de absorção de radicais de oxigênio. Além disso, os autores estudaram a influência da quantidade de fenólicos e antocianinas, da maturidade e da variedade de mirtilos na capacidade antioxidante dos mesmos e verificaram que existe uma variação considerável entre a capacidade antioxidante de diferentes cultivares.

Os fenóis presentes nas pequenas frutas são amplamente conhecidos pela capacidade antioxidante, entretanto, as atividades biológicas exercidas pelos compostos fitoquímicos desses frutos são bastante amplas. Crescentes evidências demonstram que esses compostos regulam outras atividades como metabolização enzimática, modulação de receptores

nucleares, expressão genética, reparação de danos oxidativos ao DNA, entre outras (Seeram, 2008).

2.2.2. Estabilidade e Degradação

As antocianinas presentes no mirtilo são degradadas durante o processamento, o que pode ter um impacto significativo na qualidade da cor e nas propriedades nutricionais do produto no qual o fruto é utilizado. Como as antocianinas são responsáveis pela cor característica de diferentes frutas e vegetais, seu impacto na aceitação sensorial de alguns produtos é, também, de extrema importância. Além disso, conforme descrito no item anterior, a atividade antioxidante apresenta papel importante na prevenção de diversas doenças e é importante que ela seja mantida (1974 apud Patras *et al.*, 2010).

Mirtilos, entre outros alimentos contendo antocianinas, são frequentemente processados para produção de sucos ou concentrados para uso em bebidas, caldas e outros alimentos. Conhecer o processo pelo qual as antocianinas passam durante a produção é muito importante para certificar se as suas características são mantidas. As antocianinas se oxidam facilmente devido às suas propriedades antioxidantes, desencadeando reações de degradação durante as operações unitárias (Skrede, Wrolstad e Durst, 2000).

Além do uso do mirtilo em formulações, a utilização de antocianinas como corante natural ou em formulações farmacêuticas é bastante limitada devido a sua baixa estabilidade. A instabilidade destes compostos durante a produção industrial está relacionada à composição inicial da fruta de origem, sendo influenciada pelo tipo de antocianinas (estrutura química) e pela presença de determinados componentes dos alimentos como enzimas, íons metálicos, ácido ascórbico, dióxido sulfúrico, açúcares e copigmentos. Porém, os principais responsáveis pela degradação das antocianinas são fatores externos como temperatura, pH, luz e a presença de oxigênio (Francis e Markakis, 1989; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Fennema, 2010).

A seguir serão abordados os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas.

Estrutura

Em relação à estrutura, se observa que a presença de hidroxilas no anel B (Figura 2.3) diminui a estabilidade, enquanto que a presença do grupo metoxi aumenta, isto se deve ao bloqueio de grupos reativos de hidroxila. Além disso, o aumento da glicosilação da amostra também aumenta a estabilidade, sendo as antocianinas mais estáveis que as antocianidinas (Fennema, 2010), estudos atribuem esse fato à hidrólise lenta da molécula em meio ácido (Iacobucci e Sweeny, 1983). O mecanismo de influência de cada tipo de açúcar ainda não foi completamente elucidado (Fennema, 2010). Por fim, a presença de ácidos ligados aos açúcares da molécula confere estabilidade ainda maior aos compostos, quando existem duas ou mais acilações no composto. Apesar da maior parte das antocianinas presentes na natureza não serem aciladas (Mazza e Brouillard, 1987), estudos realizados por Kalt *et al.* (1999) demonstraram que as antocianinas dos mirtilos do grupo *Highbush* apresentam acilações em suas moléculas.

pH

O pH é um dos fatores que mais afeta a estabilidade das antocianinas e analisando seu efeito, observa-se que, em meios mais básicos, o cátion flavílico (forma tradicional das antocianinas apresentada na Figura 2.3) pode dar lugar a outros compostos, que não possuem coloração. Antocianinas podem apresentar diferentes conformações de acordo com o pH da solução, estas conformações estão apresentadas na Figura 2.6. Como pode ser observado dessa figura, no pH 1 o cátion flavílico é a espécie predominante e contribui para as colorações roxa e vermelha (Figura 2.6 A). Em valores de pH entre 2 e 4 as espécies quinoidais azuis são dominantes (Figura 2.6 B-D) e, finalmente, em soluções com pH entre 5 e 6 são observadas duas espécies sem cor que são chamadas carbinol ou pseudobase (Figura 2.6 E) e chalcona (Figura 2.6 F). Em pH acima de 7 as antocianinas podem se degradar em aldeídos, ácidos fenólicos ou diquetonas, dependendo dos seus substituintes (Jackman *et al.*, 1987; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

Estudos avaliaram a influência do pH nas antocianinas de diferentes alimentos como cenouras pretas (Kirca, Özkan e Cemeroglu, 2007) e mirtilos (Kalt, McDonald e Donner, 2000). Em ambos os casos, a influência bastante significativa desse parâmetro foi comprovada.

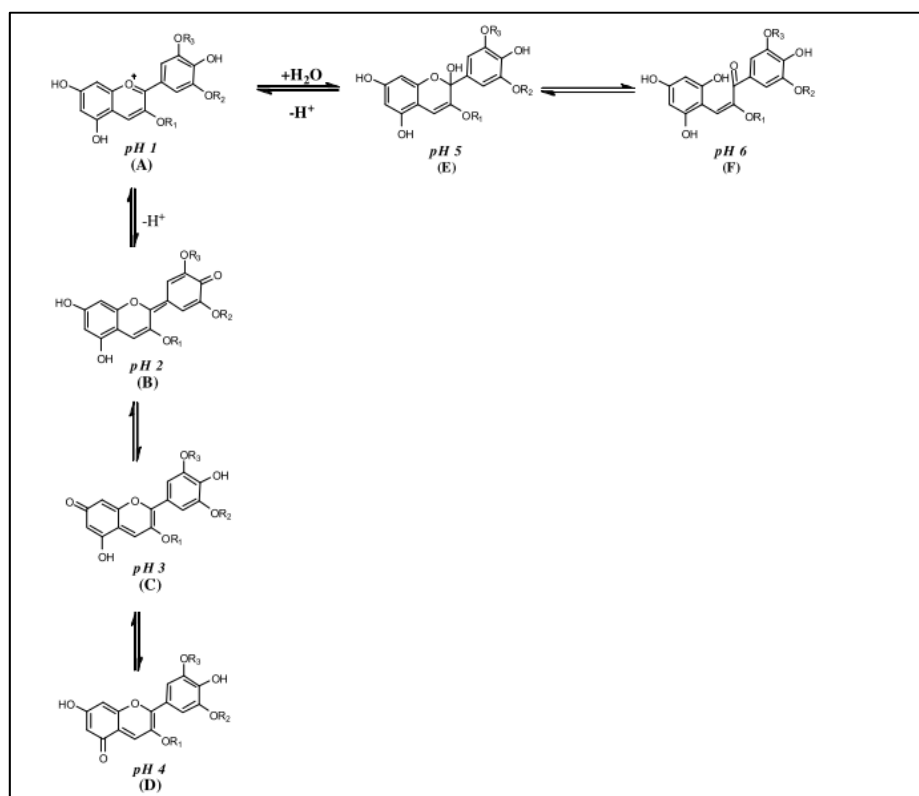


Figura 2.6 – Comportamento da molécula de antocianina diante das mudanças de pH. Fonte: Yúfera (1998).

Furtado *et al.* (1993) avaliaram a degradação de antocianinas a temperatura ambiente por 72 h em dois pHs diferentes, 1 e 2,8. O estudo demonstrou uma constante redução da absorvância com o tempo, sendo essa diminuição mais lenta no meio mais ácido. Estudos cinéticos evidenciaram a diminuição do cátion flavílico, formando chalcona. A chalcona, por sua vez, exibiu parâmetros cinéticos característicos de uma espécie intermediária, originando os compostos finais da degradação. Esses compostos são: o ácido 3,4,5-trihidrobencóico e o 2,4,6-trihidrobenzaldeído.

Temperatura

Nos alimentos processados, a temperatura tem grande influência na degradação das antocianinas. O mecanismo de degradação das antocianinas com a temperatura ainda não foi completamente esclarecido, todavia, já foi observado que durante o aquecimento o equilíbrio se desloca no sentido de formação das chalconas, resultando em um decréscimo das formas coloridas. Ainda, a coumarina 3,5-diglicosídeo foi constatada como sendo um produto comum da degradação das antocianinas (Mazza e Brouillard, 1987; Furtado *et al.*, 1993; Yúfera, 1998; Fennema, 2010).

Acredita-se atualmente que as antocianinas se decompõem seguindo dois possíveis caminhos: formando chalconas e glicosídeos de ácido coumárico ou derivados de aldeídos e ácido benzóico, essa última transformação se dá pela perda do anel B. Essa análise foi feita por Adams (1973), Markakis (1974 apud Patras *et al.*, 2010), Piffaut *et al.* (1994) e Seeram, Bourquin e Nair (2001), entre outros autores. No entanto, ainda é pequeno o conhecimento em relação a estes possíveis caminhos.

No Capítulo 4, será apresentada uma avaliação mais completa do efeito do processamento térmico nas antocianinas do mirtilo e de outras pequenas frutas.

Enzimas

As enzimas polifenoloxidase e peroxidase são indicadas como as causadoras do escurecimento enzimático em tecidos vegetais, entretanto, nas frutas, a polifenoloxidase desempenha um papel mais significativo (Vamos-Vigyazo, 1981). Apesar da peroxidase se encontrar na grande maioria dos tecidos vegetais, para oxidação de compostos fenólicos, essa enzima necessita da presença de peróxido de hidrogênio; o baixo nível desse composto nas frutas, entretanto, limita a sua ação (Nicolas *et al.*, 1994). Experimentos que avaliaram a influência da polifenoloxidase e da peroxidase em mirtilos (*Vaccinium corymbosum*) triturados reportaram que apenas a polifenoloxidase afeta a degradação das antocianinas (Kader *et al.*, 1997).

Outra enzima, a glicosidase, também influencia a descoloração das antocianinas. As glicosidases e as polifenoloxidases podem ser referidas em conjunto como antocianases. A glicosidase quebra os açúcares, restando apenas as agliconas, que são mais sensíveis à degradação e menos solúveis (Lee, 1991 apud Kader *et al.*, 1997; Fennema, 2010). Na presença de oxigênio, enzimas como a polifenoloxidase catalisam a oxidação do ácido clorogênico em sua *o*-quinona correspondente (clorogenoquinona). Essa quinona reage com as antocianinas formando produtos de condensação marrons (Kader, Nicolas e Metche, 1999).

Outros fatores

Oxigênio: as insaturações presentes na molécula de antocianina a tornam suscetível à ação do oxigênio molecular. Ao longo dos anos, diversos estudos foram feitos em relação às mudanças nos alimentos contendo antocianinas embalados em atmosfera de oxigênio, e se

observou que as reações de degradação demoraram mais tempo para ocorrer quando os produtos foram embalados em atmosfera de nitrogênio ou a vácuo (Yúfera, 1998; Fennema, 2010). O oxigênio pode acelerar a degradação de antocianinas através de um mecanismo oxidativo direto e/ou pela ação de enzimas oxidativas, como a polifenoloxidase. Estudos analisaram frascos completamente e parcialmente cheios com extrato contendo antocianinas, mediante agitação. Os frascos totalmente cheios não apresentaram degradação significativa após 6 h, enquanto que os vasos pela metade tiveram uma redução de 76 % no teor de antocianinas (Kalt, McDonald e Donner, 2000).

Luz: é de conhecimento geral que a luz acelera os processos de degradação das antocianinas, diversos estudos demonstraram esta influência em sucos de fruta e vinho tinto (Fennema, 2010). Os estudos de Furtado *et al.* (1993) verificaram que com a ação da luz se formaram chalconas, além dos demais produtos de degradação observados com a ação da temperatura. No entanto, ainda deve ser levada em conta uma terceira reação, que ocorre apenas mediante influência da luz; nessa reação o cátion flavílico forma diretamente os produtos finais da degradação. O mecanismo de formação direta destes compostos ainda não foi completamente elucidado.

Ácido ascórbico: durante a oxidação, o ácido ascórbico forma peróxido de hidrogênio que pode levar à degradação das antocianinas (Fennema, 2010). Os produtos de degradação desse ácido, entretanto, manifestam esse efeito somente em altas temperaturas. Experimentos realizados por Wrolstad, Putnam e Varseveld (1970) demonstraram que os efeitos do ácido ascórbico foram insignificantes em antocianinas do morango em temperaturas baixas; no entanto, Martí *et al.* (2002) verificaram que a adição de ácido ascórbico acelerou a degradação de antocianinas após sua adição em suco de romã.

Copigmentação: a copigmentação é o fenômeno no qual pigmentos, compostos orgânicos incolores ou íons metálicos formam ligações moleculares ou associações complexas, gerando uma mudança ou incremento da intensidade da cor (Boulton, 2001). Pesquisas sugerem que este processo é o principal mecanismo para estabilização da cor em plantas (Davies e Mazza, 1993). Esse mecanismo é afetado por diversos fatores como o pH, o tipo e a concentração de antocianinas, a concentração dos pigmentos, a temperatura e a presença de metais (Mazza e Brouillard, 1987). Dentre os compostos que podem atuar como copigmentos estão flavonoides, alcaloides, aminoácidos e nucleotídeos. Além disso,

antocianinas podem atuar como copigmentos de outras antocianinas. Esses pigmentos não contribuem significativamente para a cor, seu efeito consiste em produzir uma mudança batocrômica no comprimento de onda e aumentar a absorbância da banda visível. A ocorrência da coloração roxa e da azul em flores e frutas pode ser atribuída, principalmente, à estabilização da base quinoidal por copigmentação (Asen *et al.*, 1970; Asen, Stewart e Norris, 1972; Scheffeldt e Hrazdina, 1978).

Outros mecanismos de estabilização da cor são a complexação de metais e a condensação de antocianinas com catequinas e acetaldeídos (Mazza e Brouillard, 1987). Os grupos hidroxila presentes nos compostos fenólicos podem se ligar a metais livres e a complexação destes dois compostos pode levar a uma coloração mais azulada dos produtos.

O grande número de fatores influenciando a degradação das antocianinas impediu que um esquema único e simples de degradação fosse encontrado. No entanto, foi demonstrado que a degradação das antocianinas segue o comportamento cinético de uma reação de primeira ordem (Adams, 1973; Havlíková e Míková, 1985; Sadilova, Stintzing e Carle, 2006; Jimenez *et al.*, 2010).

A degradação das antocianinas foi estudada em diversos frutos. Para a amora (Wang e Xu, 2007) e para a framboesa (Ochoa *et al.*, 1999) foi verificada uma cinética de reação de primeira ordem na degradação desses compostos com a temperatura, tendo a velocidade de degradação aumentado com a temperatura, e verificou-se maior estabilidade em processamento e armazenagem utilizando baixas temperaturas e curtos períodos de tempo. O mesmo comportamento cinético foi encontrado por Dyrby *et al.* (2001) para a degradação das antocianinas do repolho roxo com a temperatura. Além disso, através deste estudo foi verificado um aumento na taxa de degradação destes compostos na presença de ácido ascórbico e açúcares.

A estabilidade de antocianinas provenientes de cenoura roxa (ou cenoura preta) foi testada após sua inserção em diferentes sucos e néctares que foram imersos em banhos termostáticos nas temperaturas de 70, 80 e 90 °C. Com o aumento da temperatura, foi observado, em todos os casos, um aumento da constante da reação de degradação e uma diminuição do tempo de meia vida. No mesmo estudo, foi verificado que a degradação

diminui consideravelmente quando os sucos e néctares foram armazenados sob refrigeração (Kirca, Özkan e Cemeroglu, 2006).

Nas análises, durante o armazenamento, do efeito do tempo, da temperatura e da luminosidade nas antocianinas de cascas de uva, o tempo foi a variável que mais afetou a degradação, seguido pela temperatura e, finalmente, pela luz, que não influenciou significativamente a quantidade de pigmentos (Morais *et al.*, 2002).

2.2.3 Análise e Quantificação de Antocianinas

Os métodos mais comumente utilizados na determinação do teor de antocianinas em alimentos são o método do pH diferencial, no qual se utiliza o espectrofotômetro, e o método de cromatografia líquida, no qual se utiliza a cromatografia líquida de alta eficiência ou, em inglês, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Outras técnicas de análise aparecem em menor quantidade como a eletroforese capilar e a cromatografia líquida associada à espectrometria de massa. Nesta seção serão abordados os dois métodos mais utilizados, sendo estes os aplicados no presente trabalho.

Na maioria das frutas e vegetais, os pigmentos antociânicos estão localizados na superfície das células. Os processos de extração usam solventes ácidos que desnaturam as membranas do tecido celular e, simultaneamente, dissolvem estes pigmentos (Rodríguez-Saona e Wrolstad, 2001). Os solventes utilizados são polares, assim como as antocianinas, permitindo que as mesmas solubilizem; os mais comuns são acetona, etanol e metanol. O solvente escolhido para extração é, em geral, acidificado. O ácido tende a estabilizar as antocianinas, mas pode também mudar sua forma nativa através da quebra de ligações com metais, copigmentos ou outros compostos. Para essa acidificação, é sugerida a utilização de ácido clorídrico em pequenas quantidades, entre 0,01 e 0,05 % v/v (Rodríguez-Saona e Wrolstad, 2001).

A escolha do método de extração deve maximizar a recuperação de pigmentos e a purificação, com uma mínima degradação do estado natural. Porém, independente do solvente utilizado, essa metodologia implica na coextração de substâncias não fenólicas como açúcares, ácidos orgânicos e proteínas e requer posterior purificação (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

A extração com metanol tem se mostrado mais eficiente que a utilizando etanol, no entanto, ainda existem divergências na comparação entre metanol e acetona. Os dois principais métodos para a extração são: a extração com acetona e posterior separação com clorofórmio e a extração com metanol. Wrolstad e Durst (1999) compararam o método utilizando acetona, e posteriormente clorofórmio, com o método utilizando metanol acidificado em vinte amostras e concluíram que a recuperação de antocianinas foi 30% maior utilizando acetona. Outro estudo, entretanto, demonstrou que uma melhor extração dos compostos se deu utilizando metanol e não acetona (Lee, Finn e Wrolstad, 2004).

A etapa de purificação deve, muitas vezes, seguir a de extração. Para tal é utilizada a extração em fase sólida. Nesta etapa, cartuchos C_{18} têm sido amplamente utilizados; as antocianinas se prendem a fase sólida do cartucho e compostos polares como ácidos e açúcares são removidos utilizando água acidificada. Após a purificação, as antocianinas são removidas com metanol acidificado (Rodriguez-Saona e Wrolstad, 2001).

O método do pH diferencial se caracteriza por ser um método rápido e fácil para a quantificação do teor total de antocianinas monoméricas. Essa metodologia de análise foi descrita em detalhe por Giusti e Wrolstad (2001) e validada em 2005 como sendo um método da *Association of Analytical Communities* (AOAC) através de um estudo colaborativo (Lee, Durst e Wrolstad, 2005). O método do pH diferencial se baseia nas mudanças estruturais sofridas pelas antocianinas na faixa de pH entre 1 e 4,5. No pH 1 esses compostos estão em sua forma colorida, enquanto no pH 4,5 se apresentam predominantemente sem coloração; essas mudanças podem ser observadas por espectroscopia ótica. A diferença entre as absorbâncias nos dois pHs analisados, medida no comprimento de onda que apresenta absorbância máxima, é proporcional à concentração das antocianinas (Giusti e Wrolstad, 2001; Lee, Durst e Wrolstad, 2005). O cálculo para determinação da absorbância é feito utilizando a Equação 2.1:

$$A = (A_{\lambda_{vis-m\acute{a}x}} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{\lambda_{vis-m\acute{a}x}} - A_{700})_{pH4,5} \quad (2.1)$$

onde $A_{\lambda_{vis-m\acute{a}x}}$ é a absorbância em um comprimento de onda (λ) na região entre 490 e 550 nm do espectro visível, no qual existe a máxima detecção das antocianinas, A_{700} é a absorbância no comprimento de onda de 700 nm. No comprimento de onda de 700 nm não há absorbância

da cor da amostra e a medida é realizada apenas para corrigir erros relacionados à turbidez ou a sedimentos na amostra.

Posteriormente, deve ser calculado o teor de antocianinas na amostra. Para tal, são utilizados os valores de massa molar e coeficiente de extração molar (ou absorvidade molar) da antocianina presente em maior quantidade na amostra. Em geral, são utilizados os valores da cianidina-3-glucosídeo por ser a antocianina de ocorrência mais comum na natureza. A concentração dos pigmentos na amostra é determinada através da Equação 2.2:

$$\text{Antocianinas}(\text{mg/L}) = \frac{A \times MM \times FD \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (2.2)$$

onde A é a absorvância calculada utilizando a Equação 2.1, MM [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$] é a massa molar, ϵ [$\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$] o coeficiente de extração molar da antocianina predominante, FD é o fator de diluição da amostra e l o comprimento da cubeta na direção de passagem da luz (cm).

Apesar de ser mais complexa que o método do pH diferencial, a cromatografia líquida é o método mais aplicado na separação de antocianinas. Até o presente, não existe um protocolo padrão para essa análise, cada laboratório utiliza um método específico para a separação. Todavia, algumas condições são normalmente empregadas. A detecção é feita usando detector de arranjo de diodos (DAD) ultravioleta-visível em comprimentos de onda entre 520 e 546 nm; nesta faixa, nenhum outro composto fenólico é detectado. Para a purificação das antocianinas, as colunas C_{18} são as mais utilizadas, no entanto, suas características de separação podem variar de acordo com fabricante (Da Costa, Horton e Margolis, 2000).

A separação das antocianinas se dá de forma mais efetiva quando são utilizados gradientes de eluição, sendo o metanol e a acetonitrila as fases móveis mais empregadas. O pH da fase móvel é mantido abaixo de 2, através da adição de pequenas quantidades de ácido. O tempo de retenção das antocianinas é influenciado pela sua polaridade; a ordem de eluição mais comum é, primeiro, a delphinidina, seguida de cianidina, petunidina, pelargonidina, peonidina e malvidina (Da Costa, Horton e Margolis, 2000).

A identificação e quantificação de antocianinas, individualmente, por HPLC é bastante complicada. Por existirem mais de 600 compostos já identificados, se torna impossível a

aquisição e elaboração de curvas para todos os padrões. Essa diversidade é resultante do número de grupos hidroxila e metoxila, da natureza e do número de açúcares e de ácidos, bem como da localização destes compostos. Por hidrólise ácida é possível quebrar as ligações glicosídicas das moléculas, diminuindo consideravelmente o número de compostos que podem ser encontrados. Através desse processo são obtidas as antocianidinas, que se apresentam em apenas seis formas e cujos padrões encontram-se comercialmente disponíveis.

2.3 Materiais e Métodos

2.3.1 Aquisição dos Frutos e Elaboração das Polpas

Os mirtilos utilizados nos experimentos são da espécie *Vaccinium corymbosum* e fazem parte do grupo *highbush*. Os frutos foram adquiridos da empresa Italbraz, de Vacaria no Rio Grande do Sul, sendo fornecidos congelados e embalados em sacos plásticos de 100 g. Após o recebimento, os mirtilos foram armazenados e mantidos à -18 °C até a elaboração das polpas.

Para o preparo das polpas, 7 kg de mirtilos, pertencentes ao mesmo lote, foram descongelados a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C). As frutas, que estavam armazenadas em diferentes embalagens, foram misturadas manualmente e trituradas em um liquidificador até que o produto se tornasse homogêneo e, visualmente, não fossem observados pedaços grandes de fruta. As porções de frutas trituradas, provenientes de cada processo de liquidificação foram homogeneizadas utilizando grandes recipientes. Separadamente, foi agitada, também em um liquidificador, uma mistura de goma xantana, fornecida pela *Hexus Food*, e água destilada e deionizada. Essa mistura foi adicionada aos frutos triturados e liquidificada a fim de atingir os teores de sólidos totais (*TST*) desejados para a realização dos experimentos. A goma foi utilizada para que não houvesse separação de fases entre a polpa e a água, sua porcentagem foi fixada em 0,1 %. Por fim, para todos os *TST* utilizados, as misturas contendo mirtilo, água e goma, provenientes de cada processo de liquidificação foram homogeneizadas em grandes recipientes, previamente a embalagem. As polpas foram mantidas congeladas, à -18 °C, até o momento das análises.

Para o cálculo da quantidade de água a ser adicionada à polpa, foi determinada, inicialmente, a umidade dos frutos recebidos, obtendo-se, assim, o teor de sólidos totais do mirtilo. A Tabela 2.3 apresenta a composição das diferentes diluições utilizadas; estes valores foram escolhidos de acordo com o planejamento experimental que será apresentado no Capítulo 4. A análise de umidade será descrita em detalhe no item 2.3.2.

Tabela 2.3 – Composição mássica percentual das diluições utilizadas: *TST*, polpa, água e goma xantana.

<i>TST</i> (%)	Polpa (%)	Água (%)	Goma xantana (%)
16,00	89,60	10,30	0,10
14,24	79,73	20,17	0,10
10,00	56,00	43,90	0,10
5,76	32,27	67,63	0,10
4,00	22,40	77,50	0,10

2.3.2 Determinação das Propriedades Físico-Químicas da Polpa

As propriedades físico-químicas do mirtilo analisadas foram: o teor de sólidos solúveis (°Brix), o pH e a umidade dos frutos triturados.

O teor de açúcares foi determinado utilizando um refratômetro analógico portátil (*Carl Zeiss*, modelo 32-G, Estados Unidos), de acordo com o método da AOAC 932.12 (AOAC, 2000a), e o pH foi determinado utilizando um pHmetro (*Tecnal*, modelo TEC-3MP, Brasil), também de acordo com a AOAC, método 981.12 (AOAC, 2000d).

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico de acordo com a metodologia 934.06 (AOAC, 2000b). Este método consiste em pesar, em balança analítica, com precisão de 0,0001 g (*BOSH*, modelo SAE 200, Alemanha), 5 g de amostra em uma cápsula de alumínio contendo um bastão de vidro e 10 g de areia. É necessário utilizar a areia devido ao alto teor de açúcares dos frutos. Em altas temperaturas, o açúcar carameliza, criando uma crosta superficial que impede a saída de água do alimento. A areia evita a formação desta crosta e forma poros, facilitando a retirada de água do alimento. Após a pesagem, com o auxílio do bastão de vidro, a amostra é misturada à areia e colocada em estufa a vácuo (*Tecnal*, modelo TE-395, Brasil) a 80 °C por 8 h. No final deste período, a amostra é resfriada

e novamente pesada. A umidade é calculada através da diferença de massa antes e após a secagem da água, utilizando a Equação 2.3 e o resultado é obtido em porcentagem. O teor total de sólidos é calculado diminuindo-se de 100 o valor obtido na Equação 2.3. Todas as análises de umidade contidas neste trabalho foram realizadas em triplicata.

$$x^w = \frac{m_{au} - m_{as}}{m_{au}} \times 100 \quad (2.3)$$

onde, x^w é a umidade em porcentagem, m_{au} é a massa de amostra úmida e m_{as} é a massa de amostra seca.

2.3.3 Extração das Antocianinas

O método de extração com metanol foi escolhido por sua rapidez e facilidade, se comparado a extração com acetona seguida de partição com clorofórmio. Em um tubo falcon de 50 mL, foram pesados 2 g de amostra em balança analítica, com precisão de 0,0001 g (*BOSH*, modelo SAE 200, Alemanha), anotando o peso exato para posterior correção. Às amostras, foram adicionados 20 mL de metanol, acidificado com 0,01 % de ácido clorídrico, utilizando pipeta volumétrica. Foram utilizados em todas as etapas reagentes de grau analítico ou HPLC (*Vetec*, Brasil).

Os tubos contendo a amostra diluída em metanol acidificado foram agitados durante 1 h em um agitador de tubos tipo *shaker* (*Marconi*, Brasil). Para separação do metanol contendo as antocianinas diluídas dos sólidos da polpa, as amostras foram centrifugadas por 20 min à temperatura de 4 °C e velocidade de 4757 g (*Cientec*, modelo CT 5000R, Brasil). Em seguida, o extrato metanólico foi filtrado em membranas com 13 mm de diâmetro Milipore tipo HV e tamanho de poro nominal de 0,45 µm.

Após essa etapa, parte do extrato foi utilizado para análise pelo método do pH diferencial e parte foi armazenada para posterior análise por HPLC.

2.3.4 Implementação do Método de Análise por HPLC

A análise de antocianidinas utilizada se baseia na metodologia elaborada por Durst e Wrolstad (2001) apresentada no *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* e adaptada por Lima *et al.* (2006).

Reagentes

Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram grau HPLC e adquiridos da empresa *Vetec* (Brasil): acetonitrila, ácido *o*-fosfórico, ácido acético, metanol e ácido clorídrico.

Os padrões de cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina e petunidina foram adquiridos da empresa *Sigma Aldrich* (St. Louis, Estados Unidos), também grau HPLC. Para utilização dos padrões foram preparadas soluções de cada antocianidina separadamente na concentração de 1 mg·mL⁻¹, utilizando água purificada Mili-Q (Milipore, França). Essas soluções foram diluídas em diferentes concentrações para construção da curva de calibração dos compostos a serem analisados.

Equipamento e Condições Cromatográficas

Foi utilizado um cromatógrafo (*PerkinElmer*, modelo Series 200, Estados Unidos) equipado com desgaseificador, bomba quaternária, forno e detector de ultravioleta-visível também da *PerkinElmer* modelo Series 200. A separação foi realizada com uma coluna de fase reversa C₁₈ (*PerkinElmer*, Brownlee Validated RP-18 Spheri-5, Estados Unidos) de 250 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno e com partículas de 5 µm de diâmetro médio, acoplada a uma pré coluna de 15 mm de comprimento e 3,2 mm de diâmetro interno (*PerkinElmer*, Brownlee Validated C₁₈ Newguard Column, Estados Unidos). O volume de injeção foi 20 µl, o comprimento de onda utilizada foi de 520 nm e a temperatura e a vazão foram controladas em 30 °C e 1 mL·min⁻¹, respectivamente.

Para a eluição, foi utilizada uma alimentação formada a partir de duas soluções. A solução A foi elaborada com 100 % de acetonitrila e a solução B com 1 % de ácido ascórbico, 10 % de ácido acético e 5 % de acetonitrila (v/v) em água Mili-Q. A eluição seguiu um gradiente linear variando de 5 a 20 % (v/v) do solvente A na fase móvel em um intervalo de

20 min. Em um intervalo de 5 min a fase móvel retornou, também linearmente, a sua composição inicial, 5 % do solvente A e 95 % do solvente B.

Metodologia de Preparo das Amostras e Quantificação

A hidrólise ácida das antocianinas foi elaborada conforme proposto por Durst e Wrolstad (2001), com algumas modificações propostas por Lima *et al.* (2006). O extrato antociânico, obtido conforme mencionado no item 2.3.3, foi a matéria-prima para a hidrólise das antocianinas. Em tubos plásticos de 50 mL foram adicionados 3 mL do extrato metanólico contendo as antocianinas e 10 mL de uma solução de HCl com concentração de 2 mol L^{-1} . Os tubos foram fechados, após aplicação de fluxo de gás nitrogênio, e os pigmentos foram hidrolisados por 60 min em banho de água fervente. Após a hidrólise os tubos foram imediatamente resfriados em banho de gelo.

O hidrolisado foi purificado pela extração em fase sólida utilizando cartuchos Sep-Pak C_{18} (Waters, Estados Unidos), esses foram previamente ativados com água e metanol acidificados com 0,01 % HCl. Foram aplicados 6 mL de amostra nos cartuchos, lavados com água acidificada e eluídas com 3 mL de metanol acidificado. Esse volume foi coletado em uma proveta e levado para secagem com gás nitrogênio. As amostras foram concentradas até 1 mL, filtradas em membranas Milipore tipo HV, de poro de $0,45 \mu\text{m}$ e 13 mm de diâmetro e imediatamente analisadas. Os *ependorfs* contendo as amostras foram armazenados em banho de gelo e protegidos da luz entre as injeções.

Validação

Alguns dos parâmetros para validação de procedimentos analíticos foram determinados de acordo com a legislação vigente no Brasil para validação de métodos de análise (ANVISA, 2003).

Linearidade: é a capacidade de uma metodologia analítica demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. A linearidade da metodologia foi verificada na elaboração das curvas padrão, sendo realizada uma regressão linear e determinado um modelo conforme a Equação 2.4, seguindo o método dos mínimos quadrados (Skoog *et al.*, 2005).

$$y = ax + b \quad (2.4)$$

onde y é a área do pico obtido, x a concentração do padrão, em $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, a o coeficiente angular da curva de calibração e b o coeficiente linear dessa curva.

Foi avaliada a linearidade das curvas padrão em um intervalo contendo quatro diferentes concentrações.

Precisão: é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma mesma amostra. A precisão foi calculada para todas as análises de antocianinas realizadas durante este trabalho, sendo expressa como desvio padrão relativo (DPR) e calculada conforme a Equação 2.5.

$$DPR = \frac{Sc}{\mu} \times 100 \quad (2.5)$$

onde Sc é o desvio padrão dos resultados obtidos a partir da curva de calibração e μ a concentração média determinada.

O valor de Sc é calculado utilizando o método dos mínimos quadrados. Para algumas amostras foi avaliada, ainda, a precisão intermediária do método através da realização em duplicata dos experimentos.

Limite de Detecção: é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de detecção (LD) das curvas padrão de cada antocianidina foi determinado pela Equação 2.6. Nessa equação é considerado o desvio padrão coeficiente linear (DP_b) e também a inclinação da curva de calibração (a).

$$LD = \frac{DP_b \times 3}{a} \quad (2.6)$$

Limite de Quantificação: é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Assim como o limite de detecção, o limite de quantificação (LQ) também foi determinado para a curva de calibração de cada antocianidina, utilizando a Equação 2.7.

$$LQ = \frac{DP_b \times 10}{a} \quad (2.7)$$

2.3.5 Implementação do Método de Análise por Espectrofotometria

Para análise por espectrofotometria foi utilizado o método do pH diferencial (Lee, Durst e Wrolstad, 2005). Para tal, foram utilizadas duas soluções tampão, sendo uma com pH 1,0 e outra com pH 4,5, ambas elaboradas utilizando água destilada; a de pH 1,0 foi preparada com cloreto de potássio e a de pH 4,5 com acetato de sódio.

