



SAMANTHA PEREIRA NUNES

**IRRADIAÇÃO GAMA E UV-C NA QUALIDADE
PÓS-COLHEITA DE MIRTILO**

**LAVRAS – MG
2015**

SAMANTHA PEREIRA NUNES

**IRRADIAÇÃO GAMA E UV-C NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA
DE MIRTILO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima

LAVRAS – MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo (a) próprio (a) autor (a).

Nunes, Samantha Pereira.

Irradiação gama e UV - C na qualidade pós-colheita de mirtilo /
Samantha Pereira Nunes. – Lavras: UFLA, 2015.

94 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico) – Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador (a): Luiz Carlos de Oliveira Lima.

Bibliografia.

1. Compostos fenólicos. 2. Antocianinas. 3. Compostos
bioativos. 4. Vaccinium ashei Reade. 5. Atividade antioxidante.

I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

SAMANTHA PEREIRA NUNES

**IRRADIAÇÃO GAMA E UV-C NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA
DE MIRTILO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 07 de abril de 2015.

Dra. Juliana Mesquita Freire	UFLA
Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho	UFLA
Dra. Patrícia de Fátima Pereira Goulart	UNILAVRAS

Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima
Orientador

**LAVRAS – MG
2015**

Aos meus pais, Sebastião e Maria Farides, exemplos de vida e dedicação, que são os responsáveis por tudo o que sou e às minhas irmãs Sabrina e Simone, que sempre me apoiaram.

Com todo o meu amor e admiração, **DEDICO**.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me abençoa em todas as minhas escolhas, que dá força para enfrentar com determinação as dificuldades e que me ilumina colocando sempre pessoas maravilhosas no meu caminho.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Luiz Carlos de Oliveira Lima, pela orientação, confiança depositada e amizade, que muito me ensinou e aconselhou, sempre paciente e compreensivo.

À professora Michelle Frazão Muzitano, por ter me recebido com tanta atenção no Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro – *Campus* Macaé, para realização das análises por cromatografia líquida de alta eficiência, sempre me orientando.

Ao professor Thiago Barth da Universidade Federal do Rio de Janeiro – *Campus* Macaé, por toda a disponibilidade e pela confiança deposita em mim para realizar minhas análises cromatográficas. Pelos ensinamentos sempre com muita atenção e paciência, que foram imprescindíveis para realização deste trabalho.

Aos membros da banca Juliana, Elisângela e Patrícia, pela colaboração e contribuição para melhoria deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Ciência dos Alimentos pelos ensinamentos, que contribuíram muito para minha formação profissional.

Ao meu amado pai, que sempre me incentivou com toda a sua paciência e amor, que nunca mediu esforços para me ajudar a alcançar meus objetivos e graças a seu apoio pude realizar mais esse sonho.

À minha querida mãe, por todo seu carinho e preocupação e que me ajudou a vencer mais essa batalha.

Às minhas irmãs Sabrina e Simone, pela amizade e confiança, pelas longas conversas. Pela paciência quando eu ligava à noite para conversar e por todo o carinho e amor que sempre me deram.

Ao Franco, que me entende como ninguém, pelas doses diárias de companheirismo, amizade, alegria e amor.

Ao meu cunhado Jean que sempre esteve ao meu lado pronto para ajudar e incentivar nos momentos necessários.

A toda minha família, que torce e vibra com as minhas vitórias. E também à família do meu namorado, que sempre me apoia.

À Rita que me acolheu com tanto carinho e sempre se disponibilizou para me ajudar nas análises do laboratório e que se tornou uma amiga muito querida.

À minha amiga Rafaella, que esteve sempre presente me ajudando, aconselhando e apoiando durante o mestrado. Que nunca mediu esforços para me ajudar tanto nas análises do laboratório como nas análises estatísticas e que me recebeu com tanto carinho em sua casa nessa fase final da dissertação.

Às minhas queridas amigas e companheiras Nathane, Ariela, Ana Carolina, Paola, Renata, Tatiana, Ana Clara e Heloísa que muito me auxiliaram e contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, e também pelo convívio harmonioso e momentos de descontração. E a todos os colegas do Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças e da pós-graduação pela agradável convivência.

Aos funcionários do DCA, principalmente Tina e Aline pelo convívio, amizade, ensinamentos e auxílio sempre que necessário.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e para minha formação pessoal e profissional.

RESUMO GERAL

O mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade), ainda pouco cultivado no Brasil, tem despertado o interesse dos produtores por ser um fruto atrativo e possuir alto valor comercial. Esse pequeno fruto tem chamado a atenção de pesquisadores e consumidores por ser rico em compostos fitoquímicos, trazendo efeitos benéficos à saúde. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar, ao longo do armazenamento refrigerado, as características físico-químicas de mirtilos tratados com irradiação gama e radiação ultravioleta-C em diferentes doses, dando destaque para o efeito da irradiação no conteúdo de compostos fenólicos e antocianinas que são as principais substâncias que atribuem ao mirtilo o título de “fonte da longevidade”, já que esses compostos possuem elevado poder antioxidante. Os resultados deste trabalho mostram que para as análises de acidez, pH, sólidos solúveis, perda de massa e firmeza tanto a irradiação gama como a UV-C não provocaram efeitos significativos, apenas o tempo de armazenamento influenciou nesses parâmetros. A irradiação UV-C na dose de 4 kJ/m², utilizada em mirtilos, provocou aumento no teor de compostos fenólicos e no potencial antioxidante, ao final do armazenamento refrigerado, quando comparados aos mirtilos irradiados na dose de 2 kJ/m² e com os que não foram irradiados. Para os frutos submetidos à irradiação gama, apesar de observadas grandes variações no teor de compostos fenólicos totais nas doses de 0,0 kGy (controle), 0,5 kGy, 1,0 kGy e 1,5 kGy, não foi possível afirmar uma influência da irradiação nesses resultados. O ácido clorogênico foi o composto fenólico majoritário e concentrações significativas de rutina também foram encontradas nos frutos. A irradiação gama não provocou alterações no teor de antocianinas totais e individuais, houve um aumento no seu teor apenas no decorrer do armazenamento.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Antocianinas. Atividade antioxidante. Análise físico-química.

GENERAL ABSTRACT

The blueberry (*Vaccinium ashei* Reade), little cultivated in Brazil, has aroused the producers' interest for being an attractive fruit and have high commercial value. This small fruit has drawn the attention of researchers and consumers to be rich in phytochemicals compounds, bringing beneficial health effects. This study was carried out in order to assess, during refrigerated storage, the physicochemical characteristics of blueberries treated with gamma irradiation and UV-C radiation in different doses, highlighting the irradiation effect on the phenolic compounds content and anthocyanins which are the main substances that attribute to the blueberry the title of "longevity source", since these compounds have high antioxidant power. These results show that acid analysis, pH, soluble solids, mass loss and firmness both gamma irradiation and UV-C caused no significant effect, only the storage period has influenced those parameters. The UV-C irradiation at a dose 4 kJ/m^2 , used in blueberries, caused an increase in the phenolic compounds content and antioxidant potential at the end of refrigerated storage when compared to blueberries irradiated at a dose kJ/m^2 and which were not irradiated. For the fruits subject to gamma irradiation, although observed large variations in the total phenolic compounds content at doses 0.0 kGy (control), 0.5 kGy, 1.0 kGy and 1.5 kGy, it was not possible to state an irradiation influence on these results. Chlorogenic acid was the major phenolic compound and significant concentrations of rutin were also found in fruits. Gamma irradiation caused no changes in total and individual anthocyanin content, there was an increase in its content during storage.

Keywords: Phenolic compounds. Anthocyanins. Antioxidant activity. Physicochemical analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1	Compostos fenólicos biossintetizados a partir da rota do ácido chiquímico e a da rota do ácido malônico.....	21
Figura 2	Principais compostos fenólicos derivados da enzima fenilalanina amonialiase (PAL).....	22
Figura 3	Estrutura do núcleo flavânico.....	24
Figura 4	Estrutura das antocianidinas 3-glicosilada.....	25
Figura 5	Representação da estrutura química de antocianinas encontradas em mirtilos.....	25
Figura 6	Estrutura geral dos ácidos benzoicos e cinâmicos.....	26
Figura 7	Espectro eletromagnético.....	28
Figura 8	Esquema de um irradiador gama para processamento de alimentos.....	32

CAPÍTULO 2

Figura 1	Valores de perda de massa de mirtilos armazenados por 20 dias sob refrigeração: (A) irradiação gama e (B) radiação UV-C.....	50
Figura 2	Valores de acidez titulável em mirtilo tratados com irradiação gama armazenados por 20 dias, sob refrigeração. Médias seguidas da mesma letra dentro de cada tempo, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.....	51
Figura 3	Valores de acidez titulável em mirtilo tratados com irradiação UV-C armazenados por 20 dias, sob refrigeração. Médias seguidas da mesma letra dentro de cada tempo, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.....	52
Figura 4	Valores de sólidos solúveis de mirtilos submetidos a irradiação UV-C armazenados por 20 dias sob refrigeração.....	54

CAPÍTULO 3

Figura 1	Teores de compostos fenólicos de mirtilos submetidos à irradiação UV-C armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância...	64
Figura 2	Atividade antioxidante pelo método de DPPH (A) e pelo método de ABTS ^{•+} (B), de mirtilos submetidos à irradiação UV-C armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.....	67
Figura 3	Teor de vitamina C de mirtilos submetidos à irradiação UV-C armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.....	68

Figura 4	Antocianinas totais de mirtilos submetidos à irradiação UV-C armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.....	70
CAPÍTULO 4		
Figura 1	Teores de compostos fenólicos de mirtilos submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância...	84
Figura 2	Teores de antocianinas totais de mirtilos submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias.....	85
Figura 3	Cromatograma típico de separação de fenólicos via CLAE (3-ácido clorogênico; 13- rutina) de mirtilo submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias (amostra controle no tempo 0 dias de armazenamento) no comprimento de onda de 350 nm onde: (A) cromatograma completo; (B) cromatograma com zoom.....	87
Figura 4	Teor de compostos fenólicos individuais: ácido clorogênico (A) e rutina (B) em mirtilos submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias.....	88
Figura 5	Quantificação dos picos 11, 12, 16 e 18 referentes aos tempos de retenção de 21,5, 21,8, 24,8 e 25,7 minutos convenientemente denominados de flavonóide A, B, C e D, respectivamente (apresentados na figura 3) em equivalentes de rutina de mirtilos submetidos à irradiação gama e armazenados sob refrigeração por 20 dias.....	89
Figura 6	Cromatograma típico de separação de antocianinas via CLAE (amostra controle no tempo 0 dias de armazenamento) no comprimento de onda de 520 nm de submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias.....	90
Figura 7	Quantificação dos picos 1, 2, 3, 5 e 6 referentes aos tempos de retenção de 6,9, 11,5, 14,6, 16,7 e 18 minutos convenientemente denominados de antocianinas A, B, C, D e E respectivamente (apresentados na figura 6) em equivalentes de malvidina de mirtilos submetidos à irradiação gama e armazenados sob refrigeração por 20 dias.....	91
Tabela 1	Valores de sólidos solúveis e firmeza de mirtilos tratados com diferentes doses de irradiação gama.....	53

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1.....	14
1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1	Considerações sobre o mirtilo.....	15
2.2	Aspectos nutricionais sobre o mirtilo.....	16
2.3	Atividade antioxidante.....	17
2.4	Compostos fenólicos.....	19
2.5	Irradiação.....	26
2.5.1	Radiação gama.....	30
2.5.2	Radiação Ultravioleta.....	32
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	35
	REFERÊNCIAS.....	36
	CAPÍTULO 2.....	43
	Qualidade pós-colheita de mirtilos (<i>Vaccinium ashei</i> Reade) tratados com diferentes doses de radiação ionizante e ultravioleta.....	43
1	INTRODUÇÃO.....	46
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4	CONCLUSÕES.....	55
	AGRADECIMENTOS.....	55
	REFERÊNCIAS.....	56
	CAPÍTULO 3.....	58
	Compostos bioativos em mirtilos (<i>Vaccinium ashei</i> Reade) submetidos à radiação ultravioleta.....	58
1	INTRODUÇÃO.....	61
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
4	CONCLUSÃO.....	71
	AGRADECIMENTOS.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72
	CAPÍTULO 4.....	76
	Perfil de compostos fenólicos e antocianinas em mirtilo (<i>Vaccinium ashei</i> Reade) submetido a diferentes doses de irradiação gama e armazenados sob refrigeração.....	76
1	INTRODUÇÃO.....	79
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	80
2.1	Análises químicas.....	80
2.2	Análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	81
2.2.1	Condições cromatográficas líquidas.....	81
2.2.2	Análises de compostos fenólicos e antocianinas por CLAE.....	82

2.3	Análise Estatística	83
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
4	CONCLUSÃO	92
	AGRADECIMENTOS	92
	REFERÊNCIAS	92

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O mirtilo (*blueberry*) tem despertado a atenção dos pesquisadores nos últimos anos devido aos seus benefícios nutricionais. É muito apreciado por seu sabor exótico, pelo valor econômico e por seus poderes medicinais, sendo considerado como “fonte de longevidade”, devendo-se especialmente ao alto conteúdo de substâncias antioxidantes (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

No Brasil sua cultura foi introduzida recentemente, sendo que as regiões altas de São Paulo, Minas Gerais e a região Sul destacam-se por seu alto potencial de produção devido ao clima temperado.

Recentemente, os estudos se centram sobre um conceito de qualidade de frutas estendido para a melhoria do valor nutricional. Evidências científicas mostram uma correlação entre o consumo desse fruto com a redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis, devido ao alto conteúdo de compostos bioativos como os compostos fenólicos.

O emprego da irradiação em frutas parece contribuir não somente para a melhoria da qualidade microbiológica, mas também para o estímulo do metabolismo secundário das plantas e como consequência proporcionando um aumento no teor de compostos com função antioxidante, como os compostos fenólicos e as antocianinas. No entanto, o uso dessa tecnologia torna-se muito limitada pela dificuldade de acesso aos centros de irradiação ou devido ao baixo conhecimento dos seus benefícios pelos produtores.

Visando contribuir para os estudos de métodos de conservação pós-colheita de frutos, no presente trabalho tem-se por objetivo caracterizar os mirtilos (*Vaccinium ashei* Reade) produzidos em Barbacena, MG, com destaque nos atributos de qualidade, físico-químicos e de extensão da vida útil pela aplicação de técnicas que visam melhorar a conservação e/ou aumentar o armazenamento pós-colheita desses frutos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações sobre o mirtilo

O mirtilo pertence à família Ericaceae, subfamília Vaccinoideae e gênero *Vaccinium*. É nativo de várias regiões da Europa e dos Estados Unidos. As principais espécies com expressão comercial podem ser classificadas em três grupos principais: *rabbiteye*, *highbush* e *lowbush* (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

No Brasil, o mirtilo foi introduzido, em 1983, através da Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS), pelo pesquisador Alverides Machado dos Santos, tendo sua primeira iniciativa comercial no País em 1990, em Vacaria (RS). Em países do Hemisfério Norte, principalmente na Europa e nos Estados Unidos, essa espécie tem grande importância comercial, além de uma ampla divulgação da utilização dos frutos como “fonte da longevidade”, devido à sua composição nutricional. Esses fatores impulsionaram o cultivo do mirtilo em regiões não tradicionais, como na América do Sul, com o intuito de se beneficiar da possibilidade de produção durante a entressafra europeia e norte-americana (FACHINELLO et al., 2008). As cultivares do grupo *rabbiteye* foram as que melhor se adaptaram às regiões produtoras do Brasil por serem menos exigentes ao frio.

O mirtilo é uma planta arbustiva e o seu porte é definido de acordo com crescimento de hábito basitônico, ou seja, a brotação ocorre, preferencialmente, nas gemas basais. É uma planta de clima temperado e extremamente exigente em frio para quebra de dormência, sendo que a falta de frio pode ocasionar uma brotação e floração deficiente (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

Para uma boa produção comercial, é necessário que pelo menos 80% das flores frutifiquem. Devido ao formato da flor, o pólen cai do seu estigma, sendo fundamental a presença de insetos polinizadores. Até mesmo em cultivares autoférteis como as do tipo *highbush*, a polinização cruzada favorece a obtenção de frutas de melhor tamanho (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

O mirtilo amadurece 2 a 3 meses após a floração. A baga pequena com sementes apresenta em geral cor azul com tonalidades variando de mais claro a mais escura e intensa, devido à presença de antocianinas, e tem sabor doce-ácido a ácido. A cor do mirtilo é influenciada pela presença de pruína, cera epicuticular, que produz o efeito glauco responsável pela cor azul esbranquiçada típica dos mirtilos. Esta camada cerosa constitui uma barreira importante à perda de água, impedindo o emurchecimento do fruto. A baga apresenta ainda uma cicatriz, diametralmente oposta ao ápice, de dimensão e formato variáveis, segundo a espécie e cultivar. A cicatriz, quando grande e úmida, é um foco de contaminação microbiana e pode também originar depreciação pós-colheita, por perda de umidade através dela (ANTUNES; RASEIRA, 2006; SOUSA et al., 2007).

