

Christophe Ferreira Gonçalves

Avaliação de parâmetros de qualidade em três variedades de mirtilo em modo de Produção Biológico e Convencional

Dissertação

Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar

Trabalho efectuado sob orientação de
Professor Doutor Fernando Gonçalves

Trabalho co-orientado por
Professora Doutora Raquel Guiné
Assistente Mestre Daniela Teixeira

Março, 2015



“As doutrinas expressas neste trabalho são da
exclusiva responsabilidade do autor.”

AGRADECIMENTOS

A colaboração de algumas pessoas foi determinante para a realização deste trabalho, portanto não posso deixar de demonstrar a minha gratidão para com elas.

Ao professor Doutor Fernando Gonçalves, meu orientador e aos meus co-orientadores, Professora Doutora Raquel Guiné e Assistente Mestre Daniela Teixeira pela disponibilidade manifestada para orientar este trabalho, pela exigência de método e rigor, pela incansável orientação científica, pela revisão crítica do texto, esclarecimentos, opiniões e sugestões, pela acessibilidade e simpatia demonstradas, pela confiança que sempre me concederam e pelo permanente estímulo que, por vezes, se tornaram decisivos em determinados momentos da elaboração desta tese.

À AGIM – Associação para a Gestão, Inovação e Modernização do Centro Urbano de Sever do Vouga, no seu conjunto, pela magnífica recepção e espírito de entreatajuda, o que foi fundamental para que todo corresse da melhor forma.

Aos produtores de mirtilo, Senhor Borges e Senhor Artur, pela boa vontade demonstrada desde o primeiro dia e em particular pela cedência das amostras sem as quais este estudo não seria possível.

À minha mulher Daniela, pelo apoio, compreensão, alegria e paciência ao longo destes meses.

À minha família, em particular aos meus pais pela paciência e compreensão demonstrada ao longo de todo o percurso académico.

Por último expresso, a todos os amigos e professores da ESAV, que directamente ou indirectamente contribuíram para a realização deste trabalho, um sincero muito obrigado.

RESUMO

Nos últimos anos tem havido um aumento significativo da procura de frutos vermelhos. Os mirtilos são considerados frutos de boa qualidade, dado o seu elevado teor em compostos fitoquímicos biologicamente ativos, associados a efeitos benéficos para a saúde e bem-estar do Homem. A produção em modo biológico é reconhecida pelo consumidor como um processo que melhora a qualidade do produto.

No presente trabalho pretendeu-se avaliar o efeito do modo de produção (biológico *versus* convencional) de três cultivares de mirtilo (Duke, Bluecrop, Ozarkblue) nas suas propriedades físico-químicas, e em particular na sua composição fenólica e atividade antioxidante. Foi ainda estudado o efeito da temperatura de armazenamento ($\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $\pm 15\text{-}25^{\circ}\text{C}$) sobre essas propriedades. Para tal, as amostras foram analisadas à colheita e após 7 e 14 dias de armazenamento.

A atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS e DPPH mostrou que não há diferenças significativas entre as cultivares estudadas, sendo elevada em todos os casos. Os resultados obtidos confirmam, por isso, que o mirtilo é uma importante fonte de compostos fenólicos com elevada atividade antioxidante.

Foi ainda verificado existirem algumas diferenças significativas em algumas propriedades em função da variedade (nomeadamente teor em matéria seca, cor ou textura). Também se verificaram diferenças significativas em função do modo de produção, o qual influencia em particular a acidez e a doçura, o teor em taninos, a cor e a elasticidade dos frutos. Por fim, a temperatura de armazenamento mostrou ter uma influência significativa apenas no que respeita às propriedades físicas, nomeadamente cor e textura.

PALAVRAS-CHAVE: Mirtilo, Agricultura Biológica, Atividade Antioxidante, Compostos Fenólicos Totais.

ABSTRACT

In recent years there has been a significant increase in the demand for red fruits. Blueberries are considered good quality fruits, given their high content in phytochemical biologically active compounds, associated with beneficial effects on health and well-being of man. The biological production mode is recognized by the consumer as a process that enhances the quality of the product.

In this study we sought to evaluate the effect of mode of production (organic vs. conventional) three blueberry cultivars (Duke, Bluecrop, Ozarkblue) on their physico-chemical properties, and in particular in their phenolic composition and antioxidant activity. It was also studied the effect of storage temperature ($\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $\pm 15\text{-}25^{\circ}\text{C}$) on these properties. For this purpose, samples were analyzed for the collection and after 7 and 14 days of storage.

The antioxidant activity measured by ABTS and DPPH methods showed no significant differences between the cultivars, being high in all cases. The results confirm therefore the blueberry is an important source of phenolic compounds with high antioxidant activity.