Para a leitura, foi utilizado um espectrofotômetro (*Pró-Análise*, modelo UV 1600, Brasil). Antes das análises, o equipamento foi deixado estabilizar e zerado utilizando água destilada. Previamente às análises, foi determinado o fator de diluição (*FD*) entre amostra e tampão, de forma que a absorbância se mantivesse inferior a um. Para determinação da absorbância, a solução contendo as antocianinas (obtida conforme descrito no item 2.3.3) foi diluída nas soluções tampão (pH 1 e 4,5), diretamente nas cubetas, utilizando pipeta volumétrica. As análises foram realizadas em triplicata.

A absorbância foi medida em 510 e 700 nm; o comprimento de onda que apresentou os valores máximos de absorbância, 510 nm, foi determinado em experimentos prévios realizados utilizando mirtilos e o mesmo equipamento. Após a obtenção da absorbância, calculada a partir da Equação 2.1, foi determinada a concentração de antocianinas em mg l^{-1} , utilizando a Equação 2.2. Foi utilizada a cianidina-3-glucosídeo como base, para fins de comparação com a literatura. Esta antocianina tem massa molar de $449,2 \text{ g mol}^{-1}$ e a sua absorvidade molar é igual a $26.900 \text{ L mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Levando em conta as diluições sofridas pela amostra inicial é possível obter o teor total de antocianinas em mg por 100 g de amostra em base úmida.

Para avaliação dessa metodologia, foi determinado o desvio padrão entre as amostras da triplicata, e também a precisão da análise através da repetição do experimento em alguns pontos de análise.

2.4 Resultados e Discussão

2.4.1 Propriedades Físico-Químicas da Polpa

Os resultados para as propriedades físico-químicas analisadas da polpa de mirtilo estão apresentados na Tabela 2.4, assim como o desvio padrão para os valores encontrados.

Tabela 2.4 – Valores médios para os teor de sólidos totais e solúveis e pH da polpa de mirtilo.

Propriedade	Valor (*)
Teor de sólidos totais (g/100 g b.u.)	17,86 ± 0,10
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	13,00 ± 0,50
pH à 25 °C	3,18 ± 0,01

(*) Valores médios ± desvio padrão de n repetições (n = 3).

Esses valores podem variar com o estágio de maturação, fertilidade do solo, clima, entre outros, sendo o teor de sólidos solúveis um índice de maturidade de algumas frutas. Os dados obtidos estão de acordo com a literatura estudada; conforme Coutinho e Flores (2004), o teor de sólidos solúveis do mirtilo, quando maduro, deve variar entre 13 e 14 %. Além disso, de acordo com Sousa (2007) o teor de água está em torno de 82 %, ficando o teor de sólidos totais em torno de 18 %. O pH da polpa está na faixa entre 2 e 4, na qual as espécies quinoidais azuis são dominantes.

2.4.2 Teor de Antocianinas na Polpa

O teor de antocianinas da polpa de mirtilo com diferentes teores de sólidos totais foi determinado utilizando duas metodologias diferentes, o método utilizando cromatografia líquida de alta eficiência e o método do pH diferencial. Serão apresentadas aqui, primeiramente, as curvas de calibração dos padrões e os parâmetros de validação associados a estas curvas e, em seguida, o conteúdo de antocianinas da polpa, conforme avaliado por HPLC. Finalmente, os resultados obtidos pelo espectrofotômetro serão apresentados.

Curvas de Calibração e Validação da Análise por HPLC

A faixa de concentração na qual foi encontrado um comportamento linear foi diferente em cada aglicona analisada. A Tabela 2.5 apresenta a concentração inicial e final das curvas de calibração e o tempo de retenção (t_R) de cada antocianidina. O tempo de retenção foi calculado com base na média dos tempos de cada injeção.

Tabela 2.5 – Concentrações inicial e final das curvas de calibração e tempo médio de eluição para as diferentes antocianidinas.

Antocianidina	t_R (min)	Concentração inicial (mg kg ⁻¹)	Concentração final (mg kg ⁻¹)
Pelargonidina	3,409 ± 0,047	10	90
Delfinidina	5,380 ± 0,254	50	250
Cianidina	8,541 ± 0,230	10	50
Petunidina	10,458 ± 0,211	5	60
Peonidina	14,940 ± 0,094	5	60
Malvidina	15,541 ± 0,251	50	100

Foi aplicado o método de mínimos quadrados, permitindo a obtenção de uma relação entre a área do pico obtida e a concentração de amostra; essa relação gerada pelo método dos mínimos quadrados minimiza a soma dos quadrados dos resíduos para todos os pontos. Além de fornecer o melhor ajuste entre os pontos experimentais e a equação da reta, o método fornece os desvios padrão para a e b (DP_a e DP_b). Os valores dos coeficientes linear e angular das curvas de calibração, bem como seus desvios e o coeficiente de determinação (R^2) de cada reta são apresentados na Tabela 2.6.

Tabela 2.6 – Valores dos coeficientes angulares (a) e lineares (b) das curvas de calibração, seus desvios (DP_a e DP_b) e o coeficiente de determinação (R^2) para as diferentes antocianidinas.

Antocianidina	a	DP_a	b	DP_b	R^2
Pelargonidina	56.703,45	1.938,15	225.732,06	104.372,67	0,998
Delfinidina	16.812,52	116,95	-354.626,31	17.917,74	0,999
Cianidina	138.672,61	4.377,48	24.475,20	156.307,36	0,998
Petunidina	211.304,28	5.346,68	48.799,85	187.610,72	0,999
Peonidina	158.023,98	1.543,28	-213.594,46	62.331,20	0,999
Malvidina	61.054,79	1.744,41	-1.519.668,06	134.557,52	0,998

Os coeficientes de determinação ficaram acima do critério mínimo aceito pela legislação (0,99), sendo que as curvas obtidas são adequadas para quantificação das antocianinas. Os valores de desvio padrão para o coeficiente linear, apresentados na Tabela 2.6, são bastante altos e, em alguns casos, maiores que o próprio coeficiente linear. Esse comportamento se deve a um desvio da Lei de Beer que ocorre próximo ao eixo das ordenadas. A Lei de Beer considera que existe uma relação linear entre a absorbância e a concentração do composto, no entanto, para concentrações muito pequenas isso não se aplica, fazendo com que o desvio ocorra (Skoog *et al.*, 2005). As equações encontradas, todavia, podem ser utilizadas na para relacionar a área do pico à concentração da amostra na faixa onde o comportamento é linear. Essa faixa é determinada pelos limites de quantificação, que são apresentados a seguir. Para cada curva de calibração foi realizada uma análise de variância, utilizando o *software* Statistica® versão 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, Estados Unidos), com intuito de avaliar se as regressões foram significativas. Em todos os casos, o F calculado foi maior que F tabelado, com um grau de significância de 95 %, validando as equações obtidas.

Os limites de detecção e quantificação de cada curva foram calculados utilizando as equações 2.6 e 2.7, respectivamente. Os valores obtidos para esses parâmetros são apresentados na Tabela 2.7.

Tabela 2.7 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para as análises de concentração das diferentes antocianidinas.

Antocianidina	LD (mg·kg⁻¹)	LQ (mg·kg⁻¹)
Pelargonidina	5,52	18,41
Delfinidina	3,20	10,66
Cianidina	3,38	11,27
Petunidina	2,66	8,88
Peonidina	1,18	3,94
Malvidina	6,61	22,04

Teor de Antocianinas Avaliado por Cromatografia Líquida

Após a hidrólise ácida, as antocianinas presentes no mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) foram reduzidas a antocianidinas. A análise por HPLC do extrato hidrolisado apresentou

cinco picos bem separados e definidos. Delfinidina, Cianidina, Petunidina, Peonidina e Malvidina foram identificadas através da comparação dos tempos de retenção dos picos encontrados na amostra com os picos das curvas padrão. A Figura 2.7 apresenta um cromatograma da análise da polpa de mirtilo mais concentrada, com 16 % de sólidos totais. É possível observar que a metodologia empregada resultou em uma boa separação dos picos, permitindo detectar individualmente, de maneira clara, todas as antocinidinas presentes na polpa.

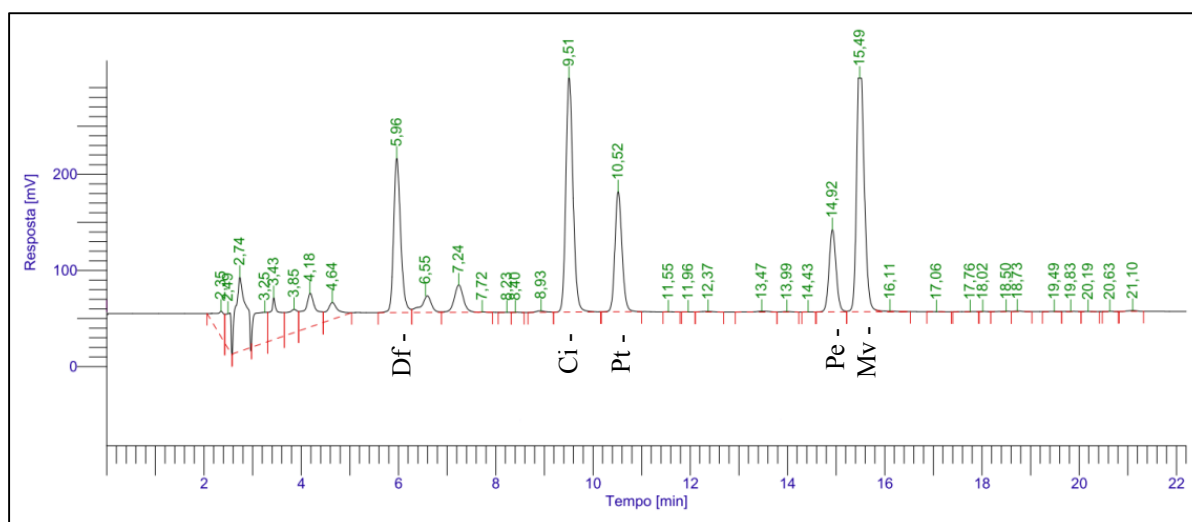


Figura 2.7 – Cromatograma da análise de polpa de mirtilo com TST 16 %.

A ordem de eluição concordou com os resultados obtidos na literatura, com exceção da pelargonidina que apresentou tempo de retenção inferior ao esperado. Os picos apresentados na parte inicial do cromatograma referem-se ao solvente utilizado. Como o tempo de retenção da pelargonidina ficou na mesma faixa dos picos do solvente, esta antocianidina não pode ser detectada ou quantificada. No entanto, é provável que a amostra não contenha grandes quantidades desse composto, devido ao fato de não terem sido observados picos grandes associados ao seu tempo de eluição. Estudos anteriores, que analisaram a composição de antocianinas ou antocianidinas do mirtilo por cromatografia líquida, encontraram resultados similares, sendo detectados, apenas, os mesmos cinco compostos deste trabalho e não tendo sido localizados picos referentes à pelargonidina (Robards e Antolovich, 1997; Kalt *et al.*, 1999; Nyman e Kumpulainen, 2001).

Utilizando as curvas de calibração, foi possível quantificar cada antocianidina. Os valores encontrados foram corrigidos com a massa inicial de polpa utilizada e foram

consideradas as diluições de cada etapa do processo a fim de se obter o valor em mg de antocianidina por 100 g de polpa. A Tabela 2.8 apresenta a concentração individual e a porcentagem de cada aglicona na polpa de mirtilo com o maior teor de sólidos totais, 16 %. O teor de petunidina encontrado ficou abaixo do limite de quantificação e, devido a isso, esse composto não foi considerado nos cálculos. Os valores de desvio padrão relativo encontrados foram inferiores a 5 % em todos os casos, sendo a análise considerada satisfatória.

Tabela 2.8 – Teor de antocianinas da polpa de mirtilo com TST 16 %.

Antocianidina	Teor de antocianinas (mg/100 g polpa)	Porcentagem (%)
Delfinidina	78,91 ± 0,54	54,93
Cianidina	11,94 ± 0,37	8,31
Peonidina	4,57 ± 0,17	3,18
Malvidina	48,22 ± 0,43	33,57

Na Tabela 2.8, é possível observar que a delfinidina foi a antocianidina mais abundante, seguida pela malvidina, cianidina e peonidina. É esperado, para a espécie *Vaccinium corymbosum* e para o grupo *Highbush*, que a delfinidina e a malvidina sejam os compostos majoritários. A análise de diferentes cultivares *Highbush* por Kalt *et al.* (1999) revelou uma composição similar à obtida, sendo a delfinidina o composto presente em maior quantidade, seguida da malvidina. Outras caracterizações encontradas na literatura apresentam a malvidina como componente principal do mirtilo em cultivares de *V. corymbosum* (Skrede, Wrolstad e Durst, 2000; Oliveira *et al.*, 2010), nesses casos, a delfinidina aparece como a segunda antocianina mais abundante.

Somando os valores obtidos para cada antocianidina, se encontra um teor total de 143,6 mg por 100 g de amostra contendo 16 % de sólidos totais. Deve ser levado em conta que os níveis desses compostos na fruta in natura são, possivelmente, subestimados devido às limitações dos métodos de extração (Seeram, 2008). O valor obtido se encontra na faixa descrita por Gao e Mazza (1994) e valores em torno de 100 mg por 100 g de amostra para *Vaccinium corymbosum* são predominantes na literatura (Kalt e Dufour, 1997; Skrede, Wrolstad e Durst, 2000; Moyer *et al.*, 2001).

A quantificação das antocianinas foi realizada para todas as diluições apresentadas na Tabela 2.3. Nesta análise, o teor total de antocianinas foi determinado através da soma dos teores de delphinidina e malvidina; as demais antocianidinas não foram quantificadas por estarem abaixo dos limites de quantificação apresentados na Tabela 2.7. O teor de antocianinas variou entre 45 e 127 mg por 100 g de amostra, para as polpas com concentrações de sólidos de 4 e 16 %, respectivamente. Os teores de antocianinas obtidos para cada diluição podem ser observados na Tabela 2.9, assim como o desvio padrão relativo obtido nas análises. Os desvios padrões relativos em todos os casos foram inferiores a 2 %, portanto, a precisão do método foi considerada satisfatória.

Tabela 2.9 – Teores totais de antocianinas para os diferentes *TST* obtidos na análise por HPLC.

<i>TST</i> (%)	Teor de antocianinas (mg/100 g de polpa)
16,00	127,13 ± 0,97
14,24	114,13 ± 0,85
10,00	91,25 ± 0,86
5,76	57,48 ± 0,88
4,00	44,88 ± 0,85

Para os teores de sólidos de 16 e 10 % as análises foram realizadas em duplicata com o intuito de avaliar a precisão intermediária do método. A diferença entre os dois valores obtidos foi de 0,25 %, para polpa com *TST* 16 %, e 2,88 %, para polpa com *TST* 10 %. Na Figura 2.8 está apresentado um gráfico com os dados da Tabela 2.9, além de apresentar a variação dos teores de delphinidina e malvidina, individualmente, com o teor de sólidos totais. As linhas de tendência que aparecem na figura, são, apenas, para melhor visualização dos resultados.

Na Figura 2.8, observa-se a linearidade entre os valores de *TST* e os teores de antocianinas obtidos pela metodologia de cromatografia líquida, nos três casos demonstrados. Portanto, a metodologia foi considerada adequada para avaliação do teor de antocianinas nessa faixa de concentração de sólidos presentes na polpa.

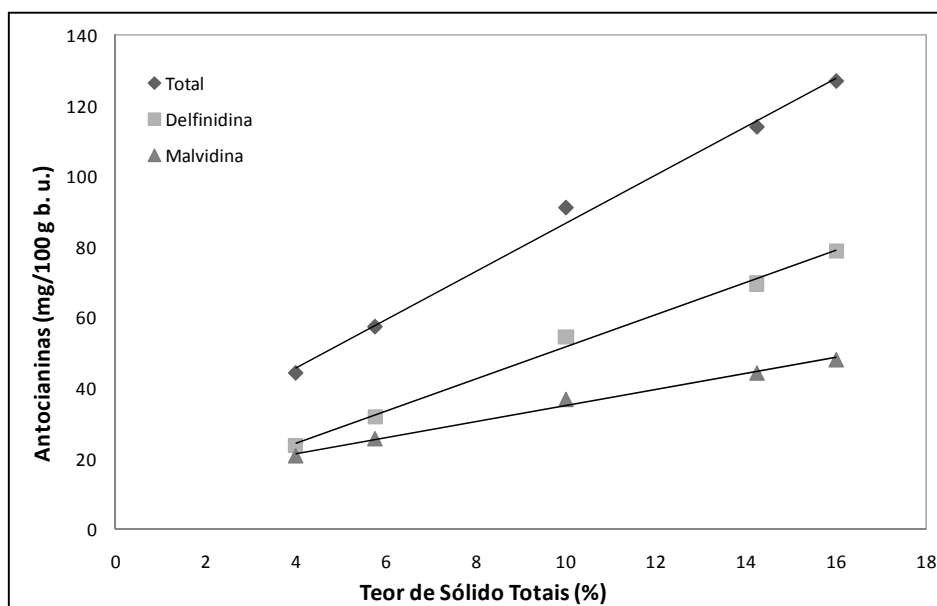


Figura 2.8 – Teor total de antocianinas, teor de delphinidina e teor de malvidina, avaliados por HPLC, versus teor total de sólidos da polpa.

Teor de Antocianinas Avaliado pelo Método do pH Diferencial

O teor total de antocianinas monoméricas foi determinado usando o método do pH diferencial (Giusti e Wrolstad, 2001; Lee, Durst e Wrolstad, 2005) e os compostos foram quantificados empregando como base a cianidina-3-glucosídeo. Os valores obtidos para as diferentes diluições são apresentados na Tabela 2.10, bem como o desvio padrão para as três leituras efetuadas no espectrofotômetro. Observa-se que para a polpa menos diluída o teor total dos compostos é de 126 mg por 100 g de polpa. Esses valores estão dentro da faixa obtida por Prior *et al.* (1998), que quantificaram o teor de antocianinas em diferentes cultivares de mirtilo através do método do pH diferencial, obtendo valores entre 93,1 e 235,4 mg em 100 g de amostra fresca para o *Vaccinium corymbosum*. Esta metodologia também foi empregada por Zheng e Wang (2002), que encontraram um teor total de antocianinas bastante similar ao obtido nesse trabalho, de 120 mg por 100 g de amostra.

Além da análise do erro entre as leituras do espectrofotômetro, foi avaliada a precisão do método através da elaboração de duas repetições para as polpas com teor de sólidos de 4, 10 e 16 %. O erro entre as repetições foi de 0,73, 1,77 e 1,26 % para as três diluições citadas, respectivamente.

Na Figura 2.8 está apresentado o gráfico com os dados da Tabela 2.10, teor de antocianinas versus teor de sólidos totais. Observa-se que existe uma linearidade entre estes

dados, demonstrando o bom desempenho do método do pH diferencial apresenta um bom desempenho.

Tabela 2.10 - Teores de antocianinas obtidos na análise por espectrofotômetro para os diferentes TST.

TST (%)	Teor de antocianinas (mg/100 g de polpa)
16,00	126,13 ± 0,60
14,24	112,36 ± 3,15
10,00	79,69 ± 3,75
5,76	47,11 ± 1,77
4,00	32,95 ± 1,27

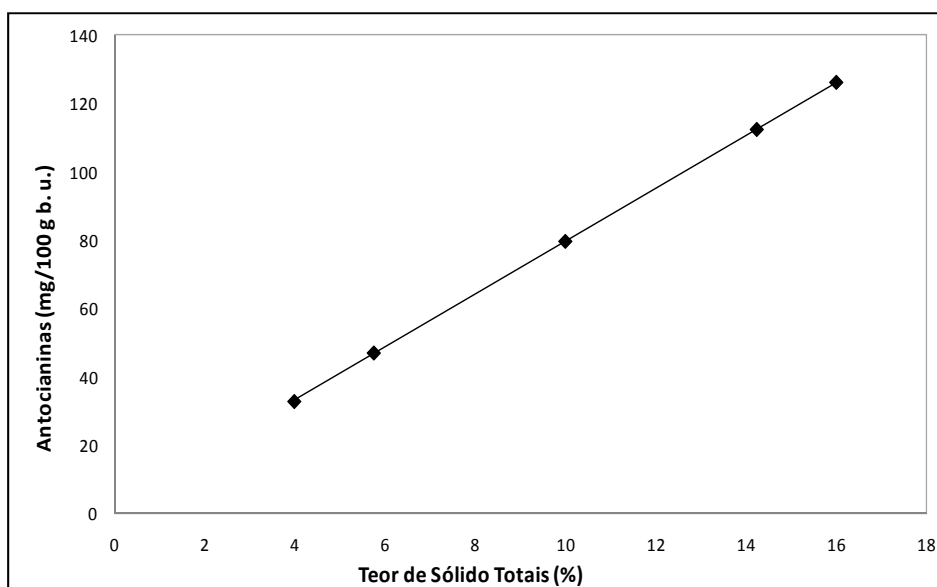


Figura 2.9 - Teor total de antocianinas avaliado por espectrometria *versus* teor total de sólidos da polpa.

O comportamento linear, observado na análise por HPLC, foi mantido na metodologia do pH diferencial. Comparando os dois métodos utilizados na avaliação do teor de antocianinas é possível verificar que ambos os métodos foram adequados, sendo que os valores obtidos pela cromatografia líquida foram um pouco mais elevados, provavelmente devido às diferenças de extração das antocianinas das amostras e também pelo fato do cálculo, no método do pH diferencial, ser realizado apenas em função da cianidina-3-glucosídeo. Resultados similares foram obtidos em estudos realizados por outros pesquisadores (Wu *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2006).

A cromatografia líquida de fase reversa é a ferramenta mais utilizada na identificação e quantificação de antocianinas. Essa metodologia, além da capacidade de determinar o teor de cada antocianidina, apresenta precisão bastante superior a do método do pH diferencial. O desvio padrão relativo máximo obtido nos experimentos por cromatografia foi de 1,8 %, enquanto que no experimento por espectrofotometria o erro chegou a 4,7 %. Lee, Rennaker e Wrolstad (2008) definiram a metodologia por HPLC como sendo melhor que as demais. No entanto, seu estudo demonstrou que o método do pH diferencial é uma alternativa simples, rápida e de baixo custo, que pode ser aplicada quando não é viável o uso da cromatografia.

2.5 Conclusões

Esta etapa do estudo teve como objetivo determinar algumas propriedades físico-químicas da polpa de mirtilo além de identificar e quantificar as antocianinas presentes no fruto para os teores de sólidos totais envolvidos nesse trabalho e, ainda, validar a metodologia de análise por cromatografia líquida utilizada. A polpa analisada apresentou teor de sólidos totais de 17,86 % em base úmida, teor de sólidos solúveis igual a 13 °Brix e pH de 3,18 à 25 °C. As propriedades analisadas apresentaram resultados coerentes com a literatura e os erros envolvidos nas análises foram pequenos.

A validação da análise por HPLC foi satisfatória, possibilitando a identificação e a quantificação das antocianidinas presentes no mirtilo. Na análise por cromatografia líquida verificou-se que as antocianidinas do fruto em estudo são compostas por 55 % delphinidina, 8 % cianidina, 3 % peonidina e 34 % malvidina. O teor total de antocianinas da polpa mais concentrada foi de 147,5 mg por 100 g de polpa. Os teores de antocianinas, calculados pela soma dos teores de delphinidina e malvidina, variaram entre 44,88 e 127,13 mg de antocianina por 100 g de polpa para as diluições com *TST* de 4 e 16 %, respectivamente.

O teor de antocianinas monoméricas determinado pelo método do pH diferencial foi de 126,13 mg/100 g de amostra em base úmida para a polpa com *TST* de 16 % e decresceu até 32,95 para a polpa com *TST* de 4 %. Essa faixa ficou um pouco abaixo da obtida pela análise cromatográfica. Os desvios foram relativamente baixos para as duas metodologias e, em ambos os casos, o teor de antocianinas variou linearmente com a concentração. Tanto o

método do pH diferencial, quanto a cromatografia foram consideradas metodologias adequadas para análise de antocianinas, entretanto, o erro obtido utilizando a cromatografia foi inferior.

Capítulo 3 - Propriedades Físicas

Propriedades físicas controlam a transferência e armazenamento de energia térmica e as transformações ocorridas em determinado material quando aquecido. O conhecimento das propriedades físicas dos alimentos é de grande importância para o projeto e cálculo de unidades operacionais e seu estudo nos permite conhecer como essas propriedades são afetadas por variações de temperatura e de composição. A massa específica, a condutividade térmica, o calor específico a pressão constante, a difusividade térmica e a condutividade elétrica são as principais propriedades físicas necessárias para avaliar, projetar e modelar processos de transferência de calor, como aquecimento, secagem, desidratação, refrigeração ou congelamento. Diversas equações foram elaboradas para determinação dessas propriedades em função de seus constituintes majoritários (água, proteína, carboidratos, gordura) e da temperatura; no entanto, existem diferenças significativas entre os valores estimados e os obtidos experimentalmente devido, principalmente, à complexa estrutura físico-química dos vegetais.

3.1 Fundamentos Teóricos

3.1.1 Massa Específica

A massa específica (ρ) é uma das propriedades físicas mais importantes e amplamente utilizada nos cálculos de processos; sendo definida como a razão entre a massa (m) de um produto, em kg, e o seu volume (V), em m³:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (3.1)$$

A transferência de calor e massa durante o processamento dos alimentos altera a massa específica dos mesmos, pois as altas temperaturas normalmente utilizadas desnaturam seus componentes. No projeto e cálculo de processos, a massa específica é, muitas vezes, considerada constante para simplificar os cálculos; contudo, essa consideração nem sempre está correta, pois a massa específica dos alimentos pode variar com a temperatura, a pressão e a composição dos mesmos. Além disso, a massa específica possui efeito direto nas propriedades termofísicas e nos cálculos de projeto, mas, no entanto, são escassos os seus dados para alimentos na literatura.

Existem dois métodos para a determinação da massa específica de líquidos: o método hidrométrico e o picnométrico. O método hidrométrico se baseia no princípio de Arquimedes e consiste na medida da perda de peso de um sólido de volume conhecido quando imerso no líquido avaliado; para isto, a massa específica do sólido deve ser maior que a do líquido. O método picnométrico é indicado pela AOAC para bebidas e concentrados (AOAC, 2000c) e consiste na utilização de frascos de vidro calibrados (picnômetros) (Figura 3.1) nos quais é possível medir a massa de um volume conhecido de amostra. Para obtenção da massa específica em diferentes temperaturas, o picnômetro, já com a amostra, é imerso em banho termostático antes da pesagem.



Figura 3.1 – Picnômetro.

A massa específica dos alimentos foi estudada por diversos pesquisadores. Constenla *et al.* (1989) avaliaram a massa específica de suco de maçã e compararam os dois métodos citados, sendo que não foi encontrada diferença significativa entre os métodos. O método picnométrico é amplamente utilizado em alimentos, podendo ser aplicado para a determinação da massa específica de polpas (Pereira, Queiroz e Figueirêdo, 2002; Bon *et al.*, 2010), sucos (Constenla, Lozano e Crapiste, 1989; Telis-Romero *et al.*, 1998; Cepeda e Villarán, 1999; Azoubel *et al.*, 2005), purês (Ramos e Ibarz, 1998), iogurte (Kim e Bhowmik, 1997) e ovos (Coimbra *et al.*, 2006), entre outros produtos.

3.1.2 Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica (σ) é a habilidade de um material de transportar corrente elétrica e sua unidade no Sistema Internacional é $1\Omega^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ ou $\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$; sua medida fornece a determinação do comportamento iônico de soluções eletrolíticas. As medidas de resistência elétrica (R) efetuadas podem ser convertidas em condutividade elétrica usando a seguinte equação:

$$\sigma = \frac{L}{A \cdot R} \quad (3.2)$$

onde L e A são o comprimento e a área da célula, respectivamente.

Alimentos contêm água e constituintes iônicos, o que faz com que sejam capazes de conduzir corrente elétrica; eles atuam como resistência à passagem de corrente elétrica, fazendo com que seja gerado calor durante a passagem desta. Os sucos de fruta possuem, em sua maioria, condutividade elétrica acima de $0,05 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$, sendo considerados bons condutores

(Goullieux e Pain, 2005). Esta propriedade é fundamental para o monitoramento de processos e controle de qualidade dos alimentos aquecidos eletricamente (Fellows, 1988).

A condutividade elétrica dos alimentos é afetada por vários parâmetros como temperatura, força iônica, água livre, microestrutura da matéria e teor de sólidos. Além disso, para um dado teor de sólidos, é esperado que o tamanho e a forma das partículas também influenciem a condutividade elétrica da mistura. Para os alimentos, a condutividade elétrica diminui com a diluição e aumenta com a temperatura. Essa variação se deve ao aumento da mobilidade iônica durante o aquecimento.

A condutividade elétrica pode ser obtida utilizando condutivímetros, que realizam medidas considerando a quantidade e a mobilidade de íons dissolvidos na amostra. Utilizando este método, Moura *et al* (1999) estudaram a condutividade elétrica de sucos de abacaxi, limão e tangerina. Além deste estudo, Souza (2008) determinou o valor deste parâmetro para diferentes formulações de polpas de mirtilo, framboesa, amora e morango, em temperaturas entre 30 e 80 °C.

A condução de corrente elétrica pode também ser determinada utilizando células ôhmicas, onde o alimento é posicionado entre dois eletrodos, atuando como resistência. A passagem de corrente elétrica faz com que a energia elétrica se transforme em energia térmica e a temperatura do alimento aumente. A determinação da condutividade elétrica por esse método pode ser utilizada para polpas e geleias de fruta (Castro *et al.*, 2003), sucos (Palaniappan e Sastry, 1991b; Marybeth *et al.*, 1999; İçier e Ilicali, 2004; İçier, Yildiz e Baysal, 2008), legumes (Palaniappan e Sastry, 1991a) e carnes (Sarang, Sastry e Knipe, 2008), entre outros alimentos.

3.1.3 Calor Específico

O calor específico (C) pode ser definido como a quantidade de calor necessária para aumentar a temperatura de uma unidade de massa em um grau de temperatura e sua unidade é $\text{J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$. Esta propriedade depende da natureza do processo de adição de calor e sua dependência da pressão é bastante reduzida, com exceção de pressões muito altas. Como a maioria dos processos envolvendo alimentos é realizada a pressão atmosférica, o calor específico para alimentos é geralmente apresentado a pressão constante (C_p).

Dentre as principais aplicações desta propriedade estão o cálculo da quantidade de calor necessário para o processamento de um alimento e a identificação de mudanças químicas ou estruturais (Rahman, 1995). O calor específico já foi analisado para diversos alimentos como sucos e polpas de frutas (Constenla, Lozano e Crapiste, 1989; Moura *et al.*, 1998; Telis-Romero *et al.*, 1998; Zainal *et al.*, 2000; Souza, 2008; Bon *et al.*, 2010), leite (Minim, Coimbra e Minim, 2002) e ovos (Coimbra *et al.*, 2006) e também para soluções modelo similares a sucos (Moura, França e Leal, 2003).

O método mais utilizado para medir esta propriedade termofísica é o método de mistura, sendo também usados os métodos de comparação, adiabático e o método de calorimetria diferencial de varredura ou, em inglês, *differential scanning calorimeter* (DSC). Segundo Telis-Romero *et al.* (1998), esse último é o método mais indicado para determinação do calor específico de alimentos e uma de suas principais vantagens é o fato de possibilitar a determinação da propriedade em um ampla faixa de temperatura. No entanto, Hwang e Hayakawa (1979) ressaltaram o alto custo do equipamento para realização desta análise, além do fato da metodologia ser realizada utilizando uma quantidade muito pequena de amostra, da ordem de miligramas, o que pode ser uma causa de erro em amostras heterogêneas, assim como a maioria dos alimentos.

De acordo com Mohsenin (1980), citado por Rahman (1995), o método de mistura também é amplamente utilizado na determinação do calor específico. Nessa metodologia, uma substância de massa e temperatura conhecidas é colocada em um calorímetro de calor específico, também conhecido, contendo água ou outro líquido, do qual já tenha sido determinada a massa e a temperatura. O calor específico que se quer determinar é calculado utilizando os dados de calor ganho ou perdido pela água, ou outro líquido, e pelo calorímetro, e com os dados de calor ganho ou perdido pela substância analisada (Rahman, 1995).

Hwang e Hayakawa (1979) desenvolveram um calorímetro, baseado no método de mistura, e seu procedimento experimental foi adaptado por Moura *et al.* (2003) e Souza (2008). O calorímetro de Hwang e Hayakawa (1979) consiste em uma garrafa térmica com um reservatório plástico em seu interior para inserção da amostra. Água destilada é colocada no calorímetro, envolvendo a amostra e realizando a troca térmica. A temperatura desta água é monitorada e o sistema é completamente vedado. Após a ambientação do calorímetro com água e da ambientação da amostra, esta é inserida no dispositivo que é novamente vedado. O

sistema é agitado e a amostra é deixada no calorímetro por 3 h, a fim de se obter a curva da variação da temperatura com o tempo.

A partir da lei de conservação de energia, o calor total contido na água, na amostra e no calorímetro no estágio inicial deve ser igual ao calor contido no estágio final, somando-se a perda de calor do sistema para o ambiente. Sendo o subscrito θ referente ao estágio inicial e o subscrito f referente ao estágio final e os subscritos w , k e a referentes à água, ao calorímetro e à amostra, respectivamente, temos o seguinte balanço de energia (Hwang e Hayakama, 1979):

$$Cp_w \cdot m_w \cdot T_{0w} + Cp_k \cdot m_k \cdot T_{0k} + Cp_a \cdot m_a \cdot T_{0a} = Cp_w \cdot m_w \cdot T_{fw} + Cp_k \cdot m_k \cdot T_{fk} + Cp_a \cdot m_a \cdot T_{fa} - L \quad (3.3)$$

onde Cp é o calor específico à pressão constante, m é a massa, T é a temperatura e L é o fator de perda de calor para o ambiente.

A análise realizada por Hwang e Hayakawa (1979) prevê que as perdas de calor para o ambiente se dão de forma constante. Quando o sistema atinge o quase equilíbrio térmico, a taxa de perda de calor pode ser dada pela Equação 3.4:

$$L = (Cp_w \cdot m_w + Cp_k \cdot m_k + Cp_a \cdot m_a) \cdot \frac{dT}{dt} \cdot t \quad (3.4)$$

onde dT/dt é a variação da temperatura com o tempo e pode ser determinada a partir da inclinação da reta do gráfico tempo *versus* temperatura.