Por ser um fruto pequeno, o mirtilo deve ser colhido com cuidado, evitando a ocorrência de danos que podem comprometer sua qualidade. O ponto ideal de colheita baseia-se na coloração do fruto que deve apresentar serosidade (pruína). A colheita do mirtilo é realizada manualmente. Depois de colhido, o fruto deve ser armazenado sob refrigeração, sendo as condições ótimas de $0\pm 0,5$ °C com UR de 90-95%. No comércio os frutos são comumente oferecidos em embalagens de aproximadamente 100g (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

2.2 Aspectos nutricionais sobre o mirtilo

A dieta tem um papel importante na saúde, sendo essencial no tratamento e prevenção de doenças. Assim, a identificação de compostos bioativos envolvidos na prevenção de doenças é uma prioridade na ciência atual (NOBERTO et al., 2013).

Segundo Antunes e Raseira (2006), o mirtilo (*Vaccinium spp*) é uma espécie frutífera muito apreciada por seu sabor exótico, pelo valor econômico e por seus poderes medicinais, sendo considerada como “fonte de longevidade”, devendo-se especialmente ao alto conteúdo de antocianidinas contidas nos

pigmentos de cor azul-púrpura. Esta substância favorece a visão, oferece enormes benefícios à pele, aos vasos sanguíneos, aos casos de varizes, hemorroidas, problemas circulatórios, transtornos cardíacos, feridas externas e internas, edema, artrites e artroses (ANTUNES; RASEIRA, 2006). Por suas propriedades nutraceuticas e principalmente pelas oportunidades de negócio que a fruta apresenta, tem despertado a atenção de técnicos e produtores de frutas do Brasil.

O mirtilo apresenta em média 82% de água, sendo os açúcares os principais componentes solúveis que representam cerca de 80% da matéria seca. A glicose e a frutose são os principais açúcares existentes no mirtilo e os seus teores influenciam o sabor. Os frutos contêm ácidos orgânicos em teores elevados, sendo os mais comuns o cítrico e o málico (SOUSA et al., 2007).

O mirtilo é considerado fonte de vitaminas (A e C), minerais e fibras alimentares que são componentes essenciais para o crescimento e desenvolvimento normais do fruto (MORENO; CASTELL-PEREZ; GOMES, 2007). É uma das mais ricas fontes de antioxidantes naturais entre os frutos e tem alta capacidade antioxidante contra os radicais peróxil, radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e oxigênio singlete, devido a sua composição rica em substâncias fenólicas, como flavonoides, taninos e antocianinas, que são de especial importância na contribuição para a cor, sabor e aroma da fruta fresca (HEINONEN; MEYER; FRANKEL, 1998, SEYMOUR; TAYLOR; TUCKER, 1993; WANG; JIAO, 2000). Estes antioxidantes são capazes de atuar como sequestrantes de radicais livres, decompositores de peróxidos, desativadores de oxigênio singlete, inibidores de enzimas e agentes sinérgicos (LARSON, 1988).

2.3 Atividade antioxidante

O processo respiratório e diversas reações oxidativas, que ocorrem no corpo humano, levam à formação de espécies reativas de oxigênio (EROS) que causam danos ao organismo e contribuem para o aparecimento de muitas

doenças comuns (inflamação das articulações, tumores malignos, doença de Alzheimer e doença de Parkinson, cataratas e doenças cardiovasculares), bem como aceleram o processo de envelhecimento (SIKORA et al., 2008). Por isso, as células humanas dependem de alguma capacidade antioxidante para fornecer proteção contra os efeitos prejudiciais das EROS, que são consequências inevitáveis da vida aeróbia (SILVA et al., 2010).

Para conseguir uma proteção ótima, os tecidos dispõem de um sistema antioxidante integrado, que consiste em um conjunto diversificado de componentes lipossolúveis (vitamina E; carotenoides), solúveis em água (ácido ascórbico; glutatona) e enzimáticos (glutatona peroxidase; superóxido dismutase; catalase) (McLEAN et al., 2005; SIKORA et al., 2008).

Um antioxidante é qualquer substância capaz de retardar ou impedir danos devidos à oxidação estando presente em pequenas concentrações, quando em comparação com o agente oxidante. As substâncias antioxidantes podem apresentar diferentes propriedades protetoras e agir em diversas etapas do processo oxidativo, funcionando por diferentes mecanismos e são, portanto, classificadas em dois grupos principais: antioxidantes primários e secundários. São considerados primários os compostos de ação antioxidante, capazes de inibir ou retardar a oxidação por inativação de radicais livres graças à doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons, o que os converte em produtos mais estáveis. Os antioxidantes secundários funcionam por vários mecanismos, incluindo a ligação de íons metálicos (alteração de valência), convertendo hidroperóxidos em espécies não radicais, absorvendo a radiação UV ou desativando o oxigênio singlete (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007; SILVA et al., 2010).

Compostos antioxidantes presentes nos alimentos desempenham um papel importante como fator protetor da saúde. Evidências científicas sugerem que os antioxidantes reduzem o risco de doenças crônicas não transmissíveis,

incluindo câncer e doenças cardíacas (JOHN; SHAHIDI, 2010; MISHRA et al., 2010). Grãos integrais, frutas e hortaliças são considerados fontes naturais de antioxidantes. Esses alimentos têm sido reconhecidos por desempenharem um papel importante na melhoria de danos oxidativos induzidos por EROS (LEE et al., 2003; MISHRA et al., 2010).

Antioxidantes são conhecidos por proteger as células contra os efeitos danosos dos radicais livres, portanto, sua característica principal está relacionada com a sua capacidade de capturar esses radicais. Os radicais livres são espécies quimicamente instáveis e podem ser definidos como substâncias que possuem um ou mais elétrons não pareados (HALLIWELL, 1994; JOHN; SHAHIDI, 2010; MISHRA et al., 2010). São altamente reativos com o oxigênio e estão presentes em uma grande variedade de sistemas biológicos, podendo oxidar os ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos ou DNA, como também desencadear a ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis.

Os principais antioxidantes encontrados nos vegetais são as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides. Esses antioxidantes absorvem radicais livres e inibem a cadeia de iniciação ou interrompem a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais (PODSEDEK, 2007). Os compostos antioxidantes, tais como os ácidos fenólicos, polifenóis e flavonoides eliminam os radicais livres e, assim, inibem a oxidação, mecanismos que conduzem às doenças degenerativas (MISHRA et al., 2010).

2.4 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, mais de 8000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas. Esse grande e complexo grupo faz parte dos constituintes de uma variedade de vegetais, frutas e produtos industrializados. São produtos do metabolismo

secundário, normalmente derivado de reações de defesa das plantas contra agressões do ambiente (SILVA et al., 2010).

Diversos investigadores têm trabalhado na separação, identificação, quantificação e utilização dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, pois além de englobarem uma gama enorme de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, taninos e ligninas), estes compostos são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e suscetíveis à ação de enzimas (SOARES, 2002).

Os compostos fenólicos pertencem a um grande grupo de metabólitos secundários difundidos no reino vegetal. Podem ser classificados de acordo com a sua estrutura, com o número e posição do grupo hidroxila e pela presença de outros substituintes. Fenólicos são capazes de complexar com espécies reativas de oxigênio devido a sua capacidade de doar elétrons. A eficácia da capacidade antioxidante dos fenólicos depende da sua estabilidade em diferentes sistemas, bem como número e localização de grupos hidroxila (PODSEDEK, 2007).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química e são caracterizados por possuírem ao menos um anel aromático (C_6) podendo ter um ou mais grupos hidroxil. Muitos compostos fenólicos ocorrem como derivados formados por condensação ou adição de reações. A maioria desses compostos, conhecidos até o momento, é de origem vegetal e possui um resíduo de açúcar, tal como um açúcar monossacárido, dissacárido ou oligossacárido, ligado ao esqueleto de carbono. Outros resíduos incluem aminas, ácidos orgânicos, ácidos carboxílicos, e lipídeos (STRACK, 1997; YANG, 2009).

Os vegetais produzem uma grande variedade de compostos orgânicos, os quais não atribuem funções diretas no seu desenvolvimento. Esses compostos são conhecidos como metabólitos secundários. Enquanto os metabólitos primários (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e acil lipídeos) respondem pela sobrevivência do

vegetal, exercendo função ativa nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes; os metabólitos secundários estão intimamente associados às estratégias de defesa das plantas (NASS, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2004). Os principais metabólitos secundários são distribuídos em três grupos de acordo com sua rota biossintética: terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Devido a sua diversidade química, os compostos fenólicos apresentam uma variedade de funções nos vegetais. São sintetizados por meio de diferentes rotas: rota do ácido chiquímico e rota do ácido malônico (Figura 1). A rota do ácido chiquímico participa na biossíntese da maioria dos fenóis vegetais, já a rota do ácido malônico possui maior relevância no metabolismo de microrganismos e pouca significância no metabolismo de vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2004).

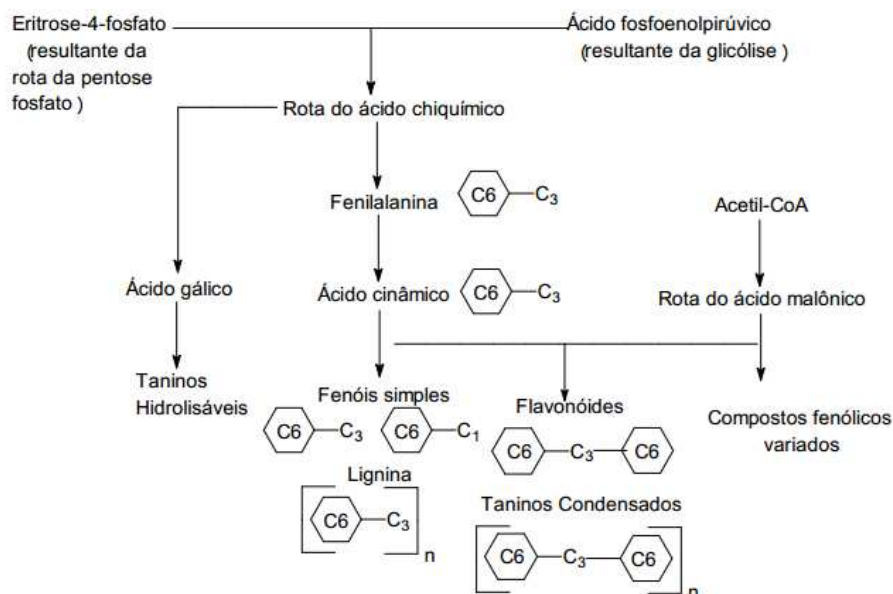


Figura 1 Compostos fenólicos biossintetizados a partir da rota do ácido chiquímico e a da rota do ácido malônico

Fonte: Taiz e Zeiger (2004)

A classe mais abundante de compostos fenólicos secundários em plantas é derivada da fenilalanina, por meio da eliminação de uma molécula de amônia para formar o ácido cinâmico (Figura 2). Essa reação é catalisada pela fenilalanina amonialiase (PAL). A PAL é regulada por fatores ambientais como o nível nutricional, a luz (pelo efeito do fitocromo) e infecção por fungos. Entre as substâncias formadas após a ação da PAL estão o ácido benzoico, o qual dá origem ao ácido salicílico, um importante composto na defesa das plantas contra patógenos (PERES, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004).

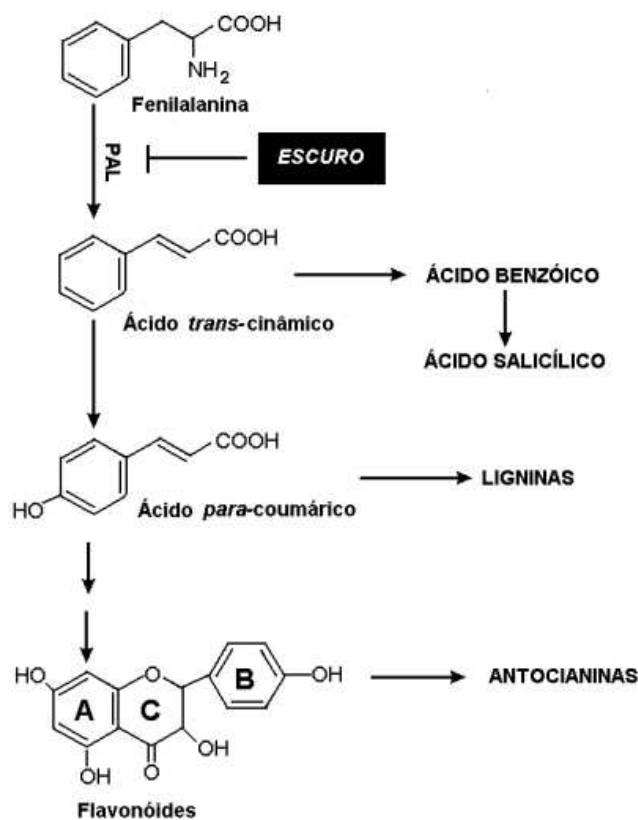


Figura 2 Principais compostos fenólicos derivados da enzima fenilalanina amonialiase (PAL)

Fonte: Peres (2004)

A PAL está localizada em um ponto de ramificação entre o metabolismo primário e secundário, sendo a reação catalisada por ela uma etapa importante para a regulação da formação de muitos compostos fenólicos. As reações posteriores àquelas catalisadas pela PAL levam à adição de mais grupos hidroxila e outros substituintes. Os ácidos *trans*-cinâmico e *p*-cumárico e seus derivados são compostos fenólicos simples chamados de fenilpropanóides por conter um anel benzênico e uma cadeia lateral de três carbonos. Esses fenilpropanóides são unidades básicas importantes na formação de compostos fenólicos mais complexos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os inúmeros fatores que condicionam a síntese de compostos fenólicos, bem como as diferentes vias pelas quais a síntese pode acontecer, justificam a heterogeneidade química deste grupo. Desta forma, os compostos fenólicos são normalmente divididos em dois grupos: flavonóides e não flavonóides.

Os flavonóides são o grupo de compostos fenólicos mais relevantes nos alimentos. Encontram-se largamente distribuídos no reino vegetal, estando presentes em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas (ANGELO; JORGE, 2007; GONÇALVES, 2007). A este grupo pertence um número variado de famílias de compostos como os flavanóis, os flavonóis, as flavanonas, as flavonas e as antocianinas, que diferem no seu padrão de oxidação e, com menor frequência, as auronas, chalconas e isoflavonas, dependendo do lugar, número e combinação dos grupamentos participantes da molécula (GONÇALVES, 2007; SOARES, 2002).

Os flavonóides possuem uma estrutura básica formada por C6-C3-C6 com dois anéis fenólicos (A e B) e um anel heterocíclico pirânico (C) que os une (Figura 3).

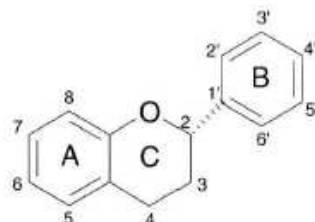


Figura 3 Estrutura do núcleo flavânico

Fonte: Gonçalves (2007)

As antocianinas são formadas através do metabolismo secundário das plantas. São glicosídeos solúveis em água responsáveis pela coloração de vermelho para azul intenso de muitas frutas e hortaliças, sendo consideradas como uma das principais classes de flavonoides (NOBERTO et al., 2013).

As antocianinas desempenham funções variadas nas plantas: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função biológica. As cores vivas e intensas que elas produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como a polinização e a dispersão de sementes (LOPES et al., 2007).

As formas d-glicosilada ou aglicona de antocianinas são conhecidas como antocianidinas. As seis antocianidinas mais comuns nas partes comestíveis das plantas são: cianidina (50%), pelargonidina (12%), peonidina (12%), delphinidina (12%), petunidina (7%), e a malvidina (7%) (KONG et al., 2003). As antocianinas (Figura 4) podem ainda diferir na natureza, número e posição dos açúcares (pentoses, metilpentoses e hexoses) ligados à molécula e na presença e natureza de ácidos esterificados na molécula de açúcar. Na maioria dos casos os açúcares ligam-se na posição 0-3 podendo também ocorrer ligação em 0-5 e 0-7 (GONÇALVES, 2007).

R1	R2	Antocianina
H	H	Pelargonidina-3-glucósido
OH	H	Cianidina-3-glucósido
OH	OH	Delfinidina-3-glucósido
OCH ₃	H	Peonidina-3-glucósido
OCH ₃	OH	Petunidina-3-glucósido
OCH ₃	OCH ₃	Malvidina-3-glucósido

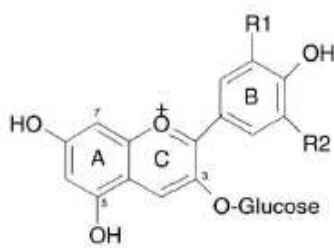
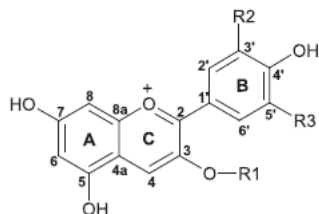


Figura 4 Estrutura das antocianinas 3-glicosilada
Fonte: Gonçalves (2007)

As antocianinas mais comuns encontradas em mirtilos (Figura 5) são monoarabinosídes, monoglucosídes e monogalactosídes de cianidina (Cy), petunidina (Pt), peonidina (Pn), delfinidina (Dp) e a malvidina (Mv), embora vários outros compostos fenólicos, e os seus glicosídeos, têm sido descritos (p. ex. catequina, epicatequina, miricetina, kaempferol, quercetina e cafeico, ácidos *p*-cumárico e ferrulicos) (BUENA et al., 2013; KADER et al. 1996).