It was further found that there are some significant differences in some properties of the function selection (namely dry matter content, color or texture). Also there had been significant differences depending on the mode of production, which influences in particular the acidity and sweetness, the content of tannins, color and elasticity of fruit. Finally, the storage temperature was shown to have a significant influence only with respect to physical properties, including color and texture.

KEYWORDS: Blueberry, Organic Farming, Antioxidant Activity, Total Phenolic Compounds.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	IV
ABSTRACT	V
ÍNDICE GERAL	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE TABELAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS	XII
I. INTRODUÇÃO	1
1. ENQUADRAMENTO GERAL	2
2. OBJETIVOS	3
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3. AGRICULTURA CONVENCIONAL <i>VERSUS</i> AGRICULTURA BIOLÓGICA5	
4. PRODUÇÃO DO MIRTILO	6
4.1. PRODUÇÃO MUNDIAL.....	6
4.2. PRODUÇÃO EM PORTUGAL	8
5. CARACTERIZAÇÃO GERAL DO MIRTILO	10
5.1. CLASSES DE MIRTILO.....	10
5.2. FRUTO	11
6. FATORES AMBIENTAIS COM INFLUÊNCIA NA PRODUÇÃO DO MIRTILO	14
6.1. SOLO	14
6.2. CLIMA	15
6.3. EXPOSIÇÃO SOLAR.....	16
6.4. ÁGUA.....	16
7. ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DAS CULTIVARES ESTUDADAS	17
7.1. DUKE.....	17
7.2. BLUECROP	17
7.3. OZARKBLUE	17
8. COLHEITA E PÓS-COLHEITA.....	18

8.1. PRÉ ARREFECIMENTO.....	20
8.2. EMBALAMENTO	20
8.3. ARMAZENAMENTO.....	21
8.4. TRANSPORTE	22
9. COMERCIALIZAÇÃO	22
10. COMPOSTOS FENÓLICOS	22
10.1. FLAVONÓIDES.....	24
10.2. TANINOS	26
11. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	27
12. COR	29
13. TEXTURA	30
III. MATERIAL E MÉTODOS	32
14. AMOSTRAS.....	33
15. MÉTODOLOGIAS DE ANÁLISE	35
15.1. DETERMINAÇÃO DO PESO E CALIBRE.....	35
15.2. DETERMINAÇÃO DA COR	36
15.3. DETERMINAÇÃO DA TEXTURA	36
15.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS (GRAU BRUX).....	37
15.5. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ	38
15.6. DETERMINAÇÃO DA MATÉRIA SECA	38
15.7. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	39
15.8. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	40
15.9. QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	41
15.10. QUANTIFICAÇÃO DOS TANINOS TOTAIS	42
15.11. QUANTIFICAÇÃO DAS ANTOCIANINAS TOTAIS.....	43
16. TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	43
IV. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	44
18. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	45
17.1. CALIBRE.....	45
17.2. MASSA.....	45
17.3. TEOR DE MATÉRIA SECA	47

17.4. SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS	49
17.5. ACIDEZ	51
17.6. COR	53
17.7. TEXTURA.....	58
17.8. COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	61
17.9. TANINOS TOTAIS	62
17.10. ANTOCIANINAS TOTAIS	65
17.11. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	67
17.12. CORRELAÇÕES ENTRE AS VARÁVEIS EM ESTUDO.....	69
18. CONCLUSÕES	71
V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. PRODUÇÃO MUNDIAL DE MIRTILOS EM 2012.	7
FIGURA 2. PRODUÇÃO DE MIRTILOS NOS CINCO MAIORES PRODUTORES A NÍVEL MUNDIAL, NO ANO DE 2012.	7
FIGURA 3. EVOLUÇÃO DA PRODUÇÃO DE MIRTILOS EM PORTUGAL, A PARTIR DE 2004	9
FIGURA 4. FRUTO DO MIRTILO.	12
FIGURA 5. COLOCAÇÃO DOS FRUTOS NUM LOCAL SOMBRIO, IMPROVISADO NO CAMPO.	19
FIGURA 6. EMBALAMENTO DOS MIRTILOS.	21
FIGURA 7. COMPOSTOS FITOQUÍMICOS, INCLUINDO AS PRINCIPAIS CLASSES DE COMPOSTOS FENÓLICOS.	23
FIGURA 8. CLASSIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES.	27
FIGURA 9. SISTEMA DE COORDENADAS DE CORES.	29
FIGURA 10. FOTOGRAFIA DO CAMPO DE MIRTILOS DA QUINTA DA BOUCINHA.	33
FIGURA 11. MIRTILOS COLOCADOS EM CAIXAS.	34
FIGURA 12. REALIZAÇÃO EXPERIMENTAL DE UMA ANÁLISE DE TEXTURA AO MIRTILO.	36
FIGURA 13. ANÁLISE DE TEXTURA AO MIRTILO.	37
FIGURA 14. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DO MIRTILO	39
FIGURA 15. CALIBRE DAS AMOSTRAS DE MIRTILO À DATA DA COLHEITA.	45
FIGURA 16. TEORES DE MATÉRIA SECA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA.	47
FIGURA 17. TEORES DE MATÉRIA SECA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS).	48
FIGURA 18. TEORES DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA.	49
FIGURA 19. TEORES DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS).	50
FIGURA 20. TEORES DE ACIDEZ DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA.	51
FIGURA 21. TEORES DE ACIDEZ DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS).	52
FIGURA 22. VALORES DE LUMINOSIDADE (L*) OBTIDOS NAS AMOSTRAS À COLHEITA.	53
FIGURA 23. VALORES DA COORDENADA DE COR L* À COLHEITA E APÓS	54

CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS).

FIGURA 24. VALORES DA COORDENADA DE COR B* OBTIDOS NAS AMOSTRAS À COLHEITA. 55

FIGURA 25. VALORES DA COORDENADA DE COR B* À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS). 56

FIGURA 26. VALORES DA COORDENADA DE COR A* OBTIDOS NAS AMOSTRAS À COLHEITA. 57

FIGURA 27. VALORES DA COORDENADA DE COR A* À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS). 58

FIGURA 28. CORRELAÇÃO ENTRE O TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS E A ACIDEZ. 70

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. VALOR NUTRICIONAL DO MIRTILO.	13
TABELA 2. CONTEÚDO EM FLAVONÓIDES NO MIRTILO.	13
TABELA 3. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS QUE OS FRUTOS DEVEM APRESENTAR NA ALTURA DA COLHEITA.	19
TABELA 4. TEOR EM FENÓIS TOTAIS, ANTOCIANINAS E VALORES DE ORAC EM MIRTILOS DA VARIEDADE BLUECROP PRODUZIDOS EM MODO BIOLÓGICO OU CONVENCIONAL.	25
TABELA 5. TABELA ESQUEMÁTICA DO ESTUDO REALIZADO.	35
TABELA 6. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO UTILIZADAS.	40
TABELA 7. MASSA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO AO LONGO DO PERÍODO DE CONSERVAÇÃO.	46
TABELA 8. VALORES DE FIRMEZA OBTIDOS PARA AS AMOSTRAS EM ESTUDO.	59
TABELA 9. VALORES DE ELASTICIDADE OBTIDOS PARA AS AMOSTRAS EM ESTUDO.	60
TABELA 10. TEOR EM COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS PRESENTES NOS EXTRATOS DE METANOL E ACETONA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO.	61
TABELA 11. TEOR EM TANINOS TOTAIS PRESENTES NOS EXTRATOS DE METANOL E ACETONA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO.	63
TABELA 12. TEOR EM ANTOCIANINAS TOTAIS PRESENTES NOS EXTRATOS DE METANOL E ACETONA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO.	65
TABELA 13. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE QUANTIFICADAS PELOS MÉTODOS ABTS E DPPH NAS AMOSTRAS EM ESTUDO.	67
TABELA 14. CORRELAÇÕES DE PIERSON ENTRE AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.	69
TABELA 15. CORRELAÇÕES DE PIERSON ENTRE AS PROPRIEDADES RELACIONADAS COM A COMPOSIÇÃO FENÓLICA	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

µg - micrograma

µL - microlitros

DAC – Dias após a colheita

ESAV – Escola Superior agrária de Viseu

g - gramas

Ha - hectares

HR - Humidade relativa

Kg - Kilogramas

m - metros

mL - mililitros

°C - graus célsius

Ton – toneladas

Dc- Duke produzida em modo de produção convencional

Db – Duke produzida em modo de produção biológico

DcF - Duke produzida em modo de produção convencional e armazenada no frio

Dcta - Duke produzida em modo de produção convencional e armazenada à temperatura ambiente

Bc - Bluecrop produzida em modo de produção convencional

Bb - Bluecrop produzida em modo de produção biológico

Oc- Ozarkblue produzida em modo de produção convencional

Ob – Ozarkblue produzida em modo de produção biológico

OcF - Ozarkblue produzida em modo de produção convencional e armazenada no frio

ObF - Ozarkblue produzida em modo de produção biológica e armazenada no frio

I. INTRODUÇÃO



1. ENQUADRAMENTO GERAL

Nativo da América do Norte e usado pelo Homem desde o século XVI, o mirtilo (*Vaccinium corymbosum*), popularmente conhecido como fruta da longevidade é das culturas em maior expansão, e desperta o interesse dos produtores e investigadores pelas suas características benéficas à saúde que são bem aceites por parte dos consumidores.