Isolando a variável de interesse e sabendo que a temperatura inicial é a mesma para o calorímetro e para a água (T_0) e que a temperatura final, no estágio de quase equilíbrio, é a mesma para o calorímetro, a água e a amostra (T_e), chega-se à Equação 3.5:

$$Cp_a = \frac{(Cp_w \cdot m_w + H_k) [T_e - T_0 - (dT/dt) \cdot t_e]}{m_a [T_{0a} - T_0 - (dT/dt) \cdot t_e]} \quad (3.5)$$

onde H_k é a capacidade calorífica do calorímetro, que pode ser definida como a quantidade de energia necessária para elevar a temperatura da massa do calorímetro em um grau ($H_k = Cp_k \cdot m_k$). O valor do H_k de cada calorímetro deve ser determinado experimentalmente e isto

pode ser realizado utilizando-se água com amostra; desta forma, esta propriedade é a única incógnita da equação anterior.

3.1.4 Difusividade Térmica

A taxa com a qual o calor se transfere por condução através de um material depende de sua difusividade térmica (α [m^2s^{-1}]), que pode ser definida como a relação entre a capacidade do material de conduzir calor e a sua capacidade de armazená-lo. Assim, a difusividade térmica de um composto pode ser calculada pela razão entre a sua condutividade térmica (k [$\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$]) e a sua capacidade calorífica volumétrica (ρC_p [$\text{J}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{K}^{-1}$]):

$$\alpha = \frac{k}{\rho \cdot C_p} \quad (3.6)$$

Sua principal aplicação na indústria de alimentos está na estimativa do tempo de processos como aquecimento, resfriamento, congelamento e produção de enlatados entre outros (Rahman, 1995).

Segundo (Singh, 1982), existem quatro métodos mais comumente utilizados para a determinação da difusividade térmica. Estes métodos são a estimativa por mínimos quadrados, a utilização de curvas de penetração de calor, o uso de cartas tempo *versus* temperatura e o uso de soluções analíticas. Bañri, Laraqi e García De María (2007) propuseram um método baseado na solução da equação diferencial da difusão de calor transiente. O experimento pode ser realizado utilizando misturas de frutas ou vegetais e apresentou uma margem de erro razoável.

O método consiste na utilização de uma amostra cilíndrica termicamente homogênea. A amostra, inicialmente na temperatura T_0 , é imersa em um fluido a temperatura constante, T_e , e sujeita a uma troca de calor convectiva com coeficiente de troca térmica h . O cilindro é considerado um cilindro longo, ou seja, a troca de calor na direção axial não é considerada e apenas tem-se a troca na direção radial. Esta hipótese simplifica o problema, tornando-o unidimensional, e foi comprovada em uma série de experimentos por Bañri, Laraqi e García De María (2007).

A equação diferencial governante da condução de calor em estado transiente para um cilindro longo é dada por:

$$\frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial T}{\partial r} \right) = \frac{1}{\alpha} \frac{\partial T}{\partial t} \quad (3.7)$$

Para condições de contorno de simetria no centro ($r = 0$) e temperatura especificada na superfície externa ($r = R$), ou seja, a resistência convectiva é negligenciável (h muito alto), e condição inicial de temperatura T_0 , a solução desta equação, truncada no primeiro termo (número de Fourier ($Fo = \alpha t/R^2$) $> 0,2$) é:

$$\ln \theta(r, t) = \ln K - \alpha \left(\frac{2,405^2}{R^2} \right) t \quad (3.8)$$

onde K é uma constante, R é o raio do cilindro e θ é a temperatura adimensional:

$$\theta = \frac{T(r, t) - T_e}{T_0 - T_e} \quad (3.9)$$

Ajustando a Equação 3.8, para os dados de temperatura e tempo, é possível obter uma correlação linear de $\ln(\theta)$ versus tempo. Portanto, determinando a inclinação da reta (a) obtida através dos dados experimentais, a difusividade é calculada partir da Equação 3.10.

$$\alpha = \frac{a}{\left(\frac{2,405^2}{R^2} \right)} \quad (3.10)$$

3.1.5 Condutividade Térmica

A condutividade térmica (k) pode ser definida fisicamente como sendo a medida de quanto calor é transferido através de uma unidade de área por uma unidade de tempo, devido a uma força motriz de um grau de temperatura e é uma propriedade intrínseca do material (Urbicain e Lozano, 1997); portanto, é a medida da habilidade de um determinado material em transferir calor por condução. Em alimentos, esta propriedade depende da temperatura e da composição; no entanto, também é função de fatores que afetam a trajetória de calor ao

longo do material como percentual, formato, distribuição e tamanho de espaços vazios e homogeneidade e orientação das fibras. Além disso, a redução da umidade nos alimentos causa uma importante diminuição da condutividade térmica.

A condutividade térmica é importante para o controle do fluxo de calor nos alimentos durante o processamento quando a transferência de energia está envolvida. Suas principais aplicações na indústria alimentícias são a predição do tempo de processamento em etapas como esterilização, pasteurização, congelamento e branqueamento, cálculo do fluxo de calor e predição de propriedades termofísicas.

A taxa de transferência de calor por condução através de um material pode ser calculada utilizando a lei de Fourier, sendo que a condutividade térmica é a constante de proporcionalidade desta lei, que está representada na Equação 3.11:

$$q = -kA \frac{\partial T}{\partial x} \quad (3.11)$$

onde:

q = taxa de transferência de calor (W),

A = área de transferência de calor normal ao fluxo (m^2),

$\partial T / \partial x$ = gradiente de temperatura na direção x ($K \cdot m^{-1}$).

Os métodos para determinação da condutividade térmica podem ser divididos em transientes e estacionários. Os métodos estacionários são menos utilizados em alimentos por serem mais caros e mais demorados, o que pode causar migração da água e mudanças na composição durante o experimento. As técnicas transientes são mais rápidas, fáceis e baratas (Urbicain e Lozano, 1997).

De acordo com Souza (2008) o método desenvolvido por Van der Held e Van Drunen em 1949 é o mais utilizado para alimentos particulados, grão, frutas, pós e líquidos. Este método se baseia na solução da equação de Fourier para uma fonte linear semi-infinita, homogênea e isotrópica. Na prática, um fluxo de calor constante é aplicado em uma célula cilíndrica, aumentando a sua temperatura. Assim, a condutividade térmica é determinada em função do tempo necessário para a mudança de temperatura da amostra contida na célula. Por fim, a condutividade térmica também pode ser determinada a partir dos resultados obtidos

para a difusividade térmica, o calor específico e a condutividade térmica, utilizando a Equação 3.6.

3.2 Materiais e Métodos

As propriedades físicas massa específica, calor específico, difusividade térmica e condutividade elétrica foram determinadas experimentalmente. A condutividade térmica foi calculada com base na determinação das demais. As polpas utilizadas nestes experimentos foram elaboradas conforme descrito no Capítulo 2.

3.2.1 Massa Específica

A massa específica (ρ) foi determinada através do método picnométrico. As análises foram realizadas em triplicata nas temperaturas de 30, 40, 50, 60, 70 e 80 °C para os teores totais de sólidos de 16, 14,24, 10, 5,76 e 4 %. Para tanto, utilizaram-se picnômetros com capacidade de 25 mL previamente calibrados com água destilada. Esta calibração, realizada em triplicata, tem como função determinar o volume real dos frascos na faixa de temperaturas da análise, utilizando a Equação 3.12:

$$V = \frac{m_{pc} - m_p}{\rho_w} \quad (3.12)$$

onde V é o volume real do picnômetro ρ_w é a massa específica da água, conhecida para todas as temperaturas analisadas, e m_{pc} e m_p são as massas do picnômetro cheio e vazio, respectivamente. Conhecendo o volume exato dos picnômetros, foi possível determinar a massa específica da amostra.

A temperatura das amostras foi controlada utilizando um banho termostático (*Lauda*, modelo TYP T, Alemanha) e as mesmas foram pesadas em balança analítica, com precisão de 0,0001 g (*BOSH*, modelo SAE 200, Alemanha). A massa específica dos sucos de mirtilo nas diferentes temperaturas foi calculada a partir da Equação 3.13:

$$\rho = \frac{m_{pc} - m_p}{V} \quad (3.13)$$

3.2.2 Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica (σ) foi determinada por condutivimetria, utilizando um condutímetro (*Digimed*, modelo DM-3, Brasil). A sonda utilizada (*Digimed*, modelo DMC-010M, Brasil) é indicada para utilização da faixa de 0 a 20 mS·cm⁻¹ e foi calibrada com solução padrão fornecida pelo fabricante de condutividade elétrica igual a 1412 mS·cm⁻¹. Aproximadamente 3 mL de polpa foram inseridos em tubos de ensaio. Os tubos foram colocados em um banho termostático (*Lauda*, modelo TYP T, Alemanha) onde as amostras foram aquecidas até as temperaturas de análise. Os experimentos foram realizados em triplicata para as temperaturas e os teores totais de sólidos da Tabela 2.3.

3.2.3 Calor Específico

Para determinação do calor específico foi utilizado o método de mistura aplicado por Souza (2008), que combinou os métodos desenvolvidos por Hwang e Hayakawa (1979) e Moura (2003). No experimento foi utilizada uma garrafa térmica como calorímetro e esta foi imersa em um banho com agitação (Figura 3.2). Foi inserido no centro geométrico da garrafa um termopar tipo T, previamente calibrado, para medição da temperatura da água. O termopar foi conectado a um sistema de aquisição de dados (Novus, modelo Field Logger, Brasil) conectado a um computador e foram adquiridos valores de temperatura a cada 5 s. O calorímetro foi validado utilizando água e os valores comparados com os de literatura apresentaram erro em torno de 1 %. Este aparato experimental é explicado em detalhe por Souza (2008).

Para preparação das amostras, cerca de 100 g de polpa foram inseridas em sacos de polietileno de baixa densidade (PEBD) com 3 cm de largura, 15 cm de comprimento e massa de 0,29 g; a Figura 3.3 mostra uma fotografia de um saco pronto para inserção no calorímetro. A amostra embalada foi ambientada em uma câmara de refrigeração, a temperaturas que variaram de 4 à 10 °C, por 24 h antes de cada análise.



Figura 3.2 – Fotografia do calorímetro imerso em banho com agitação.



Figura 3.3 – Fotografia do saco de PEBD contendo polpa de mirtilo.

Na condução do experimento, aproximadamente 300 g de água a 95 °C foram colocadas no calorímetro, previamente seco, e este foi vedado com uma rolha de silicone. O aparato devidamente fechado foi posicionado em um banho termostático com agitação mecânica por aproximadamente 30 min e a temperatura foi monitorada desde o início do experimento. Este tempo foi determinado com base nos métodos de Hwang e Hayakawa (1979) e Moura et al. (2003) para que a água entrasse em quase equilíbrio e a perda de calor para o ambiente se tornasse constante.

A amostra foi retirada da câmara de refrigeração, pesada e, rapidamente, inserida no calorímetro, que foi fechado, permanecendo sob agitação por mais 2 h. A temperatura com a qual a amostra foi inserida no calorímetro (T_{0a}) foi determinada colocando outro saco de PEBD com iguais proporções e massa de amostra na câmara de refrigeração e medindo sua temperatura, sendo que para esta medida foi utilizado um termômetro de mercúrio com precisão de 0,1 °C. As análises foram realizadas em triplicata.

O cálculo do calor específico das amostras foi realizado usando a Equação 3.5 e, para a determinação do H_k , o experimento foi realizado repetidamente utilizando água destilada

como amostra. O valor encontrado para C_p é válido para a temperatura média entre a temperatura da água colocada no calorímetro e a da amostra inserida, sendo que este valor ficou em torno de 40 °C. A análise foi realizada inicialmente para a polpa com teor de sólidos totais de 16 %, por ser a polpa com menor quantidade de água e, conseqüentemente, a que, se espera, tenha valor de calor específico mais distante do da água.

3.2.4 Difusividade Térmica

A determinação da difusividade térmica foi obtida através da solução analítica da equação da transferência de calor em estado transiente para um cilindro longo. O método é baseado no experimento realizado por Baïri, Laraqi e García De María (2007) e o aparato experimental utilizado é explicado detalhadamente por Souza (2008). O equipamento consiste em células cilíndricas de cobre, com diâmetro de 11 mm e comprimento de 105 mm, preenchidas com 10 g de amostra da qual quer se determinar a difusividade. No centro geométrico da parte interna da célula foi fixado, utilizando um fio de nylon, um termopar tipo T, previamente calibrado, e, nas extremidades, foram colocadas rolhas de silicone. As células, as rolhas de silicone e o termopar utilizado estão apresentados na Figura 3.4.

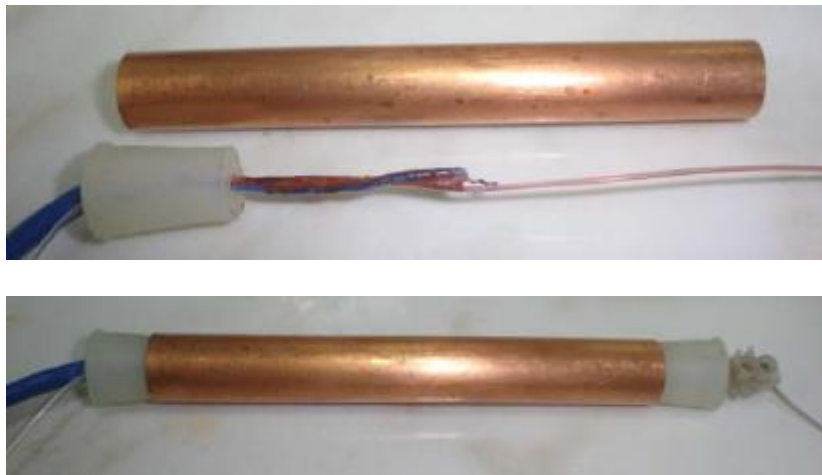


Figura 3.4 – Célula de cobre para determinação da difusividade; acima célula aberta, rolha de silicone, termopar e fio de nylon; abaixo célula fechada, com a amostra previamente inserida.

A amostra, já inserida na célula cilíndrica, foi colocada em um banho termostático de temperatura constante de modo que a temperatura externa não tivesse nenhuma variação, sendo que esta temperatura é a temperatura do início do experimento T_0 . Após o equilíbrio térmico, o cilindro foi transferido para um segundo banho termostático com temperatura

aproximadamente 30 °C maior que a do banho anterior. Neste, a amostra foi mantida até atingir a temperatura de equilíbrio T_e . A temperatura no interior da célula foi monitorada durante todo o experimento com o mesmo sistema de aquisição de dados utilizado na determinação do calor específico.

O aparato experimental foi validado através de experimentos realizados com água destilada adicionada de 0,3% de goma xantana, foram realizadas múltiplas repetições. Os cálculos foram realizados utilizando a solução analítica da equação de Fourier para a condução de calor em coordenadas cilíndricas em estado transiente. Conforme descrito na seção 3.1.4, foi utilizada a Equação 3.10 no cálculo da difusividade térmica. O valor obtido é válido para a temperatura média entre o banho inicial ($T_0 = 25$ °C) e o banho de aquecimento ($T_e = 55$ °C), que ficou em torno de 40 °C. Assim como na determinação do calor específico, a difusividade térmica foi determinada inicialmente para a polpa com 16 % de sólidos totais.

3.2.5 Condutividade Térmica

A condutividade térmica foi calculada a partir das demais propriedades utilizando a Equação 3.6. Esta propriedade foi determinada apenas para a temperatura de 40 °C visto que os valores de calor específico e difusividade térmica são conhecidos somente nesta temperatura.

3.2.6 Análise estatística aplicada à avaliação das propriedades termofísicas

Os dados obtidos para massa específica e condutividade elétrica foram analisados utilizando o *software* Statistica® versão 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, Estados Unidos). Foi realizada uma análise de regressão múltipla a fim de relacionar as variáveis estudadas (TST e Temperatura), obtendo equações ajustadas aos dados experimentais para a massa específica e a condutividade elétrica. O modelo foi estabelecido para um polinômio de segunda ordem completo (Equação 3.14) e foram avaliados modelos reduzidos, desconsiderando as variáveis não significativas, com grau de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$). Para todos os modelos analisados foi calculado o valor de F e verificado o melhor ajuste:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad (3.14)$$

onde y_i é a propriedade analisada, x_1 é o teor total de sólidos do produto em %, x_2 é a temperatura em °C e as letras β são os parâmetros a serem estimados pela análise. Os erros entre os valores experimentais e os preditos pelos modelos foram calculados usando a Equação 3.15.

$$E(\%) = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|y_{\text{exp}} - y_{\text{pred}}|}{y_{\text{exp}}} \quad (3.15)$$

onde E é o erro, n é o número de experimentos, y_{exp} é o valor experimental e y_{pred} é o valor predito pelo modelo.

Para comparação das demais propriedades (C_p , α e k) com as propriedades da água nas mesmas condições, foi realizado um teste “t”, utilizando, também, o *software* Statistica® versão 7.0 .

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Massa Específica

Os volumes dos picnômetros foram encontrados após a sua calibração e utilizados no cálculo da massa específica. Utilizando a Equação 3.13, foram obtidos os valores de massa específica do mirtilo para todos os teores de sólidos e temperaturas estudadas e estes valores estão mostrados na Tabela 3.1, que contém as médias das três repetições realizadas; a triplicata apresentou erro inferior a 5 % em todos os casos.

Tabela 3.1 – Valores médios de massa específica da polpa de mirtilo com diferentes teores de sólidos e em diferentes temperaturas.

<i>TST</i> (%)	4,00	5,76	10,00	14,24	16,00
Temperatura (°C)	Massa específica (g·mL ⁻¹)				
30	1,0142	1,0231	1,0333	1,0479	1,0501
40	1,0086	1,0180	1,0290	1,0437	1,0469
50	1,0038	1,0109	1,0238	1,0381	1,0438
60	0,9987	1,0029	1,0182	1,0297	1,0386
70	0,9902	0,9915	1,0051	1,0163	1,0171
80	0,9819	0,9799	0,9938	1,0032	1,0031

A partir dos dados obtidos e utilizando a análise estatística descrita no item 3.2.6, foi possível verificar que todos os parâmetros analisados foram significativos na massa específica da polpa de mirtilo, com exceção do efeito quadrático do teor de sólidos totais. Uma nova análise estatística foi realizada, excluindo esse parâmetro, a fim de se obter o modelo reduzido para a variação da massa específica com a temperatura e a concentração (Equação 3.16). A Tabela 3.2 apresenta a regressão linear múltipla do modelo reduzido para a massa específica, sendo que esta análise resultou em um coeficiente de determinação igual a 0,981 e F igual a 1113,4. O erro, calculado pela Equação 3.15, foi de 0,23 %.

$$\rho = 0,9895 + 7,240 \times 10^{-4} T + 3,8773 \times 10^{-3} TST - 1,2424 \times 10^{-5} T^2 - 1,8232 \times 10^{-5} T \cdot TST \quad (3.16)$$

Tabela 3.2 – Regressão linear múltipla para a massa específica.

	Beta	Desvio padrão de Beta	B	Desvio padrão de B	t(85)	Coefficiente-p
Interceção			0,989495	0,004008	246,8812	< 0,000001
T*	0,62134	0,117206	0,000724	0,000137	5,3013	0,000001
<i>TST</i> *	0,90533	0,050054	0,003877	0,000214	18,0871	< 0,000001
T ² *	-1,18315	0,112769	-0,000012	0,000001	-10,4918	< 0,000001
T x <i>TST</i> *	-0,29084	0,059379	-0,000018	0,000004	-4,8981	0,000005

*Com nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$).

A Figura 3.5 mostra a superfície de contorno desta análise estatística. Observa-se um aumento do teor de sólidos totais e uma diminuição quadrática da massa específica com o aumento da temperatura. Além disso, para uma melhor visualização da tendência das curvas,

a Figura 3.6 foi construída. Essa figura demonstra separadamente o comportamento da massa específica plotada *versus* a temperatura para teores de sólidos totais diferentes.

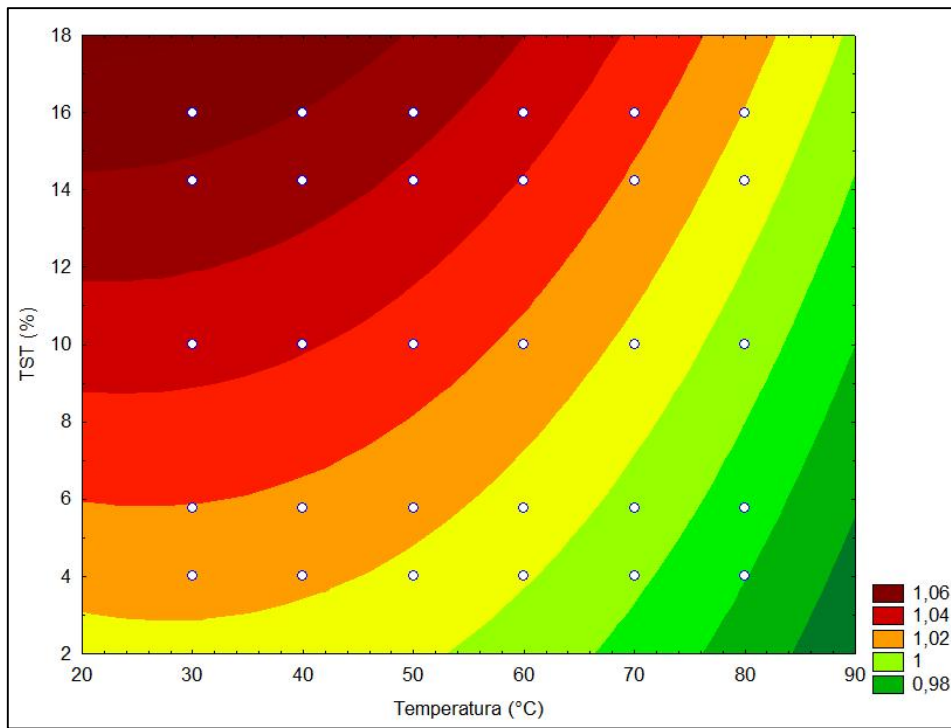


Figura 3.5 – Superfície de contorno para a massa específica em função do teor de sólidos totais e da temperatura.

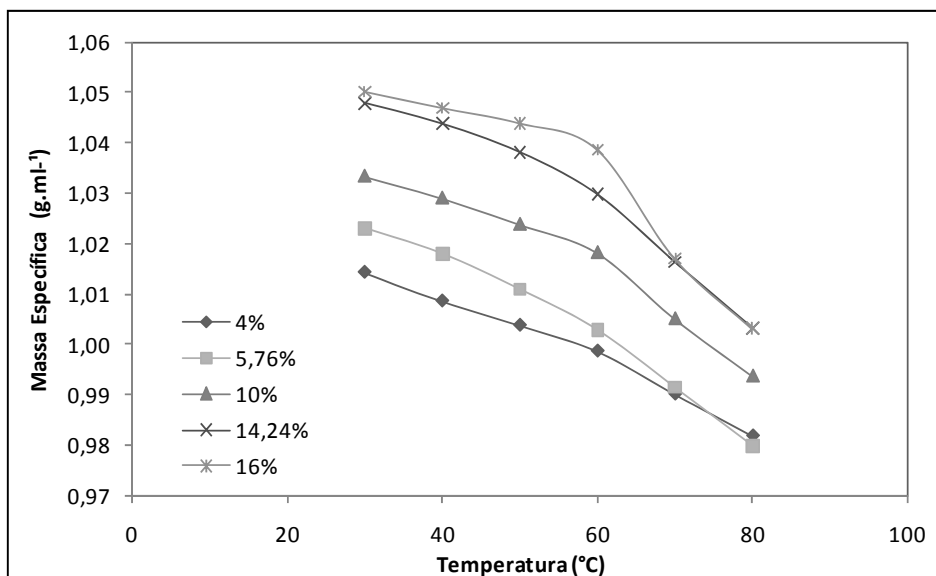


Figura 3.6 - Massa específica da polpa de mirtilo em função da temperatura para diferentes teores de sólidos totais.

Em todos os casos, a massa específica diminui com a temperatura; isso ocorre porque a energia fornecida ao sistema faz com que as moléculas vibrem mais rapidamente e fiquem

mais distantes umas das outras, fazendo com que ocorra uma expansão volumétrica. Da mesma forma, para todas as soluções analisadas, a massa específica aumentou com o aumento do teor de sólidos, o que pode ser explicado pelo fato dos sólidos contidos no produto apresentarem massa específica maior do que a da água.

O comportamento encontrado está de acordo com Azoubel *et al.* (2005), que estudaram a variação das propriedades físicas do suco de caju em função da concentração, Cepeda e Villarán (1999) que avaliaram a variação da massa específica do suco de *Malus floribunda* em relação ao °Brix do produto. No entanto, Zuritz *et al.* (2005) analisaram a massa específica do suco de uva em relação à temperatura e à concentração e verificaram um comportamento quadrático para ambos os parâmetros e não apenas para a temperatura, diferentemente do encontrado neste trabalho. O estudo que avaliou as propriedades físicas de ovos, realizado por Coimbra *et al.* (2006), por sua vez, encontrou uma variação linear da massa específica com ambas as propriedades estudadas, o que está de acordo com o estudo de Pereira *et al.* (2002) para a polpa de açaí e de Telis-Romero *et al.* (1998) para o suco de laranja. Modelos que não utilizam equações polinomiais foram propostos por Constenla *et al.* (1989) e Bon *et al.* (2010) para suco de maçã e polpa de manga, respectivamente.

Apesar de algumas correlações sugerirem uma variação linear da massa específica em função da temperatura, foi encontrada uma variação quadrática. O comportamento linear é esperado por ser o comportamento da água, que é o principal constituinte da polpa de mirtilo. A variação quadrática da massa específica pode ser explicada pela presença de bolhas de ar impregnadas na polpa, sendo que a desaeração do produto pode fazer com que este passe a ter um comportamento linear. Esta possibilidade foi confirmada por Souza (2008), que estudou as propriedades físicas de pequenos frutos, entre eles o mirtilo.

3.3.2 Condutividade Elétrica

Os valores de condutividade elétrica encontrados estão apresentados na Tabela 3.3; estes valores representam a média das três repetições realizadas em cada ponto, sendo que todas as triplicatas obtiveram erro inferior a 5 %.

Tabela 3.3 - Valores médios de condutividade elétrica da polpa de mirtilo com diferentes teores de sólidos e em diferentes temperaturas.

<i>TST</i> (%)	4,00	5,76	10,00	14,24	16,00
Temperatura (°C)	Condutividade elétrica (S·m ⁻¹)				
30	0,079	0,107	0,149	0,176	0,182
40	0,095	0,127	0,173	0,214	0,212
50	0,111	0,148	0,203	0,253	0,263
60	0,124	0,170	0,233	0,286	0,301
70	0,140	0,189	0,271	0,324	0,343
80	0,158	0,205	0,301	0,375	0,386

A partir dos dados da Tabela 3.3 foi realizada uma regressão linear múltipla, para se obter um modelo para a variação da condutividade elétrica com a temperatura e a concentração. Em uma primeira análise, apenas a influência linear da temperatura não foi significativa; no entanto, excluindo o efeito quadrático desta variável seu efeito linear se tornou significativo. Esta última hipótese representa melhor o comportamento da condutividade elétrica, o que pode ser confirmado, posteriormente, na Figura 3.8, e, portanto, a influência quadrática da temperatura foi retirada da análise. Os parâmetros para o modelo reduzido, desconsiderando a influência quadrática da temperatura são apresentados na Tabela 3.4. A Equação 3.17 representa esse modelo, que possui coeficiente de determinação de 0,997, F de 8618,6 e erro de 1,69 %.

$$\sigma = 0,1729 + 7,5079 \times 10^{-3} T + 0,1439 TST - 6,4398 \times 10^{-3} TST^2 + 2,1867 \times 10^{-3} T \cdot TST \quad (3.17)$$

Tabela 3.4 - Regressão linear múltipla para condutividade elétrica.

	Beta	Desvio padrão de Beta	B	Desvio padrão de B	t(85)	Coefficiente-p
Interceção			-0,172920	0,044105	-3,9206	0,000178
T*	0,154740	0,012765	0,007508	0,000619	12,1219	< 0,000001
<i>TST</i> *	0,806871	0,041302	0,143888	0,007365	19,5358	< 0,000001
<i>TST</i> ² *	-0,729788	0,037494	-0,006440	0,000331	-19,4643	< 0,000001
T x <i>TST</i> *	0,837755	0,021519	0,002187	0,000056	38,9313	< 0,000001

*Com nível de confiança de 95 % (p ≤ 0,05).

A Figura 3.7 mostra a superfície de contorno da condutividade elétrica, onde é possível observar um aumento linear desta variável com o aumento do teor de sólidos totais e uma diminuição quadrática da condutividade elétrica com o aumento da temperatura.

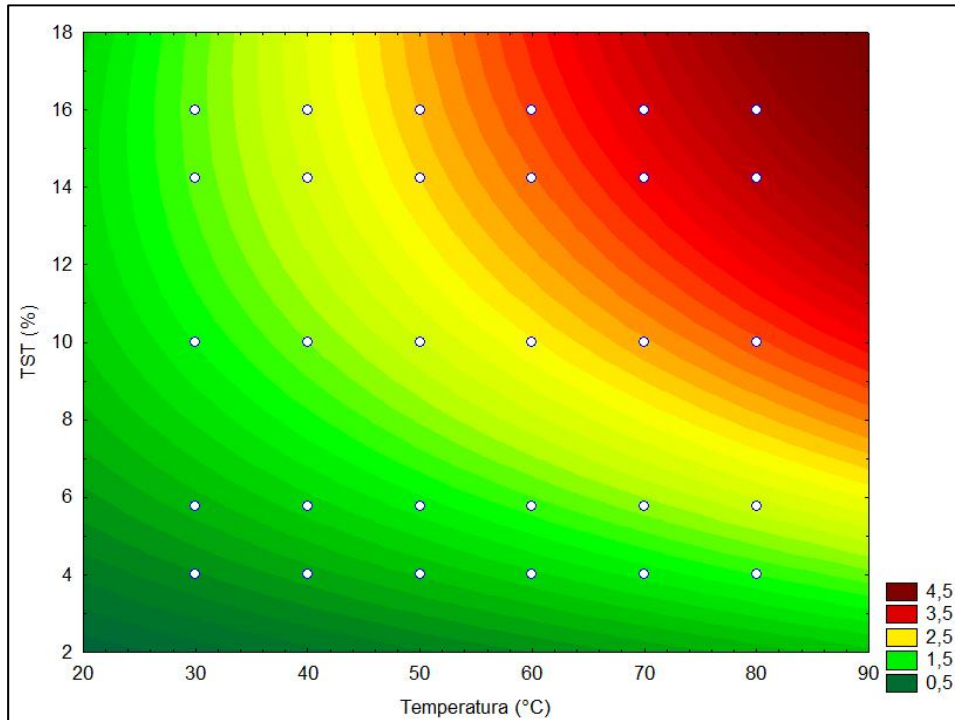


Figura 3.7 – Superfície de contorno para a condutividade elétrica em função do teor de sólidos totais e da temperatura.

A Figura 3.8 apresenta o comportamento da condutividade elétrica com a temperatura.

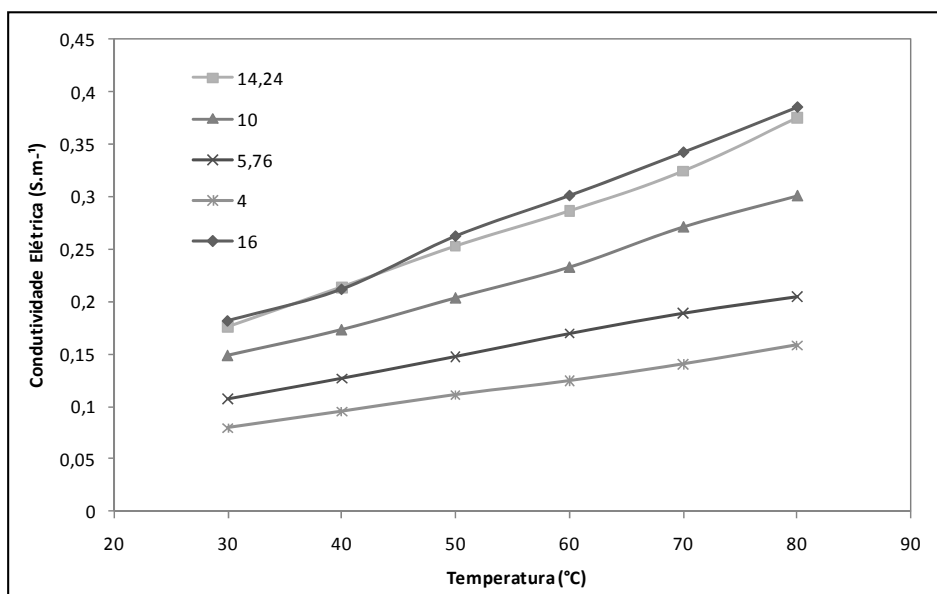


Figura 3.8 – Condutividade elétrica da polpa de mirtilo em função da temperatura.

De acordo com Palaniappan e Sastry (1991b), o aumento da condutividade elétrica com a temperatura pode ser explicado por uma menor resistência ao movimento dos íons. Em temperaturas mais altas, ocorrem mudanças estruturais nos tecidos como a quebra da parede celular, expulsão de bolhas de ar não condutivas, amolecimento dos tecidos e decréscimo da viscosidade da célula aquosa (Bean *et al.*, 1960; Sasson and Monselise, 1977 apud Sarang *et al.*, 2008). Neste caso, diferentemente da massa específica, a condutividade elétrica aumentou linearmente com a temperatura, porque as bolhas de ar contidas nas amostras foram liberadas espontaneamente para a atmosfera durante o aquecimento. Um comportamento linear, similar ao observado, foi encontrado em análises envolvendo o aquecimento ôhmico de sucos e de vegetais imersos em soluções salinas, onde a condutividade elétrica foi determinada através dos dados de tensão e corrente.

O aumento da condutividade elétrica com teor de sólidos, por sua vez, está relacionado com a maior concentração de espécies iônicas, facilitando a passagem de corrente elétrica. A diluição com água causa uma redução destes compostos no meio. İçier e Ilicali (2004) avaliaram o efeito do aquecimento ôhmico em sucos de maçã e *sourcherry* e concluíram que a condutividade elétrica é dependente da temperatura, da tensão aplicada e do teor de sólidos totais.

Moura *et al.* (1999) estudaram o comportamento dos sucos de tangerina, abacaxi e limão com diferentes temperaturas em diferentes concentrações. Em todos os casos, assim como para a polpa de mirtilo, o valor da condutividade elétrica aumentou com a temperatura. No entanto, a condutividade elétrica só aumentou com a concentração até um determinado valor, sendo que, para os valores mais altos, houve uma diminuição de σ . Os autores atribuem este comportamento ao aumento da viscosidade dos produtos que ocorre com o aumento da concentração, dificultando a mobilidade iônica e, assim, a passagem de corrente elétrica. Resultados semelhantes foram obtidos por Pelacani e Vieira (2003) para o suco de manga.