Anthocyanin	R1	R2	R3
Cy 3-sug	glu, ara, gal, acglu	OH	H
Dp 3-sug	glu, ara, gal, acglu,	OH	OH
Pn 3-sug	gal	OCH ₃	H
Pt 3-sug	glu, ara, gal, acglu	OCH ₃	OH
Mv 3-sug	glu, ara, gal, acgal, acglu	OCH ₃	OCH ₃

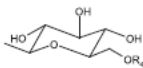
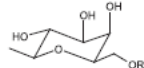
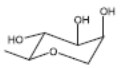

R1	glucose	galactose	arabinose	R4	acetyl
					

Figura 5 Representação da estrutura química de antocianinas encontradas em mirtilos
Fonte: Noberto et al. (2013)

Na classe dos fenólicos não flavonoides, estão inseridos os ácidos fenólicos, representados pelos ácidos hidroxibenzoicos e ácidos hidroxicinâmicos (Figura 6).

R ₁	R ₂	Ácidos benzoicos
H	H	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico
OH	H	Ácido protocatéquico
OH	OH	Ácido gálico
OCH ₃	H	Ácido vanílico
OCH ₃	OCH ₃	Ácido siríngico

R ₁	R ₂	Ácidos cinâmicos
H	H	<i>p</i> -cumárico
OH	H	cafeico
OCH ₃	H	ferrúlico
OCH ₃	OCH ₃	sinápico

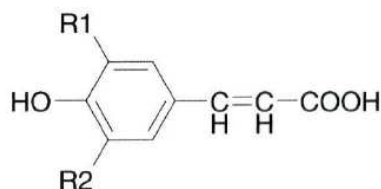
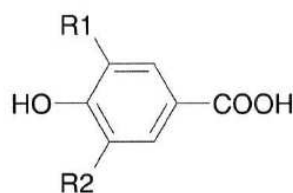


Figura 6 Estrutura geral dos ácidos benzoicos e cinâmicos
Fonte: Gonçalves (2007)

2.5 Irradiação

A história da irradiação começou com a descoberta do raio X, em 1895, por Roentgen e da radioatividade, em 1896, por Becquerel. Em 1905 foi concedida a primeira patente aos pesquisadores J.Appleby e A.J. Banks que propuseram o tratamento de alimentos irradiados, em especial cereais, com raios alfa, beta ou gama proveniente de elementos radioativos. O pesquisador do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (EUA), B.Schwartz, em 1921 sugeriu a utilização de raios γ para inativar triquinose na carne de porco. No entanto, todos os esforços daquela época não foram suficientes para conduzir uma aplicação prática no uso da irradiação na conservação de alimentos, simplesmente porque as fontes de radiação

disponíveis naquele momento provenientes de máquinas de raios- X ou isótopos radioativos, não eram poderosas o suficiente para tratar os alimentos em quantidades comerciais (DIEHL, 2002).

As pesquisas sobre o uso da irradiação em alimentos voltaram a ganhar força após a Segunda Guerra Mundial, em que cientistas de muitos países começaram, efetivamente, a dar uma maior atenção sobre o potencial da irradiação na conservação de alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). A permissão do uso da radiação ionizante em alimentos em diversos países foi impulsionada pela regulamentação de padrões mundiais sobre a irradiação adotada pela Comissão do *Codex Alimentarius* (DIEHL, 2002; FELLOWS, 2006).

A radiação pode ser definida como a emissão e difusão da energia por meio do espaço ou matéria (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

A radiação que pode ser utilizada na conservação de alimentos é dividida de acordo com o espectro eletromagnético de interesse: micro-ondas, radiação ultravioleta, raios X e radiação gama (Figura 7). As radiações ionizantes (partículas alfa, raios X, raios gama, raios beta e raios cósmicos), definidas como aquelas com comprimento de onda de 2.000 \AA ou menores, são as de maior interesse na conservação de alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

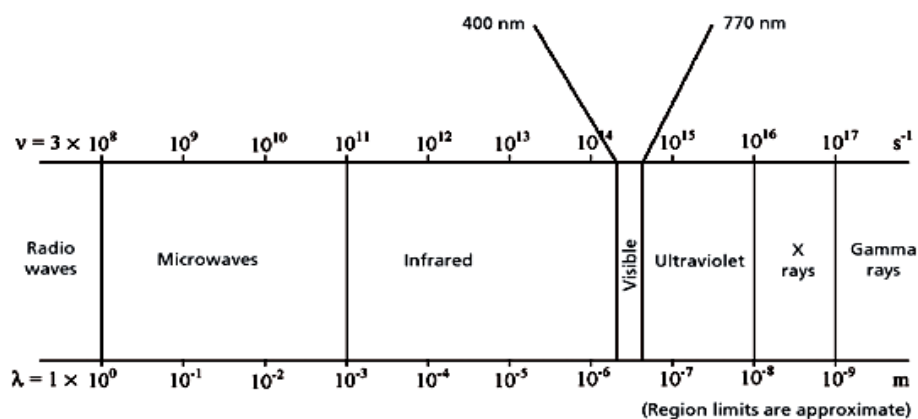


Figura 7 Espectro eletromagnético
 Fonte: Ball (2007)

A utilização da irradiação como tecnologia de tratamento não térmico em alimentos vem crescendo em todo o mundo, no entanto, o seu uso ainda é pouco difundido no Brasil. Mesmo sendo considerada como uma tecnologia de conservação de alimentos segura e sua utilização permitida em diversos países, o progresso no emprego da irradiação tem sido limitado frente às dificuldades como a falta de informação sobre o seu uso levando a interpretações errôneas dos consumidores (LIMA FILHO et al., 2012; SILVA; ROZA, 2010).

De acordo com o regulamento técnico para irradiação de alimentos (BRASIL, 2001) que estabelece os requisitos gerais para o uso da irradiação de alimentos com vistas à qualidade sanitária do produto final, a irradiação de alimentos pode ser definida como processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidades sanitária, fitossanitária e/ou tecnológica. Ainda segundo esse regulamento, um alimento irradiado é todo alimento que tenha sido intencionalmente submetido ao processo de irradiação utilizando radiação ionizante, sendo esta definida como qualquer radiação que ioniza átomos de materiais a ela submetidos. As fontes de radiação que podem ser empregadas são

aquelas autorizadas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, na conformidade das normas pertinentes, a saber:

- a) Isótopos radioativos emissores de radiação gama: Cobalto 60 e Césio - 137;
- b) Raios X gerados por máquinas que trabalham com energias de até 5 MeV;
- c) Elétrons gerados por máquinas que trabalham com energias de até 10 MeV.

Internacionalmente, há um código de boas práticas (Norma Geral) para processar produtos alimentares com radiação ionizante (CODEX, 2003).

A irradiação de frutas e hortaliças tem como principal interesse prolongar a vida pós-colheita de muitos produtos perecíveis por controlar a incidência de patógenos e prolongar o armazenamento pelo retardo do amadurecimento e senescência. No entanto, o seu uso tem alguns inconvenientes, pois em doses superiores à tolerada pelo fruto provoca desordens fisiológicas como o amolecimento acentuado da polpa, o escurecimento da casca e a perda de aroma e sabor nos produtos. A perda de firmeza dos produtos irradiados está relacionada diretamente com o nível da dose, a cultivar e o período e temperatura de armazenamento (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Ainda segundo Chitarra e Chitarra (2005), a dose mínima de exposição da radiação necessária para obter efeito benéfico contra patógenos ou insetos nos produtos hortícolas varia entre 0,08 e 1,0 KGy. A irradiação aplicada de forma inadequada pode provocar também perda da integridade das membranas, ocasionando como consequência reações oxidativas e hidrolizantes, pelo contato de enzimas e substratos.

Para Hallman (1999), umas das maiores vantagens da utilização da irradiação como método de conservação sobre os demais métodos são: ganho de tempo, pois a irradiação pode ser aplicada em poucos minutos; ela não deixa resíduos no alimento; pode ser aplicada em uma ampla gama de frutos e pode ser utilizada em produtos embalados. Como desvantagens do uso da irradiação têm-se o alto custo inicial e dificuldade em se estabelecer as doses, pois determinadas doses podem provocar a morte de alguns insetos, no entanto outros ainda podem ser encontrados vivos.

Existem alguns estudos que relacionam o uso da irradiação como um meio de conservar e/ou aumentar o teor de compostos antioxidantes em frutas e hortaliças e assim contribuir para o aumento do período de armazenamento desses produtos (ANTONIO et al., 2011; CAROCHO et al., 2012; WANG; CHEN; WANG, 2009).

2.5.1 Radiação gama

As radiações gama são produzidas a partir do núcleo excitado de elementos radioativos como Cobalto 60 (^{60}Co) e o Césio 137 (^{137}Cs). Apresenta alto poder de penetração, sendo a meia-vida do ^{60}Co de cinco anos e a do ^{137}Cs de aproximadamente de 37 anos (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

A irradiação de alimentos é um processo físico e não deixa resíduo. Segundo Vieites (1998) o processo de irradiação não torna os alimentos radioativos, pois apenas os raios gama entram em contato com o alimento, sendo as doses de irradiação quantificadas em termos de energia absorvida pelo produto irradiado. A dose de um gray (Gy) corresponde à absorção de um joule por quilograma. As doses normalmente aplicadas aos alimentos situam-se entre 0,1 e 7,0 kGy.

Em castanhas, a irradiação gama parece não afetar o valor nutricional e moléculas individuais (por exemplo, açúcares, amido e ácidos graxos), ao passo que o tempo de armazenamento o faz. Além disso, protege os antioxidantes, tais como tocoferóis e compostos fenólicos, e preserva a maior atividade antioxidante em comparação com castanhas não irradiadas (ANTONIO et al., 2012).

Doses de raios gama entre 1,2 e 1,4 kGy provaram ser eficazes na manutenção de uma concentração superior de sólidos solúveis totais, reduzir a perda de peso e atrasar a deterioração de pêssegos por 6 dias sob condições ambientais e por 20 dias sob condições de armazenamento refrigerado (HUSSAIN et al., 2008).

Em maçãs (cv. Gala) tratamentos com 1-metilciclopropeno e radiação ionizante podem inibir a produção de diversos compostos aromáticos produzidos pelo amadurecimento dos frutos (FAN; MATTHEIS, 2001).

Uma das dificuldades encontradas para aplicação da irradiação gama em alimentos se deve a complexidade da planta/instalação industrial (Figura 8), que deve ser licenciada, regulamentada e inspecionada pelas autoridades nacionais de segurança radiológica e de saúde (FANTE, 2011). Segundo Fante (2011) a sala de irradiação deve possuir blindagem de concreto (1,5 – 1,8 metros de espessura) para assegurar que a radiação ionizante não escape para fora da sala. A fonte de irradiador gama (radionuclídeos) emite radiação continuamente e por isso quando não estiver sendo usada para tratar alimentos, precisa ser armazenada em uma piscina funda, pois a água absorve a energia fazendo uma blindagem.

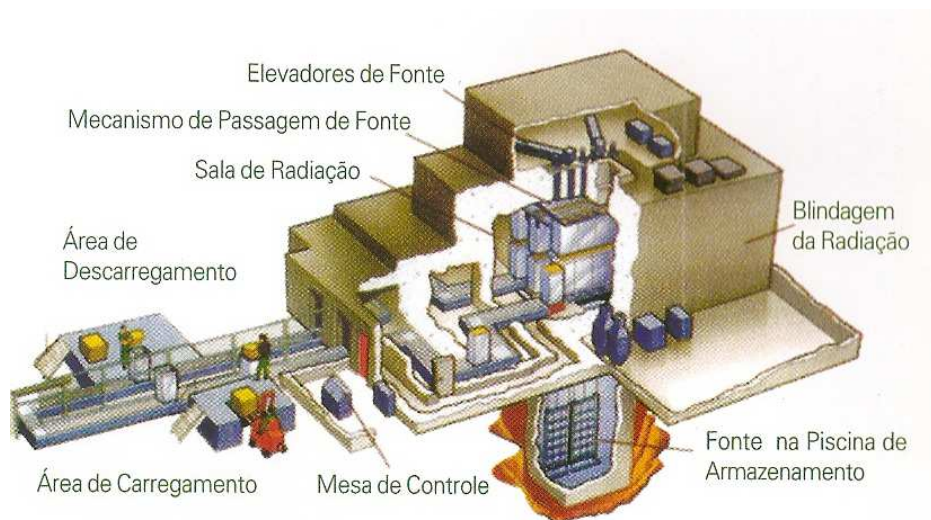


Figura 8 Esquema de um irradiador gama para processamento de alimentos
Fonte: Fante, 2011.

2.5.2 Radiação Ultravioleta

A radiação ultravioleta (UV) foi descoberta pelo cientista alemão Johan Ritter, em 1801, que observou uma forma invisível de luz capaz de oxidar certos sais de prata. Mais tarde, ao final do século XIX, quando a natureza da luz foi melhor elucidada passou-se a adotar o termo “ultravioleta” (BALL, 2007).

A região ultravioleta do espectro eletromagnético é dividida em três partes de acordo com o comprimento de onda. Radiação UV-A (luz UV de onda longa) tem uma faixa de comprimento de onda de 400-315 nm; radiação UV-B ou de ondas médias com um comprimento de onda de 315-280 nm e, por fim, radiação ultravioleta UV-C de ondas curtas ou UV germicida que tem um comprimento de onda inferior a 280 nm (BALL, 2007).

Os efeitos biológicos da radiação UV resultam da excitação de moléculas, diferentemente das radiações ionizantes que decorrem da ionização das moléculas (KAREL; LUND, 2003).

Segundo Begum, Hocking e Miskelly (2009) a luz UV é muito conhecida devido a sua atividade antimicrobiana e tem sido utilizada para reduzir a contaminação microbiana em hospitais, na indústria farmacêutica, em edifícios públicos, plantas de tratamento de água, produtos alimentares frescos e produtos agrícolas. Na indústria de alimentos, a tecnologia UV é amplamente utilizada para a desinfecção do ar, no controle da contaminação de superfícies e de embalagens e também no armazenamento pós-colheita de frutas e hortaliças.

A luz UV uma vez absorvida pelas proteínas e pelos ácidos nucleicos pode produzir modificações fotoquímicas letais para os micro-organismos. Possui baixo poder de penetração, o que limita o seu emprego na conservação de alimentos. Sendo assim, possui uma grande aplicação na superfície de alimentos podendo, no entanto, catalisar reações de oxidação e descoloração superficial de frutas e hortaliças (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Segundo Guerrero-Beltrán e Barbosa-Cánovas (2004), a exposição à luz UV-C é letal para os micro-organismos devido a danos causados no DNA (ácido desoxirribonucléico) das células ocasionados por alterações no seu sistema reprodutivo levando a morte celular.

A radiação UV tem se mostrado eficaz na inativação de esporos de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium corylophilum* e *Eurotium rubrum* (BEGUM; HOCKING; MISKELLY, 2009; FLORES-CERVANTES; PALOU; LÓPEZ-MALO, 2013). Outros estudos afirmam que a radiação UV-C contribui para retardar os processos de amadurecimento e senescência em frutos. Barka et al. (2000) mostraram que a radiação UV-C contribuiu para o atraso da degradação da parede celular e, conseqüentemente, no retardo do amaciamento dos tecidos do fruto do tomateiro. Do mesmo modo, González-Aguilar, Zavaleta-Gatica e Tiznado-Hernández (2007) revelaram que o tratamento UV- C

pode ser uma boa alternativa para aumentar a vida útil de manga 'Haden' e ainda contribuir nas características nutricionais pelo aumento de compostos fenólicos.

Em mirtilos, a radiação UV-C pode contribuir no aumento no nível de antioxidantes e na diminuição da degradação causada pela podridão madura (PERKINS-VEAZIE; COLLINS; HOWARD, 2008). No entanto, os efeitos da radiação UV- C na capacidade antioxidante, compostos fenólicos e antocianinas parecem ser mais significativos a curto prazo, ou seja, imediatamente após o tratamento sendo as doses de 2,15 e 4,30 kJ/m² as doses ótimas (WANG; CHEN; WANG, 2009). Em uvas de mesa (cv. Napoleon) a radiação UV combinado com o armazenamento refrigerado, promoveu aumento do teor de fenólicos (CANTOS et al., 2000).

A exposição de alimentos à luz UV-C também se mostra interessante em minimamente processados (MANZOCCO et al., 2011), que se aplicada de maneira moderada, a luz UV-C pode contribuir como uma alternativa eficaz na descontaminação de superfície de fatias de maçã recém-colhidas, aumentando assim a sua vida útil.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Muitos são os estudos sobre o uso da irradiação gama na pós-colheita de frutas e hortaliças (ANTONIO et al., 2011; CAROCHO et al., 2012; FAN; MATTHEIS, 2001; NARVAIZ; LESCANO; KAUPERT, 1988), no entanto sabe-se que muitas das vezes o custo desse tipo de tecnologia é inviável para pequenos e médios produtores devido à complexidade de uma planta de irradiação gama e ao alto custo de instalação. Já a irradiação UV-C é mais simples e de fácil manuseio, pois só depende do uso de uma lâmpada ultravioleta, podendo então ser facilmente instalada nas próprias regiões produtoras. Nesse sentido, a propõe-se nesse trabalho avaliar o efeito da irradiação gama e UV-C em mirtilos (*Vaccinium asei* Reade) e comparar a eficácia dos tratamentos com destaque nos atributos físico-químicos e de extensão da vida útil dos frutos.