O fruto é uma baga, muito apreciada pelo seu sabor exótico, que apresenta dimensões e peso relativamente pequeno e cor azulada.

A agricultura convencional inclui práticas como a queima de resíduos de culturas, a inversão da camada superficial do solo, a mobilização para controlo de infestantes e preparação da cama de sementeira. Estas técnicas favorecem a compactação do solo, a erosão, o aumento do dióxido de carbono e a contaminação dos cursos de água com sedimentos, fertilizantes e pesticidas.

Produzir em agricultura biológica é ter uma visão alargada do papel do homem no ecossistema e manter a preocupação constante da preservação do equilíbrio. O grande objectivo deste modo de produção é introduzir elementos externos no agrosistema, para evitar o uso indiscriminado de agroquímicos, que são factores desestabilizadores do ecossistema.

Nos últimos anos, tem havido por parte dos consumidores um aumento significativo da procura de produtos frutícolas produzidos em agricultura biológica em prol da agricultura convencional. Na base desta procura estão aspetos relacionados com a própria qualidade dos alimentos produzidos com recurso a técnicas culturais menos agressivas e por outro lado uma maior consciencialização da população em geral para as questões ambientais e da preservação dos ecossistemas.

2. OBJETIVOS

Com a execução do presente trabalho pretendeu-se avaliar o efeito do modo de produção (biológico ou convencional) em três cultivares de mirtilo (Duke, Bluecrop e Ozarkblue) no que respeita a atributos biométricos (calibre e peso), a propriedades físicas (cor e textura), a componentes químicos (teor de matéria seca – humidade, sólidos solúveis totais e acidez), a compostos bioativos (compostos fenólicos totais, taninos totais, antocianinas totais) e ainda à capacidade antioxidante.

Este estudo foi também complementado com a avaliação da alteração de algumas das propriedades dos mirtilos, após 7 e 14 dias conservados a baixa temperatura.

Por fim, pretendeu-se correlacionar pela análise estatística os diferentes parâmetros avaliados.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA



3. AGRICULTURA CONVENCIONAL *VERSUS* AGRICULTURA BIOLÓGICA

A agricultura convencional, recorrendo a grandes quantidades de fertilizantes, produtos fitofármacos e técnicas de produção, tornou possível produzir alimentos suficientes para satisfazer as necessidades globais. No entanto, estas práticas conduziram a danos ambientais e à degradação dos ecossistemas, o que representa uma séria ameaça à qualidade de vida de todos os seres vivos (Sandhu *et al.*, 2010).

Em contraponto à agricultura convencional surge agricultura biológica. A agricultura biológica integra um conjunto de técnicas agrícolas, visando a utilização racional do sistema formado pelo clima – água – solo microorganismos - planta, de modo a preservar o equilíbrio dos ecossistemas agrícolas e torná-los sustentáveis a longo prazo. São excluídas na quase totalidade as substâncias químicas de síntese, tais como os fertilizantes químicos e pesticidas de síntese (BIOLOGICA, 2009).

Este modo de produção agrícola é mais ecológico e sustentável, pela aproximação das suas práticas aos equilíbrios naturais, pela maior utilização de factores de produção renováveis, de baixo custo energético, e pelo impedimento de práticas e produtos de maior impacto ambiental.

A agricultura biológica baseia-se numa série de objetivos e princípios, assim como em práticas comuns desenvolvidas para minimizar o impacto humano sobre o ambiente e assegurar que o sistema agrícola funciona da forma mais natural possível (IFOAM, 2005).

As práticas tipicamente usadas em agricultura biológica incluem:

- Rotação de culturas, como um pré-requisito para o uso eficiente dos recursos locais
- Limites muito restritos ao uso de pesticidas e fertilizantes sintéticos, de antibióticos, aditivos alimentares e auxiliares tecnológicos, bem como outro tipo de produtos
- Proibição absoluta do uso de organismos geneticamente modificados

- Aproveitamento dos recursos locais, tais como o uso do estrume animal como fertilizante ou alimentar os animais com produtos da própria exploração
- Escolha de espécies vegetais e animais resistentes a doenças e adaptadas às condições locais
- Criação de animais em liberdade e ao ar livre, fornecendo-lhes alimentos produzidos segundo o modo de produção biológico
- Utilização de práticas de produção animal apropriadas a cada espécie

4. PRODUÇÃO DO MIRTILO

4.1. Produção mundial

A produção de mirtilos tem vindo a expandir-se mundialmente, sobretudo nos principais países produtores, nomeadamente Estados Unidos da América e Países do Norte, Centro e Leste Europeu (Sousa e Curado, 2000).

Este aumento da produção mundial deve-se ao crescente interesse dos consumidores Norte Americanos, Europeus e Asiáticos por este fruto, o que pressiona os produtores mundiais a aumentar a oferta.