3.3.3 Calor Específico

Os experimentos iniciais, realizados com água, para determinar a capacidade calorífica do calorímetro e o calor específico da água foram satisfatórios. Nos cálculos foi utilizado o valor médio de H_k obtido, que foi de $124,51 \text{ J}^\circ\text{C}^{-1}$. Os experimentos para validar o

equipamento, determinando o calor específico da água, foram satisfatórios, sendo que o erro encontrado foi inferior a 1 %, validando o calorímetro construído.

As análises para a polpa de mirtilo foram realizadas em triplicata. O calor específico foi determinado inicialmente para a polpa com teor de sólidos totais de 16 % e foi encontrado um valor médio de $3720,9 \text{ Jkg}^{-1}\text{.}^{\circ}\text{C}^{-1}$. Um teste “t” foi realizado a fim de comparar o valor encontrado com o da água na mesma temperatura, $4178 \text{ Jkg}^{-1}\text{.}^{\circ}\text{C}^{-1}$, para verificar se existia diferença significativa, tendo sido constatado que os dois valores diferem significativamente. O calor específico da polpa de mirtilo com 14,24 % de sólidos totais foi determinado, obtendo-se um valor de $4050,4 \text{ Jkg}^{-1}\text{.}^{\circ}\text{C}^{-1}$. Este valor não diferiu significativamente do valor de C_p da água, com um grau de confiança de 95 %. A Tabela 3.5 mostra os valores de C_p obtidos experimentalmente.

Tabela 3.5 – Valores de C_p para as polpas de mirtilo com TST de 16 e 14,24 %.

<i>TST</i> 16 %		<i>TST</i> 14,24 %	
<i>T</i> (°C)	<i>C_p</i> (Jkg ⁻¹ .°C ⁻¹)	<i>T</i> (°C)	<i>C_p</i> (Jkg ⁻¹ .°C ⁻¹)
38,45	3774,6	38,28	4120,0
38,58	3805,3	38,09	4067,2
37,83	3582,8	37,98	3964,0
Média	3720,9	Média	4050,4
Erro (%)	3,24	Erro (%)	1,96

Dentre todos os componentes dos alimentos, como água, gorduras, proteínas, carboidratos e cinza, o calor específico da água é o mais alto. Por este motivo não foram analisados os valores de calor específico das polpas com TST abaixo de 14,24%. As demais diluições teriam um valor de C_p ainda mais próximo ao da água.

Estudos realizados com suco de goiaba (Zainal *et al.*, 2000), ovos (Coimbra *et al.*, 2006) e leite (Minim, Coimbra e Minim, 2002) demonstraram um aumento linear do calor específico com a temperatura e com o teor de água do produto. Souza (2008) determinou o calor específico para as polpas de mirtilo, framboesa, amora e morango e encontrou valores bastante similares aos obtidos no presente estudo e, conseqüentemente, ao valor do calor específico da água. O mesmo foi reportado para sucos de cupuaçu, açaí e graviola por Moura

et al. (1998), suco de laranja (Telis-Romero *et al.*, 1998), suco de maçã clarificado (Constenla, Lozano e Crapiste, 1989) e polpa de manga (Bon *et al.*, 2010).

3.3.4 Difusividade Térmica

Inicialmente, a difusividade térmica da água foi determinada para validação do sistema. Os valores experimentais, quando comparados com os da literatura, forneceram erros inferiores a 0,1 %, validando o aparato.

As análises de difusividade da polpa de mirtilo foram realizadas em quintuplicata. De maneira análoga a realizada para o calor específico, também os valores de difusividade térmica foram inicialmente determinados para a polpa com 16 % de TST. O valor médio de difusividade térmica obtido, para temperaturas em torno de 40 °C, foi de $1,47 \times 10^{-7} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Os resultados obtidos em cada experimento são apresentados na Tabela 3.6. A partir do teste “t” verificou-se que este valor diferiu significativamente da difusividade térmica da água e, então, foi determinado o experimento para a polpa com 14,24 % de sólidos. A difusividade térmica encontrada para esta polpa foi $1,51 \times 10^{-7} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, na temperatura de 40 °C e o teste “t” demonstrou que os valores de difusividade térmica da polpa e da água não possuem diferença significativa entre si com grau de confiança de 95 %. Por este motivo não foram determinadas as difusividades térmicas das demais diluições em estudo.

Tabela 3.6 – Valores de α para as polpas de mirtilo com TST de 16 e 14,24 %.

TST 16 %		TST 14,24 %	
T (°C)	$\alpha \times 10^7 \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	T (°C)	$\alpha \times 10^7 \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
40,07	1,50	39,99	1,49
39,96	1,43	40,39	1,49
40,04	1,49	40,36	1,53
39,90	1,45	39,74	1,54
40,24	1,50	39,87	1,51
Média	1,47	Média	1,51
Erro (%)	2,24	Erro (%)	1,82

A aproximação do valor de difusividade térmica das amostras ao valor da difusividade térmica da água demonstra um comportamento similar ao ocorrido com o calor específico, uma vez que a água é o componente das amostras que possui maior difusividade térmica. Azoubel *et al.* (2005) avaliaram a propriedade para o suco de caju com diferentes concentrações e observaram uma conduta similar, tendo a difusividade térmica aumentado linearmente com a diminuição da concentração, se aproximando do valor da água. Os valores encontrados para o mirtilo foram similares aos determinados por Souza (2008), que analisou este e outros frutos. Também estão na mesma faixa dos experimentos de Hayes (1984) para polpa de mamão e Moura *et al.* (1998) para cupuaçu, açaí e graviola.

3.3.5 Condutividade Térmica

Os valores de condutividade térmica encontrados foram $0,57 \text{ W m}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ e $0,64 \text{ W m}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ para as polpas com teores totais de sólidos de 16 e 14,24 %, respectivamente. Estes valores estão próximos aos relatados perviamente para o mirtilo e outros pequenos frutos (Souza, 2008) e para sucos de frutas tropicais (Moura *et al.*, 1998) e são válidos para temperaturas em torno de $40 \text{ }^\circ\text{C}$, devido às limitações na determinação do calor específico e da difusividade térmica.

O mesmo comportamento encontrado para a difusividade térmica e o calor específico foi reportado por Azoubel *et al.* (2005); o valor da condutividade térmica aumentou com aumento do teor de água, se aproximando ao valor da condutividade da água pura. Esta mesma variação foi observada para ovos (Coimbra *et al.*, 2006), suco de goiaba (Zainal *et al.*, 2000), leite (Minim, Coimbra e Minim, 2002) e suco de laranja (Telis-Romero *et al.*, 1998).

Na Tabela 3.7 é apresentado um resumo onde são demonstrados os valores obtidos para o calor específico, a difusividade térmica e a condutividade térmica da polpa de mirtilo, com teores de sólidos de 16 e 14,24 %, e da água; todos esses valores são referentes à temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Os índices “a” e “b” representam as diferenças significativas entre as amostras de acordo com os testes “t” realizados. Amostras com letras iguais demonstram valores que não diferem significativamente entre si, com 95 % de confiança.

Tabela 3.7 – Valores de C_p , α e k para as polpas com TST 16 e 14,24 % e para a água, na temperatura de 40 °C.

Propriedade	TST 16 %	TST 14,24 %	Água
C_p (J·kg ⁻¹ ·°C ⁻¹)	3720,9 ^a	4050,4 ^b	4178 ^b
$\alpha \times 10^7$ (m ² ·s ⁻¹)	1,47 ^a	1,51 ^b	1,53 ^b
k (W·m ⁻¹ ·°C ⁻¹)	0,57	0,64	0,63

^{a,b} Letras iguais representam amostras que não apresentaram diferença significativa entre si, de acordo com o teste “t” realizado (95 % de confiança).

3.4 Conclusões

Este capítulo teve como objetivo determinar as propriedades físicas da polpa de mirtilo com teores de sólidos totais, variando entre 4 e 16 %, e na faixa de temperatura entre 30 e 80 °C. Os resultados obtidos demonstraram uma variação da massa específica entre 0,98 e 1,05 kg·m⁻³ nas condições descritas. A massa específica apresentou comportamento quadrático em relação a temperatura e linear quanto aos teor de sólidos totais.

Para a condutividade elétrica, foram obtidos valores entre 0,79 e 3,86 mS·cm⁻¹. A temperatura exerceu um efeito linear sobre essa variável, enquanto que o teor de sólidos totais exerceu um efeito linear e quadrático. O calor específico a uma temperatura de aproximadamente 40 °C foi de 3720,9 e 4050,4 J·kg⁻¹·°C⁻¹ para as polpas com teor de sólidos totais de 16 e 14,24 %, respectivamente. Este último valor não diferiu significativamente do calor específico da água na mesma temperatura.

A polpa com teor total de sólidos de 16 % apresentou difusividade térmica de $1,47 \cdot 10^{-7}$ m²·s⁻¹ e condutividade térmica de 0,57 W·m⁻¹·°C⁻¹. Finalmente, a polpa com teor de sólidos de 14,24 % apresentou valores de difusividade e condutividade térmica de $1,51 \cdot 10^{-7}$ m²·s⁻¹ e 0,64 W·m⁻¹·°C⁻¹, respectivamente. Os valores obtidos para a polpa com teor de sólidos de 14 % para calor específico, difusividade e condutividade térmica não apresentaram diferença significativa dos valores tabelados para a água na mesma temperatura.

Capítulo 4 - Aquecimento Ôhmico

As diferentes tecnologias aplicadas ao processamento de alimentos causam modificações nas suas características organolépticas e nutricionais, algumas são desejadas enquanto outras devem ser minimizadas. A escolha da tecnologia e do grau de modificação do alimento associado a esta tecnologia dependem de uma série de fatores, tais como características do alimento *in natura*, condições de operação, tipo de produto desejado, nível de exigência do consumidor, custos de processo, geração de subprodutos e de efluentes. Portanto, a escolha da tecnologia deve levar em consideração estes fatores de tal forma a se obter um produto com as qualidades desejadas e com o menor custo. Neste capítulo serão apresentados os fundamentos teóricos do aquecimento ôhmico, bem como uma revisão bibliográfica desse assunto e dos processos térmicos convencionais. Também serão apresentados os procedimentos e os resultados obtidos na elaboração de um sistema de aquecimento ôhmico de bancada, capaz de pasteurizar alimentos. Por fim, será realizada uma análise dos efeitos dos aquecimentos ôhmico e convencional sobre as antocianinas presentes na polpa de mirtilo.

4.1 Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

O processamento térmico é de grande importância para a indústria de alimentos e tem sido a técnica mais comumente utilizada para conservação e cozimento de produtos, assim como para a inativação enzimática. Nos últimos anos, a indústria mundial de alimentos tem

aumentado a atenção em relação ao aquecimento ôhmico (AO) de alimentos bombeáveis, sendo que esse é um método bastante atrativo para o processamento contínuo dos mesmos.

As altas temperaturas aplicadas na indústria, visando eliminar micro-organismos, degradam nutrientes como vitaminas, aminoácidos e proteínas. Métodos térmicos convencionais levam à inativação das enzimas e à destruição de micro-organismos patogênicos e deteriorantes de maneira satisfatória. Entre as mudanças indesejáveis que esses processos podem causar estão as perdas de vitaminas e minerais, as alterações no sabor, no aroma, na textura e na aparência do produto.

Os métodos clássicos para evitar ou minimizar mudanças indesejáveis são os métodos HTST (*High Temperature Short Time*) e UHT (*Ultra High Temperature*), que utilizam altas temperaturas e curtos períodos de tempo. Estes métodos se baseiam no fato de que a inativação dos micro-organismos é mais sensível ao calor que os nutrientes e, desta forma são mantidos os fatores de qualidade. As altas temperaturas fazem com que os micro-organismos e enzimas sejam inativados, que são os objetivos da pasteurização ou esterilização, e os curtos períodos de tempo minimizam as mudanças indesejadas (Ramaswamy e Chen, 2002).

Uma desvantagem dos processamentos térmicos convencionais é a não uniformidade do aquecimento, limitando suas aplicações em alimentos contendo partículas sólidas. A transferência de calor ocorre essencialmente por condução, convecção e radiação, dessa forma, as partes do produto em contato com as superfícies quentes são aquecidas em excesso durante o tempo necessário para que o calor se transfira até o interior do alimento ou até o seu ponto mais frio. Muitas vezes, esse tipo de processamento não pode ser realizado pelos métodos convencionais. As limitações de transferência de calor levam a perdas na qualidade relacionadas ao superaquecimento das superfícies, fazendo com que seja colocado em questão o conceito tradicional de HTST e UHT (Ramaswamy e Chen, 2002).

O aquecimento ôhmico aparece como uma solução para esse problema porque, além de aquecer materiais de maneira rápida, esse aquecimento é uniforme, sendo essa a sua principal vantagem (Castro *et al.*, 2003). Esse método possui características únicas, com vantagens associadas às mesmas, causando um aumento no valor nutricional dos produtos aquecidos ôhmicamente (Ruan *et al.*, 2002). As principais características e vantagens do AO são listadas a seguir.

- Aquecimento volumétrico dos alimentos por geração interna de calor, sem as limitações ou as não uniformidades das trocas de calor convencionais.
- A temperatura das partículas pode ser igual ou maior que a dos líquidos, o que não é atingido pelo método convencional.
- Redução de queima do produto, resultando em um mínimo dano mecânico e melhor retenção de vitaminas e nutrientes.
- Alta eficiência energética, 90% da energia elétrica é convertida em calor (Ghnimi *et al.*, 2008).
- Fácil controle do processo, pois pode ser ligado e desligado instantaneamente.
- Se combinado com um sistema asséptico de embalagem, os produtos podem ser comercializados a temperatura ambiente.
- Sistema menos agressivo ao meio ambiente (Ruan *et al.*, 2002; Ghnimi *et al.*, 2008).

Entre as aplicações do aquecimento ôhmico na indústria de alimentos podem ser listadas o branqueamento, a evaporação, a desidratação, a pasteurização e a extração (FDA, 2000).

Atualmente, alimentos líquidos são majoritariamente processados utilizando trocadores de calor; no entanto, as indústrias de alimentos estão interessadas na extensão desta tecnologia para alimentos que contêm materiais particulados. Nos trocadores de calor a segurança do produto não pode ser facilmente garantida, pois as partículas suspensas nos fluidos possuem uma diferença de temperatura em relação à porção líquida. Além disso, conforme já mencionado, quando assegurada a segurança do produto por este processo, ocorrem danos à sua qualidade (Palaniappan e Sastry, 1991a). O aquecimento ôhmico garante os benefícios do processamento térmico convencional, preservação do alimento e segurança alimentar, e ainda oferece potencial para melhorias na retenção de vitaminas e nutrientes (Ruan *et al.*, 2002).

Os aspectos ambientais também devem ser levados em conta ao se avaliar um processo industrial. Diferentemente do aquecimento ôhmico, nos aquecimentos convencionais são utilizados vapor e água o que acarreta em um alto gasto energético e gera grandes quantidades de efluentes com alta demanda biológica de oxigênio (Ramaswamy e Chen, 2002; Goullieux e Pain, 2005).

4.1.1 Histórico do Desenvolvimento do Aquecimento Ôhmico

No século XIX, foram patenteados diversos processos utilizando corrente elétrica para aquecimento de materiais fluidizados. No início do século XX, a pasteurização elétrica do leite foi atingida através da passagem do produto entre placas paralelas com uma diferença de tensão entre as mesmas (Ruan *et al.*, 2001). Neste período, seis estados americanos possuíam pasteurizadores elétricos comerciais em operação (Sastry e Palaniappan, 1992b). Dentre os equipamentos patenteados nos Estados Unidos pode ser citado o equipamento projetado por McConnell e Olsson (1938), onde sanduíches contendo salsichas foram cozidos através da passagem de corrente elétrica por um determinado intervalo de tempo, e o de Schade (1951), que propôs um método de branqueamento para prevenir a descoloração enzimática de batata, utilizando aquecimento ôhmico.

Apesar destas tentativas, inicialmente, o aquecimento ôhmico fracassou. As razões para esse fracasso em escala industrial foram a ausência de materiais inertes para os eletrodos e a falta de equipamentos para controle, precisos suficientes para manter a temperatura na faixa necessária. Isso fez com que o processo não se tornasse atrativo para escala comercial. No entanto, nas duas últimas décadas, se tornaram disponíveis novos materiais e configurações (Ruan *et al.*, 2001), e os esterilizadores por aquecimento ôhmico tiveram seu custo reduzido em dez vezes entre 1993 e 2003 (Ghnimi *et al.*, 2008).

Nos anos oitenta, o *Electrical Council Research*, em Capenhurst no Reino Unido, registrou uma patente para um equipamento de aquecimento ôhmico contínuo e cedeu para *APV Baker Ltd.* a licença exclusiva para uso internacional. No mesmo país, a primeira unidade industrial foi utilizada em 1989 e em 1991 e a tecnologia foi comprovada ser capaz de estabilizar alimentos com baixo teor de acidez (Goullieux e Pain, 2005). Em 1992, um grupo de 25 parceiros da indústria (processadores de alimentos, produtores de equipamentos e fornecedores de ingrediente), academia (ciência de alimentos, engenharia, microbiologia e economia) e governo se formou para desenvolver produtos e avaliar a capacidade do sistema de aquecimento ôhmico.

Uma unidade em escala piloto, com capacidade de 5 kW, produzida por *APV Baker Ltd.* foi avaliada pelo grupo em Minnesota, nos Estados Unidos, de 1992 a 1994. Foram desenvolvidos diversos produtos com altos e baixos teores de acidez estáveis à temperatura

ambiente. Os produtos apresentaram textura, cor, sabor, aroma e retenção de nutrientes que se igualou ou excedeu a dos produtos processados tradicionalmente e o grupo concluiu que a tecnologia é viável. Em adição a esta avaliação, foi realizado um estudo econômico que mostrou que os custos operacionais do sistema foram comparáveis ao congelamento ou processamento em autoclave dos mesmos alimentos (Ohlsson e Bengtsson, 2002).

Atualmente, existem dois produtores comerciais de equipamentos para aquecimento ôhmico: APV Baker Ltd, do Reino Unido e Raztek Corp., dos Estados Unidos (Ohlsson e Bengtsson, 2002). O sistema de aquecimento ôhmico mais conhecido é a coluna da APV. Esse sistema foi instalado para pasteurização e esterilização de diversos alimentos, resultando em excelente qualidade (Ramaswamy e Chen, 2002). No mercado atual, está sendo comercializado um aquecedor ôhmico tubular com fluxo de até 5 ton·h⁻¹; mais de 28 instalações já foram vendidas na Europa (Ghnimi *et al.*, 2008).

O aquecimento ôhmico vem sendo utilizado para processamento de frutas inteiras no Japão e nos Estados Unidos (Sastry e Barach, 2000) e para produção de saladas de fruta adocicadas e sucos de fruta (Anônimo, 2002 apud İçier e Ilicali, 2005a). Existe, também, um interesse recente no uso de aquecimento ôhmico combinado com embalagens assépticas para processamento de alimentos contendo partículas, a fim de aumentar a vida de útil (Zoltai e Swearingen, 1996). Além disso, sistemas em escala piloto de produção de sucos de maçã e ginja (ou cereja ácida) por aquecimento ôhmico vêm sendo desenvolvidos com a finalidade de reduzir energia durante o processamento (Içier e Ilicali, 2004).

Outra aplicação que vem sendo estudada recentemente é o estudo da esterilização, via aquecimento ôhmico, de alimentos previamente embalados. O objetivo, além da obtenção de um produto de maior qualidade e com maior vida de útil, é o posterior uso da embalagem para esterilização de resíduos através do aquecimento ôhmico. Em missões espaciais de longa duração, o processamento de alimentos deve satisfazer uma série de condições, tais como: maximizar a segurança e a aceitação do produto e minimizar o tempo de processamento, o volume, a energia gasta e a água residual (Soojin e Sastry, 2005).

Embora esta tecnologia pareça ser simples e vantajosa, algumas dificuldades ainda são encontradas em sua aplicação; entre estas dificuldades podem ser citadas: as incrustações que se depositam próximo as paredes e aos eletrodos e a limpeza bastante frequente que precisa

ser realizada no equipamento (Ghnimi *et al.*, 2008). Além destes, segundo Ruan *et al.* (2002), os maiores desafios relacionados ao aquecimento ôhmico, atualmente, são:

- falta de técnicas para monitorar a temperatura, a fim de localizar os pontos mais quentes ou frios em sistemas contínuos;
- diferenças na condutividade elétrica e térmica de fases líquida e sólida e suas alterações com a variação de temperatura;
- falta de dados de fatores críticos que afetam o aquecimento (tempo de residência, orientação de partículas, condutividade elétrica, carga a ser utilizada, entre outros).

4.1.2 Princípios do Aquecimento Ôhmico

O aquecimento ôhmico pode ser definido como um processo no qual a corrente elétrica passa através dos alimentos com o propósito principal de aquecê-los. Neste aquecimento, a passagem de corrente elétrica alternada (CA) através do alimento transforma energia elétrica em térmica, promovendo, assim, um aumento de temperatura no interior do produto. Portanto, o aquecimento ôhmico pode ser considerado como uma tecnologia de geração de energia térmica e não somente de transferência de energia térmica.

No aquecimento ôhmico, o alimento atua como uma resistência, através da qual passa a corrente alternada. Como a maioria dos alimentos que necessita de processamento térmico contém constituintes iônicos (como ácidos e sais), é possível passar corrente elétrica através dos mesmos (Palaniappan e Sastry, 1991b).

Este método também pode ser chamado de aquecimento Joule, aquecimento eletrocondutivo, aquecimento por resistência, aquecimento por resistência direta, ou ainda, aquecimento elétrico direto. A Figura 4.1 mostra um diagrama esquemático simplificado de um equipamento de aquecimento ôhmico, onde é possível observar que a tensão é aplicada aos eletrodos, que estão nas duas extremidades do produto a ser aquecido.

A habilidade do aquecimento ôhmico em gerar calor diretamente dentro do alimento permite que a temperatura de alimentos sólidos aumente rapidamente, diferentemente dos processos térmicos convencionais, onde ocorre uma transferência predominantemente condutiva e, portanto, mais lenta (Goullieux e Pain, 2005). Em processamentos convencionais

de sistemas bifásicos, a transferência de energia depende da transferência de calor na interface entre um sólido e um líquido ou no interior do sólido. Nesse tipo de aquecimento, a geração de calor (Q) é nula. No entanto, no caso de técnicas que utilizam aquecimento volumétrico, como o aquecimento ôhmico, o calor gerado é a força motriz da transferência de calor (Nicolai, Verboven e Scheerlinck, 2001).

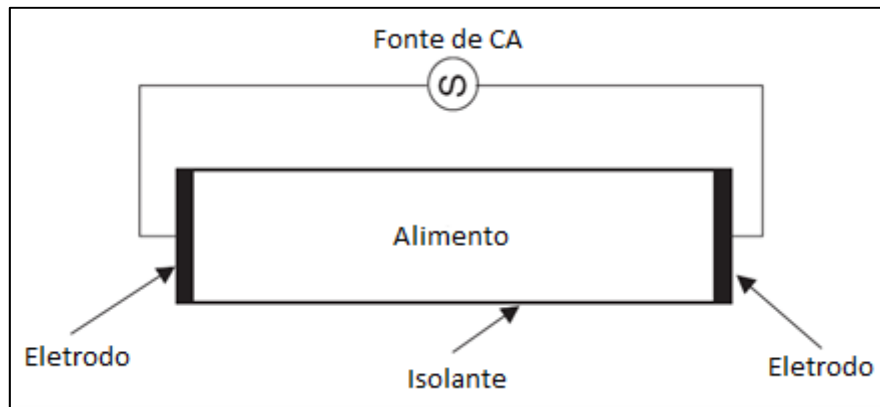


Figura 4.1– Diagrama esquemático de um aquecedor ôhmico. Fonte: Ruan et al.(2002).

Palaniappan e Sastry (1991b) descreveram resumidamente a formulação matemática do aquecimento ôhmico. O alimento é aquecido internamente devido à sua resistência elétrica, sem envolver nenhum meio de aquecimento ou superfície de troca de calor. Assumindo um material puramente resistivo, o princípio básico que governa a geração de calor é dado pela Equação 4.1:

$$Q = I^2 \cdot R \quad (4.1)$$

onde Q é a taxa de calor ou energia gerado [W], I a intensidade da corrente elétrica através da amostra [A] e R a resistência elétrica da amostra [Ω]. A resistência da amostra é inversamente proporcional a sua condutividade elétrica e pode ser expressa por:

$$R = \frac{L}{A \cdot \sigma} \quad (4.2)$$

onde L [m] é o espaço entre os eletrodos ou o comprimento da amostra, A é a área dos eletrodos ou da seção transversal da amostra [m^2] e σ a condutividade elétrica do produto a ser aquecido [$S \cdot m^{-1}$].

A quantidade de calor gerado esta diretamente relacionada com a corrente induzida pelo gradiente de tensão no campo e a condutividade elétrica do material sendo aquecido (Sastry e Li, 1996 apud Icier e Ilicali, 2005b); por esse motivo, sua determinação é fundamental para o projeto. Além disso, as taxas de aquecimento dos alimentos sob aquecimento ôhmico devem ser conhecidas para que o processo possa ser elaborado de maneira correta, assegurando que o objetivo desejado seja alcançado (Palaniappan e Sastry, 1991b).

A taxa que aquecimento é diretamente proporcional ao quadrado da força do campo elétrico e à condutividade elétrica. A força do campo elétrico pode ser controlada através do ajuste da distância entre eletrodos ou da tensão aplicada; a condutividade elétrica dos alimentos, por sua vez, varia imensamente e será abordada na seção seguinte. Esta taxa pode ser de aproximadamente 1°C por segundo e pode ser atingida tanto nos líquidos, quanto nos sólidos, desde que tenham a mesma condutividade elétrica. Para a fase sólida isto é muito mais rápido do que o atingido pela transferência convectiva tradicional a partir de um líquido aquecido, mesmo com um coeficiente de transferência infinito (Lima *et al.*, 1999; Lewis e Heppell, 2000).

O aquecimento ôhmico permite, em determinadas circunstâncias, que partículas sólidas maiores e o fluido na qual estão imersas sejam aquecidos a taxas similares. Essa técnica torna possível o processamento HTST e UHT de alimentos sólidos ou com sólidos em suspensão, melhorando a qualidade do produto final (Imai *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 1996; Castro *et al.*, 2003; Tucker, 2004).

O processamento via aquecimento ôhmico permite que materiais aqueçam extremamente rápido, variando de poucos segundos a poucos minutos (Sastry, 2005 apud Knirsch *et al.*, 2010). No entanto, é importante que existam especificações do produto a ser processado e que sejam definidos os seus aspectos físicos e químicos, sendo esses aspectos fundamentais na determinação do tratamento a ser realizado. Fatores críticos podem incluir: tamanho e formato da partícula, viscosidade do líquido (nas diferentes temperaturas), pH, calor específico, condutividade térmica, razão de sólidos e líquidos e condutividade elétrica (Ruan *et al.*, 2002).

4.1.3 Parâmetros Críticos de Processo

Nesta seção serão abordados três parâmetros críticos do processo via aquecimento ôhmico, a condutividade elétrica, a temperatura e a taxa de aquecimento.

Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica é uma propriedade característica de cada alimento que determina o quão rápido este alimento transmite a corrente elétrica. Diversos fatores influenciam a condutividade elétrica e devem ser considerados no estudo do aquecimento ôhmico. Esses fatores são: temperatura, constituintes iônicos, viscosidade e microestrutura do material e força do campo, entre outros (Sastry e Palaniappan, 1992b). Além disso, na maioria dos casos, para uma partícula vegetal sólida, a condutividade elétrica é mais baixa se comparada aos líquidos (Zoltai e Swearingen, 1996). Também foi constatado por Halden, De Alwis e Fryer (1990) que as mudanças que ocorrem nos alimentos durante o aquecimento podem afetar a sua condutividade elétrica, como derretimento de gorduras, transição vítrea do amido e mudanças estruturais na célula.

A determinação do histórico e da localização do ponto mais frio de um processo de aquecimento ôhmico requer atenção especial. Os conhecimentos atuais, baseados no aquecimento convencional, não devem ser assumidos sem uma avaliação criteriosa (FDA, 2000). A condutividade elétrica é considerada um parâmetro crítico para estabelecer a taxa de aquecimento e conhecer o seu comportamento é fundamental para aplicar o aquecimento ôhmico com sucesso.

A condutividade elétrica (σ) do alimento, e a sua dependência com a temperatura, são os principais fatores influenciando o aquecimento ôhmico. A condutividade elétrica aumenta com o aumento de temperatura, devido à redução da resistência ao movimento dos íons condutores de corrente (Palaniappan e Sastry, 1991b). O aumento da condutividade elétrica (σ) com a temperatura sugere que o aquecimento ôhmico se torna mais efetivo em temperaturas mais altas (Ruan *et al.*, 2001; Goullieux e Pain, 2005). Esse comportamento é frequentemente considerado linear e pode ser representado pela Equação 4.3.

$$\sigma = \sigma_0[1 + \gamma(T - T_0)] \quad (4.3)$$

onde σ_0 é a condutividade elétrica [$S \cdot m^{-1}$] na temperatura inicial do aquecimento T_0 , e γ é uma constante de proporcionalidade [$^{\circ}C^{-1}$].

A composição dos alimentos é bastante complexa e envolve componentes iônicos condutores, assim como isolantes de corrente elétrica. Dentre os isolantes estão lipídios, produtos cristalizados e gases. As interações entre partículas com diferentes condutividades elétricas são responsáveis pelas heterogeneidades ocorrentes na temperatura de uma mistura, o que se observa principalmente nos sistemas em batelada (Davies, Kemp e Fryer, 1999). Se o produto tem mais de uma fase, como no caso de uma mistura de líquido e partículas sólidas, as condutividades elétricas de todas as fases devem ser consideradas, podendo ser igualadas através da adição de compostos iônicos (Ruan *et al.*, 2001). As diferentes condutividades elétricas geram um perfil de temperaturas complexo no interior do aquecedor ôhmico, o que será abordado a seguir.

Temperatura e Taxa de Aquecimento

Sendo o aquecimento ôhmico um processo térmico, tempo e temperatura são fatores críticos para o processamento (FDA, 2000). Assim como nos demais processos térmicos, no aquecimento por resistência é importante a obtenção de informações no histórico tempo *versus* temperatura do ponto mais frio do produto que está sendo submetido ao aquecimento ôhmico (Ruan *et al.*, 2001). O tratamento térmico deve ser eficiente, atingindo seu objetivo através da inativação de micro-organismos patogênicos ou enzimas (FDA, 2000).

Além da condutividade elétrica, outros fatores podem afetar a distribuição de temperatura em um sistema de aquecimento ôhmico, tais como a massa específica e o calor específico do alimento. Quando esses parâmetros apresentam valores elevados, conduzem a um aquecimento mais lento. Além disso, em casos em que o alimento é heterogêneo, a condutividade térmica do produto pode afetar o perfil de temperaturas (FDA, 2000).

Diversos estudos avaliaram o caso mais crítico para a distribuição de temperaturas em um aquecedor ôhmico (De Alwis e Fryer, 1990; Sastry e Palaniappan, 1992a; Sastry, 1992; Sastry e Salengke, 1998). Todos os trabalhos apontaram que esse caso se dá quando existem no sistema uma ou mais partículas com condutividade elétrica muito diferentes do meio fluido no qual se encontram. A taxa de aquecimento em situações desse tipo depende não só da

distribuição da condutividade elétrica, como do tamanho e da orientação da partícula e, principalmente, do regime de escoamento envolvendo a partícula (Salengke e Sastry, 2007).

Salengke e Sastry (2007) avaliaram o caso mais crítico em diferentes configurações. Foram avaliados dois regimes de escoamento, um envolvendo um fluido estático ao redor da partícula e outro um fluido agitado envolta da mesma. Duas situações foram investigadas: uma na qual a partícula era menos condutiva que o meio e outra na qual a partícula possuía condutividade elétrica superior a do meio. Os resultados desse estudo serão abordados a seguir, por serem bastante importantes na construção de um sistema de aquecimento ôhmico adequado e na discussão dos diferentes perfis de temperatura observados.

Nos casos em que a partícula possuía condutividade elétrica inferior a do meio, foi observado que a temperatura da partícula ficou bastante defasada em relação à temperatura do fluido, para os dois regimes de escoamento. Além da diferença na condutividade elétrica, o tamanho e a orientação da partícula também tiveram papel importante, fazendo com que a corrente elétrica desviasse da partícula e fosse canalizada para o meio mais condutivo (Salengke e Sastry, 2007). Esses resultados estão de acordo com o observado por De Alwis e Fryer (1990) e Sastry e Palaniappan (1992a).

Ainda no caso da partícula ser menos condutiva eletricamente, a agitação, conforme esperado, implicou em uma temperatura mais uniforme da fase líquida. Não foram observadas regiões extremamente quentes, resultando em temperaturas moderadas do fluido. No regime estático, por outro lado, houve um sobreaquecimento no líquido localizado em torno da partícula, devido à divergência da corrente em direção ao meio mais condutivo. Isso fez com que a diferença de temperatura entre o sólido e o líquido fosse maior no sistema agitado. De acordo com os resultados é possível concluir que, apesar de ser empregada a convecção no sistema agitado, sua ação é limitada. A presença de uma região de sobreaquecimento ao redor da partícula gerou uma força motriz maior para a condução de calor para o interior do sólido, devido à existência de uma diferença maior de temperatura (Salengke e Sastry, 2007); esse comportamento também foi observado por Sastry (1992) em seus estudos.

Nos casos em que a partícula possuía maior condutividade elétrica em relação ao meio, os pontos de menor temperatura ocorreram no fluido, especificamente nas zonas paralelas à partícula. O pior caso, maior delta de temperatura, ocorreu no experimento com

agitação para partículas pequenas e no experimento estático para partículas maiores. Com partículas menores, se observa que a taxa de transferência de calor é superior no regime estático, se comparado ao regime agitado. No caso de partículas maiores, é provável que a maior parte da corrente tenha passado pela partícula, sendo apenas uma quantidade muito pequena de corrente circulada no fluido ao redor da mesma (Salengke e Sastry, 2007).