REFERÊNCIAS

- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolf Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, set. 2007.
- ANTONIO, A. L. et al. Effects of gamma radiation on the biological, physico-chemical, nutritional and antioxidant parameters of chestnuts: a review. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 50, p. 3234–3242, 2012.
- ANTONIO, A. L. et al. Influence of gamma irradiation in the antioxidant potential of chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) fruits and skins. **Food and Chemistry Toxicology**, Oxford, v. 49, p. 1918–1923, 2011.
- ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B. **Cultivo do Mirtilo (*Vaccinium* spp.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. (Sistemas de Produção, 8).
- BALL, D. W. The electromagnetic spectrum: a history. **Spectroscopy**, Ottawa, v. 3, n. 22, p. 14-17, 2007.
- BARKA, E. A. et al. Impact of UV-C Irradiation on the Cell Wall-Degrading Enzymes during Ripening of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 667-671, 2000.
- BEGUM, M.; HOCKING, A. D.; MISKELLY, D. Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 129, p. 74-77, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Regulamento técnico para irradiação de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 jan. 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm>. Acesso em: 2 set. 2013.

BUENA, A. et al. Anthocyanin determination in blueberry extracts from various cultivars and their antiproliferative and apoptotic properties in B16-F10 metastatic murine melanoma cells. **Phytochemistry**, New York, v. 45, p. 436-444, 2013.

CANTOS, E. et al. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of Cv. Napoleon table grapes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 4606-4612, 2000.

CAROCHO, M. et al. Comparative effects of gamma and electron beam irradiation on the antioxidant potential of Portuguese chestnuts (*Castanea sativa* Mill.). **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 50, p. 3452-3455, 2012.

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

CODEX Alimentarius. 2033. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net>>. Acesso em: 22 nov. 2014.

DIEHL, J. F. Food irradiation - past, present and future. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, p. 211-215, 2002.

FACHINELLO, J. C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 285-576, 2008.

FANTE, C. A. **Caracterização, qualidade e conservação pós-colheita de maçã 'Eva' (*Malus sp.*)**. 2011. 105 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

FAN, X.; MATTHEIS, J. P. 1-Methylcyclopropene and storage temperature influence responses of 'Gala' apple fruit to gamma irradiation. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 23, p. 143-151, 2001.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FLORES-CERVANTES, D. X.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Efficacy of individual and combined UVC light and food antimicrobial treatments to inactivate *Aspergillus flavus* or *A. niger* spores in peach nectar. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 20, p. 244-252, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São. Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

GONÇALVES, R. **Estudo da inibição de tripsina por compostos fenólicos isolados de fontes naturais: efeito anti nutricional de bebidas comuns**. Tese (Doutorado em Tecnologia Ciência e Segurança Alimentar) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2007.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; ZAVALA-GÁTICA, R.; TIZNADO-HERNÁNDEZ. Improving postharvest quality of mango 'Haden' by UV-C treatment. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 45, p. 108-116, 2007.

GUERRERO-BELTRAN, J. A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light. **Food Science and Technology International**, London, v. 10, p. 137-147, 2004.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.

HALLMAN, G. J. Ionizin gradation quarantine treatments against tephritid fruit flies. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 16, p. 93-106, 1999.

HEINONEN, I. M.; MEYER, A. S.; FRANKEL, E. N. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, p. 4107-4112, 1998.

HUSSAIN, P. R. et al. Studies on enhancing the keeping quality of peach (*Prunus persica* Bausch) Cv. Elberta by gamma-irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 77, p. 473-481, 2008.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. Radiation protection of foods and nature of microbial radiation resistance. In: JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. (Ed.). **Modern food microbiology**. 7. ed. New York: Springer, 2005. p. 371-390.

JOHN, J. A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, Oxford, v. 2. 196-209, 2010.

KADER, F. et al. Fractionation and identification of the phenolic compounds of Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, L.). **Food Chemistry**, London, v. 55, p. 35-40, 1996.

KAREL, M.; LUND, D. B. **Physical principles of food preservation**. New York: M. Dekker, 2003. Chap. 11.

LARSON, R. A. The antioxidants of higher plants. **Phytochemistry**, New York, v. 27, p. 969-978, 1988.

LEE, K. W. et al. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 6516-6520, 2003.

LIMA FILHO, T. et al. Energia ionizante na conservação de alimentos: revisão. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 30, n. 2, p. 243-254, 2012.

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chemistry**, London, v. 100, p. 1409-1418, 2007.

MANZOCCO, L. et al. Surface decontamination of fresh-cut apple by UV-C light exposure: effects on structure, colour and sensory properties. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 61, p. 165-171, 2011.

McLEAN, J. A. et al. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 141, p. 366-372, 2005.

MISHRA, N. et al. Study on antioxidant activity of common dry fruits. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 48, p. 3316-3320, 2010.

MORENO, M. A.; CASTELL-PEREZ, E.; GOMES, C. Quality of electron beam irradiation of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) at medium dose levels (1.0–3.2 kGy). **LWT- Food Science and Technology**, Athens, n. 40, p. 1123-1132, 2007.

NARVAIZ, P.; LESCANO, H. G.; KAUPERT, N. L. Preservation of apples by irradiation. **Food Chemistry**, London, v. 27, p. 273-281, 1998.

NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos Vegetais e Biotecnologia, 2007.

NOBERTO, S. et al. Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. **Journal of Functional Foods**, Oxford, v. 5, n. 4, p. 1518–1528, 2013.

PERES, L. E. P. **Metabolismo secundário**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2004. p. 1-10.

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

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Science and Technology**, Athens, v. 40, p. 1-11, 2007.

SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J.; TUCKER, A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993.

SIKORA, E. et al. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, London, v. 107, p. 50-55, 2008.

SILVA, A. L. F.; ROZA, C. R. Uso da irradiação em alimentos: revisão. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 49-56, 2010.

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 3, p. 669-682, 2010.

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

SOUSA, M. B. et al. Mirtilo: qualidade pós-colheita. **Folhas de divulgação AGRO 556**, Lisboa, n. 8, p. 1-3, nov. 2007.

STRACK, D. **Phenolic metabolism: plant biochemistry**. San Diego: Academic, 1997. p. 387-416.

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

VIEITES, R. L. **Conservação pós-colheita de tomates através do uso de irradiação gama, cera e sacos de polietileno, armazenados em condições de refrigeração e ambiente**. 1998. 131 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1998.

WANG, C. Y.; CHEN, C.; WANG, S. Y. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. **Food Chemistry**, London, v. 117, p. 426-431, 2009.

WANG, S. Y.; JIAO, H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 5677-5684, 2000.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: a review. **LWT – Food Science and Technology**, Athens, v. 42, p. 1573-1580, 2009.

CAPÍTULO 2

Qualidade pós-colheita de mirtilos (*Vaccinium ashei* Reade) tratados com diferentes doses de radiação ionizante e ultravioleta

RESUMO

O mirtilo, apesar de ser um fruto de clima temperado, tem sido cultivado no Brasil e tem provocado grande interesse nos consumidores por seu sabor e características nutricionais. É um fruto muito sensível e perecível. O emprego da irradiação em frutas e hortaliças tem sido estudado como alternativa visando ao aumento da vida útil destes. Objetivou-se com o desenvolvimento deste trabalho avaliar o efeito da irradiação gama e da radiação ultravioleta-C nas características físico-químicas pós-colheita de mirtilos armazenados sob refrigeração. As doses de irradiação gama aplicadas foram 0,0 kGy; 1,0 kGy e 1,5 kGy e de radiação UV-C foram 0,0 kJ.m⁻², 2 kJ.m⁻² e 4 kJ.m⁻². Após aplicação, os mirtilos foram armazenados em câmara fria (5°C ± 0,5) por 20 dias e avaliados a cada 5 dias, a partir do dia 0. Foram realizadas as seguintes análises: perda de massa, acidez titulável, sólidos solúveis, firmeza e pH. Os frutos submetidos à irradiação gama apresentaram menor firmeza e maior teor de sólidos solúveis. A radiação UV-C não provocou efeito nas variáveis analisadas observou-se alterações apenas durante o armazenamento refrigerado.

Palavras-chave: Irradiação gama. Radiação UV-C. Conservação.

ABSTRACT

Blueberries, despite being a fruit of temperate climate, has been cultivated in Brazil and has caused great interest among consumers for its taste and nutritional characteristics. It is a very sensitive and perishable fruit. The irradiation use on fruits and vegetables has been studied as an alternative in order to increase the useful life of these. The objective of the development of this work was to evaluate the effect of gamma irradiation and ultraviolet-C radiation on the physicochemical characteristics of blueberries post-harvested stored under refrigeration. The applied gamma irradiation doses were 0.0 kGy; 1.0 kGy and 1.5 kGy and UV-C radiation were 0.0 kJ.m⁻², 2 kJ.m⁻² and 4 kJ.m⁻². After application, the blueberries were stored in a cold room (5 °C ± 0.5) for 20 days and evaluated every 5 days, from the day 0. The following analyzes were performed: mass loss, titratable acidity, soluble solids, firmness and pH. Fruits submitted to gamma irradiation had lower firmness and higher content of soluble solids. The UV-C radiation caused no effect on variables observed, changes only during refrigerated storage.

Keywords: Gamma irradiation. UV-C radiation. Conservation.

1 INTRODUÇÃO

O mirtilo é um fruto de clima temperado pertencente à família Ericaceae e ao gênero *Vaccinium*. É muito consumido na Europa e nos Estados Unidos, sendo conhecido como *blueberry*, em inglês, e *arándano*, em espanhol. Inclui-se no grupo de pequenas frutas, junto ao morango, amora, framboesa e fisalis (FACHINELLO et al., 2008). Esta fruta chama a atenção de pesquisadores e consumidores por ser rica nutricionalmente, apresenta uma variedade de vitaminas, minerais, açúcares, pectinas, taninos e ácidos orgânicos (SILVEIRA; VARGAS; ROSA, 2007).

Quanto maior o período de conservação de frutas e hortaliças mais regular o consumo interno e a exportação. A conservação de alimentos por irradiação tem-se mostrado como uma alternativa viável, com legislação aprovada em vários países, inclusive o Brasil. A irradiação não origina nenhum produto tóxico e não acarreta problemas nutricionais e microbiológicos especiais, sendo recomendada pela OMS (Organização Mundial de Saúde). Entretanto, em se tratando de frutas e hortaliças, as radiações podem provocar alterações nos alimentos irradiados, como modificações nos componentes químicos e nutricionais, nas características físicas e sensoriais e nas condições microbiológicas (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A eficácia da irradiação depende de vários fatores, entre os quais a dose de radiação, a taxa de dose, características dos produtos irradiados (variedades) e condições de armazenamento antes e após a irradiação.

A irradiação ultravioleta (UV) tem sido usada para estender a vida útil de várias frutas e hortaliças frescas. Além de contribuir com a diminuição da carga microbiana na superfície do fruto (GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004). A radiação que pode ser utilizada na conservação de alimentos é dividida de acordo com o espectro

eletromagnético de interesse: micro-ondas, radiação ultravioleta, raios X e radiação gama. As radiações ionizantes (partículas alfa, raios X, raios gama, raios beta e raios cósmicos), definidas como aquelas com comprimento de onda de 2.000 Å ou menores, são as de maior interesse na conservação de alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Desta forma, o objetivo neste experimento foi testar os efeitos da radiação UV-C e irradiação gama nas características de qualidade pós-colheita de mirtilos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos utilizados foram adquiridos em pomar comercial localizado na cidade de Barbacena – MG, na safra 2013/14. Após a colheita, os mirtilos foram selecionados quanto à ausência de defeitos e injúria e divididos em 2 grupos: um grupo para irradiação gama e o outro grupo para a radiação ultravioleta-C. A parcela experimental foi composta por cerca de 200g de fruto por repetição.

O primeiro grupo foi transportado para o Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear/Comissão Nacional de Energia Nuclear (CDTN/CNEN), em Belo Horizonte-MG, para aplicação da irradiação gama nas doses de 1,0 kGy e 1,5 kGy e uma amostra controle (0,0 kGy), por meio da fonte de Cobalto-60 tipo Gammabeam-650. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 3X5 para os frutos tratados com a irradiação gama, duas doses de irradiação (1,0 kGy e 1,5 kGy) e uma amostra controle e cinco tempos de armazenamento (0, 5, 10, 15 e 20 dias), com três repetições

O segundo grupo foi transportado para o Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras – UFLA para serem submetidos à aplicação de irradiação UV-C por meio da iluminação com lâmpada ultravioleta (Ecolume 15w), onde a radiação foi medida com o auxílio de um radiômetro portátil USB-850 RED TIDE, acoplado a uma sonda R400-7-VIS-MIR (*US Bio Solutions Ocean Optics*), onde a leitura marcada pelo radiômetro foi de 11,41 watts. Os frutos foram expostos à radiação UV-C por 2,92 e 5,84 minutos, sendo os tempos de exposição à iluminação equivalentes à doses de irradiação de 2 kJ/m² e 4 kJ/m² e uma parcela desses frutos não foi submetida à iluminação (controle). Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 3X5, sendo duas doses de irradiação (2,0 kJ/m² e 4,0 kJ/m²) e uma amostra controle (0,0 kJ/m²) e cinco tempos de análise (0, 5, 10, 15 e 20 dias), com três repetições.

Após o emprego das irradiações (gama e UV-C), os frutos foram levados para o Laboratório de Fisiologia Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal de Lavras e armazenados em câmara fria ($5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ UR) por 20 dias.

A perda de massa foi determinada pesando-se os produtos em balança semianalítica, os resultados foram expressos em porcentagem, considerando-se a diferença entre a massa inicial do fruto *in natura* e aquela obtida a cada intervalo de tempo de amostragem. Foram utilizados os mesmos frutos em todos os tempos de avaliação.

A determinação da acidez titulável foi realizada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N, usando como indicador a fenolftaleína, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985). Os resultados foram expressos em porcentagem do ácido málico.

Para determinação dos sólidos solúveis foi utilizado o refratômetro digital ATAGO PR-100 com compensação de temperatura automática a 25°C e os resultados serão expressos em porcentagem (%), conforme a *Association of Official Agricultural Chemists - AOAC* (2007).

A firmeza dos frutos foi determinada com o auxílio do texturômetro (Stable Micro Systems, modelo TA.XT2), através de uma sonda de 0,3 cm e uma carga de massa celular de 20 kg. A velocidade de carga celular foi de $20 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$.

O pH foi determinado por potenciometria utilizando-se pHmetro Tecnal Tec-3MP.

As comparações múltiplas entre as médias dos parâmetros estudados foram realizadas utilizando-se teste de Scot-Knott com nível de 5% de probabilidade. Os modelos de regressão polinomiais foram selecionados com base na significância do teste F de cada modelo testado e pelo coeficiente de determinação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da perda de massa indicou que não houve influência das diferentes doses de irradiação nos mirtilos. Durante o período de armazenamento os valores diminuem linearmente (Figura 1), característica da senescência dos frutos devido à perda de água por respiração e transpiração (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Guimarães et al. (2013) estudando o efeito da irradiação gama Co^{60} em framboesas armazenadas a $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 dias observaram que as doses de irradiação 0,5, 1,0 e 2,0 kGy minimizaram a perda de massa em comparação com os frutos não tratados, sendo a dose 2,0 kGy a que apresentou os melhores resultados.