Na Figura 1, estão representados a cor verde mais intensa os maiores produtores de mirtilos no mundo. O verde mais claro engloba os países produtores de mirtilo no mundo, mas em quantidades inferiores à produção do continente Americano (FAOSTAT, 2014).

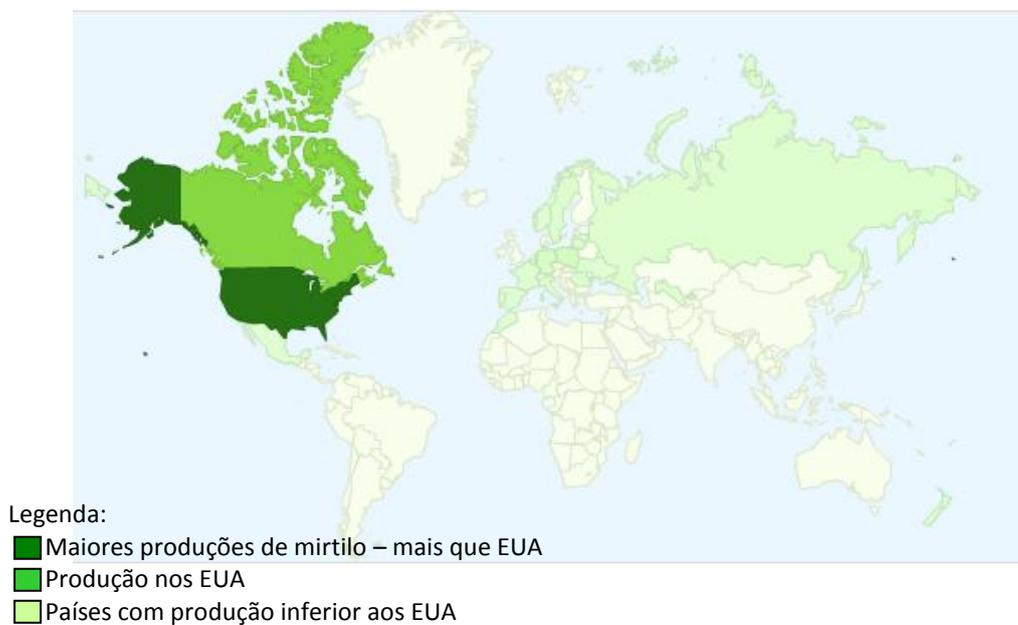


Figura 1. Produção mundial de mirtilos em 2012 (Adaptado de: FAO STAT, 2014).

Os cinco principais produtores a nível mundial, são por ordem decrescente: Estados Unidos da América, Canadá, Polónia, Alemanha e Holanda.

Na Figura 2, pode-se observar as produções dos cinco principais produtores a nível mundial, no ano de 2012.

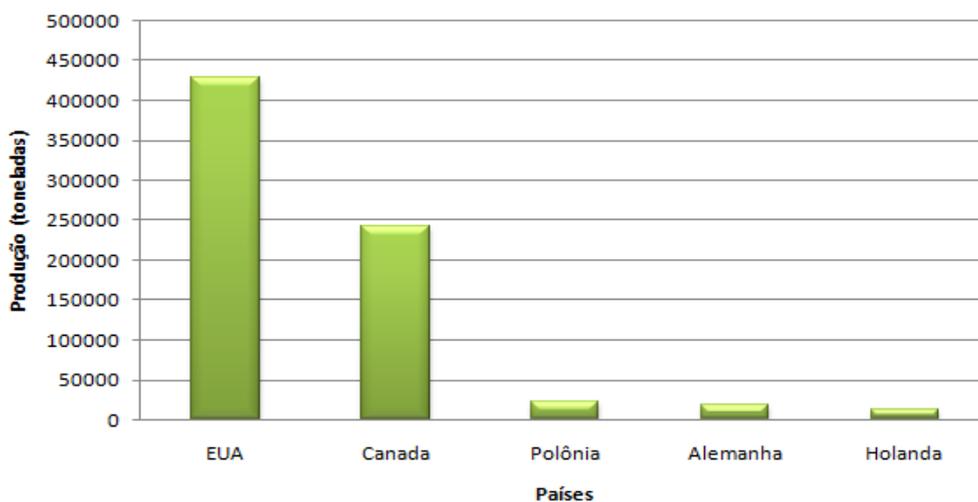


FIGURA 2. PRODUÇÃO DE MIRTILOS NOS CINCO MAIORES PRODUTORES A NÍVEL MUNDIAL, NO ANO DE 2012 (ADAPTADO DE: FAO STAT, 2014).