4.1.4 Configurações e Equipamentos

O aquecimento ôhmico pode ser realizado utilizando três diferentes configurações: batelada, na qual o processo é realizado de forma descontínua; transversal, na qual o fluxo de produto é paralelo aos eletrodos e perpendicular ao campo elétrico; e colinear, na qual o fluxo de alimentos é realizado de um eletrodo para o outro, paralelamente ao campo elétrico (Goullieux e Pain, 2005). Essas configurações são apresentadas de modo esquemático na Figura 4.2.

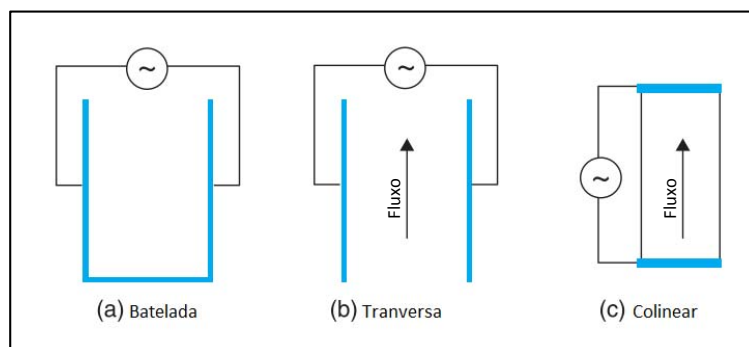


Figura 4.2 – Configurações do processo de AO: (a) batelada, (b) transversal e (c) colinear. Fonte: Goullieux e Pain (2005).

A configuração em batelada, ou aquecedor estático, tem sido amplamente utilizada para observações e validações de modelos envolvendo o comportamento de diferentes amostras, ajuste e determinação de parâmetros elétricos e simulações de processos industriais como pasteurização e esterilização. Esse tipo de aquecedor permite a determinação dos parâmetros fundamentais para o aquecimento, como a condutividade elétrica da amostra, o tempo de aquecimento e a homogeneidade durante o processo, sendo uma boa ferramenta para aplicação em escala de laboratório (Goullieux e Pain, 2005).

No sistema licenciado para *APV Baker*, para uma unidade industrial contínua de processamento por aquecimento ôhmico, o produto viscoso é bombeado através de uma série de eletrodos, que formam uma coluna ôhmica, onde o produto é aquecido até a temperatura de processo. Após isto, o alimento entra em tubos para pasteurização ou esterilização, onde é mantido na mesma temperatura até que o tempo de processo se complete, e, em seguida, passa por uma tubulação onde é resfriado até a temperatura de armazenamento (Ruan *et al.*, 2001). Um esquema representando este processo está apresentado na Figura 4.3.

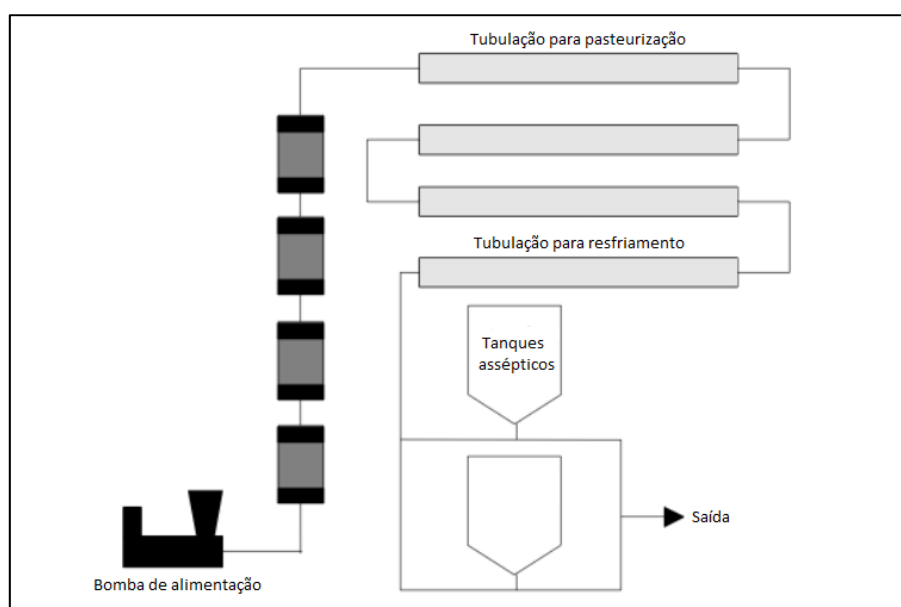


Figura 4.3 – Esquema de processamento via aquecimento ôhmico de fluxo contínuo. Fonte: Ruan *et al.* (2001).

No processamento de alimentos, o material utilizado nos eletrodos deve ser considerado com cuidado, devido à alta possibilidade de contaminação através da dissolução de metais. Nas tecnologias recentes, são utilizados materiais inertes, eliminado esse problema. Uma alternativa é o uso de altas frequências, pois quando estas ultrapassam 100 kHz não há dissolução metálica (Ruan *et al.*, 2001).

Conforme abordado anteriormente, o conhecimento do perfil de temperaturas é um fator crítico no aquecimento por resistência. Uma técnica que não seja destrutiva ou invasiva e consiga monitorar a distribuição espacial da temperatura é de fundamental importância para o entendimento e controle do aquecimento ôhmico. Entretanto, assim como nos demais processos, assume-se que a agitação de um sistema contínuo minimiza as variações no perfil de temperatura (Ruan *et al.*, 2001).

Instrumentos como termopares e fibra ótica são aparentemente invasivas, podendo afetar o processo, quando usadas em sistemas de aquecimento ôhmico, além de monitorarem a temperatura apenas em pontos específicos. O método de imagem por ressonância magnética aparece como uma alternativa para mapear a temperatura e solucionar esse problema. Outras metodologias têm sido estudadas, tais como a frequência de ressonância de prótons, o uso de marcadores químicos e de cristais líquidos sensíveis à temperatura (Ruan *et al.*, 2001; Ruan *et al.*, 2002).

4.2 Tratamentos Térmicos em Sucos e Polpas de Fruta

Para validação de um processo de aquecimento ôhmico, assim como para qualquer processamento térmico, é recomendado que a validação seja feita para cada alimento a fim de estabelecer o correto binômio tempo-temperatura e fornecer um produto seguro e estável. O tempo mínimo de residência de um produto deve ser determinado experimentalmente e deve sempre exceder o tempo estipulado pela legislação. Atualmente, não existe um binômio específico determinado pela legislação para sucos e polpas e as condições utilizadas na indústria não são frequentemente reveladas.

Tratamentos térmicos envolvendo temperaturas abaixo de 100°C são utilizados em produtos ácidos como sucos e bebidas a base de frutas. O principal objetivo da pasteurização nestes produtos é a inativação de fungos e leveduras e enzimas termorresistentes. Bactérias não são capazes de crescer em meios ácidos como o dos produtos a base de frutas. No entanto, as enzimas podem causar problemas como: escurecimento, turbidez, perdas na cor, no sabor e no valor nutritivo do alimento durante o processamento e a armazenagem (Lewis e Heppell, 2000; İçier, Yildiz e Baysal, 2006).

As fenoloxidasas são responsáveis pelo escurecimento enzimático nos alimentos. A polifenoloxidase, presente em frutas e vegetais exibe pH ótimo entre 4,0 e 7,0 e temperatura ótima entre 30 e 50 °C, mas sua estabilidade ainda é bastante alta e com meia-vida longa entre 55 e 80 °C, dependendo da fonte das enzimas. A peroxidase geralmente apresenta pH ótimo entre 4,0 e 6,0 mas, essa faixa pode variar. Além disso, esta enzima é uma das mais resistentes ao calor, quando presente em tecidos vegetais, o que a torna amplamente utilizada para

indicar a efetividade de um processo de branqueamento. Em geral, esta enzima tem sua temperatura ótima entre 40 e 55 °C e, devido à alta estabilidade térmica, podem ser necessários diversos minutos entre 80 e 100 °C (Fennema, 2010).

Em produtos ricos em antocianinas, como o mirtilo, as a enzimas devem ser levadas em consideração, pois possuem efeito considerável sobre esses pigmentos, conforme discutido no Capítulo 2. Fennema (2010) sugere que um tratamento térmico com tempo entre 45 e 60 s e temperatura entre 90 e 100 °C consegue inativar as principais enzimas relacionadas à destruição de antocianinas, a glicosidase e a polifenoloxidase.

4.3 Materiais e Métodos

Esta seção está dividida em três partes: primeiramente, é descrito em detalhes o sistema de aquecimento ôhmico utilizado em todos os experimentos, assim como os testes realizados para a validação das três células ôhmicas construídas; a seguir, são apresentadas as análises efetuadas com cada uma das células, a fim de elucidar o processo de construção de um aparato próprio para pasteurização; por fim, são descritos os experimentos de pasteurização da polpa de mirtilo e a análise estatística utilizada para discussão dos resultados.

4.3.1 Montagem e Adequação do Sistema de Aquecimento Ôhmico

Sistema de Aquecimento Ôhmico

O aparato experimental elaborado é composto por um sistema de fornecimento de energia, um sistema de aquisição de dados e uma célula ôhmica. O diagrama esquemático desse sistema pode ser visualizado na Figura 4.4. Cada componente do aparato está descrito em detalhes a seguir.

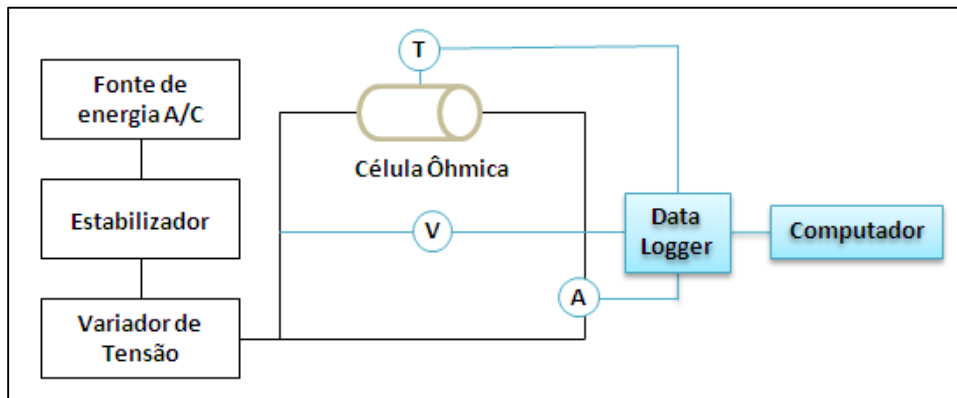


Figura 4.4 – Diagrama esquemático do sistema de aquecimento ôhmico.

Fonte de energia: o sistema para fornecimento de energia é composto por um estabilizador (*Forceline*, modelo EV 1000 T/2-2, Brasil), um variador de tensão, que pode ser ajustado em tensões entre 0 e 240 V (*Sociedade Técnica Paulista LTDA*, modelo Varivolt, Brasil) e um disjuntor (*Siemens*, Brasil). O estabilizador foi conectado à rede local, utilizando corrente alternada com frequência de 60 Hz.

Sistema de aquisição de dados: o sistema de aquisição de dados é responsável pelo monitoramento e registro de dados relativos à corrente elétrica, tensão e temperatura em função do tempo. Os dados foram coletados em intervalos de 0,6 s, utilizando um módulo de aquisição e registro (*Novus*, modelo Field logger, Brasil). Foi desenvolvido um programa para monitoramento e registro das variáveis; a interface gráfica do programa está demonstrada na Figura 4.5.

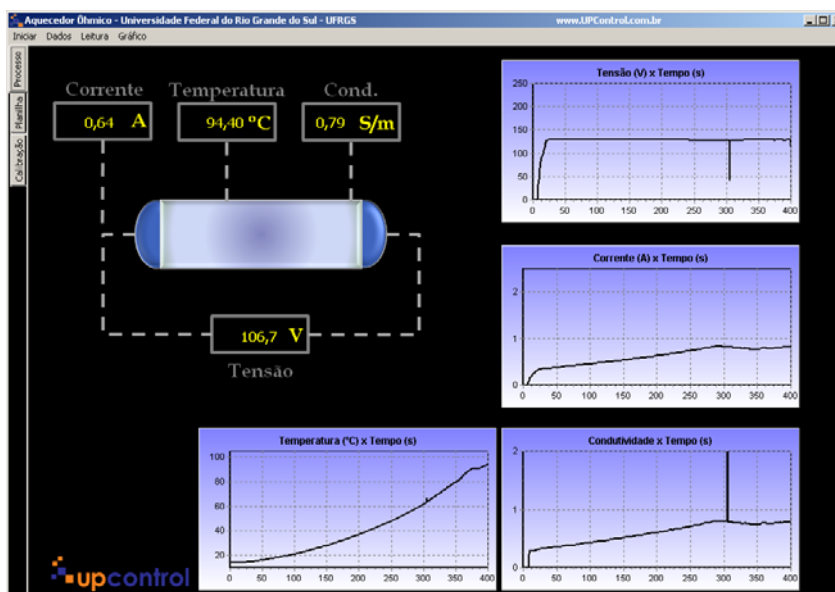


Figura 4.5 – Interface gráfica do software para aquisição de dados.

Para monitoramento da temperatura, foram utilizados medidores de temperatura do tipo Pt-100 (*Novus*, Brasil), previamente calibrados, com haste de aço inoxidável revestida com uma liga de níquel-fósforo a fim de evitar reações de corrosão. Para o monitoramento da tensão, foi utilizado um transdutor, de Tensão CA (*Yokogawa*, modelo 2374A-T13-VRX/AN, Taiwan), cujo sinal de entrada varia de 0 a 300 V. A corrente elétrica foi monitorada através de um transdutor de corrente CA, (*Yokogawa*, modelo 2374A-T13-ALS/NA, Taiwan) com sinal de entrada de 0 a 5 A. Estes equipamentos foram calibrados através da utilização de um multímetro (*Wavetek Meterman*, modelo 25XT, Taiwan) e um termômetro de mercúrio.

Célula ôhmica: durante este trabalho foram construídas e validadas três células ôhmicas diferentes. As características de cada célula, bem como os experimentos realizados utilizando as mesmas, serão apresentadas na seção 4.3.2. Todas as células foram construídas em vidro borossilicatado (Pyrex), que resiste a altas temperaturas, e os eletrodos utilizados foram de platina.

A partir deste sistema foi possível determinar a condutividade elétrica da polpa ao longo de todo o aquecimento. Através das medidas de corrente elétrica e tensão, realizadas pelo equipamento descrito, é possível calcular a condutividade elétrica das amostras aquecidas, de acordo com a Equação 4.4.

$$\sigma = \frac{L \cdot I}{A \cdot V} \quad (4.4)$$

onde:

σ = condutividade elétrica (S m^{-1})

L = espaço entre os eletrodos ou comprimento da amostra (m)

A = área da seção transversal da amostra (m^2)

I = corrente elétrica através da amostra (A)

V = tensão (V)

Experimentos de Validação

A validação do sistema de aquecimento ôhmico foi realizada através da comparação de resultados de condutividade elétrica obtidos utilizando, inicialmente, o aparato de aquecimento ôhmico e, posteriormente, um condutivímetro (*Digimed*, modelo DM-3, Brasil)

com eletrodo de mesma marca, modelo DMC-010M e $k=1 \text{ cm}^{-1}$. Para tanto, foram utilizadas, inicialmente, soluções salinas de NaCl em concentrações de 0,02 a 0,17 M e soluções de NaPO_4 com concentrações variando entre 0,03 e 0,25 M. Para cada concentração, foram elaboradas duas soluções em balões volumétricos, afim de se minimizar os erros nas diluições dos sais.

As soluções foram dispostas no interior da célula ôhmica e uma tensão de 140 V foi aplicada ao sistema. Os valores de condutividade elétrica de cada solução foram obtidos na temperatura de 25°C . Posteriormente, foram realizadas análises em condutivímetro, em duplicata para cada solução, na mesma temperatura, para fins comparativos.

Construção da Célula Ôhmica

Durante os experimentos foram elaboradas três células diferentes a fim de se obter o aparato ideal para pasteurização pelo processo de aquecimento ôhmico. Com base nos problemas encontrados em cada célula ôhmica, foram realizadas as melhorias nos equipamentos.

Célula Ôhmica #1

A célula #1, apresentada na Figura 4.6 (a), possui formato cilíndrico, com 8,5 cm de comprimento e 3,2 cm de diâmetro e, na sua parte, central há uma abertura para inserção do medidor de temperatura. Em suas extremidades, a célula possui eletrodos de platina, que estão conectados à fonte de energia. Anéis de vedação envolvem o eletrodo em uma tampa plástica resistente a altas temperaturas, como observado na Figura 4.6 (b).



(a)



(b)

Figura 4.6 – Fotografias da célula ôhmica #1. (a) vista geral e (b) vista dos eletrodos.

Com esta célula foram realizados experimentos de validação utilizando sais conforme descrito no item anterior. Além disso, para avaliar a aplicabilidade do processo em alimentos líquidos, a polpa de mirtilo, com teor de sólidos totais de 16 %, foi aquecida no aparato experimental até 80 °C, utilizando uma tensão de 140 V. Valores de condutividade elétrica foram obtidos em função da temperatura. Durante o aquecimento ôhmico, estes valores foram comparados com os obtidos utilizando o condutivímetro (apresentados no Capítulo 3), em intervalos de 10 °C.

Para os experimentos de validação com mirtilo, foram analisadas as polpas aeradas e desaeradas. A desaeração foi realizada em um sistema de desaeração a vácuo em escala de bancada. O sistema consiste em um frasco kitasato, vedado com uma rolha de silicone, contendo a polpa e ligado a uma bomba de vácuo (*Prismatec*, modelo 131, Brasil). A pressão reduzida imposta ao sistema, associada à agitação do frasco, promoveu a retirada das bolhas de ar do produto.

Foram realizados, ainda, experimentos para verificar as diferenças de temperatura no interior da célula. A variação foi avaliada utilizando um medidor de temperatura portátil (*Full Gauge*, modelo Penta III, Brasil), com extremidades flexíveis que foram inseridas através da abertura central e posicionadas no centro e na lateral da célula. Nesse experimento, foram utilizadas soluções salinas de NaCl em concentrações de 0,08 e 0,16 M. Foi fixada uma temperatura de referência, variando entre 20 e 90 °C e, quando o centro da célula atingiu o valor determinado de temperatura, foi realizada a medida na lateral.

Célula Ôhmica #2

A célula ôhmica #2, apresentada na Figura 4.7, possui diâmetro de 3 cm e comprimento de 3,8 cm. Os eletrodos são do mesmo diâmetro da célula e foram posicionados nas extremidades da mesma, sendo fixados com cola resistente a altas temperaturas. Aos eletrodos, foram conectadas barras de cobre que, por sua vez, estavam ligadas ao sistema a fim de conduzir a corrente elétrica até a célula. A célula possui duas aberturas na parte superior para inserção dos medidores de temperatura; uma das aberturas apresenta um aumento de volume para conter algum eventual transbordamento e, desta forma, manter sempre a mesma quantidade de amostra no interior da célula.



Figura 4.7 – Fotografia da célula ôhmica #2.

A célula #2 foi utilizada para realizar diferentes experimentos no intuito de elucidar o processo de formação de bolhas e avaliar a diferença de temperatura no interior da célula. Previamente à realização desses testes, o aparato foi validado utilizando sais da mesma forma que para a célula ôhmica #1.

Com a célula #2 também foram realizados experimentos envolvendo a desaeração da polpa, sendo que em todas as análises foi utilizada a amostra com teor de sólidos totais de 16 %. O processo foi realizado de duas maneiras diferentes. A polpa não desaerada (ND) foi colocada em um béquer e levada a um banho ultrassom (*Unique*, modelo Ultracleaner 1600A, Brasil), a temperatura ambiente, por 30 min e, a seguir, foi utilizado o sistema de desaeração a vácuo em escala de bancada descrito no item anterior; após esse processo, a polpa foi identificada como polpa U+B. Uma parcela dessa polpa foi aquecida em banho de água fervente por 30 min, sendo identificada como U+B+A. A Figura 4.8 apresenta um fluxograma simplificado do processo de desaeração. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

Posteriormente aos experimentos de desaeração, foram realizadas análises para verificar a diferença de temperatura no interior da célula. Para tal, foram posicionados dois medidores do tipo Pt-100 nos orifícios da células, ficando um deles próximo ao eletrodo e outro no centro, sendo possível, dessa forma, realizar um monitoramento constante da temperatura ao longo do aquecimento. Os experimentos foram realizados utilizando as polpas com teores de sólidos totais de 4, 10 e 16 % e nas tensões de 100 e 150 V. A fim de promover a agitação do sistema, foi utilizada uma mesa agitadora (*Biomixer*, modelo TS-2000A VDRL, Brasil) e, em todas as configurações, o experimento foi realizado com e sem agitação; os dados foram adquiridos entre 20 e 95 °C. A Figura 4.9 apresenta o sistema de agitação da célula.

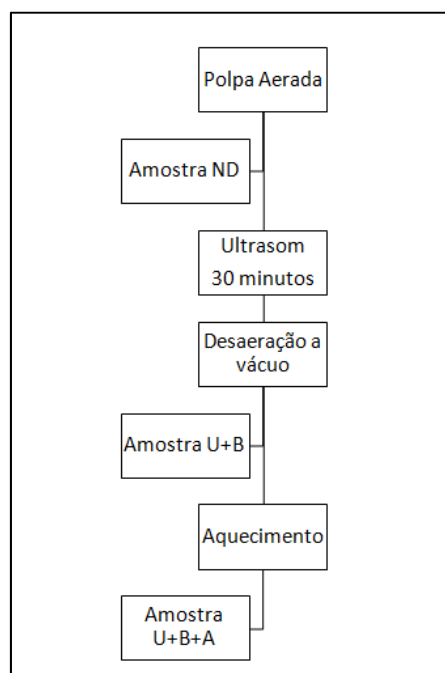


Figura 4.8 – Fluxograma simplificado do processo de desaeração da polpa de mirtilo.

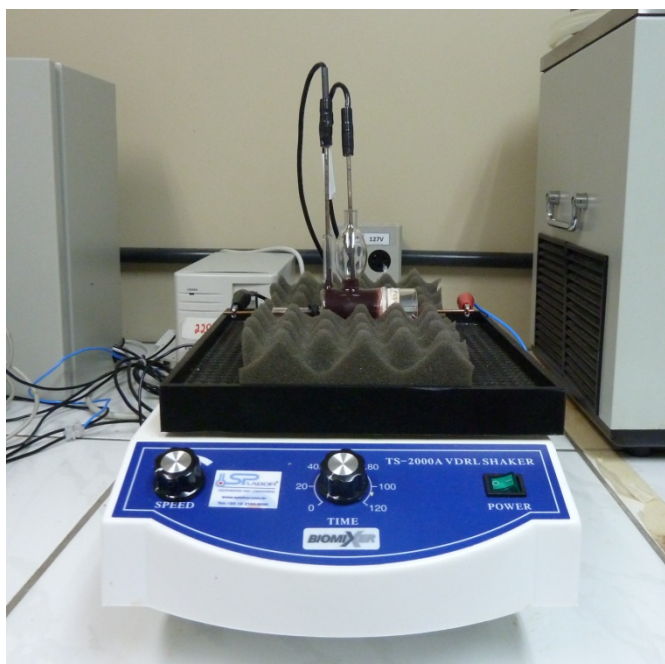


Figura 4.9 – Fotografia do sistema de agitação da célula #2 – mesa agitadora, medidores de temperatura e célula ôhmica #2.

Célula Ôhmica #3

A célula ôhmica #3 possui configuração diferente das demais, com diâmetro de 8 cm e altura total de 13,5 cm, incluindo o encamisamento; os eletrodos utilizados tem formato retangular com dimensões de 3x2,5 cm. A Figura 4.10 apresenta fotografias da célula (a) e

dos eletrodos (b). O material utilizado para elaboração dos eletrodos foi platina e esses foram conectados à haste de cobre que se conecta ao sistema de fornecimento de energia. Nesta célula, além dos medidores de temperatura, os eletrodos também são inseridos pela parte superior, através de uma tampa de borracha.

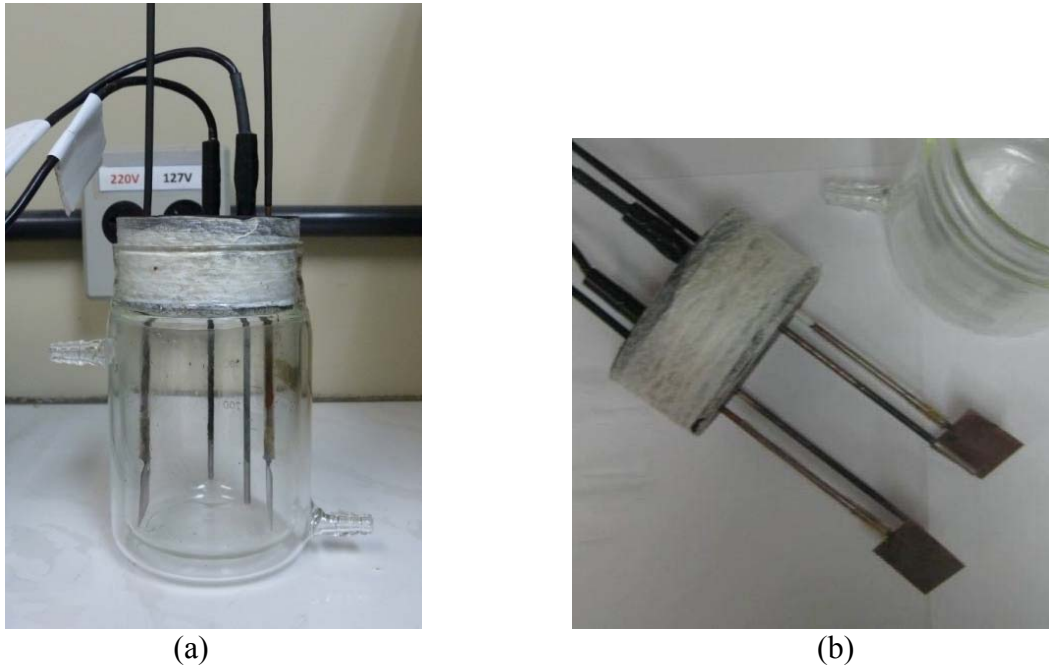


Figura 4.10 – Fotografias da célula ôhmica #3: (a) célula de vidro; (b) eletrodos de platina e sensores de temperatura.

Durante o aquecimento ôhmico, a célula foi posicionada sobre um agitador magnético (*Instrulab*, modelo ARE, Brasil) e a rotação foi definida de forma que toda a polpa inserida na célula fosse agitada. A célula ôhmica #3 foi conectada a um banho de resfriamento (*Lauda*, modelo RM 12, Alemanha) utilizando mangueiras, possibilitando, quando necessário, o imediato resfriamento do produto após o tratamento térmico. A Figura 4.11 apresenta o sistema completo, incluindo o sistema de aquecimento ôhmico e os aparatos para agitação e resfriamento.

A célula ôhmica #3 foi validada utilizando soluções de NaCl com diferentes concentrações. As diferenças de temperatura da célula foram monitorados realizando aquecimentos até 90 °C com tensão de 200 V e utilizando as polpas com teores de sólidos totais de 4, 10 e 16 %. Os testes foram realizados apenas no modo com agitação e a temperatura no interior da célula foi determinada em dois pontos.

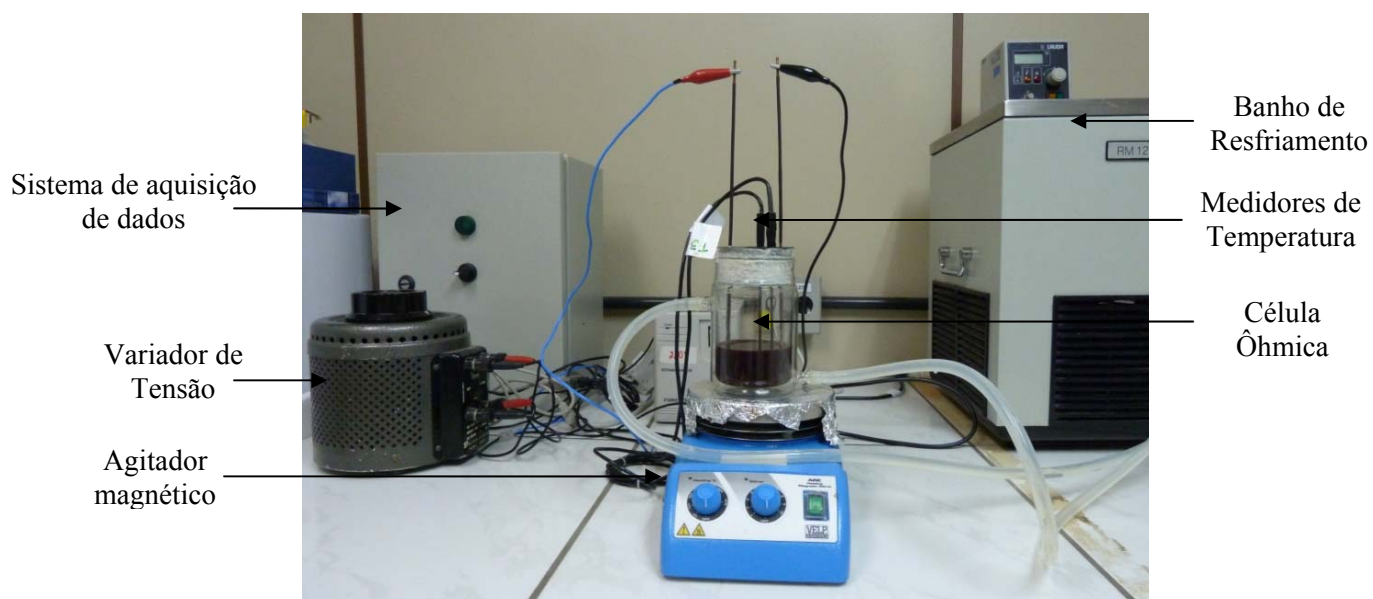


Figura 4.11 – Fotografia do sistema completo de aquecimento ôhmico com a célula ôhmica #3.

No esquema apresentado na Figura 4.12, observa-se o posicionamento dos medidores de temperatura e dos eletrodos no aparato.

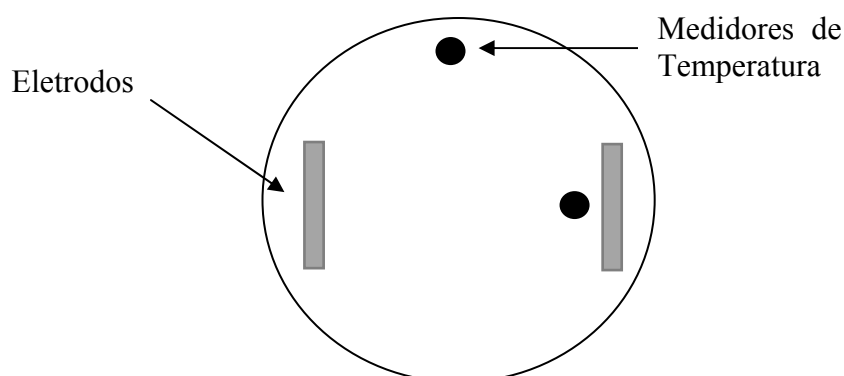


Figura 4.12 – Esquema demonstrando o posicionamento dos eletrodos e dos sensores de temperatura no interior da célula ôhmica #3.

Durante a realização dos experimentos a condutividade elétrica foi monitorada para verificação da sua variação com a temperatura.

4.3.2 Tratamento Térmico da Polpa de Mirtilo

As polpas de mirtilo com diferentes concentrações passaram por dois diferentes tratamentos térmicos: convencional e ôhmico. O tratamento térmico da polpa de mirtilo foi

realizado mantendo o alimento a 90 °C por 2 min, tanto no tratamento convencional quanto no ôhmico. Conforme sugerido por Fennema (2010), esse binômio deve ser suficiente para inativar as enzimas responsáveis pela degradação das antocianinas.

Tratamento Térmico via Aquecimento Ôhmico

O aquecimento ôhmico da polpa de mirtilo foi realizado para os teores de sólidos totais (*TST*) considerados neste estudo e utilizando diferentes tensões. Em todos os casos, os experimentos foram realizados da seguinte forma: foram pesadas e inseridas na célula 130 g de polpa, o agitador magnético foi regulado até que todo o conteúdo fosse agitado, o variador de tensão foi regulado até o valor correto, dando início ao aquecimento da polpa. Quando a amostra atingiu a temperatura desejada, 90 °C, a tensão foi reduzida em torno de 50 % e monitorada de maneira que a polpa se mantivesse por 2 min na temperatura desejada. Após o tempo estipulado, a bomba do banho de resfriamento foi ligada e água, com temperatura em torno de 3 °C, foi passada pelo encamisamento. Durante todo o processo, foram monitoradas a temperatura (nos dois pontos referenciados na Figura 4.12), a intensidade de corrente elétrica através da amostra e a tensão aplicada.

O teor de antocianinas da polpa, bem como a sua umidade, foram determinados prévia e posteriormente ao aquecimento. O teor de antocianinas foi determinado por HPLC e pelo método do pH diferencial, conforme descrito no Capítulo 2, e o teor de umidade pelo método gravimétrico de acordo com a metodologia 934.06 da AOAC (2000b). A umidade foi determinada a fim de corrigir a quantidade de antocianinas na polpa de acordo com o seu teor de sólidos, a qual pode variar durante o aquecimento devido à evaporação da água ou à aderência de sólidos nas paredes dos equipamentos.

A fim de minimizar o número de experimentos e facilitar a interpretação dos resultados foi realizado um planejamento fatorial, conforme descrito a seguir.

Planejamento Fatorial

Para avaliar a influência das duas variáveis independentes (*TST* e tensão) na degradação das antocianinas presentes na polpa foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), sendo essa análise estatística recomendada para experimentos com

dois fatores independentes (Rodrigues e Iemma, 2005). Com o DCCR é possível calcular os efeitos de cada variável e analisar a superfície de resposta proveniente dos experimentos.

Foi utilizado um fatorial completo 2^2 , incluindo 4 pontos axiais e 3 pontos centrais para a avaliação do erro puro. A Tabela 4.1 apresenta os valores codificados e originais das variáveis de estudo analisadas no planejamento experimental. As variáveis independentes, tensão (x_1) e teor de sólidos totais (x_2), foram avaliadas em cinco níveis.

A faixa de concentrações de sólidos utilizada neste trabalho foi escolhida de acordo com as características da polpa de mirtilo. O limite superior foi a concentração de 16 %, que foi escolhida por estar próxima do teor de sólidos solúveis da matéria prima e o limite inferior, 4 %, foi escolhido por ser a concentração mais baixa que se conseguiu homogeneizar com o uso de 0,1 % de goma xantana. A tensão máxima utilizada foi 240 V, determinada devido à limitação do sistema de energia, e a tensão mínima foi determinada de forma a permitir um aumento do tempo de aquecimento.