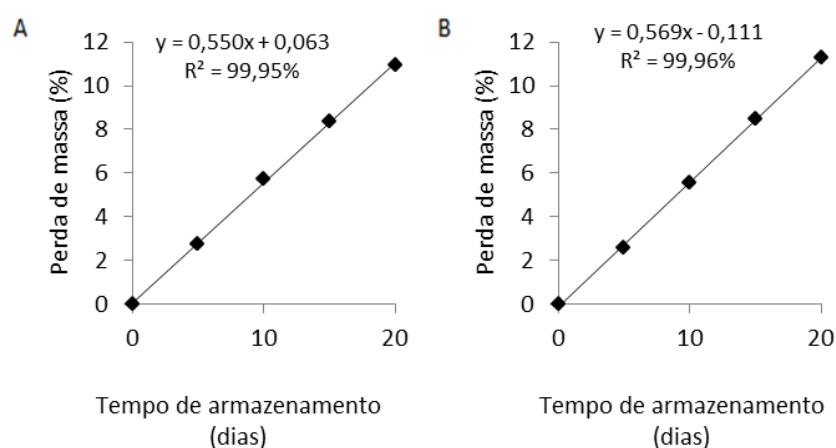
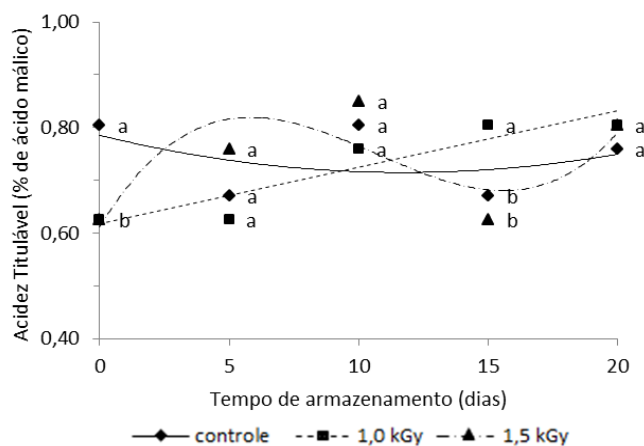


Figura 1 Valores de perda de massa de mirtilos armazenados por 20 dias sob refrigeração: (A) irradiação gama e (B) radiação UV-C

As doses de irradiação UV-C não alteraram os valores de acidez titulável dos mirtilos. A acidez de um fruto é medida pela presença dos ácidos orgânicos, que servem de substratos para a respiração, encontram-se dissolvidos nos vacúolos das células tanto na forma livre, como combinada com sais, ésteres, glicosídeos. O teor de ácidos orgânicos tende a diminuir, devido à sua oxidação no ciclo dos ácidos tricarbóxicos, ao processo respiratório ou de sua conversão em açúcares, pois nesta

fase ocorre maior demanda energética pelo aumento do metabolismo (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Houve interação significativa entre as doses de irradiação e o tempo de armazenamento para os frutos tratados com irradiação gama para a acidez titulável (Figura 2), onde os valores apresentaram oscilações durante o período de armazenamento. Segundo Stülp et al. (2012), avaliando mirtilos mantidos em sistema refrigerado (10°C, 85 a 90% UR), por 14 dias, a acidez titulável pode diminuir devido à degradação dos ácidos orgânicos no processo de senescência dos frutos. Ao observar os valores de acidez titulável no tempo 0 com os valores desta mesma variável no tempo 20, verifica-se que a dose de 0,0 kGy (sem irradiação) foi a única que apresentou queda ao final do armazenamento. Este fato nos permite supor que houve influência da irradiação nos valores de acidez titulável mesmo que ao final do período os valores apresentem-se iguais para todas as doses de irradiação.



Controle $y = ns$.

1,0 kGy $y = 0,011x + 0,617 R^2 = 85,7 \%$

1,5 kGy $y = 0,000x^3 - 0,010x^2 + 0,081x + 0,612 R^2 = 67,4 \%$

Figura 2 Valores de acidez titulável em mirtilo tratados com irradiação gama armazenados por 20 dias, sob refrigeração. Médias seguidas da mesma letra dentro de cada tempo, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Nos frutos submetidos à radiação UV-C (Figura 3), apenas o tempo apresentou diferença significativa, expondo uma tendência ao aumento da acidez titulável com o tempo de armazenamento, o que pode ter ocorrido provavelmente devido ao efeito concentrador da perda de umidade ao longo do armazenamento.

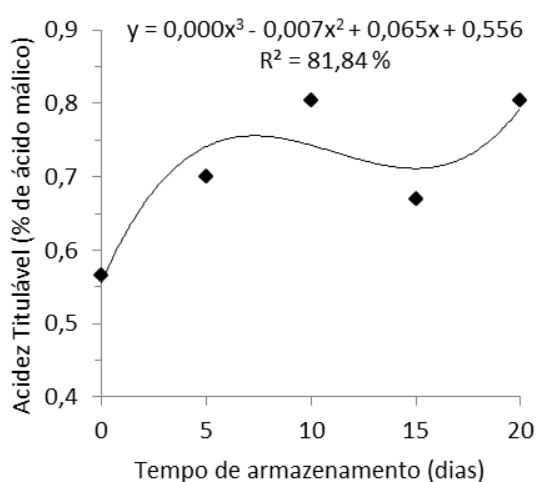


Figura 3 Valores de acidez titulável em mirtilo tratados com irradiação UV-C armazenados por 20 dias, sob refrigeração. Médias seguidas da mesma letra dentro de cada tempo, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Não houve alteração no teor de sólidos solúveis durante o período de armazenamento para os frutos tratados com irradiação gama, porém, foi observada diferença entre as doses nos valores de sólidos solúveis (Tabela 1). Os controles apresentaram os menores valores de sólidos solúveis. O que contradiz França et al. (2008) que não observaram alterações nos valores de sólidos solúveis, pH e acidez titulável total de amostras de morangos irradiados até a dose de 2 kGy. Não houve interação significativa entre as doses de irradiação e o tempo de armazenamento para a variável firmeza. Mirtilos não irradiados

apresentaram o maior valor para firmeza enquanto os frutos irradiados na dose 1,5 kGy o menor valor (Tabela 1). Gunes, Hotchkiss e Watkins (2001) pesquisando maçãs fatiadas, irradiadas com doses superiores a 0,34 kGy, verificaram uma redução na firmeza, e justificaram como possível associação da irradiação o aumento da pectina solúvel em água e diminuição do oxalato de pectina solúvel. A irradiação na dose mais alta (1,5 kGy) pode ter danificado o tecido do fruto. Guimarães et al. (2013) relataram uma redução da firmeza em framboesas submetidas à irradiação gama (0, 0,5, 1,0 e 2,0 kGy) e armazenadas a 1 °C por 12 dias, sendo que os frutos irradiados apresentaram maior perda da firmeza e ao final do armazenamento os frutos tratados com 2 kGy foram os que sofreram maior perda da firmeza.

Tabela 1 Valores de sólidos solúveis e firmeza de mirtilos tratados com diferentes doses de irradiação gama

Doses de Irradiação (kGy)	Sólidos Solúveis (%)	Firmeza (N)
0,0	11,90 b	2,45 a
1,0	12,60 a	1,71 b
1,5	13,00 a	1,37 c

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade.

Para os frutos tratados com radiação UV-C a variável sólidos solúveis dos mirtilos não foi alterada pela ação das doses de radiação UV-C. No decorrer do armazenamento os valores variaram com aumento inicial e posterior queda (Figura 4). O aumento pode ter ocorrido, assim como para a acidez titulável, devido à perda de massa fresca proporcionando um aumento na concentração. Já a posterior queda pode ser explicada pela utilização destes compostos como substrato na respiração dos frutos. Para a firmeza dos frutos tratados com a radiação UV-C não foi observado diferenças entre as doses de radiação e nem entre o tempo de armazenamento, sendo possível concluir apenas sob o valor médio da firmeza $2,24 \pm 0,07$ N.

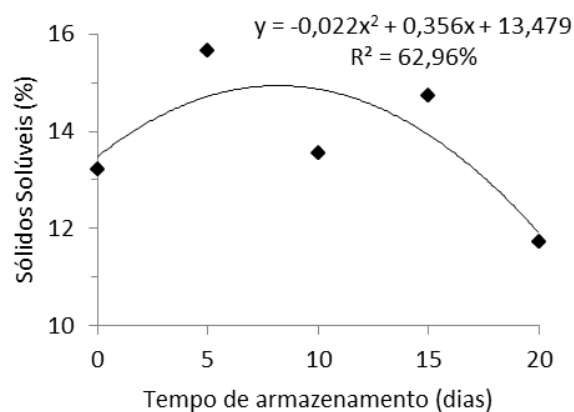


Figura 4 Valores de sólidos solúveis de mirtilos submetidos a irradiação UV-C armazenados por 20 dias sob refrigeração

Não foi verificada nenhuma diferença nos valores de pH dos mirtilos irradiados, nas diferentes doses das irradiações, durante o período de armazenamento estudado. O valor médio de pH foi de $3,24 \pm 0,07$ para os frutos tratados com a irradiação gama e de $3,21 \pm 0,03$ para os frutos submetidos à radiação UV-C. Esses dados revelam que a radiação (gama ou UV-C) aplicada não interfere no comportamento do pH dos mirtilos, uma vez que os tratamentos controle ($0,0 \text{ kGy}$ e $0,0 \text{ kJ.m}^{-2}$) tiveram comportamentos semelhantes aos demais.

4 CONCLUSÕES

As doses de irradiação gama utilizadas não foram eficientes na manutenção da característica firmeza, porém, elevaram o teor de sólidos solúveis e acidez titulável. Mirtilos submetidos à radiação UV-C nas doses de $2,0 \text{ kJ.m}^{-2}$ e $4,0 \text{ kJ.m}^{-2}$ não apresentaram diferenças significativas para as variáveis analisadas, apenas o tempo de armazenamento mostrou influencia na perda de massa, acidez titulável e sólidos solúveis. Sendo assim, a radiação UV-C não se mostrou eficiente na manutenção da qualidade pós-colheita de mirtilos armazenados por 20 dias sob refrigeração.

AGRADECIMENTOS

À Fapemig e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 17th ed. Washington, 2007. 1410 p.

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

FACHINELLO, J. C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 285-576, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

FRANÇOSO, I. L. T. et al. Alterações físico-químicas em morangos irradiados e armazenados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 614-619, 2008.

GUERRERO-BELTRAN, J. A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light. **Food Science and Technology International**, London, v. 10, p. 137-147, 2004.

GUIMARÃES, I. C. et al. Physicochemical and microbiological quality of raspberries (*Rubus idaeus*) treated with different doses of gamma irradiation. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 33, p. 316-322, 2013.

GUNES, G.; HOTCHKISS, J. H.; WATKINS, C. B. Effects of gamma irradiation on the texture of minimally processed apple slices. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 1, p. 63-67, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 3 ed. São Paulo, 1985. v. 1, p. 125 e 181.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. Radiation protection of foods and nature of microbial radiation resistance. In: JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. (Ed.). **Modern food microbiology**. 7th ed. New York: Springer, 2005. p. 371-390.

SILVEIRA, N. G. A.; VARGAS, P. N.; ROSA, C. S. Teor de polifenóis e composição química do mirtilo do grupo highbush. Alimentos e nutrição. **Brazilian Journal of Food and nutrition**. Araraquara, v. 18, n. 4, p. 365-370, Oct./Dec. 2007.

STÜLP, M. et al. Conservação e qualidade de mirtilo orgânico utilizando revestimento comestível a base de fécula de mandioca. **Revista Brasileira de Tecnologia Industrial**, Ponta Grossa, v. 6, n. 1, p. 713-721, 2012.

CAPÍTULO 3

Compostos bioativos em mirtilos (*Vaccinium ashei* Reade) submetidos à radiação ultravioleta

RESUMO

Atualmente o mirtilo tem despertado a atenção dos consumidores devido ao seu sabor exótico e a sua contribuição para saúde humana em virtude da rica composição de substâncias antioxidantes, tais como: compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas. Sabe-se que o emprego da radiação UV-C na pós-colheita aumenta a vida útil de muitas frutas e hortaliças. No entanto, crescente atenção tem sido dada às alterações bioquímicas associadas ao uso dessa tecnologia como, por exemplo, o aumento de compostos bioativos. Assim, mirtilos foram submetidos à aplicação de irradiação UV-C por meio da iluminação com lâmpada ultravioleta nas doses de 2 kJ/m² e 4 kJ/m² e um grupo não irradiado foi denominado controle. Os frutos foram armazenados sob refrigeração (5 °C ± 0,5) durante 20 dias e avaliados a cada 5 dias, a partir do dia 0. Os resultados deste trabalho mostraram que os frutos submetidos à dose de 4 kJ/m² apresentaram maiores valores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante ao final do armazenamento. Os frutos irradiados e o controle não apresentaram diferença significativa em relação ao teor de antocianinas totais depois de 20 dias de armazenamento. Os frutos do tratamento controle e irradiado com 4 kJ/m² apresentaram maiores níveis de vitamina C.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Atividade antioxidante. Antocianinas. Vitamina C.

ABSTRACT

Currently, the blueberry has attracted the consumers' attention due to its exotic taste and its contribution to human health due to the rich composition of antioxidants, such as phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins. It is known that the use of UV-C radiation post-harvest extends the lifetime of many fruits and vegetables. However, increasing attention has been given to the biochemical changes associated to this technology, for example, the increase of bioactive compounds. Thus, blueberries were submitted to an UV-C irradiation by illumination with UV light at doses 2 kJ/m² and 4 kJ/m² and a non-irradiated group was called control. The fruits were stored under refrigeration (5 °C ± 0.5) during 20 days and evaluated every 5 days, from the day 0. The results of this work showed that fruits subjected to a dose 4 kJ/m² had higher total phenolic compounds and antioxidant activity at the end of storage. Irradiated fruits and the control showed no significant difference in relation to the content of total anthocyanins after 20 days of storage. The fruits from control treatment and irradiated with 4 kJ/m² had higher levels of vitamin C.

Keywords: Phenolic compounds. Antioxidant activity. Anthocyanins. Vitamin C.

1 INTRODUÇÃO

O mirtilo (*Vaccinium* spp.) tem chamado a atenção de produtores e consumidores nos últimos anos devido à sua qualidade nutricional e benefícios à saúde (conteúdo de vitaminas, compostos fenólicos e substâncias antioxidantes). Inclui-se no grupo de pequenas frutas, junto ao morango, amora, framboesa e fisalis (FACHINELLO et al., 2008). É considerada uma das mais ricas fontes de antioxidantes naturais entre os frutos, possuindo alta capacidade antioxidante contra os radicais peróxil, radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e oxigênio singlete, devido a sua composição rica em substâncias fenólicas, como flavonoides, taninos e antocianinas, que são de especial importância na contribuição para a cor, sabor e aroma da fruta fresca (HEINONEN; MEYER; FRANKEL, 1998; SEYMOUR; TAYLOR; TUCKER, 1993; WANG; JIAO, 2000).

A utilização da radiação ultravioleta-C (UV-C), um tipo de radiação não ionizante de ondas curtas (100 a 280 nm), no tratamento pós-colheita de frutas e hortaliças tem sido reportada como um método físico capaz de retardar a degradação pós-colheita, atrasando o amadurecimento e reduzindo a senescência durante o armazenamento prolongando (GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2007; ERKAN; WANG; WANG, 2008). Ainda, muitos estudos têm demonstrado que a aplicação da radiação UV-C na pós-colheita de frutas e hortaliças parece provocar um estresse nos frutos que induzem a produção de metabólitos secundários provenientes da ativação do mecanismo de defesa dos vegetais, tais como os compostos fenólicos (ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009; BARKA, 2000; ERKAN; WANG; WANG, 2008; GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2007; WANG; CHEN; WANG, 2009).

Nesse sentido, o objetivo neste trabalho foi verificar o efeito do emprego da irradiação UV-C no conteúdo de fitoquímicos como consequência da indução do metabolismo secundário.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) foram adquiridos em pomar comercial localizado na cidade de Barbacena, Minas Gerais, previamente selecionados, na safra 2013/14. Foram colhidos, selecionados quanto ao ponto ideal de maturação e ausência de injúrias e defeitos. Posteriormente foram acondicionados em embalagens plásticas com aproximadamente 200g de fruto (parcela experimental) e transportados para o Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras – UFLA.

Os frutos foram submetidos à irradiação UV-C por meio da iluminação com lâmpada ultravioleta (Ecolume 15w) e a radiação foi medida com o auxílio de um radiômetro portátil USB-850 RED TIDE, acoplado a uma sonda R400-7-VIS-MIR (*US Bio Solutions Ocean Optics*), onde a leitura marcada pelo radiômetro foi de 11,41 watts. As bandejas com os frutos foram subdivididas aleatoriamente em 3 grupos, sendo um grupo controle (não recebeu a irradiação) e os outros dois expostos à irradiação UV-C por 2,92 e 5,84 minutos, sendo os tempos de exposição à iluminação equivalentes as doses de irradiação de 2 kJ/m² e 4 kJ/m², respectivamente. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram analisados e armazenados em câmara fria (5 °C ± 0,5) por 20 dias.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3x5 sendo 2 doses de irradiação (2 kJ/m² e 4 kJ/m²) e um controle (não irradiado) e cinco tempos de armazenamento (0, 5, 10, 15 e 20 dias).

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado empregando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. O cálculo foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100g do fruto (mg EAG. 100g⁻¹) (WATERHOUSE, 2002).

A determinação da atividade antioxidante foi realizada utilizando duas metodologias: DPPH e ABTS^{·+}. Para o método de DPPH foi adotada a metodologia baseada na captura do radical DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhidrazil) de antioxidantes, o qual produz um decréscimo da absorbância a 515 nm, sendo os resultados expressos em porcentagem de sequestro de radicais livres (% SRL) (RUFINO et al., 2007a). O outro método utilizado para a avaliação da atividade antioxidante se baseia na habilidade dos antioxidantes em capturar o radical ABTS^{·+}, sendo os resultados expressos em μM trolox/g do fruto (RUFINO et al., 2007b).

A quantificação dos teores de vitamina C foi realizada por método colorimétrico, empregando-se 2,4 dinitrofenilhidrazina e os resultados expressos em mg de ácido ascórbico por 100g^{-1} de polpa, segundo Strohecker e Henning (1967).