Os Estados Unidos da América, juntamente com o Canadá são responsáveis pela produção de cerca de 87% dos mirtilos produzidos no mundo, enquanto o continente Europeu é responsável pela produção de cerca de 12% da produção mundial. Na Oceânia este mercado apresenta pouca importância, pois apenas produz cerca de 1% da produção mundial de mirtilos (FAOSTAT, 2014).

Os norte-americanos são os maiores consumidores a nível mundial e importam cerca de 82% da produção realizada no resto do mundo. Embora os Estados Unidos sejam o maior produtor de mirtilo, não são autossuficientes, excepto nos meses de Maio, Junho e Julho, pelo que dependem diretamente do abastecimento de outros países produtores (Fachinello, 2008).

4.2. Produção em Portugal

Portugal é dos poucos países da União Europeia onde não existia a tradição da cultura do mirtilo. No entanto, Portugal possui várias espécies espontâneas de mirtilos, sendo que apenas duas apresentam alguma importância económica. Dessas espécies destaca-se o *Vaccinium myrtillus* L. originário de Portugal continental e que apenas existe na Serra do Gerês e o *Vaccinium padifolium* originário da ilha da Madeira, com frutos grandes e saborosos e que pode alargar de forma interessante a já importante oferta frutícola do arquipélago (Fonseca e Oliveira, 2000).

A produção de mirtilo *Vaccinium corymbosum* iniciou-se na década de 90 em Sever do Vouga, numa parceria entre a Fundação Lockcorn da Holanda e a Cooperativa Agrícola de Sanfins. Actualmente, a produção encontra-se distribuída entre dois territórios distintos: a sub-região do Médio Vouga e a sub-região do Alentejo Litoral. Na sub-região do Médio Vouga encontram-se as condições edafoclimáticas ideais para a produção desta baga. Actualmente Sever do Vouga apresenta a maior área de plantação de mirtilo a nível nacional, cerca de 60 toneladas numa área de cerca de 20 hectares, sendo que 95% da produção é para exportação (Serrado *et al.*, 2008).

Cerca de 80% da produção nacional de mirtilo é destinada à exportação para países da União Europeia como Holanda, Bélgica e França. Em 2007, 95% da produção de mirtilo em Sever do Vouga foi exportada para estes países. Na sub-região do Alentejo litoral existe uma área de produção de cerca de 14 hectares (Serrado *et al.*, 2008).

Na Figura 3, observa-se a evolução da produção de mirtilos em Portugal entre os anos de 2007 e 2012.

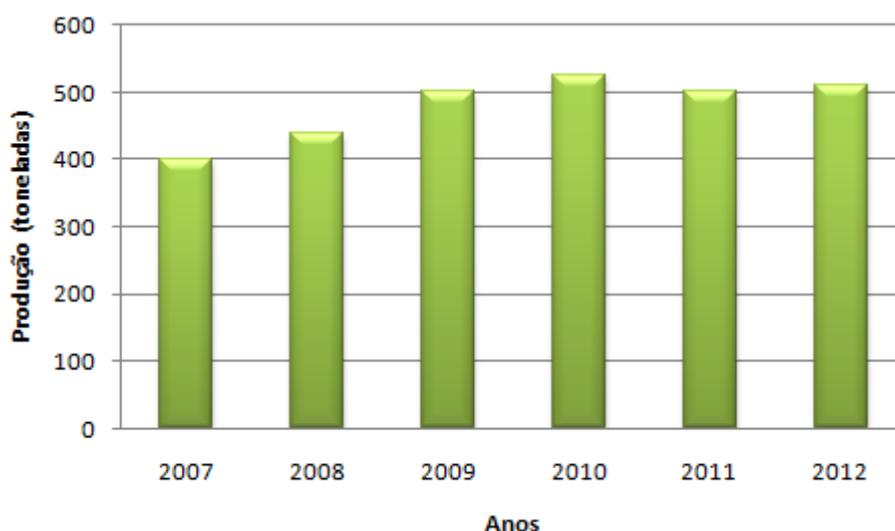


FIGURA 3. EVOLUÇÃO DA PRODUÇÃO DE MIRTILOS EM PORTUGAL, A PARTIR DE 2007 (ADAPTADO DE: FAO STAT, 2014).

A produção de mirtilos em Portugal tem aumentado de ano para ano, ainda que de forma ligeira. Em 2012, Portugal encerrou o ano com uma produção de 510 toneladas de mirtilo. A subida da produção ao longo dos anos deve-se em muito às políticas agrícolas adoptadas, no sentido de incentivar a implementação de novos agricultores para a produção de frutos vermelhos.

A adesão ao modo de produção biológica, tem sido aceite pelos produtores como um modo de diferenciação dos produtos no mercado em todas as culturas no geral e o mirtilo não é excepção. Segundo dados da Interbio (2011) a área de produção biológica ocupada em Portugal em 2009 é de cerca de 160000 ha.