Tabela 4.1 – Planejamento fatorial: valores codificados e originais das variáveis de estudo, tensão e teor de sólidos totais (*TST*).

Valores Codificados	Tensão (V)	<i>TST</i> (%)
-1,41	160	4,00
-1	172	5,76
0	200	10,00
1	228	14,24
1,41	240	16,00

A resposta avaliada estatisticamente foi a porcentagem de degradação das antocianinas presentes na polpa (y). O modelo polinomial apresentado na Equação 4.5 foi utilizado para modelagem dos dados experimentais:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad (4.5)$$

onde β_n são os coeficientes de regressão; y_i é a variável de resposta e x_1 e x_2 são as variáveis independentes.

Foi calculado o erro médio do modelo obtido através da equação:

$$E(\%) = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|y_{\text{exp}} - y_{\text{calc}}|}{y_{\text{exp}}} \quad (4.6)$$

onde E é o erro médio, n é o número de dados experimentais, y_{exp} são os dados experimentais e y_{calc} são os valores preditos pelo modelo.

Para análise dos resultados, foi utilizada a metodologia de superfície de resposta através do *software* Statistica® versão 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, Estados Unidos).

Tratamento Térmico Convencional

Para o tratamento térmico convencional, foi elaborada uma célula em vidro borossilicatado (Pyrex) encamisada, similar à célula ôhmica #3, com diâmetro de 5,5 cm e altura de 10,5 cm. A célula foi ligada a um banho termostático para aquecimento (Lauda, modelo TYP T, Alemanha) e a um banho de resfriamento (Lauda, modelo RM 12, Alemanha), sendo também posicionada em cima de um agitador magnético (Instrulab, modelo ARE, Brasil). A temperatura da polpa foi monitorada ao longo do processamento utilizando termopares tipo T, previamente calibrados. Os termopares foram conectados a um sistema de aquisição de dados (Novus, modelo Field Logger, Brasil) valores de temperatura foram registrados a cada 5 s.

Os medidores de temperatura foram posicionados no banho de aquecimento e no centro do equipamento. A polpa foi agitada e água na temperatura de 90 °C foi bombeada a partir do banho quente através do encamisamento. A polpa foi mantida na temperatura desejada por 2 min. Ao final do tempo de retenção, foi passada água fria, em temperaturas em torno de 3 °C, pelo encamisamento, até que a polpa atingisse temperaturas inferiores a 10 °C.

Assim como para o aquecimento ôhmico, análises de antocianinas e de umidade foram realizadas antes e após o processamento. O tratamento térmico convencional foi realizado somente para a diluição central do planejamento fatorial, 10 %, a fim de se comparar as duas metodologias.

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Montagem e Adequação do Sistema de Aquecimento Ôhmico

O sistema de aquisição de dados teve desempenho satisfatório, realizando as medidas de temperatura, tensão e corrente elétrica, sem apresentar problemas de segurança. A tensão pode ser variada entre 0 e 240 V, conforme desejado. Os experimentos de validação e as demais análises realizadas utilizando cada célula são apresentados a seguir.

Célula Ôhmica #1

A célula ôhmica #1 foi validada utilizando soluções salinas, conforme descrito no item 4.3.2. A validação foi satisfatória, comparando as médias dos valores obtidos através do condutivímetro com os da célula ôhmica; a diferença encontrada foi inferior a 4,5 % para ambos os sais testados. Os valores de condutividade elétrica, a 25 °C, dos testes realizados com soluções salinas de cloreto de sódio e fosfato de sódio estão apresentados na Tabela 4.2 e na Tabela 4.3, respectivamente.

Tabela 4.2 – Valores de condutividade elétrica para as soluções de NaCl em diferentes concentrações medidas no condutivímetro e na célula #1.

NaCl			
Concentração (M)	σ condutivímetro (S·m ⁻¹)	σ AO (S·m ⁻¹)	Diferença cond./AO (%)
0,02	0,23	0,22	4,44
0,05	0,56	0,55	1,49
0,08	0,87	0,88	0,46
0,14	1,50	1,55	2,19
0,16	1,75	1,72	1,42
0,17	1,81	1,92	3,83

Tabela 4.3 - Valores de condutividade elétrica para as soluções de Na_3PO_4 em diferentes concentrações medidos no condutivímetro e na célula #1.

Na_3PO_4			
Concentração (M)	σ condutivímetro ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$)	σ AO ($\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$)	Diferença cond./AO (%)
0,03	0,22	0,21	3,05
0,05	0,35	0,34	3,30
0,1	0,66	0,65	0,70
0,15	0,93	0,94	0,40
0,2	1,21	1,22	0,56
0,25	1,47	1,48	0,62

Os experimentos realizados com polpa de mirtilo para validação do aparato são apresentados na Figura 4.13. A condutividade elétrica foi plotada em função da temperatura e foram adicionadas linhas de tendência à figura, para melhor visualização dos resultados obtidos. Os testes foram realizados com a polpa aerada e desaerada; a razão para se incluir na análise a polpa desaerada será discutida mais adiante.

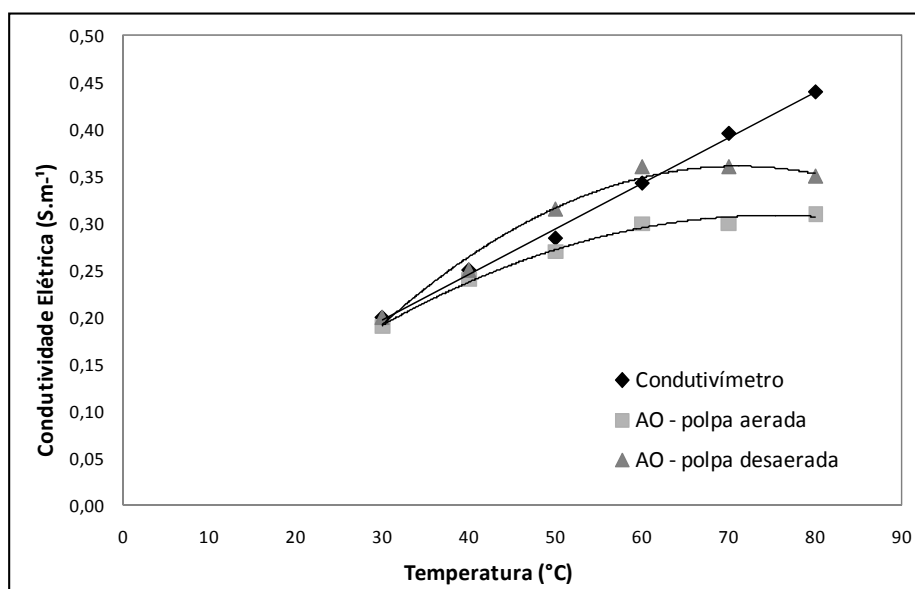


Figura 4.13 – Condutividade elétrica da polpa de mirtilo (TST 16 %) em função da temperatura, medida no condutivímetro e na célula #1 para polpa aerada e desaerada.

Analisando a Figura 4.13 é possível observar que os valores de condutividade elétrica provenientes do condutivímetro apresentam um comportamento linear. Entretanto, os valores obtidos para essa variável durante o aquecimento ôhmico apresentam um desvio da linearidade em temperaturas acima de 60 °C.

O aumento da condutividade elétrica em função da temperatura durante o aquecimento ôhmico já foi comprovado em diversos estudos; esse parâmetro é afetado pela natureza dos íons, pelo movimento dos íons e pela viscosidade do líquido, sendo que todos estes parâmetros são dependentes da temperatura. De acordo com Palaniappan e Sastry (1991a), o aumento desta variável com a temperatura se dá devido ao fato de que, em temperaturas mais altas, há menor resistência ao movimento dos íons, facilitando a condução de corrente.

Além destes efeitos, o aumento da temperatura também pode causar dissolução da protopectina e outros componentes da parede celular, resultando em perda de rigidez pela célula. Halden, De Alwis e Fryer (1990) sugeriram que a quebra dos componentes da parede celular faz com que seja possível o movimento de componentes do citoplasma e fluidos ao seu redor através da parede celular. Dependendo da condutividade elétrica dos fluidos internos e externos, este processo pode aumentar ou diminuir a condutividade elétrica dos alimentos. No entanto, a condutividade elétrica dos alimentos durante o aquecimento ôhmico tem aumentado, e não diminuído, com a temperatura (Palaniappan e Sastry, 1991b).

Em algumas pesquisas realizadas envolvendo sucos (Palaniappan e Sastry, 1991b) e legumes em salmoura (Palaniappan e Sastry, 1991a), foi observado um comportamento linear semelhante ao reproduzido pelo condutivímetro. No entanto, outras pesquisas encontraram comportamento quadrático em temperaturas próximas a 70 °C para alimentos como frutas e carnes (Castro *et al.*, 2003; Sarang, Sastry e Knipe, 2008), legumes (Tulsiyan, Sarang e Sastry, 2008), geléias e polpas (Castro *et al.*, 2003) e sucos (Icier e Ilicali, 2004; İcier, Yildiz e Baysal, 2008). Este comportamento se assemelha aos resultados obtidos utilizando a célula ôhmica #1.

O comportamento quadrático pode ser explicado pela formação de bolhas de ar, que foram efetivamente observadas durante o aquecimento ôhmico. Os experimentos de İcier e Ilicali (2005a), utilizando pures de fruta, também apresentaram bolhas acima de 50°C e, da mesma forma, foi observada uma diminuição da condutividade elétrica após a formação das mesmas.

As bolhas formadas não são condutoras de corrente elétrica e podem ser originárias de três fenômenos distintos: bolhas presentes na polpa incorporadas durante o processamento, já que as mesmas não foram desaeradas; bolhas de hidrogênio decorrentes da dissociação iônica

que ocorre na superfície dos eletrodos; e bolhas de ar formadas pela ebulição da água contida nas polpas, devido a uma diferença de temperatura entre o centro e as extremidades da célula.

As bolhas de ar presentes na polpa, incorporadas durante o processamento, tendem a aumentar com o aumento da temperatura. De acordo com Castro *et al.* (2004), em aquecedores não pressurizados, caso exista ar nas amostras, essas bolhas vão expandir com a temperatura. Como a condutividade elétrica do ar é considerada igual a zero, o aumento na área das bolhas causa a diminuição dessa variável na mistura (Icier e Ilicali, 2005b).

No entanto, observou-se que as curvas mantêm um comportamento quadrático mesmo após a desaeração, conforme demonstrado na Figura 4.13, evidenciando que as bolhas presentes no produto não são as principais responsáveis pelo desvio do comportamento linear da condutividade elétrica da polpa. Entretanto, é possível observar na Figura 4.13 que a condutividade elétrica é maior para a polpa desaerada, confirmando o esperado pela literatura. A desaeração pode ser usada como um recurso para o aumento da condutividade elétrica de alimentos.

Durante o aquecimento ôhmico, reações de eletrólise podem ocorrer, decompondo substâncias presentes no alimento e formando novos compostos. Quando são utilizadas baixas frequências, 50-60 Hz essas reações devem ser levadas em consideração, pois podem levar à dissolução de eletrodos metálicos, podendo contaminar o produto final. No entanto, o uso de altas frequências, acima de 100 Hz, ou de eletrodos com revestimento inerte, são suficientes para que não haja dissolução significativa (Lewis e Heppell, 2000; Ruan *et al.*, 2002). Zhao, Kolbe e Flugstad (1999 apud Icier e Ilicali (2005a) também discutiram a formação de bolhas como resultado da formação de subprodutos de várias reações de oxidação e redução (como por exemplo H_2 ou O_2) e foi confirmada a hipótese de que o uso de materiais inertes minimiza as reações eletrolíticas.

Apesar das frequências utilizadas nesse trabalho serem baixas, o material utilizado nos eletrodos, a platina, é considerado inerte. Bolhas de hidrogênio, formadas a partir da dissociação de ácidos fracos, foram observadas em pequenas quantidades próximas aos eletrodos. Estas bolhas possuem diâmetro pequeno, diferentemente das observadas em altas temperaturas durante o aquecimento ôhmico e, desta forma, acredita-se que não sejam a explicação para a variação na condutividade elétrica.

As bolhas observadas durante os experimentos de aquecimento das polpas iniciaram em temperaturas em torno de 70 °C e possuíam aspecto similar a bolhas geradas em processos de ebulição. Qihua, Jindal e Van Winden (1993) também encontraram diferenças consideráveis de temperatura para diferentes gradientes de tensão e observaram a formação de bolhas em temperaturas acima de 50 °C.

A análise de temperatura foi realizada em dois pontos diferentes da célula, utilizando soluções de NaCl com concentrações de 0,08 e 0,16 M. A Figura 4.14 apresenta as temperaturas medidas no centro e na lateral da célula para uma determinada temperatura de referência para a solução de NaCl 0,16 M, sendo que o gráfico foi elaborado para melhor visualização da diferença de temperatura no interior da célula. O comportamento foi similar para as duas soluções, 0,08 e 0,16 M.

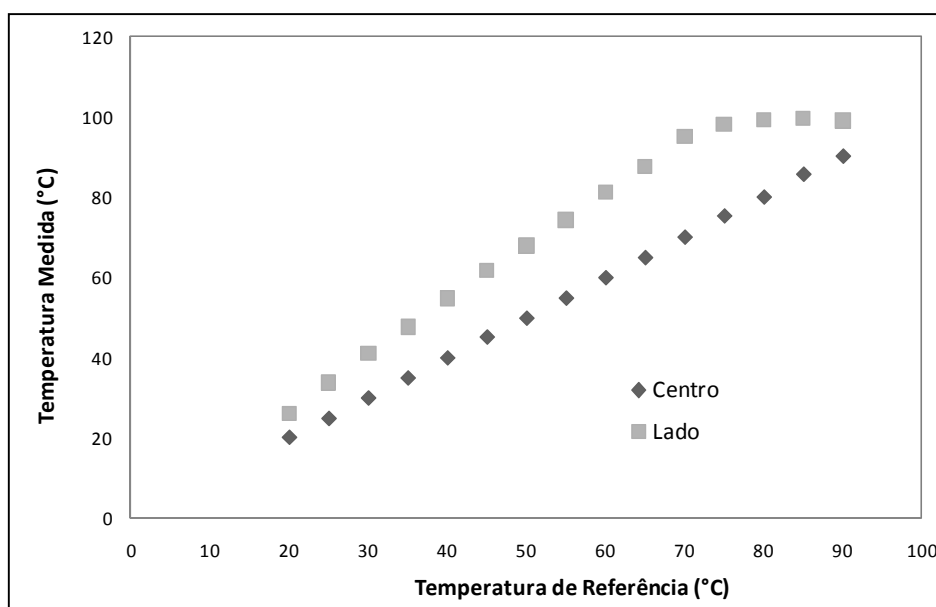


Figura 4.14 – Variação de temperatura no centro e na lateral da célula durante o aquecimento de solução NaCl 0,16M.

A análise desta figura mostra que a diferença de temperatura no interior da célula é bastante alta, chegando até 25 °C para a solução de 0,16 M, respectivamente. A diferença de temperatura para a solução de NaCl 0,08 M foi de 18,5°C. Constatou-se que a maior diferença de temperatura ocorre na solução mais concentrada, provavelmente devido à alta velocidade do aquecimento, que impede que o calor se dissipe ao longo da célula. Apenas em temperaturas bastante altas, em torno de 90 °C, o sistema atinge maior homogeneidade. Acredita-se que a diferença de temperatura é ainda maior durante o aquecimento da polpa de

mirtilo, uma vez que a maior massa específica do produto dificulta a transferência de calor por condução.

Considerando essa diferença de temperatura, é possível assumir que a causa de bolhas durante o aquecimento é a ebulição da água contida na polpa e essas bolhas são as causadoras do desvio de linearidade apresentado pela condutividade elétrica da amostra.

Acredita-se, ainda, que esta diferença de temperatura se deve ao comprimento da célula, que permite que haja uma difusão de calor não homogênea ao longo do eixo. Para solucionar esse problema foi construída a célula ôhmica #2, com formato similar à célula ôhmica #1 e menor comprimento, diminuindo a distância entre os eletrodos.

Célula Ôhmica #2

A validação da célula #2 foi satisfatória, sendo as diferenças entre os valores de condutividade elétrica obtidos utilizando o condutivímetro e a célula inferiores a 5 %. Os valores de condutividade elétrica, a 25 °C, obtidos utilizando os dois aparatos e a diferença entre eles estão apresentados na Tabela 4.4, para as soluções de NaCl, e na Tabela 4.5, para as soluções de Na₃PO₄. Considerando que as medidas realizadas pela nova célula foram satisfatórias, deu-se continuidade aos experimentos.

Tabela 4.4 – Valores de condutividade elétrica para as soluções de NaCl em diferentes concentrações medidos no condutivímetro e na célula ôhmica #2.

NaCl			
Concentração (M)	σ condutivímetro (S·m ⁻¹)	σ AO (S·m ⁻¹)	Diferença cond./AO (%)
0,02	0,24	0,23	4,09
0,05	0,57	0,54	3,48
0,08	0,90	0,84	4,85
0,14	1,53	1,44	4,08
0,16	1,76	1,65	4,31
0,17	1,86	1,75	4,38

Tabela 4.5 - Valores de condutividade elétrica para as soluções de Na_3PO_4 em diferentes concentrações medidos no condutivímetro e na célula ôhmica #2.

Na_3PO_4			
Concentração (M)	σ condutivímetro (S m^{-1})	σ AO (S m^{-1})	Diferença cond./AO (%)
0,03	0,22	0,21	3,37
0,05	0,35	0,34	2,94
0,1	0,66	0,63	3,43
0,15	0,93	0,89	2,95
0,2	1,23	1,16	4,14
0,25	1,50	1,41	3,98

O aquecimento da polpa de mirtilo revelou que a diminuição no comprimento da célula não impediu a formação de bolhas de ar. Com a finalidade de avaliar a hipótese de que a expansão de bolhas oclusas na polpa influencia a condutividade elétrica do alimento no sistema de aquecimento, foram realizados novos testes de desaeração. A variação da condutividade elétrica com a temperatura para a polpa não desaerada (ND) e para a polpa desaerada por duas metodologias diferentes (U+B e U+B+A) é apresentada na Figura 4.15. As duplicatas dos experimentos tiveram comportamentos bastante similares e os dados de apenas um dos experimentos de aquecimento ôhmico está apresentado neste gráfico.

Os resultados mostrados nessa figura corroboram os resultados obtidos com a célula #1, ou seja, observa-se que o desvio do comportamento linear, assim como a formação de bolhas em altas temperaturas, se mantém, mesmo após a desaeração. Além disso, da mesma forma que os resultados anteriores, a condutividade elétrica da polpa desaerada foi maior. No entanto, nesses experimentos é possível observar um aumento da faixa de linearidade. A amostra não desaerada apresenta comportamento linear até temperaturas em torno de $75\text{ }^\circ\text{C}$, enquanto que as amostras desaeradas apresentam linearidade até $85\text{ }^\circ\text{C}$. Esse experimento permite concluir que, apesar das bolhas oclusas na polpa não serem as causadoras das bolhas observadas, elas são parcialmente responsáveis pela diminuição da condutividade elétrica.

Sarang, Sastry e Knipe (2008) realizaram um experimento semelhante e compararam a condutividade elétrica de abacaxis e de maçãs durante o aquecimento ôhmico; foi comprovado que o ar presente no tecido das maçãs faz com que estas frutas tenham condutividade elétrica menor quando comparada com a do abacaxi.

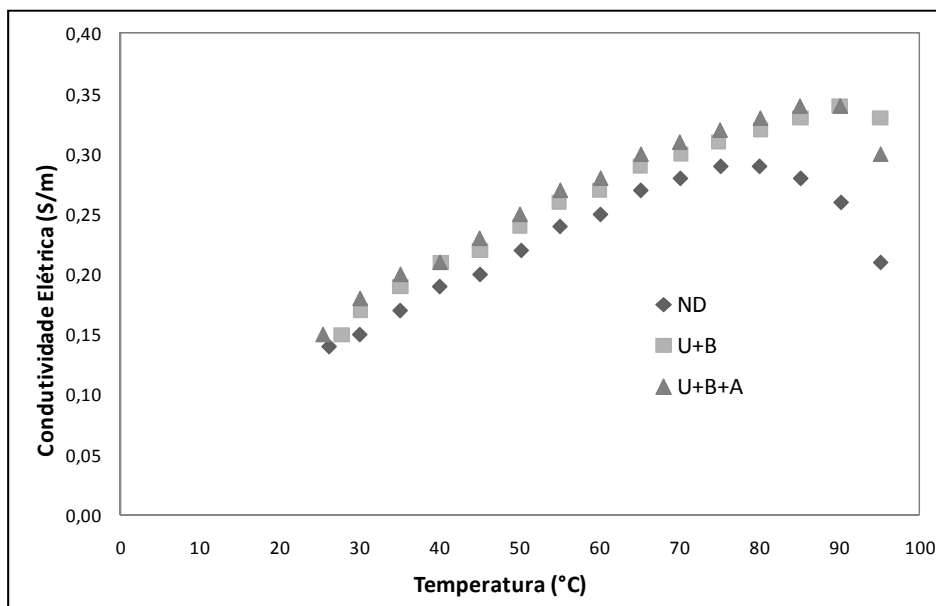


Figura 4.15 - Condutividade elétrica da polpa de mirtilo (TST 16 %) em função da temperatura na célula ôhmica#2 para polpa não desaerada (ND), desaerada com ultrassom e bomba de vácuo (U+B) e desaerada com ultrassom, bomba de vácuo e aquecimento (U+B+A).

A Figura 4.16 e a Figura 4.17 apresentam a variação da temperatura ao longo do tempo para um sistema sem e com agitação, respectivamente. O comportamento da temperatura não variou para os diferentes teores de sólidos e tensões aplicadas, variando apenas a diferença máxima de temperatura obtida em cada experimento. Desta forma, optou-se por apresentar apenas um resultado: o aquecimento ôhmico envolvendo a polpa com teor de sólidos de 10 % e a tensão de 100 V.

Através dos gráficos apresentados é possível observar que a agitação foi capaz de reduzir a diferença de temperatura no interior da célula, quando comparada ao processo estático. Analisando a Figura 4.16, é possível constatar que a temperatura do centro da célula começa a ultrapassar a das laterais em temperaturas em torno de 50 °C e que essa diferença aumenta com o passar do tempo. Acredita-se que este comportamento está relacionado à migração dos sólidos da polpa para o centro da célula, que, de fato, foi observada durante o aquecimento fazendo com que a geração de calor seja maior na porção central da amostra. A agitação da célula proporciona uma melhor distribuição das partículas na polpa o que faz com que o aquecimento seja mais homogêneo.

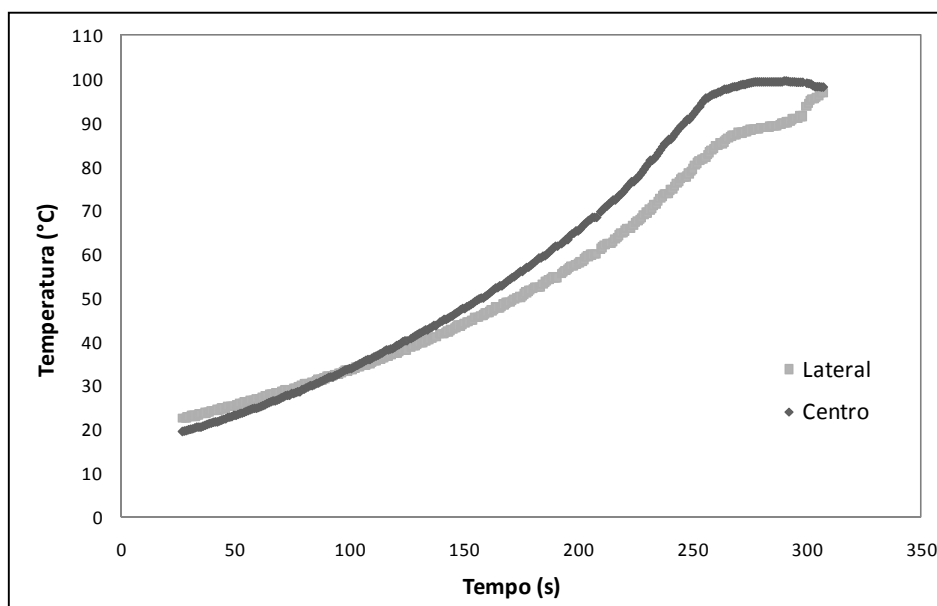


Figura 4.16 – Variação da temperatura com o tempo para a polpa de mirtilo com teor de sólidos de 10% medida na célula ôhmica #2 sem agitação para duas posições: lateral e central.

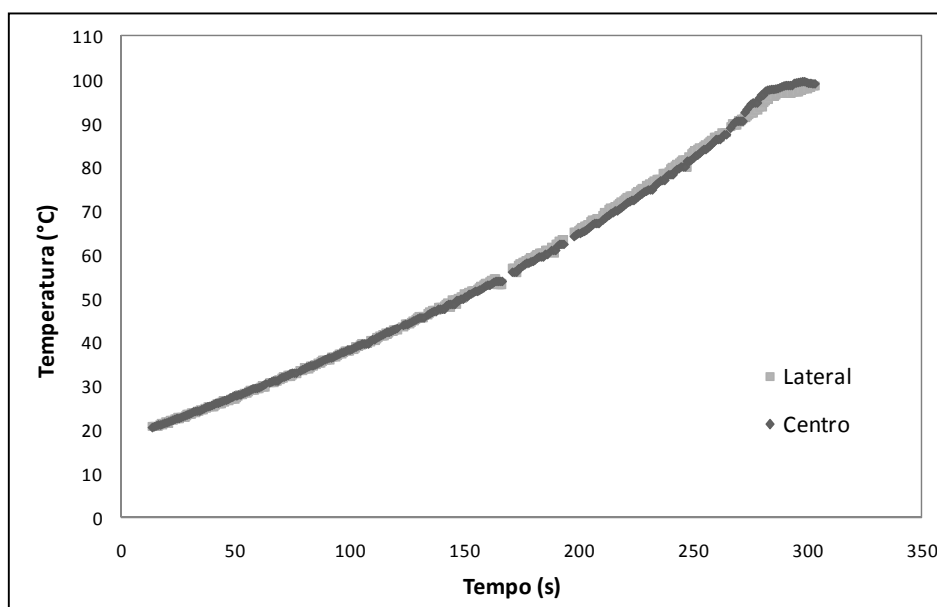


Figura 4.17 - Variação da temperatura com o tempo para a polpa de mirtilo com teor de sólidos de 10% medida na célula ôhmica #2 com agitação para duas posições: lateral e central.

As diferenças máximas de temperatura, em cada experimento realizado, estão ilustradas através de um gráfico de barras apresentado na Figura 4.18, onde o índice AG indica os experimentos realizados com agitação. Conforme demonstrado pelos gráficos anteriores, as maiores diferenças de temperatura ocorreram, em todos os casos, para os experimentos realizados sem o emprego da mesa agitadora. A menor diferença de temperatura, 3,07 °C, ocorreu no aquecimento da polpa com 4 % de sólidos, a 100 V, com

agitação. A maior diferença, 19,46 °C, por sua vez, se deu no aquecimento da polpa com 10 % de sólidos, a 150 V, sem agitação.

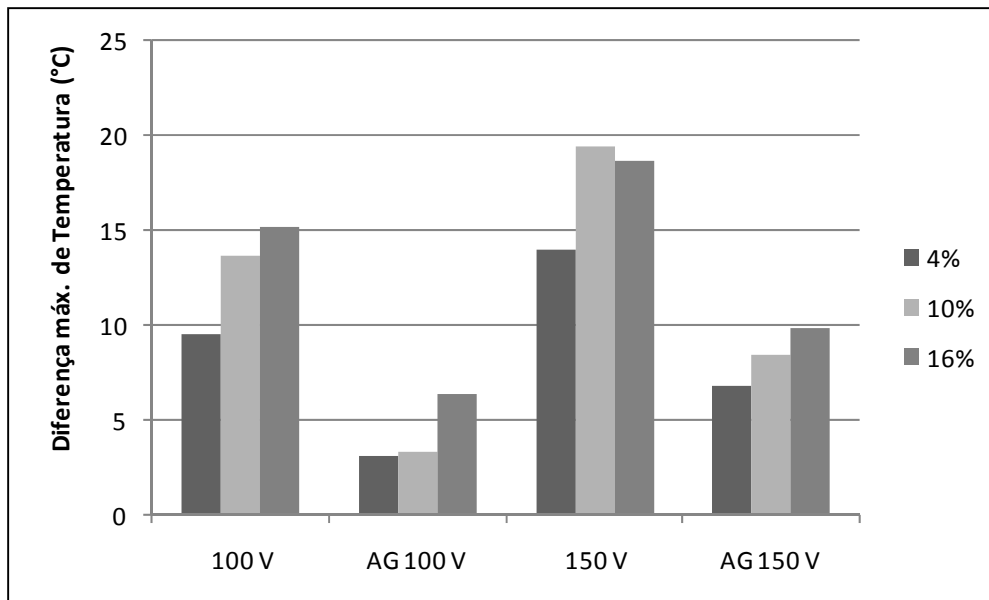


Figura 4.18 – Diferenças máximas de temperatura entre o lado e o centro da célula ôhmica#2 durante o aquecimento da polpa de mirtilo em diferentes teores de sólidos totais (4, 10 e 16%).

Entre experimentos realizados nas mesmas condições, a temperatura entre a lateral e o centro difere mais para as polpas com mais sólidos. A única exceção observada foi no experimento com tensão de 150 V e sem agitação, no qual a diferença de temperatura da polpa com 10 % de sólidos excedeu a da polpa com teor de 16 %, no entanto, esta diferença foi inferior a 1 °C.

O entendimento deste processo não é simples devido aos inúmeros fenômenos envolvidos e à complexidade do alimento. Vale lembrar que, para a polpa de mirtilo, quanto maior o teor de sólidos na polpa, maiores a condutividade elétrica e a massa específica e, conseqüentemente, a viscosidade da polpa, e menores a condutividade térmica e o calor específico. A diferença de temperatura observada pode ser explicada pelo fato das propriedades termofísicas e elétricas do alimento afetarem a distribuição de temperaturas em materiais heterogêneos de modos distintos. Estudos adicionais, capazes de “isolar” alguns efeitos, são necessários para elucidar o comportamento observado.

Se comparados os experimentos realizados nas tensões de 100 e 150 V é possível verificar que as máximas diferenças de temperatura no interior da célula são maiores nos aquecimentos que utilizam tensão mais alta. Esse comportamento foi confirmado por

Salengke e Sastry (2007). Além disso, segundo experimentos realizados por İçier e Ilicali (2004), quanto maior a tensão aplicada em sucos tratados por aquecimento ôhmico, maior a amperagem atingida a baixas temperaturas, o que causa uma brusca evaporação da água das amostras.

Apesar do uso da mesa agitadora ter contribuído para melhorar o sistema, a variação de temperatura no interior da célula ainda era muito alta quando utilizadas tensões maiores ou polpas com alta concentração de sólidos. Além disso, quando atingidas temperaturas muito altas, ocorreu transbordamento da polpa na célula #2. Na busca de um maior aperfeiçoamento do sistema e com o objetivo de construir um aparato mais adequado para a pasteurização de alimentos via aquecimento ôhmico, foi construída a célula ôhmica #3.

Célula Ôhmica #3

O sistema de agitação da célula ôhmica #3 permitiu que todo o conteúdo de polpa no interior da célula fosse agitado durante o aquecimento e o sistema de tanque encamisado permitiu que a água passasse nas paredes da célula, resfriando rapidamente a polpa.

Os experimentos com NaCl validaram o aparato experimental de forma satisfatória. O erro foi inferior a 6,4 % nas comparações entre o condutivímetro e a célula ôhmica. Esse valor foi em torno de 30 % maior que os obtidos nas células ôhmicas #1 e #2; uma explicação para esse aumento é o fato de os eletrodos não estarem fixos dentro da célula, podendo variar a distância entre eletrodos que é usada no cálculo da condutividade elétrica.

Nos experimentos utilizando polpas de mirtilo não foi observada a formação de bolhas. A diferença de temperatura no interior da célula foi de 0,8, 1,4 e 3,8 °C para as polpas com teores de sólidos totais de 4, 10 e 16 %, respectivamente. A Figura 4.19 apresenta a condutividade elétrica plotada *versus* a temperatura, tendo o conteúdo de sólidos totais como parâmetro de curva. A análise desta figura revela que o desvio do comportamento linear não foi mais observado, podendo-se concluir que a utilização desta célula solucionou a falta de linearidade da condutividade elétrica com a temperatura. Além disto, conforme esperado, a condutividade foi maior para as amostras mais concentradas.

A condutividade obtida para as polpas de mirtilo ficou entre 0,15 e 0,84 S·m⁻¹ em uma faixa de temperatura de 25 a 90 °C. Esses valores são considerados pela literatura como

adequados para a realização do aquecimento ôhmico. Valores muito altos ou muito baixos poderiam impossibilitar a aplicação dessa tecnologia (Piette *et al.*, 2004; Goullieux e Pain, 2005).

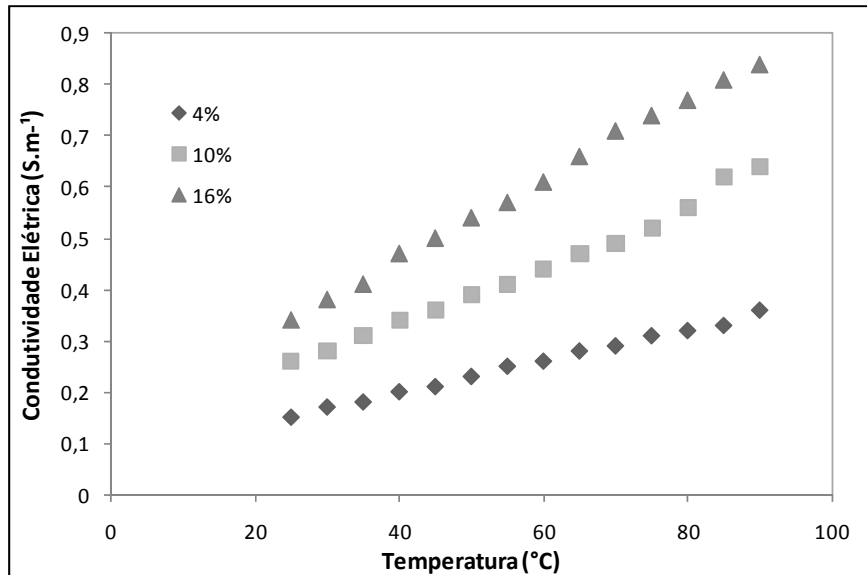


Figura 4.19 – Medidas de condutividade elétrica em função da temperatura na célula #3 para polpas de mirtilo com 4, 10 e 16% de sólidos totais.