Os teores de antocianinas totais foram quantificados seguindo-se o método do pH diferencial, proposto por Giusti e Wrolstad (2001), que segue a fórmula:

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH} = 1,0 - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH} = 4,5.$$

O conteúdo de antocianinas monoméricas (AM) foi calculado como cianidina-3-glicosídeo (PM = 449,2) e os resultados expressos em mg/100g do fruto, através da fórmula abaixo:

$$\text{AM}_{(\text{mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1})} = (A \times \text{PM} \times \text{fator de diluição} \times 100) / \epsilon (26900) \times 1$$

Em que: A= Absorbância e ϵ = Absortividade Molar

Para a análise estatística, os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e de regressão, avaliando o tratamento dentro de cada tempo de armazenamento, sendo as médias comparadas entre si pelo teste de Scott Knott, em nível de 5% de probabilidade de erro utilizando o programa Sisvar 6 (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de compostos fenólicos totais estão representados na Figura 1. No tempo 0 dias não houve diferença estatística nos níveis de compostos fenólicos totais entre os tratamentos, apresentando valores de $382,86 \pm 13,53$ mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100g do fruto. No quinto dia de armazenamento houve um aumento no teor de fenólicos para todos os tratamentos, sendo que os frutos do tratamento controle apresentaram maior teor, 538 mg EAG por 100g. Ao final do armazenamento, os frutos tratados com 4 kJ/m² foram os que apresentaram a menor queda de compostos fenólicos totais, exibindo um valor de 497 mg EAG por 100g, enquanto que os frutos do tratamento controle e com 2 kJ/m² apresentaram valores de 449 e 434 mg EAG por 100g, respectivamente.

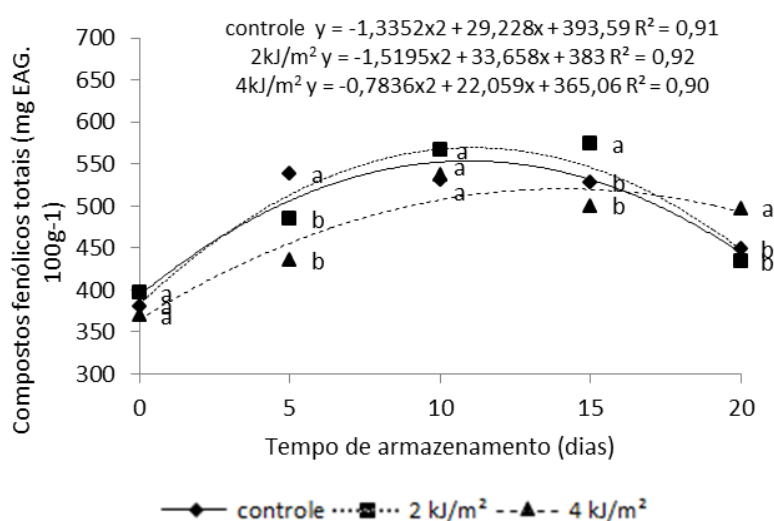


Figura 1 Teores de compostos fenólicos de mirtilos submetidos à irradiação UV-C armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Em geral, as concentrações de fenólicos totais se mantêm relativamente estáveis durante o armazenamento de frutas e hortaliças, mas alguns compostos individuais podem variar (AWAD; JAGER, 2003). Ainda, o processamento e o armazenamento prolongados promovem oxidação enzimática e química dos compostos fenólicos, contribuindo para a sua redução (LEE et al., 2003). Em uvas de mesa (cv. Napoleon) a radiação UV combinadas com o armazenamento refrigerado, promoveu aumento do teor de fenólicos (CANTOS et al., 2000). No entanto, Wang, Cheng e Wang (2009) observaram que os efeitos da radiação UV- C em mirtilos em relação à capacidade antioxidante, compostos fenólicos e antocianinas pareceram ser mais significativos a curto prazo, ou seja, imediatamente após o tratamento sendo as doses de 2,15 e 4,30 kJ/m² as doses que apresentaram os melhores resultados.

González-Aguilar et al. (2007) relataram que o emprego da radiação UV-C em mangas foi capaz de estimular a síntese de compostos fenólicos. Para Erkan, Wang e Wang (2008) morangos tratados com diferentes doses de radiação UV-C (0,43, 2,15 e 4,30 kJ/m²) e o controle apresentaram aumento no conteúdo de fenólicos totais durante 15 dias de armazenamento a 10 °C. No entanto, esse aumento foi relativamente menor no fruto controle quando comparado com os frutos irradiados.

Alothman, Bhat e Karim (2009) relataram que o tratamento com UV-C afetou significativamente o teor de compostos fenólicos totais em abacaxi, banana e goiaba minimamente processados e observaram ainda que esse teor aumentava com o aumento do tempo de exposição à iluminação (0, 10, 20 e 30 min.). Dessa forma, sugere-se que radiação ultravioleta age como um estressor abiótico em frutas e hortaliças provocando um estímulo no mecanismo de defesa dos tecidos vegetais, ou seja, em resposta a esse estresse ocorre uma indução do metabolismo secundário aumentando o conteúdo desses metabólitos como, por exemplo, os compostos fenólicos (BARKA, 2000; ALOTHMAN; BHAT;

KARIM, 2009; ERKAN; WANG; WANG, 2008; GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2007).

Na figura 2(A) pode-se observar os resultados obtidos para a capacidade de sequestro de radicais livres pelo método de DPPH dos mirtilos. Analisando o perfil dos gráficos de teor de compostos fenólicos totais com o de atividade antioxidante pela porcentagem de sequestro de radicais livres (% SRL) nota-se uma semelhança. Isso se deve ao fato dos compostos fenólicos apresentarem ação antioxidante (MISHRA et al., 2010). No tempo 0, ou seja, imediatamente após a aplicação dos tratamentos, frutos controle e frutos submetidos à dose de 2 kJ/m² resultaram em maior atividade antioxidante, com valores de 66,7% e 65,7%, respectivamente, em relação ao tratamento de 4 kJ/m² (60%). No quinto dia de armazenamento o tratamento controle continha frutos com maior atividade antioxidante (82,5% SRL). No décimo dia de armazenamento não houve diferença estatística na atividade antioxidante entre os tratamentos e após 15 dias, os mirtilos irradiados com de 2 KJ/m² apresentaram maior atividade antioxidante (86,9% SRL). Ao final do armazenamento os frutos tratados com 4 kJ/m² apresentaram maior atividade antioxidante (80,1% SRL) em relação aos demais.

A atividade antioxidante determinada pelo método de sequestro de radicais livres ABTS^{•+} está representada na figura 2(B). Os frutos do tratamento controle exibiram maiores valores durante todo o tempo de armazenamento, sendo que ao quinto dia de armazenamento observou-se a maior de atividade antioxidante, cerca de 22,17 μM trolox/g.

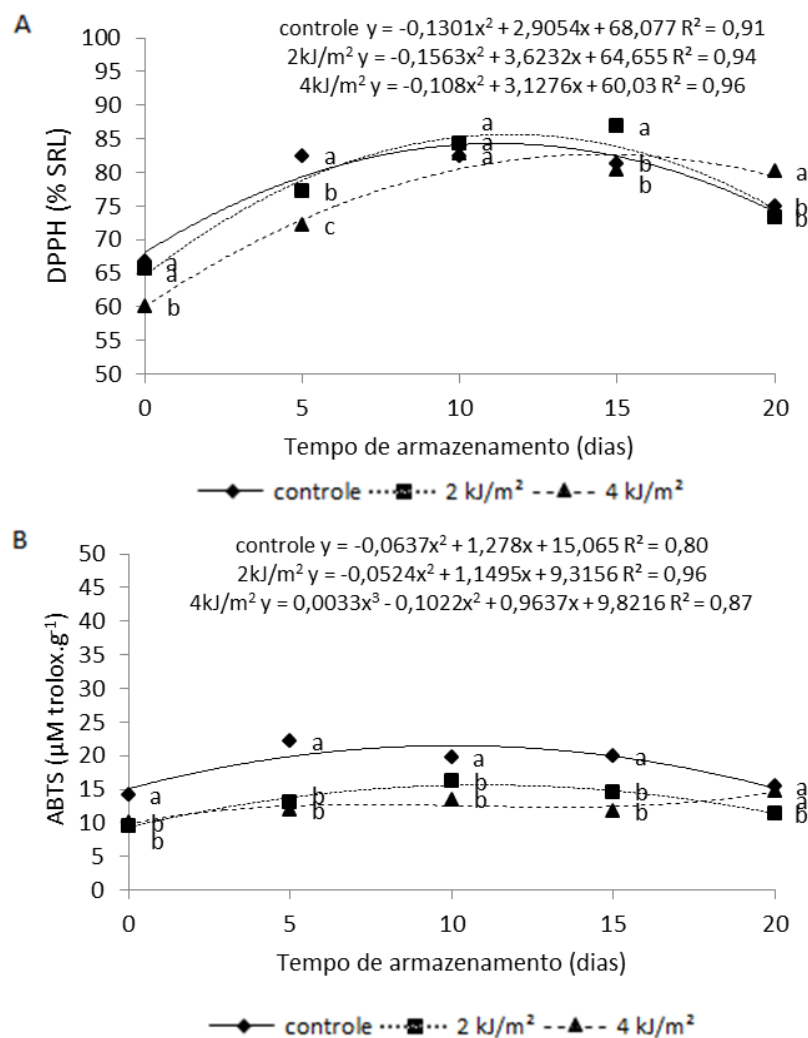


Figura 2 Atividade antioxidante pelo método de DPPH (A) e pelo método de $\text{ABTS}^{\cdot+}$ (B), de mirtilos submetidos à irradiação UV-C armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Segundo Lee e Kader (2000) a vitamina C, termo genérico para todos compostos que exibem atividade biológica de L ácido-ascórbico (AA), é

considerada a mais importante das vitaminas encontradas em frutas e hortaliças para a nutrição humana. O teor de vitamina C dos mirtilos tratados com irradiação UV-C e não tratados diminuíram durante o tempo de armazenamento (Figura 3). Os frutos tratados com 4 kJ/m² apresentaram menores valores de vitamina C no início do armazenamento, cerca de 74,64 mg/100g, no entanto observa-se que o tratamento com 4 kJ/m² manteve o maior valor de vitamina C ao final do armazenamento, 54,84 mg/100g, não diferindo estatisticamente do tratamento controle.

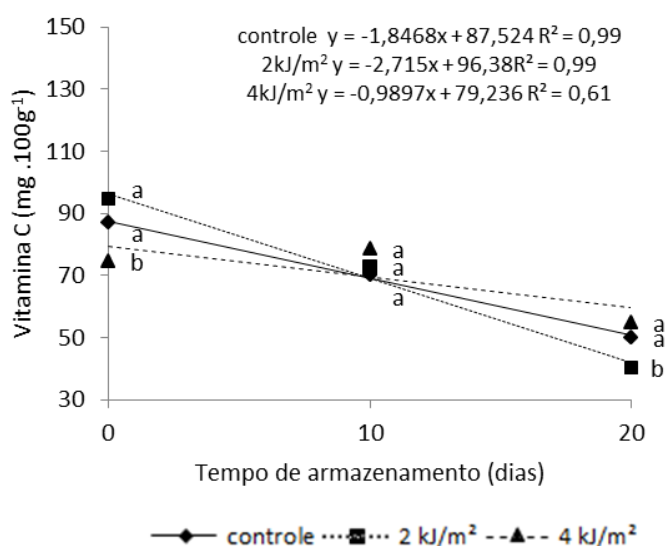


Figura 3 Teor de vitamina C de mirtilos submetidos à irradiação UV-C armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

De acordo com Pérez et al. (1999) durante a maturação e o armazenamento prolongado dos frutos, geralmente observa-se uma redução no conteúdo de vitamina C, isso ocorre devido ao fato de essa substância ser antioxidante natural. A diminuição dos teores de vitamina C durante o armazenamento também foi observada por Calegaro, Pezzi e Bender (2002) em

morangos armazenados por 14 dias a 1 °C. O mesmo foi observado por Cardoso et al. (2012) e Cordenunsi, Nascimento e Lajolo (2003). Pan et al. (2012) verificaram uma diminuição no conteúdo de vitamina C, em abacaxi minimamente processado e tratados com radiação UV-C, tanto para os frutos irradiados como também para os frutos controle, no entanto, os frutos irradiados apresentaram menor redução da vitamina C ao final do armazenamento de 12 dias a 10 °C. O mesmo foi observado em melancia minimamente processada (ARTÉS-HERNÁNDEZ et al., 2010), em brócolis (LEMOINE et al., 2007; LEMOINE; CHAVES; MARTINEZ, 2010) e em pimenta (ANDRADE et al., 2011) em que as amostras tratadas com radiação UV-C apresentaram menor perda da vitamina C ao final do armazenamento. Por outro lado, outros estudos mostraram que a aplicação da radiação UV-C na pós-colheita provocou uma redução no teor de ácido ascórbico em mangas (GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2007) e coentro (FAN, 2003).

As antocianinas encontram-se entre as principais classes de flavonoides e contribui significativamente na atividade antioxidante. O teor de antocianinas totais, como demonstra a figura 4, foi maior nos frutos tratados com 4 kJ/m² (250 mg.100⁻¹) em comparação com os demais tratamentos no tempo 0, no entanto, no tempo de 10 dias e ao final do armazenamento não houve diferença entre os tratamentos, com valores de 182,31 ± 26,62 mg.100g⁻¹.

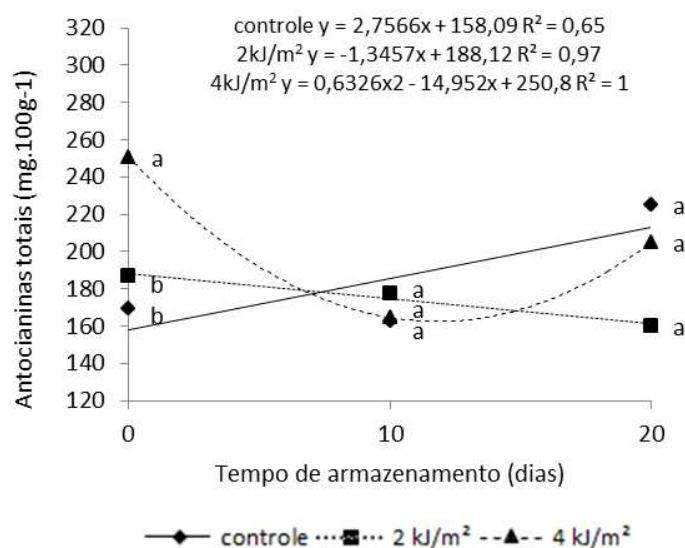


Figura 4 Antocianinas totais de mirtilos submetidos à irradiação UV-C armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Erkan, Wang e Wang (2008) e Li et al. (2014) observaram que a irradiação UV-C nas doses 0,43, 2,15 e 4,30 kJ/m² e 4,1 kJ/m², respectivamente, apresentaram pouco efeito no acúmulo de antocianinas totais em morangos armazenados por 15 dias a 4 °C e 4 dias a 20 °C, respectivamente. Esse comportamento diferiu do observado por Baka et al. (1999), que verificaram um aumento nos teores de antocianinas totais de morangos submetidos à radiação UV-C armazenados a 4 °C por 5 dias. Para Wang, Cheng e Wang (2009) o efeito da exposição de mirtilos à radiação UV-C na dose de 4 kJ/m² no teor de antocianinas totais ocasionou um aumento a curto prazo, ou seja, ocorreu um aumento imediatamente após a iluminação e com o tempo a diferença no conteúdo de antocianinas dos frutos irradiados em relação ao controle diminuía.

4 CONCLUSÃO

A irradiação UV-C na dose de 4 kJ/m², utilizada em mirtilos, provocou aumento no teor de compostos fenólicos e no potencial antioxidante pelo método de DPPH, ao final do armazenamento refrigerado, quando comparados aos mirtilos irradiados na dose de 2 kJ/m² e com os que não foram irradiados. A dose de irradiação UV-C de 2 kJ/m², não foi efetiva para o aumento no teor dos compostos secundários analisados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as agências de fomento à pesquisa Fapemig, Capes e CNPq, pelo apoio financeiro recebido para execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C. M. J. et al. Changes in red pepper antioxidants as affected by UV-C treatments and storage at chilling temperature. **LWT- Food Science Technology**, Athens, v. 44, p. 1666-1671, 2011.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 10, p. 512-516, 2009.
- ARTÉS-HERNÁNDEZ, F. et al. Low UV-C illumination for keeping overall quality of fresh-cut watermelon. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 114-120, 2010.
- AWAD, M. A.; JAGER, A. Influences of air and controlled atmosphere storage on the concentration of potentially healthful phenolics in apples and other fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 27, p. 53-58, 2003.
- BAKA, M. et al. Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 6, p. 1068-1072, 1999.
- BARKA, E. A. et al. Impact of UV-C irradiation on the cell wall-degrading enzymes on ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 667-671, 2000.
- CALEGARO, J. M.; PEZZI, E.; BENDER, R. J. Utilização de atmosfera modificada na conservação de morangos em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1-6, 2002.
- CANTOS, E. et al. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of Cv. Napoleon table grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 4606-4612, 2000.

CARDOSO, L. M. et al. Qualidade pós-colheita de morangos cv. 'diamante' tratados com cloreto de cálcio associado a hipoclorito de sódio. **Alimentos e Nutrição**, Marília, v. 23, n.4, p. 583-588, 2012.

CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; LAJOLO, F. M. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool storage. **Food Chemistry**, London, v. 83, p. 167-173, 2003.

ERKAN, M.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme and decay in strawberries fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 48, p. 163-171, 2008.

FACHINELLO, J. C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 285-576, 2008.

FAN, X. Sensorial, nutritional and microbiological quality of fresh cilantro leaves as influenced by ionizing radiation and storage. **Food Research International**, Essex, v. 36, p. 713-719, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, Nov./Dec. 2011.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with uv-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley, 2001. cap. 1, p. 1- 13.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. et al. Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, p. 197-202, 2007.