5. CARACTERIZAÇÃO GERAL DO MIRTILO

Vizzotto e Pereira (2009) referem que, o mirtilo é uma espécie frutífera originária de algumas regiões da Europa e América do Norte. Segundo Galletta e Ballington (1996), o mirtilo pode ser classificado como pertencendo ao género *Vaccinium* na família das Ericaceae.

5.1. Classes de mirtilo

Segundo Masabni (2007), as espécies de mirtilo encontram-se divididas em cinco classes, que se baseiam nas características das plantas:

- O **mirtilo Northern highbush**, também vulgarmente conhecido como mirtilo gigante, apresenta porte arbustivo com mais de dois metros de altura. A maioria das variedades necessitam acumular durante o repouso vegetativo entre 800 a 1000 horas de frio, para ter um abrolhamento e uma floração adequada.
- O **mirtilo Southern highbush** é um arbusto alto, necessita de menores quantidades de frio durante o repouso vegetativo. Apresenta melhor desempenho nos planaltos, solos pobres em matéria orgânica e é resistente a doenças. No entanto é exigente em água e necessita de sistemas de drenagem eficientes.
- O **mirtilo Rabbiteye** alcança dois a quatro metros de altura, apresenta tolerância ao calor e ao stresse hídrico e baixas necessidades de frio. Produz bagas avermelhadas, frutos ácidos e com menor poder de conservação.
- O **mirtilo half high** atinge entre 0,5 a 1,0 m de altura e não é muito exigente em horas de frio no repouso vegetativo.
- O **mirtilo lowbush** possui uma altura inferior a 0,50 m e é mais utilizado no uso doméstico ou para processamento.

As classes de maior interesse para as condições climáticas de Portugal são Northern Highbush, Southern Highbush e eventualmente algumas cultivares da classe Rabbiteye. Na zona centro/norte de Portugal as cultivares que melhor desempenho apresentam pertencem principalmente à classe

Northern Highbush, sendo que a sul do Tejo têm-se revelado interessantes os híbridos da classe Southern Highbush e Rabbiteye, por necessitarem de menos horas de frio (Sousa *et al.*, 2007).

As cultivares da classe Northern Highbush são as mais plantadas em todo o mundo, necessitando as plantas de muitas horas de frio para quebrar a dormência durante o Inverno e entrar em produção. O intervalo de horas de frio vai de 800 a 1000 horas abaixo dos 7°C.

As cultivares Southern Highbush necessitam de menos horas de frio durante o Inverno para quebra de dormência da planta, diferindo este número de horas de cultivar para cultivar. O intervalo varia entre 150 a 600 horas de frio abaixo dos 7°C (Sousa *et al.*, 2006).

Em Sever do Vouga as cultivares mais utilizadas são da espécie *Vaccinium corymbosum*. Esta escolha deveu-se a vários factores: clima, possibilidade de ocorrência de geadas tardias, a resistência a doenças e pragas e ainda, por se tratar de uma plantação comercial, à produção e à qualidade.

5.2. Fruto

As bagas formam-se a partir do desenvolvimento do ovário ínfero. Os frutos amadurecem, em geral, cerca de 2 a 3 meses após a floração, dependente das cultivares e das condições atmosféricas, nomeadamente a temperatura e o vigor da planta (Fonseca, 2007).

O fruto (Figura 4) é uma baga azul ou avermelhada, de tamanho variável que oscila entre 7 e 12 mm de diâmetro, revestida por uma camada cerosa (pruína) e que possui uma estrela de cinco pontas na parte superior do fruto. Este fruto apresenta uma película firme, uma polpa sumarenta, aromática e um sabor agridoce (Westwood, 1982; Silveira *et al.*, 2007).



FIGURA 4. FRUTO DO MIRTILO (ADAPTADO DE SOUSA ET AL., 2007).

A cor do mirtilo é influenciada pela presença de pruína, cera epicuticular, que produz o efeito glauco responsável pela cor azul típica dos mirtilos. Esta camada cerosa constitui uma barreira importante à perda de água, impedindo o emurchecimento do fruto (Sousa *et al.*, 2007).

Um dos aspectos a considerar na apreciação do fruto é a dimensão e a profundidade da cicatriz. Esta pode ser um foco de contaminação fúngica e pode originar perdas de humidade consideráveis, induzindo ao emurchecimento e à depreciação da qualidade pós-colheita (Sousa e Curado, 2000).