As diferenças de temperatura e a variação da condutividade elétrica com a temperatura foram consideradas satisfatórias e a célula ôhmica #3 foi considerada adequada para pasteurização e posterior resfriamento das polpas.

4.4.2 Tratamento Térmico da Polpa de Mirtilo

A magnitude e a duração do processo de aquecimento exercem forte influência na estabilidade das antocianinas. Diversos estudos têm sido realizados no intuito de avaliar e quantificar essa influência. Nesta etapa do trabalho, foi avaliado o efeito de duas variáveis, tensão e o teor de sólidos totais, sobre a estabilidade das antocianinas; a escolha desses parâmetros se deu devido a sua influência no tempo de aquecimento. Tensões mais altas e polpas com maior quantidade de sólidos aquecem mais rapidamente e, com um tempo de aquecimento menor, se espera uma menor degradação das antocianinas.

Ambos os tratamentos térmicos foram bem sucedidos, permitindo-se manter as polpas na temperatura desejada pelo tempo de processamento. Serão apresentados, inicialmente, os

resultados obtidos com o aquecimento ôhmico e, a seguir, os resultados referentes ao aquecimento convencional.

Aquecimento Ôhmico

O sistema de aquecimento ôhmico apresentou um bom desempenho para os 9 tratamentos realizados. Durante o aquecimento, a tensão foi mantida constante, variando apenas em 1 V acima ou abaixo do valor estabelecido, pois o seu controle foi realizado manualmente. A Figura 4.20 demonstra o comportamento da temperatura em função do tempo no interior da célula para duas posições no interior da amostra: junto ao eletrodo e na lateral. Foi escolhido apenas um dos pontos centrais do planejamento fatorial (*TST* 10 % e 200 V) para ilustrar esse comportamento, pois o mesmo se repetiu para todos os demais casos. Observa-se que as duas curvas de temperatura são coincidentes e que o experimento foi capaz de reproduzir de forma adequada o aquecimento e resfriamento do processo de pasteurização.

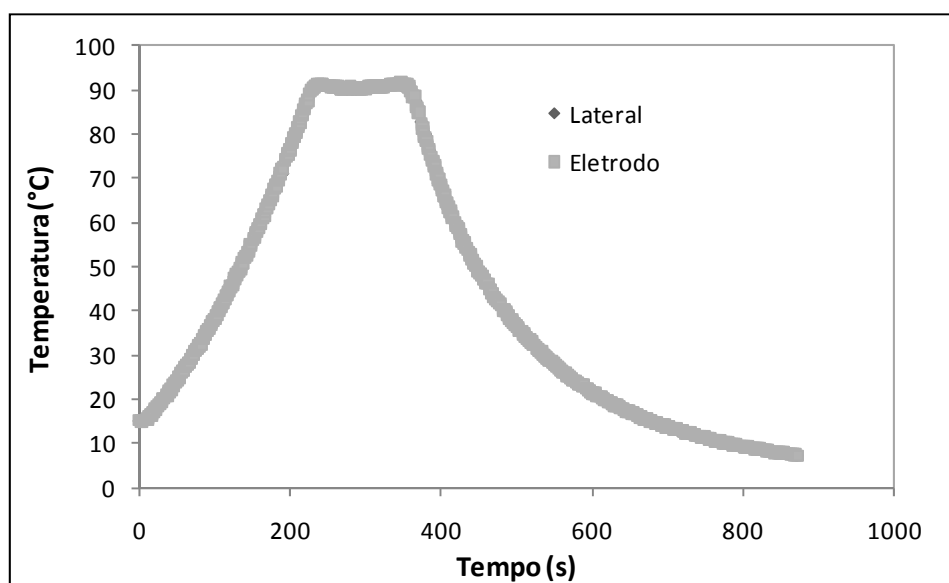


Figura 4.20 – Variação da temperatura com o tempo durante o processamento para o ponto 9 do planejamento experimental.

A Tabela 4.6 apresenta os seguintes parâmetros do processamento ôhmico: a tensão aplicada, o teor de sólidos da polpa de mirtilo, o tempo de aquecimento da polpa de 25 a 90 °C (t_a), a temperatura média de pasteurização (T_m pasteurização) e a diferença máxima de temperatura no interior da célula (ΔT_{int}) para cada tratamento. O tempo de resfriamento variou entre 3,5 e 5 min para os 11 pontos experimentais.

Tabela 4.6 – Parâmetros do processamento ôhmico para os pontos do planejamento fatorial: tensão, teor de sólidos, tempo de aquecimento da polpa, temperatura média de pasteurização e diferença máxima de temperatura no interior da célula.

Ensaio	Tensão (V)	TST (%)	t _a (min)	T _m pasteurização (°C)	ΔT _{int} (°C)
1	172	5,76	5,7	90,7 ± 0,17	1,2
2	172	14,24	3,2	90,8 ± 0,23	1,3
3	228	5,76	4,5	90,0 ± 0,65	1,1
4	228	14,24	1,9	91,0 ± 0,93	2,3
5	160	10	4,6	90,8 ± 0,34	1,2
6	240	10	2,0	91,0 ± 0,55	1,4
7	200	4	5,4	90,8 ± 0,23	0,9
8	200	16	2,1	91,2 ± 0,98	3,8
9	200	10	2,9	90,7 ± 0,38	1,6
10	200	10	3,0	90,8 ± 0,46	1,4
11	200	10	2,9	90,8 ± 0,51	0,9

A temperatura de tratamento térmico ficou entre 90,0 e 91,2 °C e essa faixa foi considerada satisfatória. A instabilidade dessa variável pode ser atribuída ao controle manual da tensão. Observando a Tabela 4.6, é possível notar que as maiores diferenças de temperatura, 2,3 e 3,8 °C ocorreram nos aquecimentos mais rápidos e que utilizaram as polpas mais concentradas, o que já era esperado devido à maior resistência à condução de calor. De maneira geral, os parâmetros do processamento foram considerados satisfatórios.

As análises de antocianinas após o aquecimento ôhmico, pelo método do pH diferencial, resultaram em valores de degradação entre 2,92 e 5,26 % enquanto que o erro entre as leituras chegou a 5,67 %. Este resultado indica que essa técnica de análise não é apropriada para este nível de degradação. Desta forma empregou-se a cromatografia líquida para analisar o teor de antocianinas com maior precisão e detectar o efeito das variáveis do processo.

A Tabela 4.7 apresenta os resultados das análises de antocianinas por HPLC, para as amostras coletadas antes e após os aquecimentos, bem como o desvio padrão relativo e a porcentagem de degradação dos compostos. O teor de antocianinas foi calculado pela soma dos teores de delphinidina e malvidina. Os valores de antocianinas prévios ao aquecimento

variaram para um mesmo teor de sólidos, pois as amostras não eram completamente homogêneas.

Tabela 4.7 – Teores de antocianinas pré e pós aquecimento ôhmico e degradação percentual para as condições de tensão e teor de sólidos totais estabelecidas no planejamento fatorial.

Ensaio	Tensão (V)	TST (%)	Antocianinas pré AO (mg/100g polpa)	Antocianinas pós AO (mg/100g polpa)	Degradação (%)
1	172	5,76	62,65 ± 0,97	58,11 ± 0,96	7,25
2	172	14,24	114,13 ± 0,85	102,46 ± 0,97	10,23
3	228	5,76	62,65 ± 0,97	54,13 ± 0,98	13,59
4	228	14,24	99,41 ± 0,96	86,10 ± 0,94	13,38
5	160	10	86,97 ± 0,86	82,01 ± 0,53	5,71
6	240	10	92,63 ± 1,06	79,04 ± 1,07	14,67
7	200	4	60,57 ± 0,88	54,11 ± 0,98	10,67
8	200	16	130,47 ± 0,86	114,66 ± 0,96	12,12
9	200	10	89,06 ± 0,98	78,98 ± 0,96	11,32
10	200	10	86,97 ± 0,86	76,50 ± 0,97	12,05
11	200	10	86,97 ± 0,86	76,21 ± 1,05	12,38

Com os diferentes teores de sólidos e com as diferentes tensões aplicadas, a degradação das antocianinas variou entre 5,71 e 14,67%. Os dados obtidos permitiram avaliar a influência do teor total de sólidos (*TST*) e da tensão (representada por *V*) na degradação das antocianinas. Na Tabela 4.8 é apresentada a análise de variância (ANOVA) da análise estatística realizada. A tabela contém os valores da soma dos quadrados (SQ), os graus de liberdade de cada parâmetro (GL), as médias dos quadrados (MQ), os valores de F e a significância estatística (p).

O valor do coeficiente p representa o grau de significância de cada variável independente sobre a resposta em estudo. Uma vez que o intervalo de confiança escolhido foi de 95 %. Pode-se afirmar que para valores de p inferiores a 0,05 a variável é considerada estatisticamente significativa. Na Tabela 4.8 verifica-se que os fatores linear e quadrático da variável *V* e o fator linear da variável *TST* foram significativos para a degradação ao nível de confiança de 95 %.

Tabela 4.8 – Resultados da análise de variância da regressão realizada referente a degradação de antocianinas durante o aquecimento ôhmico.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	Coefficiente p
<i>V</i> (L)	61,4700	1	61,4700	147,3558	0,000067
<i>V</i> (Q)	3,4616	1	3,4616	8,2983	0,034561
<i>TST</i> (L)	2,9136	1	2,9136	6,9844	0,045822
<i>TST</i> (Q)	0,1871	1	0,1871	0,4485	0,532742
<i>V</i> (L) x <i>TST</i> (L)	2,5410	1	2,5410	6,0912	0,056667
Erro	2,0858	5	0,4171		
Total	72,4870	10			
Falta de ajuste	1,5058	3	0,5019	1,7310	0,386570
Erro puro	0,5799	2	0,2900		

* significativo ($p < 0,05$)

Uma ANOVA foi realizada a fim de se avaliar a significância da regressão realizada e a falta de ajuste do modelo completo, a um nível de confiança de 95 %. Na Tabela 4.9 estão apresentados os resultados da análise de variância, através do teste F, é possível verificar que o modelo apresentou regressão significativa ($F_{\text{calculado}}$ superior ao F_{tabelado}); o coeficiente de determinação (R^2) do modelo foi de 0,971. A falta de ajuste do modelo não foi significativa.

Tabela 4.9 – Resultados da análise de variância do modelo completo para a degradação de antocianinas.

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calculado	F tabelado
Regressão	70,4012	5	14,0802	33,7531	5,05
Resíduo	2,0858	5	0,4172		
Erro Puro	0,5799	2	0,2900		
Falta de Ajuste	1,5058	3	0,5019		
Total	72,4870	10			

Foi realizada uma nova análise, na qual foram considerados apenas os efeitos que influenciaram significativamente a variável de resposta. Nessa análise a interação entre os parâmetros *V* e *TST* também foi considerada, pois o seu valor p ficou muito próximo a 0,05. A Tabela 4.10 apresenta a ANOVA da análise estatística.

Tabela 4.10 – Resultados da análise de variância da regressão realizada referente a degradação de antocianinas durante o aquecimento ôhmico, considerando apenas os fatores significativos.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	Coefficiente p
<i>V</i> (L)	61,4700	1	61,4700	162,2722	0,000014
<i>V</i> (Q)	3,2896	1	3,2896	8,6840	0,025718
<i>TST</i> (L)	2,9136	1	2,9136	7,6914	0,032280
<i>V</i> (L) x <i>TST</i> (L)	2,5410	1	2,5410	6,7078	0,041215
Erro	2,2728	6	0,3788		
Total	72,4870	10			
Falta de ajuste	0,5799	2	0,2900		
Erro puro	72,4870	10			

No modelo reduzido, as mesmas variáveis, os fatores linear e quadrático da variável *V* e o fator linear da variável *TST*, foram significativas. Além dessas, a interação entre *V* e *TST* passou a ser significativa no modelo reduzido. Esse modelo apresentou um coeficiente de determinação um pouco menor ($R^2 = 0,969$). A pequena diminuição do R^2 pode estar relacionada à exclusão do efeito quadrático da tensão, que também deve contribuir para o valor total da degradação. A Tabela 4.10 apresenta os resultados referentes à análise de variância do modelo reduzido.

Tabela 4.11 – Resultado da análise de variância do modelo reduzido para a degradação de antocianinas.

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calculado	F tabelado
Regressão	67,6732	3	22,5577	32,8023	4,35
Resíduo	4,8138	7	0,6877		
Erro Puro	0,5799	2	0,2900		
Falta de Ajuste	4,2339	5	0,8468		
Total	72,4870	10			

O modelo reduzido e codificado, sendo x_1 a variável tensão codificada e x_2 a variável *TST* codificada, proposto para representar a degradação de antocianinas durante o aquecimento ôhmico, dentro dos limites de teores de sólidos e tensão estudados, é representado pela seguinte equação:

$$\text{Degradação (\%)} = 11,7447 + 2,7701 \cdot x_1 - 0,7279 \cdot x_1^2 + 0,6031 \cdot x_2 - 0,7970 \cdot x_1 x_2 \quad (4.6)$$

A superfície de contorno do modelo reduzido é apresentada na Figura 4.21. Nessa figura, é possível observar que a porcentagem de degradação das antocianinas tem um aumento quadrático com a tensão e um aumento linear com o teor de sólidos totais.

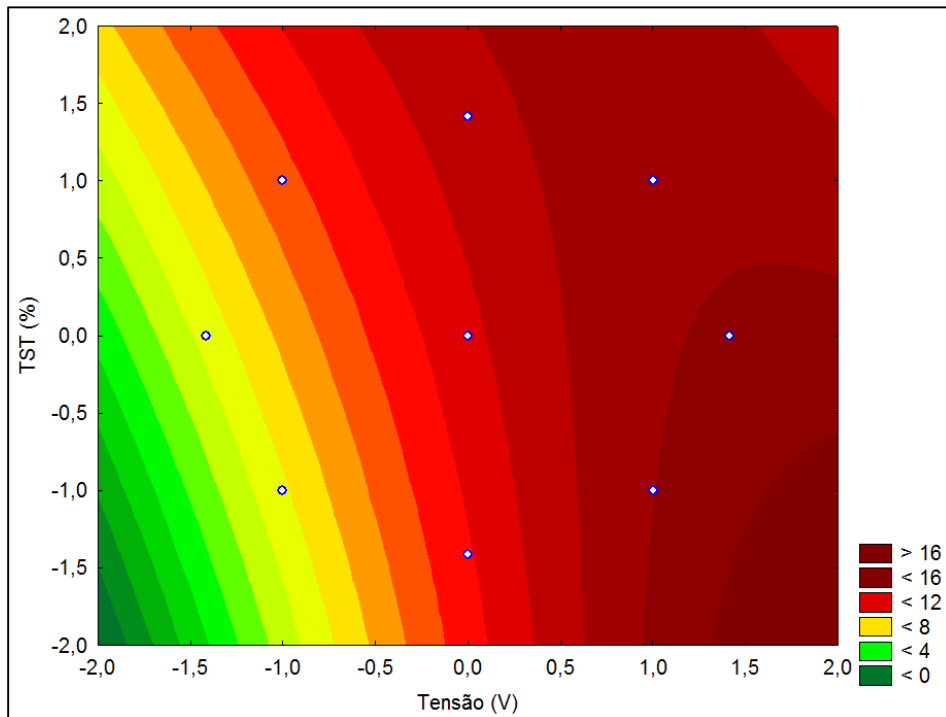


Figura 4.21 - Superfície de contorno para a porcentagem de degradação das antocianinas em função do teor de sólidos totais e da tensão.

O gráfico mostrado na Figura 4.21 apresenta os valores preditos pelo modelo plotados *versus* os valores observados experimentalmente dentro de um limite de 95 % de confiança. A linha contínua representa os valores teóricos e os pontos, os valores obtidos nos experimentos. O erro médio obtido na estimativa da degradação foi de 4,32 %, de acordo com Neto, Scarminio e Bruns (1995), valores de erro médio abaixo de 10 % indicam um ajuste adequado para aplicações práticas.

Possivelmente, o valor obtido para o erro poderia ser reduzido se a matéria prima utilizada fosse mais uniforme. As antocianinas não se distribuem igualmente dentro do fruto e a elaboração da polpa foi realizada em escala de laboratório. Especula-se que seriam observados resultados melhores utilizando polpas e sucos produzidos industrialmente. Geralmente, a polpa não é utilizada em experimentos realizados por outros autores para avaliar a degradação das antocianinas, sendo avaliados sucos (Skrede, Wrolstad e Durst, 2000; Lee, Durst e Wrolstad, 2002; Jimenez *et al.*, 2010), extratos antociânicos (Schmidt,

Erdman e Lila, 2005), concentrados industriais (Sadilova, Stintzing e Carle, 2006), entre outros.

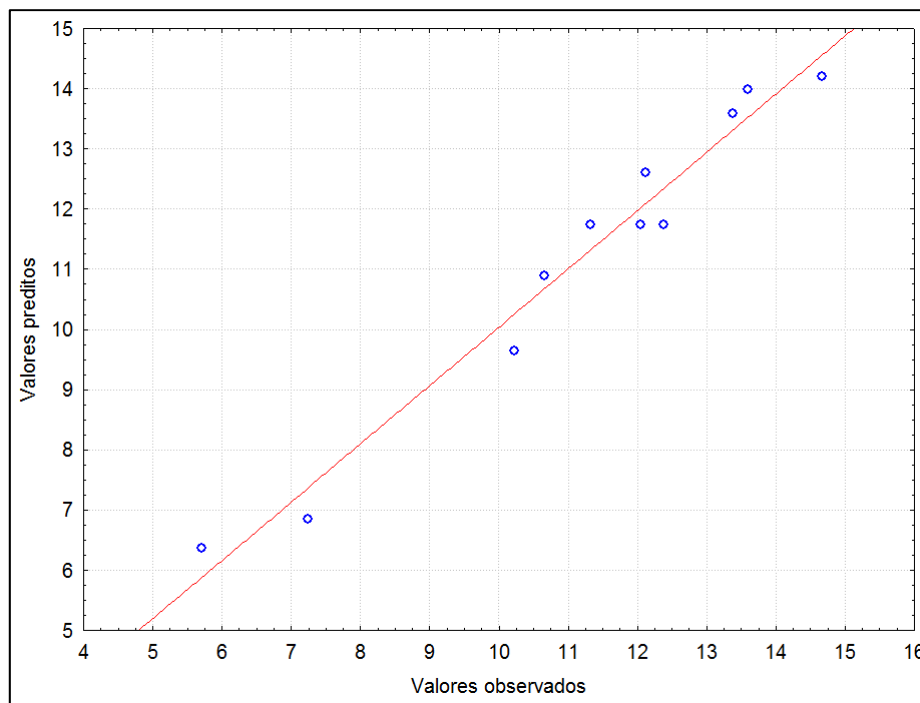


Figura 4.22 – Valores de degradação observados *versus* preditos pelo modelo proposto.

Na Tabela 4.12 são apresentadas, separadamente, as degradações das duas antocianidinas do mirtilo que foram quantificadas antes e após o processamento: a delphinidina e a malvidina. Os teores de antocianinas são expressos em mg por 100 g de polpa. Através desta tabela é possível observar que, com exceção dos ensaios 4, 5 e 9, a malvidina apresentou menor porcentagem de degradação.

Avaliando separadamente as duas antocianidinas, é possível verificar que a porcentagem de degradação da delphinidina foi maior que a da malvidina, sendo a primeira o composto mais lábil. A maior degradação da delphinidina se deve à sua estrutura, por ser a antocianidina com mais hidroxilas no anel B, apresentando-se como o composto mais suscetível às reações de degradação. Esse comportamento também foi observado nos tratamentos térmicos empregados por Lee, Durst e Wrolstad (2002) e Skrede, Wrolstad e Durst (2000).

Tabela 4.12 – Teores de delphinidina e malvidina pré e pós aquecimento ôhmico e suas degradações percentuais para as condições de tensão e teor de sólidos totais estabelecidas no planejamento fatorial.

Ensaio	Delfinidina			Malvidina		
	Antocianinas pré AO	Antocianinas pós AO	Degradação (%)	Antocianinas pré AO	Antocianinas pós AO	Degradação (%)
1	35,71 ± 0,44	32,81 ± 0,44	8,11	26,94 ± 0,44	25,29 ± 0,52	6,10
2	69,71 ± 0,43	61,19 ± 0,44	12,22	44,42 ± 0,42	41,27 ± 0,53	7,09
3	35,71 ± 0,44	29,54 ± 0,45	17,27	26,94 ± 0,44	24,59 ± 0,53	8,72
4	58,93 ± 0,44	51,47 ± 0,43	12,66	40,47 ± 0,52	34,63 ± 0,51	14,44
5	51,34 ± 0,44	48,76 ± 0,32	5,03	35,64 ± 0,42	33,25 ± 0,21	6,70
6	55,06 ± 0,54	45,33 ± 0,55	17,66	37,57 ± 0,52	33,71 ± 0,53	10,28
7	32,85 ± 0,45	29,32 ± 0,44	10,74	27,72 ± 0,43	24,79 ± 0,53	10,58
8	80,79 ± 0,44	69,17 ± 0,44	14,38	49,68 ± 0,42	45,49 ± 0,53	8,45
9	52,81 ± 0,55	47,19 ± 0,44	10,65	36,26 ± 0,43	31,79 ± 0,52	12,31
10	51,34 ± 0,44	44,19 ± 0,44	13,92	35,64 ± 0,42	32,31 ± 0,53	9,35
11	51,34 ± 0,44	44,43 ± 0,45	13,46	35,64 ± 0,42	31,79 ± 0,60	10,81

A mesma análise estatística realizada para a porcentagem total de degradação foi efetuada para a degradação de cada antocianina individualmente. Na degradação da delphinidina e da malvidina, apenas o efeito linear da tensão foi significativo. Entretanto, essas análises apresentaram coeficientes de correlação baixos, 0,858 e 0,693, e erros médios altos, 12,21 e 13,06 % para a delphinidina e a malvidina respectivamente.

Aquecimento Convencional

No aquecimento convencional o tempo de aquecimento de 25 a 90 °C foi de 4 min e o de resfriamento de 2,1 min. A temperatura média de pasteurização foi de 91,2 °C. O experimento foi realizado utilizando a polpa com teor de sólidos totais de 10 %. Vale ressaltar que o aquecimento convencional foi mais lento do que o ôhmico; entretanto, conforme já discutido, o tempo de aquecimento não foi o parâmetro que mais afetou os compostos em estudo.

O gráfico apresentado da Figura 4.22 apresenta as diferentes porcentagens de degradação das antocianinas, para a polpa com *TST* 10 %, nos tratamentos aplicados. A degradação das antocianinas da polpa foi de 7,15 %. Se compararmos esse valor com os valores de degradação obtidos utilizando o aquecimento ôhmico, para polpas com o mesmo

teor de sólidos, se observa que ele é superior à degradação em baixas tensões (5,71 % a 160 V). No entanto, se utilizadas tensões altas, o aquecimento ôhmico é responsável por uma degradação maior, que chega ao dobro da oferecida pelo aquecimento convencional (14,67 % a 240 V). O gráfico apresentado da Figura 4.22 ilustra esse comportamento.

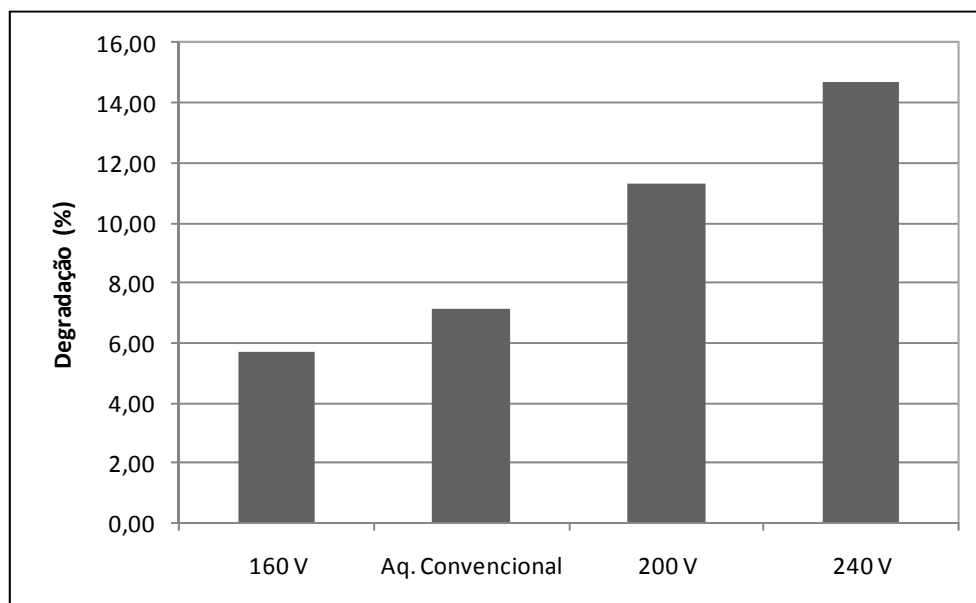


Figura 4.23 – Percentual de degradação de antocianinas presentes na polpa de mirtilo (10% TST) para o aquecimento convencional e para o aquecimento ôhmico em diferentes tensões: 160, 200 e 240 V.

Estudos que avaliaram a influência do aquecimento no teor de antocianinas apresentaram resultados divergentes. Foram encontradas pesquisas envolvendo o aquecimento convencional somente, sem incluir comparações com o aquecimento ôhmico. Níveis de degradação inferiores aos obtidos nesse trabalho, ou nulos, foram observados após o tratamento térmico de mirtilo nos estudos de Skrede, Wrolstad e Durst (2000), Lee, Durst e Wrolstad (2002) e de Brownmiller, Howard e Prior (2008). Esses pesquisadores utilizaram temperaturas de 95 °C por 3 min ou de 90 °C por 1 min. Contudo, o trabalho de Volden *et al.* (2008) encontrou uma degradação de 59 % das antocianinas do repolho roxo após branqueamento em temperaturas em torno de 95 °C por 3 min.

Valores mais altos de degradação das antocianinas do mirtilo foram observados por Queiroz *et al.* (2009). Neste estudo foi realizado um tratamento térmico mais longo, aquecendo polpas de mirtilo a 100 °C por 15, 20 e 25 min. Foi observado que a degradação aumentou com o tempo de processamento, variando entre 25 e 55 %. Em novas análises realizadas pelos mesmos pesquisadores (Oliveira *et al.*, 2010), foi verificado que a

porcentagem de degradação é fortemente dependente do cultivar em estudo, não podendo se afirmar que os valores previamente determinados se aplicam em todos os casos.

O comportamento observado no presente trabalho foi diferente do previsto inicialmente. Os tratamentos com tempos de aquecimento menores não estão relacionados com menores níveis de degradação, podendo-se afirmar, com base nos resultados obtidos, que a degradação não foi inferior no aquecimento ôhmico, se comparado ao aquecimento convencional. Apesar de não terem sido encontrados estudos que avaliaram a influência do aquecimento ôhmico na degradação das antocianinas, existem artigos que analisam a influência desse método nos teores de vitamina C (ou ácido ascórbico), além de estudos comparativos entre o aquecimento ôhmico e o convencional na degradação desse composto.

Lima *et al.* (1999) avaliaram a influência de tratamentos convencionais e ôhmicos na degradação de vitamina C e não encontraram diferença significativa entre os mesmos. Contudo, o estudo de Assiry, Sastry e Samaranayake (2003) revelaram uma maior degradação dessa vitamina no aquecimento ôhmico do que no convencional, quando empregadas maiores tensões. Foi utilizada no experimento uma solução tampão com pH em torno de 3,5, acrescida de ácido ascórbico. Esses autores verificaram que, além da degradação pela ação da temperatura, durante o aquecimento ôhmico ocorre degradação eletroquímica devido às reações nos eletrodos. Em um sistema agitado, como o utilizado no presente trabalho, os produtos dessas reações se espalham por todo o sistema, tornando essa forma de degradação bastante significativa. Entre as reações eletroquímicas, são as de maior importância a eletrólise da água, que tem como produtos hidrogênio e oxigênio e a corrosão dos eletrodos, que pode ocorrer pela oxidação direta dos metais ou pela geração eletroquímica de produtos corrosivos. As reações eletrolíticas são aceleradas pelo uso de altas tensões, conforme observado nos experimentos de İçier e Ilicali (2005a) e Palaniappan e Sastry (1991b).

As antocianinas, assim como a vitamina C, possuem alto poder antioxidante e, portanto, se oxidam facilmente (Skrede, Wrolstad e Durst, 2000). A natureza insaturada da estrutura das antocianinas as torna suscetíveis ao oxigênio molecular (Fennema, 2010). Portanto, é provável que reações similares ocorram com as antocianinas presentes na polpa de mirtilo, podendo esta, ser a explicação para o comportamento observado.

Ruan *et al.* (2002) mostraram que a possibilidade de ocorrência de reações eletroquímicas deve sempre ser levada em conta quando são utilizadas frequências na faixa de 50 ou 60 Hz; particularmente, a dissolução de eletrodos metálicos. İçier e Ilicali (2005a) concluíram que a escolha de revestimentos inertes para os eletrodos e o uso de altas frequências previnem a ocorrência de reações eletroquímicas. Testes realizados em equipamentos comerciais usando frequências acima de 100 kHz não detectaram hidrólise metálica (Ruan *et al.*, 2002).

De acordo com Patras *et al.* (2010), que realizaram uma recente revisão sobre a degradação das antocianinas com base nas pesquisas até agora disponíveis na literatura, não é possível prever o efeito dos tratamentos térmicos na retenção de antocianinas. A degradação deve ser avaliada em cada caso, até que um consenso seja atingido.

4.5 Conclusões

Este capítulo objetivou a construção de um sistema de aquecimento ôhmico para tratamento térmico de alimentos, além da avaliação dos aquecimentos ôhmico e convencional na degradação das antocianinas da polpa de mirtilo.

O sistema de aquecimento ôhmico teve desempenho satisfatório. A validação das três células ôhmicas construídas foi aceitável. A célula ôhmica #3 não apresentou os problemas inicialmente observados, formação de bolhas e diferença de temperatura em seu interior. A máxima diferença de temperatura obtida foi de 3,76 °C e a condutividade elétrica da polpa apresentou comportamento linear durante todo o aquecimento e não foram observadas bolhas.

A degradação de antocianinas do mirtilo variou entre 5,71 e 14,67% na faixa de tensão e concentração de sólidos estudada. O planejamento experimental, realizado a fim de determinar a influência da tensão e do teor de sólidos totais na degradação, demonstrou que apenas a tensão exerce efeito significativo sobre a variável de resposta. O modelo que relaciona a tensão à degradação apresentou coeficiente de determinação 0,817 e erro médio de 9,68 %. A análise de regressão realizada foi considerada significativa através do teste F.

O tratamento térmico convencional apresentou degradação intermediária às obtidas no aquecimento ôhmico. A degradação das antocianinas foi maior no tratamento convencional do que no ôhmico quando foram aplicadas tensões baixas. Entretanto, a degradação foi menor no tratamento convencional quando comparado ao ôhmico, quando foram utilizadas tensões altas. A aplicação do aquecimento ôhmico para tratamento térmico de alimentos deve ser analisada para cada caso específico. Devem ser observadas as tensões e frequências utilizadas, além do material dos eletrodos, para evitar a oxidação dos compostos.

Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros

O presente trabalho teve como objetivo a construção e validação de um sistema de aquecimento ôhmico para o tratamento de polpa de mirtilo, com vistas ao estudo da degradação das antocianinas. Essa degradação foi a variável de resposta de um planejamento composto central 2², no qual foi investigado o efeito da tensão (160 – 240 V) e do teor de sólidos totais (4 – 16 %).

A polpa analisada apresentou teor de sólidos totais de 17,86 % em base úmida, teor de sólidos solúveis igual a 13 °Brix e pH de 3,18 a 25 °C. A análise de antocianinas foi realizada pelas metodologias de cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando curvas padrão, e espectrometria, através do método do pH diferencial, sendo ambas validadas adequadamente.

Na análise por cromatografia líquida, verificou-se que as antocianidinas do fruto em estudo são compostas por 55 % delphinidina, 8 % cianidina, 3 % peonidina e 34 % malvidina; o teor total de antocianinas da polpa mais concentrada foi de 147,5 mg por 100 g de polpa. Os teores de antocianinas variaram entre 44,88 e 127,13 mg por 100 g de polpa para as diluições com *TST* de 4 e 16 %, respectivamente. O teor de antocianinas monoméricas, determinado pelo método do pH diferencial, foi de 126,13 mg por 100 g de amostra em base úmida para a polpa com *TST* de 16 % e decresceu até 32,95 para a polpa com *TST* de 4 %. Os desvios foram relativamente baixos para as duas metodologias, sendo que o erro obtido utilizando a cromatografia foi inferior ao erro utilizando a espectroscopia.

As propriedades físicas da polpa de mirtilo com teores de sólidos totais variando entre 4 e 16 % e na faixa de temperatura entre 30 e 80 °C foram determinadas experimentalmente

para posterior aplicação na modelagem e simulação do processo de aquecimento ôhmico. Os resultados obtidos demonstraram uma variação da massa específica entre 0,98 e 1,05 kg·m⁻³, e da condutividade elétrica entre 0,79 e 3,86 mS·cm⁻¹ nas condições descritas. Foram obtidos modelos adequados para a relação dessas variáveis com o *TST* e a temperatura.

O calor específico a uma temperatura de aproximadamente 40 °C foi de 3720,9 e 4050,4 J·kg⁻¹·°C⁻¹ para as polpas com teor de sólidos totais de 16 e 14,24 %, respectivamente. A polpa com teor total de sólidos de 16 % apresentou difusividade térmica de 1,47x10⁻⁷ m²·s⁻¹ e condutividade térmica de 0,57 W·m⁻¹·°C⁻¹ e a polpa com teor de sólidos de 14,24 % apresentou valores de difusividade e condutividade térmica de 1,51x10⁻⁷ m²·s⁻¹ e 0,64 W·m⁻¹·°C⁻¹, respectivamente. Para estas propriedades, os valores obtidos para a polpa com teor de sólidos de 14 %, não apresentaram diferença significativas dos valores tabelados para a água na mesma temperatura.