HEINONEN, I. M.; MEYER, A. S.; FRANKEL, E. N. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, p. 4107-4112, 1998.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 207-220, 2000.

LEE, K.W. et al. major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 6516-6520, 2003.

LEMOINE, M. L. et al. Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 87, p. 925-1175, 2007.

LEMOINE, M. L.; CHAVES, A. R.; MARTINEZ, G. A. Influence of combined hot air and UV-C treatment on the antioxidant system of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). **LWT - Food Science and Technology**, Athens, v. 43, n. 9, p. 1313-1319, 2010.

LI, D. et al. ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin contents of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 90, p. 56-62, 2014.

MISHRA, N. et al. Study on antioxidant activity of common dry fruits. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 48, p. 3316-3320, 2010.

PAN, Y.; ZU, H. Effect of UV-C radiation on the quality of fresh-cut pineapples. **Procedia Engineering**, Oxford, v. 37, p. 113-119, 2012.

PÉREZ, A. G. et al. Lipoxygenase and hydroperoxide lyase activities in ripening strawberry fruits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 47, p. 249-253, 1999.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa, 2007a. Comunicado Técnico.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS⁺**. Fortaleza : Embrapa, 2007b. Comunicado Técnico.

SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J.; TUCKER, A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. **Analisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.

WANG, C. Y.; CHEN, C.; WANG, S. Y. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. **Food Chemistry**, London, v. 117, p. 426-431, 2009.

WANG, S. Y.; JIAO, H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 5677–5684, 2000.

WATERHOUSE, A. L. **Polyphenolics: determination of total phenolics in current protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley & Sons, 2002. p. 1111-1118.

CAPÍTULO 4

**Perfil de compostos fenólicos e antocianinas em mirtilo
(*Vaccinium ashei* Reade) submetido a diferentes doses de irradiação
gama e armazenados sob refrigeração**

RESUMO

O mirtilo inclui-se no grupo das frutas vermelhas e tem se destacado devido ao alto conteúdo de fitoquímicos (compostos fenólicos e antocianinas) que contribuem para saúde humana, principalmente por atuarem como antioxidantes naturais. Neste trabalho teve-se por objetivo avaliar o efeito da irradiação gama (Cobalto-60) no teor de compostos fenólicos e antocianinas de mirtilos. Para tanto, os frutos foram submetidos a diferentes doses de irradiação (0, 0,5, 1,0 e 1,5 kGy) e armazenados sob refrigeração ($5^{\circ}\text{C} \pm 0,5$) durante 20 dias e avaliados a cada 5 dias a partir do dia 0. Com os resultados deste trabalho não foi possível concluir uma influencia das diferentes doses de irradiação gama no teor de compostos fenólicos totais. O ácido clorogênico foi o composto fenólico majoritário e concentrações significativas de rutina também foram encontradas. Apenas o tempo de armazenamento provocou alterações nos teores de antocianinas totais e individuais.

Palavras-chave: Flavonoides. Cromatografia líquida de alta eficiência. Ácido clorogênico. Rutina.

ABSTRACT

The blueberry is included in the red fruits group and has stood out due to the high content of phytochemicals (phenolics and anthocyanins compounds) that contribute to human health, because acts as natural antioxidants. In this work had as objective to evaluate the gamma irradiation effect (Cobalt-60) in the phenolic compounds content and anthocyanins of blueberries. Therefore, the fruits were subjected to different irradiation doses (0, 0.5, 1.0 and 1.5 kGy) and stored under refrigeration ($5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$) for 20 days and evaluated every 5 days from day 0. With the results of this work was not possible to conclude an influence of different doses of gamma irradiation in the phenolic compounds content. Chlorogenic acid was the major phenolic compound and significant concentrations of rutin were also found. Only the storage time caused changes in levels of anthocyanins total and individual.

Keywords: Flavonoids. High performance liquid chromatography.
Chlorogenic acid. Rutin

1 INTRODUÇÃO

O mirtilo tem despertado a atenção dos pesquisadores nos últimos anos devido aos seus benefícios nutricionais. Esse pequeno fruto inclui-se no grupo das frutas vermelhas e tem se destacado devido ao alto conteúdo de fitoquímicos.

Os compostos fenólicos encontram-se naturalmente presentes nos frutos e representam uma grande variedade de substâncias que podem ser classificadas em vários grupos com base na sua estrutura. São caracterizados pela presença de um ou mais anéis aromáticos ligados a, pelo menos, um radical hidroxila e outros substituintes. As principais classes desses compostos incluem flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos, lignanas e antocianinas (OLIVEIRA; BASTOS, 2011; SPENCER et al., 2008). Esses fitoquímicos são conhecidos por apresentarem atividade antioxidante. Evidências científicas sugerem que os antioxidantes reduzem o risco de doenças crônicas não transmissíveis, incluindo câncer e doenças cardíacas (JOHN; SHAHIDI, 2010; MISHRA et al., 2010).

A utilização da irradiação gama em frutos tem demonstrado resultados positivos nas diversas áreas de aplicação. Guimarães et al. (2013) relataram que a irradiação gama contribuiu na diminuição da carga microbiana de framboesas, sendo a dose de 2,0 kGy a que apresentou melhores resultados. Hussain et al. (2008) observaram que doses de raios gama entre 1,2 e 1,4 kGy provaram ser eficazes na manutenção da qualidade pós-colheita e aumento da vida útil de pêssegos armazenados por 6 dias sob condições ambientais e por 20 dias sob condições de armazenamento refrigerado (HUSSAIN et al., 2008).

Nesse sentido, o objetivo neste trabalho foi verificar o efeito do emprego da irradiação gama no conteúdo de fitoquímicos de mirtilo armazenados sob refrigeração por 20 dias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante os anos de 2013 e 2014. Os frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) foram adquiridos em pomar comercial localizado na cidade de Barbacena, Minas Gerais, previamente selecionados quanto ao ponto ideal de maturação e ausência de injúrias e defeitos e acondicionados em embalagens plásticas com aproximadamente 200g de fruto (parcela experimental).

A irradiação foi realizada no dia seguinte à colheita (aproximadamente 24 horas após). As amostras de mirtilo foram enviadas de forma refrigerada em caixas de isopor para o Laboratório de Irradiação Gama (LIG) do Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear da UFMG, onde foram irradiadas em irradiador Gammacell panorâmico GB-127, IR-214 (MDS Nordion, Canadá) com fonte de Cobalto-60 armazenada a seco. Elas foram dispostas em mesa giratória localizada ao redor da fonte de Co-60. Não foi necessário retirar os mirtilos das embalagens ou das caixas de isopor, pois a irradiação transpõe essas barreiras. As doses empregadas foram: 0 (controle), 0,5, 1,0 e 1,5 kGy. Após o tratamento, os frutos foram transportados para o laboratório de Pós-colheita de Frutos e Hortaliças do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, armazenados em câmara fria ($5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$) durante 20 dias e analisados em diferentes tempos de armazenamento (0, 5, 10, 15 e 20 dias).

2.1 Análises químicas

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado empregando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. O cálculo do teor de fenólicos foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100g do fruto (mg EAG. 100g^{-1}) (WATERHOUSE, 2002).

Os teores de antocianinas totais foram quantificados seguindo-se o método do pH diferencial, proposto por Giusti e Wrolstad (2001), que segue a fórmula:

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH} = 1,0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH} = 4,5}.$$

O conteúdo de antocianinas monoméricas (AM) foi calculado como cianidina-3-glicosídeo (PM = 449,2) e os resultados expressos em mg/100g do fruto, através da fórmula abaixo:

$$AM_{(\text{mg},100 \text{ mL}^{-1})} = (A \times PM \times \text{fator de diluição} \times 100) / \epsilon (26900) \times 1$$

Em que: A= Absorbância e ϵ = Absortividade Molar

2.2 Análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As análises por CLAR foram realizadas no Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro – *Campus* Macaé.

2.2.1 Condições cromatográficas líquidas

As análises por CLAE foram conduzidas usando um cromatógrafo Shimadzu (Kyoto, Japão) equipado com: uma bomba de gradiente quaternária modelo LC-20AT; um degaseificador modelo DGU-20A; injetor automático modelo SIL-20A; forno para colunas CTO-20A; detector fotodíodos no intervalo de 190-800 nm modelo SPD-M20A interligados a uma controladora modelo CBM-20A. O controle do equipamento e a aquisição de dados foram obtidos com auxílio do software *LC solutions*TM, versão 1.25 SP1. Todas as separações foram conduzidas em uma coluna *Acentis express* C18 (100 x 4,6 mm ID, 2,7 μm de tamanho de partícula, Supelco, Bellefonte, PA, EUA) em uma temperatura do forno de 35°C, utilizando uma solução de 5% de ácido acético

(fase móvel A) e acetonitrila (fase móvel B) com vazão de 1 mL/min. A eluição foi efetuada num modo de gradiente da seguinte forma: 1% de B, de 0 a 5 min (condição isocrática); 1% a 20% de B, 5,1-30 min (gradiente linear); 20% a 100% de B, 30,1-40 min (gradiente linear); e 100% de B, 40,1-47 min (isocrático). Uma coluna guarda *Ascentis express* C18 com 2,7 μm de tamanho de partícula (Supelco, Bellefonte, PA, EUA) foi usada para proteger a coluna analítica.

2.2.2 Análises de compostos fenólicos e antocianinas por CLAE

- **Extração**

Os frutos irradiados e os frutos controle foram liofilizados e acondicionados em frascos de vidro hermeticamente fechados e protegidos da luz para posterior análise.

O método de extração foi definido com base em testes preliminares utilizando adaptações dos métodos descritos por Wang, Cheng e Wang (2009) e Zhang et al. (2004). O mesmo extrato foi utilizado para determinação dos compostos fenólicos e antocianinas, que consistiu na extração com uma solução de metanol e ácido clorídrico (99,9:0,1v/v), seguida de agitação e centrifugação (7.000 rpm por 15 minutos) e o sobrenadante filtrado em filtros de seringa (SIMPLEPURE PTFE 0,22 μm) e injetado uma alíquota de 4 μL no cromatógrafo.

- **Identificação e quantificação**

A identificação e quantificação de cada composto foram baseadas no tempo de retenção, na área e no espectro ultravioleta por comparação com padrão comercial puro (marca Sigma-Aldrich) e concentração conhecida. Os

padrões foram dissolvidos em metanol (grau CLAE) na concentração de 1mg/mL e a partir dessa solução foi preparada a curva de calibração.

2.3 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e quando os fatores isolados ou sua interação foram significativos à regressão polinomial e ao teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade de erro usando delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 4x5 (4 doses de irradiação, 5 tempos de armazenamento), com 3 repetições, sendo a parcela experimental composta por uma bandeja (aproximadamente 200g) de mirtilo frescos, utilizando software Sisvar 6 (FERREIRA, 2011). Quando houve efeito significativo da interação, realizou-se o desdobramento das doses em cada tempo de armazenamento.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa entre as doses de irradiação e o tempo de armazenamento no teor de compostos fenólicos totais. É possível observar que não houve grandes variações nos níveis de compostos fenólicos totais durante o armazenamento refrigerado (Figura 1), diferindo-se apenas no 5º dia onde os tratamentos 0,5 kGy e 1,0 kGy apresentaram os maiores valores, 554 e 567 mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100g do fruto, respectivamente.

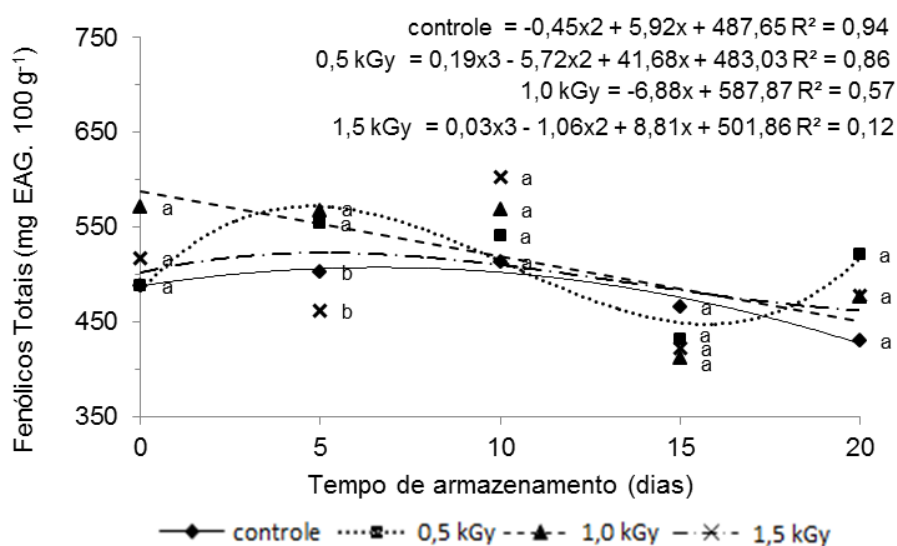


Figura 1 Teores de compostos fenólicos de mirtilos submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância

Em framboesas submetidas à irradiação gama (0; 0,5; 1,0 e 2,0 kGy) e armazenadas a 1 °C por 12 dias, os frutos tratados com as doses de 1,0 e 2,0 kGy apresentaram maiores teores de compostos fenólicos totais ao final do armazenamento (GUIMARÃES et al., 2013). Eichholz et al.

(2011), estudando aplicação de radiação UV-B em mirtilo, observaram que o teor de fenólicos totais foram maiores nos frutos irradiados do que nos frutos controle.

Para as antocianinas totais apenas o tempo apresentou diferença significativa (Figura 2), em que se pode observar um aumento no teor de antocianinas totais chegando a $260 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ após 20 dias de armazenamento.

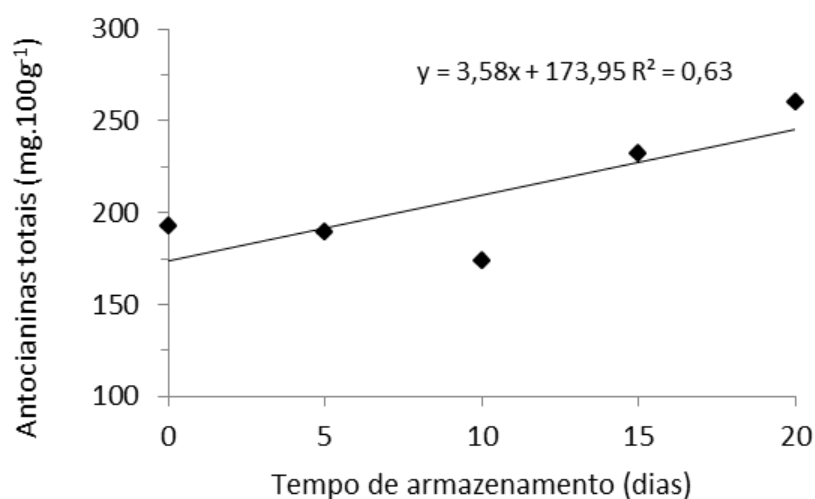


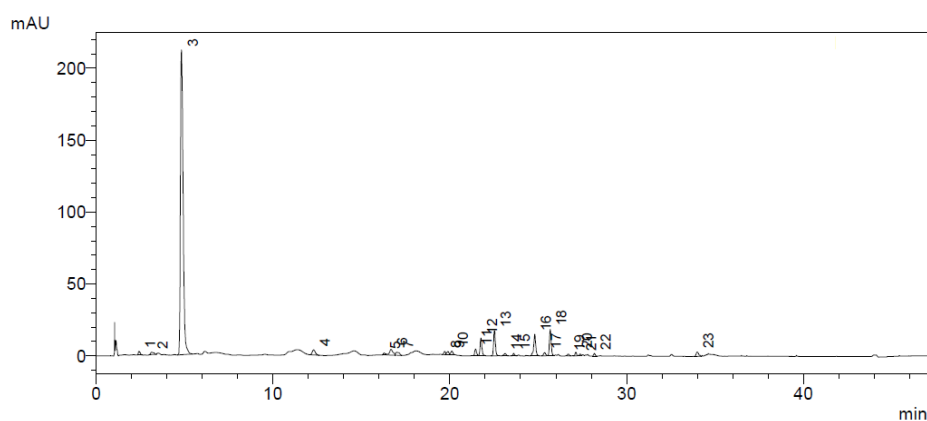
Figura 2 Teores de antocianinas totais de mirtilos submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias

Outros autores relataram que a irradiação gama contribui para o aumento do teor de antocianinas em morangos (HUSSAIN; DAR; WANI, 2012), pêssegos (HUSSAIN et al., 2008) e ameixas (HUSSAIN; DAR; WANI, 2013) e constataram que esse aumento pode ter sido mediado pelo aumento da produção de etileno que, por sua vez, aumenta a atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) e glucosiltransferase (GT), as duas principais enzimas envolvidas na biossíntese de antocianinas a partir de

fenilalanina. No entanto, Tezotto-Uliana et al. (2013) não observaram aumento no teor de antocianinas com o emprego da irradiação gama nas doses de 0,5, 1,0 e 2,0 kGy para framboesas armazenadas por 20 dias a 0°C.