O sistema de aquecimento ôhmico construído teve desempenho satisfatório. As três células construídas foram validadas adequadamente, sendo que a célula ôhmica #3 não apresentou os problemas inicialmente observados: formação de bolhas e diferença de temperatura no seu interior. O planejamento experimental demonstrou uma variação no teor de antocianinas entre 5,71 e 14,67% nas faixas de tensão e concentração de sólidos estudadas. De acordo com a análise estatística realizada, apenas a tensão exerceu efeito significativo sobre as antocianinas, sendo que essa análise apresentou coeficiente de determinação 0,817 e erro médio de 9,68 %.

O aquecimento ôhmico, quando realizado utilizando altas tensões, apresentou níveis de degradação superiores ao aquecimento convencional. Por outro lado, quando aplicadas tensões mais baixas, a degradação de antocianinas foi inferior à apresentada pelo tratamento convencional. Portanto, a aplicação do aquecimento ôhmico para tratamento térmico de alimentos deve ser analisada para cada caso específico, levando-se em consideração as tensões e frequências utilizadas, além do material dos eletrodos, para evitar a oxidação dos compostos.

Como sugestão para trabalhos futuros propõe-se a aplicação de frequências mais altas, com o intuito de reduzir as reações de eletrólise. Essas reações liberam metais, hidrogênio e

oxigênio, que podem estar relacionados com a degradação de antocianinas observadas durante o aquecimento ôhmico.

Com relação à fonte de tensão, sugere-se uma melhoria no sistema de aquecimento ôhmico, através da aquisição de uma fonte digital. Esse equipamento permite regular com maior precisão a tensão e alterá-la de acordo com a temperatura alcançada pelo alimento. Esse controle acarretará em processos térmicos mais concisos.

No intuito de melhorar a análise de antocianinas e reduzir o erro puro obtido na aplicação do planejamento experimental, indica-se a utilização de uma matéria-prima mais homogênea. Para tal, pode ser utilizado o suco da fruta obtido utilizando um processador doméstico, ou pelos processos de prensagem ou extração enzimática.

Finalmente, outras análises utilizando aquecimento ôhmico podem contribuir para um melhor entendimento dos efeitos dessa tecnologia no produto final, tais como a análise da cinética de degradação das antocianinas - e posterior comparação com o aquecimento convencional - e análise do efeito do aquecimento ôhmico na inativação enzimática e microbiológica.

Referências Bibliográficas

ADAMS, J. B. Thermal degradation of anthocyanin with particular reference on 3 glucosides of cyanidin. In acidified aqueous solution at 100 °c. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.24, p.747-762. 1973.

ANDRES-LACUEVA, C., SHUKITT-HALE, B., GALLI, R. L., JAUREGUI, O., LAMUELA-RAVENTOS, R. M. e JOSEPH, J. A. Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory. **Nutritional Neuroscience**, v.8, p.111-120. 2005.

ANVISA. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Resolução nº 899** Brasil: Ministério da Saúde 2003.

AOAC. **Official method 932.12**. Gaithersburg, Estados Unidos. 2000a

AOAC. **Official method 934.06**. Gaithersburg, Estados Unidos. 2000b

AOAC. **Official method 950.28**. Gaithersburg, Estados Unidos. 2000c

AOAC. **Official method 981.12**. Gaithersburg, Estados Unidos. 2000d

ASEN, S., STEWART, R. N. e NORRIS, K. H. Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. **Phytochemistry**, v.11, n.3, p.1139-1144. 1972.

ASEN, S., STEWART, R. N., NORRIS, K. H. e MASSIE, D. R. A stable blue non-metallic co-pigment complex of delphanin and c-glycosylflavones in prof. Blaauw iris. **Phytochemistry**, v.9, n.3, p.619-627. 1970.

ASSIRY, A., SASTRY, S. K. e SAMARANAYAKE, C. Degradation kinetics of ascorbic acid during ohmic heating with stainless steel electrodes. **Journal of Applied Electrochemistry** v.33, p.187-196. 2003.

AYALA, F. D. L. J. **Amora-framboesa-groselha-kiwi-mirtilo e sua comercialização**. Porto Alegre: Cinco Continentes. 1999. 57 p.

AZOUBEL, P. M., CIPRIANI, D. C., EL-AOUAR, Â. A., ANTONIO, G. C. e MURR, F. E. X. Effect of concentration on the physical properties of cashew juice. **Journal of Food Engineering**, v.66, n.4, p.413-417. 2005.

BAGCHI, D., GARG, A., KROHN, R. L., BAGCHI, M., BAGCHI, D. J., BALMOORI, J. e STOHS, S. J. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against tpa-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. **General Pharmacology**, v.30, n.5, p.771-776. 1998.

- BAĪRI, A., LARAQI, N. e DE MARÍA, J. M. G. Determination of thermal diffusivity of foods using 1d fourier cylindrical solution. **Journal of Food Engineering**, v.78, n.2, p.669-675. 2007.
- BON, J., VÁQUIRO, H., BENEDITO, J. e TELIS-ROMERO, J. Thermophysical properties of mango pulp (mangifera indica l. Cv. Tommy atkins). **Journal of Food Engineering**, v.97, n.4, p.563-568. 2010.
- BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.52, n.2, June 1, 2001, p.67-87. 2001.
- BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v.56, n.11, p.317-333. 1998.
- BROWNMILLER, C., HOWARD, L. R. e 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.H72-H79. 2008.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A., PACHECO-HERNÁNDEZ, M. D. L., PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E., RODRÍGUEZ, J. A. e GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v.113, n.4, p.859-871. 2009.
- CASTRO, I., TEIXEIRA, J. A., SALENGKE, S., SASTRY, S. K. e VICENTE, A. A. The influence of field strength, sugar and solid content on electrical conductivity of strawberry products. **Journal of Food Process Engineering**, v.26, n.1, p.17-29. 2003.
- CEPEDA, E. e VILLARÁN, M. C. Density and viscosity of malus floribunda juice as a function of concentration and temperature. **Journal of Food Engineering**, v.41, n.2, p.103-107. 1999.
- CLIFFORD, M. N. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n.7, p.1063-1072. 2000.
- COIMBRA, J. S. R., GABAS, A. L., MINIM, L. A., GARCIA ROJAS, E. E., TELIS, V. R. N. e TELIS-ROMERO, J. Density, heat capacity and thermal conductivity of liquid egg products. **Journal of Food Engineering**, v.74, n.2, p.186-190. 2006.
- CONSTENLA, D. T., LOZANO, J. E. e CRAPISTE, G. H. Thermophysical properties of clarified apple juice as a function of concentration and temperature. **Journal of Food Science**, v.54, n.3, p.663-668. 1989.
- COUTINHO, E. F. e FLORES, R. F. Conservação pós-colheita. In: M. D. C. B. Raseira e L. E. C. Antunes (Ed.). *A cultura do mirtilo*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. Conservação pós-colheita, p.67
- DA COSTA, C. T., HORTON, D. e MARGOLIS, S. A. Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v.881, n.1-2, p.403-410. 2000.

DAVIES, A. J. e MAZZA, G. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, n.5, p.716-720. 1993.

DAVIES, L. J., KEMP, M. R. e FRYER, P. J. The geometry of shadows: Effects of inhomogeneities in electrical field processing. **Journal of Food Engineering**, v.40, n.4, p.245-258. 1999.

DE ALWIS, A. A. P. e FRYER, P. J. A finite-element analysis of heat generation and transfer during ohmic heating of food. **Chemical Engineering Science**, v.45, n.6, p.1547-1559. 1990.

DURST, R. W. e WROLSTAD, R. E. **Separation and characterization of anthocyanins by hplc**: John Wiley & Sons, Inc. 2001 (Current protocols in food analytical chemistry)

DUTHIE, G. G., DUTHIE, S. J. e KYLE, J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: Implications as nutritional antioxidants. **Nutrition Research Reviews**, v.13, n.01, p.79-106. 2000.

DYRBY, M., WESTERGAARD, N. e STAPELFELDT, H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. **Food Chemistry**, v.72, n.4, p.431-437. 2001.

FACHINELLO, J. C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.286-576. 2008.

FDA. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies - ohmic and inductive heating: 9 p. 2000.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. 1988. 575 p.

FENNEMA, O. R. **Food chemistry**: CRC Press. 2010. 1144 p.

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

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

GALLETTA, G. J. e BALLINGTON, J. R. I. J. Blueberry, cranberries, and lingonberries. In: J. Janick e J. N. Moore (Ed.). **Fruit breeding**. New york: John Wiley & Sons, 1996. Blueberry, cranberries, and lingonberries, p.108

GAO, L. e MAZZA, G. Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. **Journal of Food Science**, v.59, n.5, p.1057-1059. 1994.

GHNIMI, S., FLACH-MALASPINA, N., DRESCH, M., DELAPLACE, G. e MAINGONNAT, J. F. Design and performance evaluation of an ohmic heating unit for thermal processing of highly viscous liquids. **Chemical Engineering Research and Design**, v.86, n.6, p.626-632. 2008.

- GIUSTI, M. M. e WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy. In: (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**: John Wiley & Sons, Inc, 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy
- GOULLIEUX, A. e PAIN, J.-P. Ohmic heating. In: D.-W. Sun (Ed.). **Emerging technologies for food processing**. Italy: Elsevier Academic Press, 2005. Ohmic heating, p.549
- GRACE, M. H., RIBNICKY, D. M., KUHN, P., POULEV, A., LOGENDRA, S., YOUSEF, G. G., RASKIN, I. e LILA, M. A. Hypoglycemic activity of a novel anthocyanin-rich formulation from lowbush blueberry, *vaccinium angustifolium aiton*. **Phytomedicine**, v.16, n.5, p.406-415. 2009.
- HAGIWARA, A., MIYASHITA, K., NAKANISHI, T., SANO, M., TAMANO, S., KADOTA, T., KODA, T., NAKAMURA, M., IMAIDA, K., ITO, N. e SHIRAI, T. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (phip)-associated colorectal carcinogenesis in male f344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. **Cancer Letters**, v.171, n.1, p.17-25. 2001.
- HÄKKINEN, S. H. e TÖRRÖNEN, A. R. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *vaccinium* species: Influence of cultivar, cultivation site and technique. **Food Research International**, v.33, n.6, p.517-524. 2000.
- HALDEN, K., DE ALWIS, A. A. P. e FRYER, P. J. Changes in the electrical conductivity of foods during ohmic heating. **International Journal of Food Science & Technology**, v.25, n.1, p.9-25. 1990.
- HAVLÍKOVÁ, L. e MÍKOVÁ, K. Heat stability of anthocyanins. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, v.181, n.5, p.427-432. 1985.
- HAYES, C. F. Thermal diffusivity of papaya fruit (*carica papaya* L., var. Solo). **Journal of Food Science**, v.49, n.4, p.1219-1219. 1984.
- HERTER, F. G. e WREGGE, M. S. Fatores climáticos. In: M. C. R. Raseira e L. E. C. Antunes (Ed.). **A cultura do mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. Fatores climáticos, p.67
- HWANG, M. P. e HAYAKAMA, K. A specific heat calorimeter for foods. **Journal of Food Science**, v.44, n.2, p.435-438 e 448. 1979.
- IACOBUCCI, G. A. e SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins and related flavylum salts. **Tetrahedron**, v.39, n.19, p.3005-3038. 1983.
- ICIER, F. e ILICALI, C. Electrical conductivity of apple and sourcherry juice concentrates during ohmic heating. **Journal of Food Process Engineering**, v.27, n.3, p.159-180. 2004.
- IÇIER, F. e ILICALI, C. Electrical conductivity of apple and sourcherry juice concentrates during ohmic heating. **Journal of Food Process Engineering**, v.27, n.3, p.159-180. 2004.

IÇIER, F. e ILICALI, C. Temperature dependent electrical conductivities of fruit purees during ohmic heating. **Food Research International**, v.38, n.10, p.1135-1142. 2005a.

IÇIER, F. e ILICALI, C. The use of tylose as a food analog in ohmic heating studies. **Journal of Food Engineering**, v.69, n.1, p.67-77. 2005b.

IÇIER, F., YILDIZ, H. e BAYSAL, T. Peroxidase inactivation and colour changes during ohmic blanching of pea puree. **Journal of Food Engineering**, v.74, n.3, p.424-429. 2006.

IÇIER, F., YILDIZ, H. e BAYSAL, T. Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice. **Journal of Food Engineering**, v.85, n.3, p.410-417. 2008.

IMAI, T., UEMURA, K., ISHIDA, N., YOSHIZAKI, S. e NOGUCHI, A. Ohmic heating of japanese white radish raphanus sativus l. **International Journal of Food Science & Technology**, v.30, n.4, p.461-472. 1995.

ITALBRAZ. Tabela nutricional do mirtilo. 2010 2010.

JACKMAN, R. L., YADA, R. Y., TUNG, M. A. e SPEERS, R. A. Anthocyanins as food colorants - a review. **Journal of Food Biochemistry**, v.11, n.3, p.201-247. 1987.

JIMENEZ, N., BOHUON, P., LIMA, J., DORNIER, M., VAILLANT, F. e PÉREZ, A. M. Kinetics of anthocyanin degradation and browning in reconstituted blackberry juice treated at high temperatures (100–180 °C). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.4, p.2314-2322. 2010.

KADER, F., NICOLAS, J.-P. e METCHE, M. Degradation of pelargonidin 3-glucoside in the presence of chlorogenic acid and blueberry polyphenol oxidase. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, n.4, p.517-522. 1999.

KADER, F., ROVEL, B., GIRARDIN, M. e METCHE, M. Fractionation and identification of the phenolic compounds of highbush blueberries (*vaccinium corymbosum*, l.). **Food Chemistry**, v.55, n.1, p.35-40. 1996.

KADER, F., ROVEL, B., GIRARDIN, M. e METCHE, M. Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*vaccinium corymbosum* l). Role of blueberry polyphenol oxidase, chlorogenic acid and anthocyanins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, n.1, p.31-34. 1997.

KALT, W. e DUFOUR, D. Health functionality of blueberries. **HortTechnology**, v.7, p.216-221. 1997.

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

- KALT, W., MCDONALD, J. E., RICKER, R. D. e LU, X. Anthocyanin content and profile within and among blueberry species. **Canadian Journal of Plant Science**, v.79, n.4, p.617-623. 1999.
- KAMEI, H., HASHIMOTO, Y., KOIDE, T., KOJIMA, T. e HASEGAWA, M. Anti-tumor effect of methanol extracts from red and white wines. **Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals**, v.13, n.6, p.447-452. 1998.
- KIM, H. J., CHOI, I. M., YANG, T. C. S., TAUB, I. A., TEMPEST, P., SKUDDER, P. J., TUCKER, G. e PARROTT, D. L. Validation of ohmic heating for quality enhancement of food products. **Food Technology**, v.50, p.253-261. 1996.
- KIM, S. S. e BHOWMIK, S. R. Thermophysical properties of plain yogurt as functions of moisture content. **Journal of Food Engineering**, v.32, n.1, p.109-124. 1997.
- KIRCA, A., ÖZKAN, M. e CEMEROGLU, B. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. **Food Chemistry**, v.97, n.4, p.598-605. 2006.
- KIRCA, A., ÖZKAN, M. e CEMEROGLU, B. Effects of temperature, solid content and ph on the stability of black carrot anthocyanins. **Food Chemistry**, v.101, n.1, p.212-218. 2007.
- KNIRSCH, M. C., ALVES DOS SANTOS, C., MARTINS DE OLIVEIRA SOARES VICENTE, A. A. e VESSONI PENNA, T. C. Ohmic heating - a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.21, n.9, p.436-441. 2010.
- KONCZAK, I. e ZHANG, W. Anthocyanins - more than nature's colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.2004, n.5, p.239-240. 2004.
- KOTECHA, P. M. e MADHAVI, D. L. Berries. In: D. K. Salunkhe e S. S. Kadam (Ed.). **Handbook of fruit science and technology - production, composition, storage and processing**. New York: Marcel Dekker, 1995. Berries
- KOWALCZYK, E., KRZESINSKI, P., KURA, M., SZMIGIEL, B. e BLASZCZYK, J. Anthocyanins in medicine. **Polish Journal of Pharmacology**, v.55, p.699-702. 2003.
- LEE, J., DURST, R. W. e WROLSTAD, R. E. Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: Comparison of two pretreatments. **Journal of Food Science**, v.67, n.5, p.1660-1667. 2002.
- LEE, J., DURST, R. W. e WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the ph differential method: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.88, n.5, p.1269-1278. 2005.
- LEE, J., FINN, C. E. e WROLSTAD, R. E. Comparison of anthocyanin pigment and other phenolic compounds of *vaccinium membranaceum* and *vaccinium ovatum* native to the pacific northwest of north america. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.23, p.7039-7044. 2004.

- LEE, J., RENNAKER, C. e WROLSTAD, R. E. Correlation of two anthocyanin quantification methods: Hplc and spectrophotometric methods. **Food Chemistry**, v.110, n.3, p.782-786. 2008.
- LEWIS, M. e HEPPELL, N. **Continuous thermal processing of foods: Pasteurization and uht sterilization**. Maryland: Aspen Publishers, Inc. 2000. 465 p.
- LIMA, M., HESKITT, B. F., BURIANEK, L. L., NOKES, S. E. e SASTRY, S. K. Ascorbic acid degradation kinetics during conventional and ohmic heating. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.23, n.5, p.421-443. 1999.
- LIMA, V. L. A. G. D., PINEIRO, I. O., NASCIMENTO, M. S. D., GOMES, P. B. e GUERRA, N. B. Identificação de antocianidinas em acerolas do banco ativo de germoplasma da universidade federal rural de pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p.927-935. 2006.
- MADAIL, J. C. M. e SANTOS, A. M. D. Aspectos econômicos. In: M. D. C. B. Raseira e L. E. C. Antunes (Ed.). **A cultura do mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. Aspectos econômicos, p.67
- MARTÍ, N., PÉREZ-VICENTE, A. e GARCÍA-VIGUERA, C. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.82, n.2, p.217-221. 2002.
- MARYBETH, L., BRIAN F, H., LINDA L, B., SUE E, N. e SUDHIR K, S. Ascorbic acid degradation kinetics during conventional and ohmic heating. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.23, n.5, p.421-443. 1999.
- MAZZA, G. e BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v.25, p.207-225. 1987.
- MAZZA, G. e MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Boca Raton: CRC Press Inc. 1993. 362 p.
- MCCONNELL, S. V. e OLSSON, R. P. Wiener vending machine. U. S. P. Office. Estados Unidos: 9 p. 1938.
- MINIM, L. A., COIMBRA, J. S. R. e MINIM, V. P. R. I. Influence of temperature and water and fat contents on the thermophysical properties of milk. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v.47, p.1488-1491. 2002.
- MONTEIRO, S. Fruta para beber. **Frutas e Derivados**, n.1, 2006.
- MORAIS, H., RAMOS, C., FORGÁCS, E., CSERHÁTI, T. e OLIVIERA, J. Influence of storage conditions on the stability of monomeric anthocyanins studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v.770, n.1-2, p.297-301. 2002.

- MOURA, S. C. S. R., FRANÇA, V. C. L. e LEAL, A. M. C. B. Propriedades termofísicas de soluções modelo similares a sucos - parte i. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.1, p.62-68. 2003.
- MOURA, S. C. S. R. D., GERMER, S. P. M., JARDIM, D. C. P. e SADAHIRAS, M. S. Thermophysical properties of tropical fruit juices. **Brazilian journal of food technology**, v.1, n.1-2, p.70-76. 1998.
- MOURA, S. C. S. R. D., VITALI, A. A. e HUBINGER, M. D. A study of water activity and electrical conductivity in fruit juices: Influence of temperature and concentration. **Brazilian journal of food technology**, v.2, n.1-2, p.31-38. 1999.
- MOYER, R. A., HUMMER, K. E., FINN, C. E., FREI, B. e WROLSTAD, R. E. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: □ Vaccinium, rubus, and ribes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.3, p.519-525. 2001.
- NETO, B. B., SCARMINIO, I. S. e BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**: Editora Unicamp. 1995. 299 p.
- NICHENAMETLA, S. N., TARUSCIO, T. G., BARNEY, D. L. e EXON, J. H. A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.46, p.161-183. 2006.
- NICOLAÏ, B. M., VERBOVEN, P. e SCHEERLINCK, N. Modelling and simulation of thermal processes. In: P. Richardson (Ed.). **Thermal technologies in food processing**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2001. Modelling and simulation of thermal processes, p.294
- NICOLAS, J. J., RICHARD-FORGET, F. C., GOUPY, P. M., AMIOT, M. J. e AUBERT, S. Y. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.34, n.109-157. 1994.
- NYMAN, N. A. e KUMPULAINEN, J. T. Determination of anthocyanidins in berries and red wine by high-performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.9, p.4183-4187. 2001.
- OCHOA, M. R., KESSELER, A. G., VULLIOUD, M. B. e LOZANO, J. E. Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: Storage effect on composition and color. **LWT - Food Science and Technology**, v.32, n.3, p.149-153. 1999.
- OHLSSON, T. e BENGTSSON, N. Minimal processing of foods with thermal methods. In: T. Ohlsson e N. Bengtsson (Ed.). **Minimal processing technologies in the food industry**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited 2002. Minimal processing of foods with thermal methods, p.288
- OLIVEIRA, C., AMARO, L. F., PINHO, O. e FERREIRA, I. Cooked blueberries: Anthocyanin and anthocyanidin degradation and their radical-scavenging activity **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.16, p.9009-9012. 2010.

PAGOT, E. **Cultivo de pequenas frutas: Amora-preta, framboesa, mirtilo**. Porto Alegre: EMATER/RS - ASCAR. 2006. 41 p.

PAGOT, E. e HOFFMAN, A. **Produção de pequenas frutas no Brasil**. 1º Seminário Brasileiro sobre Pequenas Frutas. Bento Gonçalves, 2003. 64 p.

PALANIAPPAN, S. e SASTRY, S. K. Electrical conductivities of selected solid foods during ohmic heating. **Journal of Food Process Engineering**, v.14, n.3, p.221-236. 1991a.

PALANIAPPAN, S. e SASTRY, S. K. Electrical conductivity of selected juices: Influences of temperature, solids content, applied voltage, and particle size. **Journal of Food Process Engineering**, v.14, n.4, p.247-260. 1991b.

PATRAS, A., BRUNTON, N. P., O'DONNELL, C. e TIWARI, B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, v.21, n.1, p.3-11. 2010.

PELACANI, V. P. e VIEIRA, J. A. G. Condutividade elétrica do suco de manga. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.14, n.1, p.43-45. 2003.

PEREIRA, B. Processamento agrega valor. **Frutas e Derivados**, n.3, 2006.

PEREIRA, E. A., QUEIROZ, A. J. M. e FIGUEIRÊDO, R. M. F. Massa específica de polpa de açaí em função do teor de sólidos totais e da temperatura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, p.526-530. 2002.

PIETTE, G., BUTEAU, M. L., DE HALLEUX, D., CHIU, L., RAYMOND, Y., RAMASWAMY, H. S. e DOSTIE, M. Ohmic cooking of processed meats and its effects on product quality. **Journal of Food Science**, v.69, n.2, p.fep71-fep78. 2004.

PIFFAUT, B., KADER, F., GIRARDIN, M. e METCHE, M. Comparative degradation pathways of malvidin 3,5-diglucoside after enzymatic and thermal treatments. **Food Chemistry**, v.50, n.2, p.115-120. 1994.

POLTRONIERI, E. **Alternativas para o mercado interno de pequenas frutas**. 1º Seminário Brasileiro sobre Pequenas Frutas. Bento Gonçalves, 2003. 64 p.

PRIOR, R. L., CAO, G., MARTIN, A., SOFIC, E., MCEWEN, J., O'BRIEN, C., LISCHNER, N., EHLENFELDT, M., KALT, W., KREWER, G. e MAINLAND, C. M. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of vaccinium species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.7, p.2686-2693. 1998.

QIHUA, T., JINDAL, V. K. e VAN WINDEN, J. Design and performance evaluation of an ohmic heating unit for liquid foods. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.9, n.3, p.243-253. 1993.

- QUEIROZ, F., OLIVEIRA, C., PINHO, O. V. e FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Degradation of anthocyanins and anthocyanidins in blueberry jams/stuffed fish. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.22, p.10712-10717. 2009.
- RAHMAN, S. **Food properties handbook** New York: CRC Press. 1995. 500 p.
- RAMASWAMY, H. S. e CHEN, C. R. Maximising the quality of thermally processed fruits and vegetables. In: W. Jongen (Ed.). **Fruit and vegetable processing**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2002. Maximising the quality of thermally processed fruits and vegetables, p.206-248
- RAMIREZ, M. R., IZQUIERDO, I., RASEIRA, M. C. B., ZUANAZZI, J. Â., BARROS, D. e HENRIQUES, A. T. Effect of lyophilised vaccinium berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. **Pharmacological Research**, v.52, n.6, p.457-462. 2005.
- RAMOS, A. M. e IBARZ, A. Density of juice and fruit puree as a function of soluble solids content and temperature **Journal of Food Engineering**, v.35, p.57-63. 1998.
- RASEIRA, M. C. B. Classificação botânica, descrição da planta, melhoramento genético e cultivares. In: M. C. R. Raseira e L. E. C. Antunes (Ed.). **A cultura do mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. Classificação botânica, descrição da planta, melhoramento genético e cultivares, p.67
- ROBARDS, K. e ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids a review. **Analyst**, v.122, n.2, p.11R-34R. 1997.
- RODRIGUES, M. I. e IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. Campinas: Casa do Pão Editora. 2005. 324 p.
- RODRIGUEZ-SAONA, L. E. e WROLSTAD, R. E. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. In: (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**: John Wiley & Sons, Inc., 2001. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins
- RUAN, R., YE, X., CHEN, P. e DOONA, C. J. Ohmic heating. In: P. Richardson (Ed.). **Thermal technologies in food processing**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2001. Ohmic heating, p.165-241
- RUAN, R., YE, X., CHEN, P., DOONA, C. J. e TAUB, I. Ohmic heating. In: C. J. K. Henry e C. Chapman (Ed.). **The nutrition handbook for food processors**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2002. Ohmic heating, p.407-422
- SADILOVA, E., STINTZING, F. C. e CARLE, R. Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. **Journal of Food Science**, v.71, n.8, p.C504-C512. 2006.
- SALENGKE, S. e SASTRY, S. K. Experimental investigation of ohmic heating of solid-liquid mixtures under worst-case heating scenarios. **Journal of Food Engineering**, v.83, n.3, p.324-336. 2007.

- SALGADO, J. M. **O emprego de amora, framboesa, mirtilo e morango na redução do risco de doenças**. 1º Seminário Brasileiro sobre Pequenas Frutas. Bento Gonçalves, 2003. 64 p.
- SANTOS, A. M., UENO, B., JUNIOR, C. R., FREIRE, C. J. S., GONÇALVES, E. D., COUTINHO, E. F., HERTER, F. G., MADAIL, J. C. M., PEREIRA, J. F. M., ANTUNES, L. E. C., WREGE, M. S., RASEIRA, M. C. B., RISTOW, N. C., TREVISAN, R. e CANTILLANO, R. F. F. Sistema de produção do mirtilo: Embrapa Clima Temperado 2007.
- SARANG, S., SASTRY, S. K. e KNIPE, L. Electrical conductivity of fruits and meats during ohmic heating. **Journal of Food Engineering**, v.87, n.3, p.351-356. 2008.
- SASTRY, S. e PALANIAPPAN, S. Mathematical modeling and experimental studies on ohmic heating of liquid-particle mixtures in a static heater. **Journal of Food Process Engineering** v.15, n.4, p.241-261. 1992a.
- SASTRY, S. K. A model for heating of liquid-particle mixtures in a continuous flow ohmic heater. **Journal of Food Process Engineering** v.15, p.263-278. 1992.
- SASTRY, S. K. e BARACH, J. T. Ohmic and inductive heating. **Journal of Food Science, Supplement**, v.65, n.4, p.42-46. 2000.
- SASTRY, S. K. e PALANIAPPAN, S. Ohmic heating of liquid-particle mixtures. **Food Technology**, v.46, p.64-67. 1992b.
- SASTRY, S. K. e SALENGKE, S. Ohmic heating of solid-liquid mixtures: A comparison of mathematical models under worst-case heating conditions. **Journal of Food Process Engineering**, v.21, n.6, p.441-458. 1998.
- SCHADE, A. L. Prevention of enzymatic discoloration of potatoes. U. S. P. Office. Estados Unidos: 9 p. 1951.
- SCHEFFELDT, P. e HRAZDINA, G. Co-pigmentation of anthocyanins under physiological conditions. **Journal of Food Science**, v.43, n.2, p.517-520. 1978.
- SCHMIDT, B. M., ERDMAN, J. W. e LILA, M. A. Effects of food processing on blueberry antiproliferation and antioxidant activity. **Journal of Food Science**, v.70, n.6, p.S389-S394. 2005.
- SEERAM, N. P. Berry fruits: Compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.627-629. 2008.
- SEERAM, N. P., BOURQUIN, L. D. e NAIR, M. G. Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.10, p.4924-4929. 2001.

- SEERAM, N. P., ZHANG, Y. e NAIR, M. G. Inhibition of proliferation of human cancer cell lines and cyclooxygenase enzymes by anthocyanidins and catechins. **Nutrition and Cancer**, v.46, p.101-106. 2003.
- SHAHIDI, F. e NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**. Boca Raton: CRC Press. 2004. 563 p.
- SHUKITT-HALE, B., CAREY, A. N., JENKINS, D., RABIN, B. M. e JOSEPH, J. A. Beneficial effects of fruit extracts on neuronal function and behavior in a rodent model of accelerated aging. **Neurobiology of Aging**, v.28, p.1187-1194. 2007.
- SIMARELLI, M. Frutas do brasil. **Frutas e Derivados**, n.1, 2006.
- SINGH, R. P. Thermal diffusivity in food processing. **Food Technology**, v.36, p.87-91. 1982.
- SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J. e CROUCH. **Fundamentos de química analítica**: Thomson. 2005. 1124 p.
- SKREDE, G., WROLSTAD, R. E. e DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*vaccinium corymbosum*). **Journal of Food Science**, v.65, n.2, p.357-364. 2000.
- SOOJIN, J. e SASTRY, S. K. Modeling and optimization of ohmic heating of foods inside a flexible package. **Journal of Food Process Engineering**, v.28, n.4, p.417-436. 2005.
- SOUSA, M. B. **Mirtilo: Qualidade pós-colheita**. Portugal. 2007
- SOUZA, D. **Estudo das propriedades físicas de polpas e néctares de pequenos frutos**. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. 171 p.
- TELIS-ROMERO, J., TELIS, V. R. N., GABAS, A. L. e YAMASHITA, F. Thermophysical properties of brazilian orange juice as affected by temperature and water content. **Journal of Food Engineering**, v.38, n.1, p.27-40. 1998.
- TUCKER, G. S. Food waste management and value-added products. **Journal of Food Science**, v.69, n.3, p.CR102-CR104. 2004.
- TULSIYAN, P., SARANG, S. e SASTRY, S. K. Electrical conductivity of multicomponent systems during ohmic heating. **International Journal of Food Properties**, v.11, n.1, p.233-241. 2008.
- URBICAIN, M. J. e LOZANO, J. E. Thermal and rheological properties of foodstuffs. In: K. J. Valentas, E. Rotstein e R. P. Singh (Ed.). **Handbook of food engineering practice**. New York: CRC Press LLC, 1997. Thermal and rheological properties of foodstuffs, p.698
- USHBC. Bountiful blueberries. **Food Technology**, n.7, 2009.
- USHBC. North american highbush blueberry market situation. **Food Technology** 2010.

VAMOS-VIGYAZO, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.15, p.49-127. 1981.

VIZZOTO, M. e PEREIRA, M. C. **Metodologia científica: Otimização de processo de extração de compostos fenólicos antioxidantes de mirtilo (vaccinium ashei reade)**. Embrapa Clima Temperado. Pelotas. 2009

VOLDEN, J., BORGE, G. I. A., BENGTSSON, G. B., HANSEN, M., THYGESEN, I. E. e WICKLUND, T. Effect of thermal treatment on glucosinolates and antioxidant-related parameters in red cabbage (*brassica oleracea* l. Ssp. *Capitata* f. *Rubra*). **Food Chemistry**, v.109, n.3, p.595-605. 2008.

VUONG, T., BENHADDOU-ANDALOUSSI, A., BRAULT, A., HARBILAS, D., MARTINEAU, L. C., VALLERAND, D., RAMASSAMY, C., MATAR, C. e HADDAD, P. S. Antiobesity and antidiabetic effects of biotransformed blueberry juice in kka mice. **International Journal of Obesity**, v.33, n.10, p.1166-1173. 2009.

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

WROLSTAD, R. E. e DURST, R. W. **Use of anthocyanin and polyphenolic analysis in authenticating fruit juices**. Proceedings of fruit authenticity workshop. Montreal, 1999. 79-86 p.

WROLSTAD, R. E., PUTNAM, T. P. e VARSEVELD, G. W. Color quality of frozen strawberries: Effect of anthocyanin, ph, total acidity and ascorbic acid variability. **Journal of Food Science**, v.35, n.4, p.448-452. 1970.

WU, X., BEECHER, G. R., HOLDEN, J. M., HAYTOWITZ, D. B., GEBHARDT, S. E. e PRIOR, R. L. Concentrations of anthocyanins in common foods in the united states and estimation of normal consumption **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.4069-4075. 2006.

WU, X., GU, L., PRIOR, R. L. e MCKAY, S. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of ribes, aronia, and sambucus and their antioxidant capacity **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52. 2004.

YÚFERA, E. P. **Química de los alimentos**. Madri: Editorial Sintesis. 1998. 461 p. (Tecnología bioquímica de los alimentos)

ZAINAL, B. S., RAHMAN, A. R., ARIFF, A. B., SAARI, B. N. e ASBI, B. A. Effects of temperature on the physical properties of pink guava juice at two different concentrations. **Journal of Food Engineering**, v.43, n.1, p.55-59. 2000.

ZHENG, W. e WANG, S. Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.2, p.502-509. 2002.

ZOLTAI, P. e SWEARINGEN, P. Product development considerations for ohmic processing. **Food Technology**, v.50, p.263-266. 1996.

ZURITZ, C. A., PUNTES, E. M., MATHEY, H. H., PÉREZ, E. H., GASCÓN, A., RUBIO, L. A., CARULLO, C. A., CHERNIKOFF, R. E. e CABEZA, M. S. Density, viscosity and coefficient of thermal expansion of clear grape juice at different soluble solid concentrations and temperatures. **Journal of Food Engineering**, v.71, n.2, p.143-149. 2005.