O cromatograma típico de separação de compostos fenólicos via CLAE está representado na figura 3. Inicialmente foram utilizados os seguintes padrões para identificação dos compostos fenólicos em mirtilo: ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, epicatequina, cumarina, rutina, mirecitina, quercetina, kaempferol e resveratrol. Após comparar o tempo de retenção e o espectro ultravioleta dos padrões citados anteriormente com os observados nas amostras de mirtilo concluiu-se que apenas o ácido clorogênico e a rutina (picos 3 e 13 da figura 3, respectivamente) estavam presentes em concentrações significativas. Observou-se ainda que os picos 11, 12, 16 e 18 referentes aos tempos de retenção de 21,5, 21,8, 24,8 e 25,7 minutos, apresentaram espectro-uv típicos de flavonoides e semelhantes ao da rutina, com comprimento de onda de máxima absorção em 352 nm. Assim optou-se por quantificar esses flavonoides em equivalentes de rutina.

(A)



Continuação...

(B)

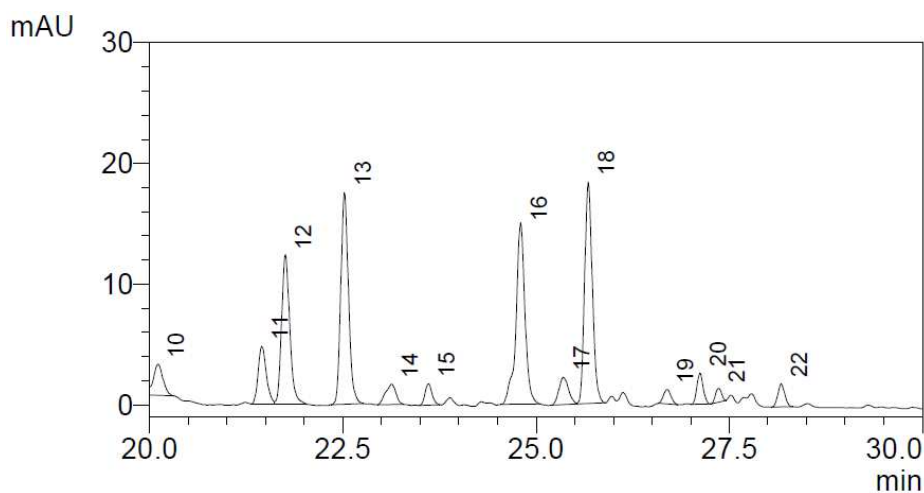


Figura 3 Cromatograma típico de separação de fenólicos via CLAE (3- ácido clorogênico; 13- rutina) de mirtilo submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias (amostra controle no tempo 0 dias de armazenamento) no comprimento de onda de 350 nm onde: (A) cromatograma completo; (B) cromatograma com zoom

Os ácidos clorogênicos são formados pela esterificação do ácido quínico com um dos seguintes ácidos *trans*-cinâmicos: o ácido cafeico, o ferúlico, sinápico ou o *p*-cumárico (OLIVEIRA; BASTOS, 2011). A figura 3(A) evidencia que o ácido clorogênico foi o composto fenólico majoritário. Houve uma queda até o décimo dia, seguida de aumento no teor de ácido clorogênico sendo a dose de 1,5 kGy a que mais variou. Ao final do armazenamento a dose de 0,5 kGy apresentou o menor teor de ácido clorogênico, cerca de $64,0 \text{ mg} \cdot 100^{-1}$ (Figura 4A). Os frutos irradiados não apresentaram grandes variações no teor de rutina durante o armazenamento, com valores variando entre 1,0 e $3,6 \text{ mg} \cdot 100^{-1}$ (Figura 4B).

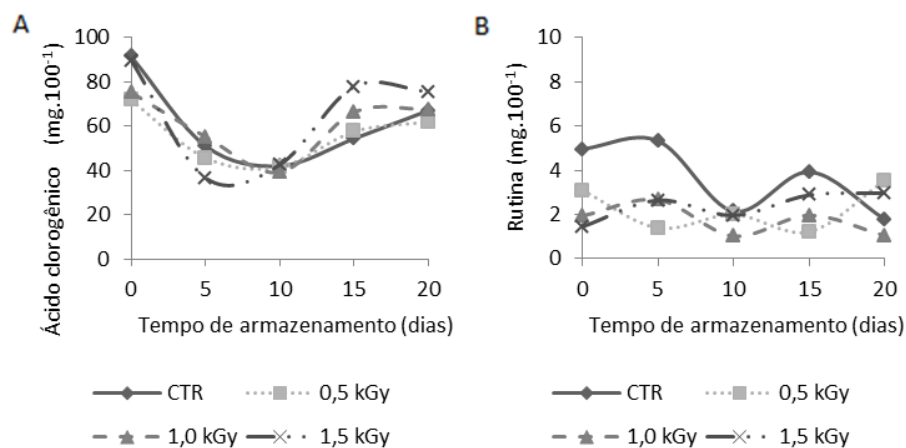
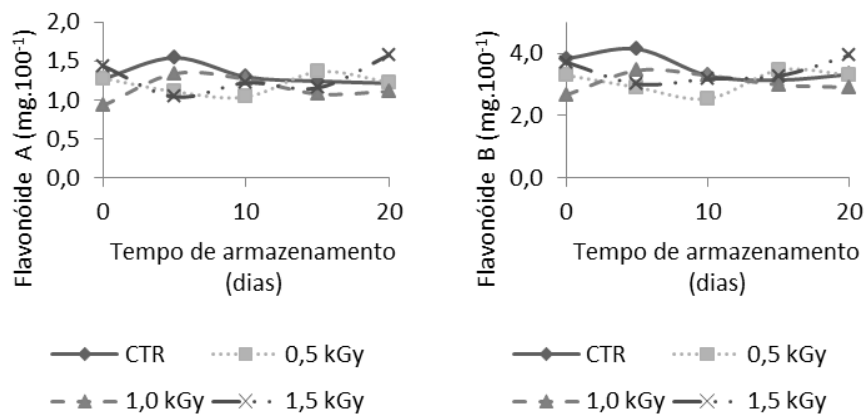


Figura 4 Teor de compostos fenólicos individuais: ácido clorogênico (A) e rutina (B) em mirtilos submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias

Na figura 5 estão representados os gráficos dos outros flavonoides que apresentaram picos significativos encontrados nas amostras de mirtilo irradiados e controle armazenados sob refrigeração. Pode-se observar que não houve grandes variações nas concentrações desses flavonoides em função do tempo de armazenamento e nem entre os tratamentos. Isso indica que a irradiação parece não ter provocado efeito considerado no teor desses compostos.



Continuação...

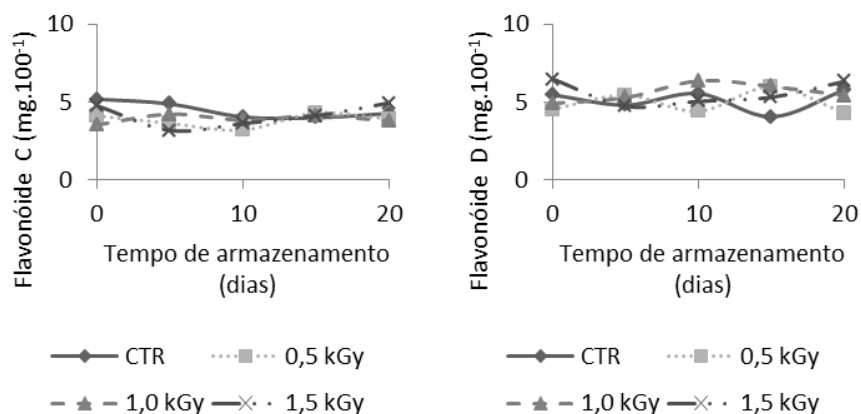


Figura 5 Quantificação dos picos 11, 12, 16 e 18 referentes aos tempos de retenção de 21,5, 21,8, 24,8 e 25,7 minutos convenientemente denominados de flavonóide A, B, C e D, respectivamente (apresentados na figura 3) em equivalentes de rutina de mirtilos submetidos à irradiação gama e armazenados sob refrigeração por 20 dias

O cromatograma típico de separação das antocianinas via CLAE está representado na figura 6. Antocianinas encontradas em mirtilo apresentam-se na maior parte na forma glicosilada, sendo as mais comuns monoarabinosides, monoglucosides e monogalactosides de cianidina, petunidina, peonidina, delphinidina e malvidina (NOBERTO et al., 2013). Yousef et al. (2013) caracterizaram o teor de antocianinas de diferentes cultivares de mirtilo comercial e descobriram que malvidina-3-O-galactósido, delphinidina-3-O-galactósido, malvidina-3-O-arabinósido, cianidina-3-O-arabinósido e delphinidina-3-O-arabinósido constituíam cerca de 70% do total de antocianinas. Neste trabalho a quantificação foi realizada em equivalente de malvidina, pois para fazer uma quantificação individual seria necessário utilizar um cromatógrafo líquido acoplado à espectrometria de massa.

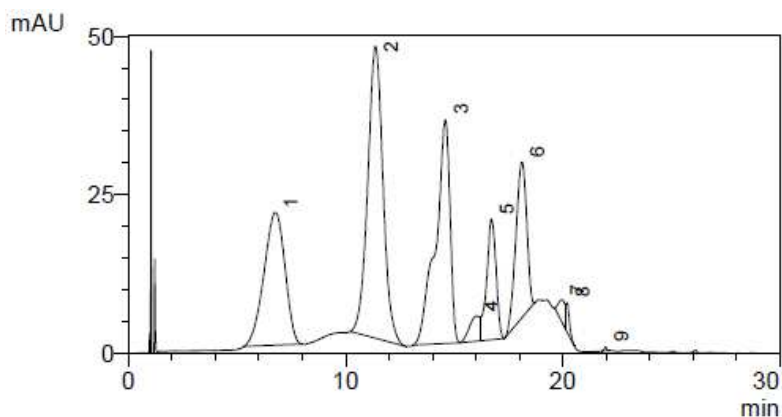


Figura 6 Cromatograma típico de separação de antocianinas via CLAE (amostra controle no tempo 0 dias de armazenamento) no comprimento de onda de 520 nm de submetidos à irradiação gama armazenados sob refrigeração por 20 dias

Na figura 7 estão representados os gráficos referentes à quantificação dos picos de antocianinas representados na figura 6. Para as antocianinas A, B, D e E observou-se uma tendência no aumento do seu conteúdo com o tempo de armazenamento. O que não pode ser observado para a antocianina C, em que a variação no teor de antocianinas foi maior. O efeito da irradiação no teor de antocianinas individuais foi mais pronunciado para a antocianina C, em que os frutos tratados com a dose de 1,5 kGy de irradiação gama apresentaram teores mais elevados em comparação com os demais tratamentos ao final do tempo de armazenamento, atingindo valores de $157 \text{ mg} \cdot 100^{-1}$.

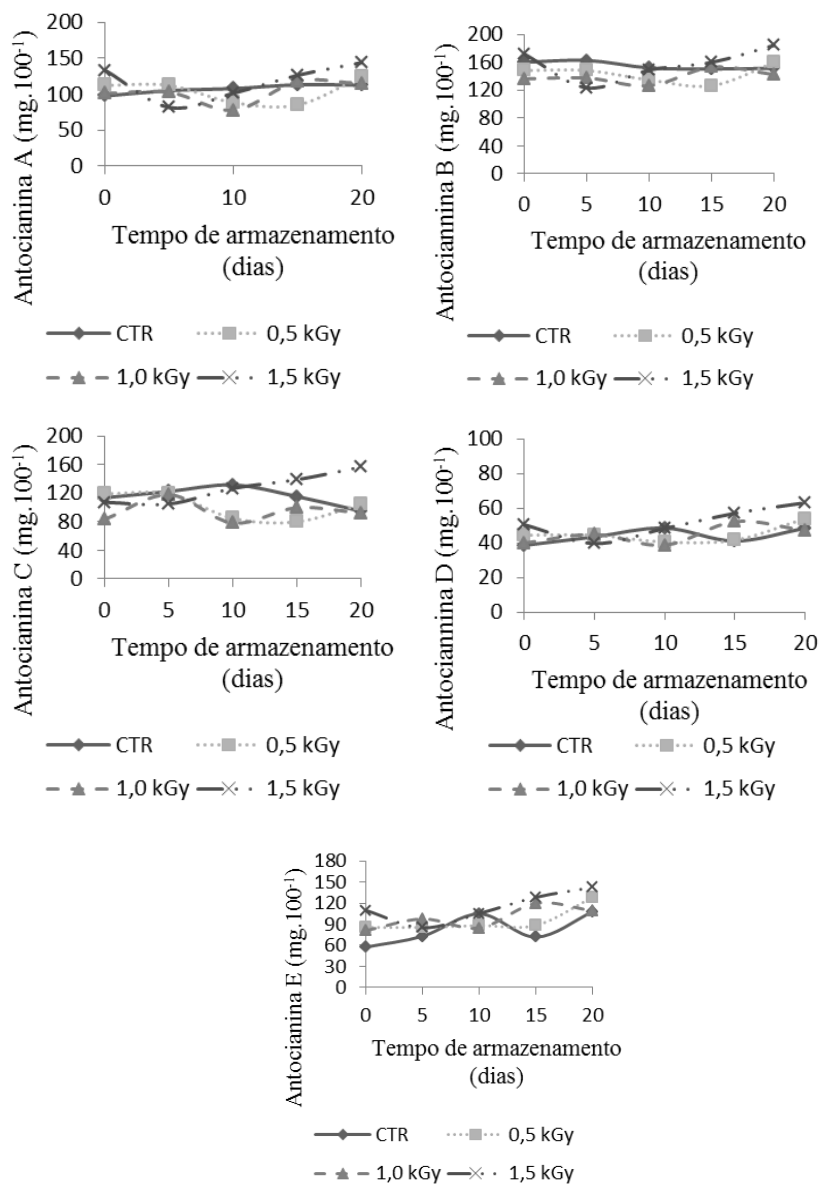


Figura 7 Quantificação dos picos 1, 2, 3, 5 e 6 referentes aos tempos de retenção de 6,9, 11,5, 14,6, 16,7 e 18 minutos convenientemente denominados de antocianinas A, B, C, D e E respectivamente (apresentados na figura 6) em equivalentes de malvidina de mirtilos submetidos à irradiação gama e armazenados sob refrigeração por 20 dias

4 CONCLUSÃO

Não houve influência da irradiação gama no teor de compostos fenólicos totais. O ácido clorogênico foi o composto fenólico majoritário e concentrações significativas de rutina também foram encontradas nos frutos.

A irradiação gama não provocou alterações no teor de antocianinas totais, houve um aumento no seu teor apenas com o tempo de armazenamento. O mesmo pode ser observado no perfil de antocianinas individuais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as agências de fomento à pesquisa Fapemig, Capes e CNPq, pelo apoio financeiro recebido para execução deste trabalho e ao Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear (CDTN) da Universidade Federal de Minas Gerais e ao Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro – *Campus* Macaé pelo apoio concedido para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- EICHHOLZ, I. et al. UV-B-induced changes of volatile metabolites and phenolic compounds in blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Food Chemistry**, London, v. 126, p. 60-64, 2011.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, Nov./Dec. 2011.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with uv-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley, 2001. Cap. 1, p. 1- 13.
- GUIMARÃES, I. C. et al. Physicochemical and microbiological quality of raspberries (*Rubus idaeus*) treated with different doses of gamma irradiation. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 33, p. 316-322, 2013.
- HUSSAIN, P. R.; DAR, M. A.; WANI, A. M. Effect of edible coating and gamma irradiation on inhibition of mould growth and quality retention of strawberry during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, Chichester, v. 47, n. 11, p. 2318-2324, 2012.
- HUSSAIN, P. R.; DAR, M. A.; WANI, A. M. Impact of radiation processing on quality during storage and post-refrigeration decay of plum (*Prunus domestica* L.) cv. Santarozza. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 85, p. 234-242, 2013.
- HUSSAIN, P. R. et al. Studies on enhancing the keeping quality of peach (*Prunus persica* Bausch) Cv. Elberta by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 77, n. 4, p. 473-481, 2008.
- JOHN, J. A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, Oxford, v. 2, p. 196-209, 2010.

MISHRA, N. et al. Study on antioxidant activity of common dry fruits. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 48, p. 3316-3320, 2010.

NOBERTO, S. et al. Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. **Journal of Functional Foods**, Oxford, v. 5, n. 4, p. 1518-1528, 2013.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

SPENCER, J. P. E. et al. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. **British Journal of Nutrition**, London, v. 99, p. 12-22, 2008.

TEZOTTO-ULIANA, J. V. et al. Gamma radiation: An efficient technology to conserve the quality of fresh raspberries. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 164, p. 348-352, 2013.

WANG, C. Y.; CHEN, C.; WANG, S. Y. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. **Food Chemistry**, London, v. 117, p. 426-431, 2009.

WATERHOUSE, A. L. **Polyphenolics**: determination of total phenolics in current protocols in food analytical chemistry. New York: J. Wiley & Sons, 2002. p. 1111-1118.

YOUSEF, G. G. et al. Efficient quantification of the health-relevant anthocyanin and phenolic acid profiles in commercial cultivars and breeding selections of blueberries (*Vaccinium* spp.). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 61, p. 4806-4815, 2013.

ZHANG, Z. et al. Comparison of HPLC methods for determination of anthocyanins and anthocyanidins in bilberry extracts. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 4, p. 688-691, 2004.