Na polpa existem sementes extremamente pequenas e comestíveis, que podem ocorrer isoladamente ou em grupos. As cultivares cujos frutos apresentam maior número de sementes evidenciam sabor menos acentuado e um certo grau de arenosidade que os tornam menos apetecíveis (Sousa e Curado, 2000). O mirtilo é um fruto não-climatérico, não se observando variações significativas na taxa respiratória ao longo do tempo de colheita e conservação (Lavadinho *et al.*, 2001)

O mirtilo de uma forma geral é rico em fibra e apresenta baixo teor calórico e em açúcares. É fonte de vitaminas A, B, C e K e apresenta uma grande diversidade de minerais que inclui o cálcio, ferro, magnésio, fósforo, potássio, zinco, selénio e manganês (Tabela 1). Porém, a composição exata do mirtilo é condicionada por factores genéticos, ambientais, tipo de solo e condições de cultivo, tais como o grau de fertilização ou a disponibilidade em água (Giovanelli e Buratti, 2009).

TABELA 1. VALOR NUTRICIONAL DO MIRTILO (ADAPTADO DE; USDA, 2010).

Valor nutricional por 100g de parte edível			
Energia (Kcal)	57,00	Vitamina C (mg)	9,70
Proteínas (g)	0,74	Tiamina (mg)	0,04
Gordura (g)	0,33	Riboflavina (mg)	0,04
Hidratos de carbono (g)	14,49	Niacina (mg)	0,42
Fibra (g)	2,40	Ácido pantoténico (mg)	0,12
Água (g)	84,21	Vitamina B-6 (mg)	0,05
Cálcio (mg)	6,00	vitamina A (UI)	54,00
Ferro (mg)	0,28	Vitamina E (mg EAT)	0,57
Magnésio (mg)	6,00		
Fósforo (mg)	12,00		
Potássio (mg)	77,00		
Selénio (mg)	0,10		
Sódio (mg)	1,00		
Zinco (mg)	0,16		

EAT-Equivalentes de α - tocoferol; UI-Unidades Internacionais

O mirtilo apresenta elevadas quantidades de compostos fenólicos, em especial antocianidinas. Na Tabela 2, é possível observar os valores médios para o conteúdo em flavonoides no mirtilo.

TABELA 2. CONTEÚDO EM FLAVONÓIDES NO MIRTILO (ADAPTADO DE; USDA, 2011).

Conteúdo em flavonoides mg/100g de parte edível			
Antocianidinas		Flavanonas	
Cianidina	7,10	Heperetina	0,00
Delfinidina	30,91	Naringenina	0,00
Malvidina	59,64	Flavonas	
Pelargonidina	0,00	Apigenina	0,00
Peonidina	15,36	Luteolina	0,20
Petunidina	28,02	Flavonóis	
Flavan-3-óis		Canferol	1,66
(-)- Epicatequina	0,62	Miricetina	1,26
(-)- Epicatequina 3-galato	0,00	Quercetina	7,67
(-) – Epigallocatequina	0,66		
(-)– Epilgallocatequina 3-galato	0,00		
(+) – Catequina	5,29		
(+) – Galocatequina	0,12		

Devido à sua riqueza em compostos bioativos, o mirtilo, segundo Jesus (2013), tem aplicabilidade que se estende a diversas patologias, no domínio da prevenção e da terapêutica, destacando-se a sua ação em infecções do trato urinário, infecções da cavidade oral, infecções virais, ou patologias gastrointestinais, neurológicas, cardiovasculares e cancerígenas.

6. FATORES AMBIENTAIS COM INFLUÊNCIA NA PRODUÇÃO DO MIRTILO

A localização geográfica, o solo, clima e a disponibilidade de água são os principais factores a considerar na cultura de mirtilos. O conhecimento das fases de crescimento e das necessidades das plantas é essencial para proporcionar as condições adequadas para se obter boas produções e frutos de qualidade (Oliveira, 2012).

6.1. Solo

Segundo Trehane (2004), o arbusto de mirtilo, como a maioria das plantas, necessita de solo para a fixação das raízes e para um abastecimento de água e nutrientes necessários ao correto crescimento e desenvolvimento da planta. As características físicas e químicas do solo são importantes. Segundo Parra (2008), o mirtilo prefere solos ácidos, bem arejados, drenados e ricos em matéria orgânica. As raízes mais finas da planta necessitam de solos permeáveis para se desenvolverem e explorarem o solo em profundidade. Ao contrário da maioria das plantas que preferem pH neutro, o mirtilo vegeta melhor em solos cujo valor de pH se situa entre 3 e 5, sendo um pH muito ácido para a maioria das espécies fruteiras. Solos de textura arenosa, franco-arenosas e mediamente argilosa são excelentes para obter um bom crescimento das plantas de mirtilo.

Neste tipo de solos de textura grosseira, ocorre maior proliferação dos fungos que vivem em simbiose com as raízes e que desempenham um papel fundamental na absorção de água e nutrientes (Fonseca, 2007).

Os solos argilosos podem apresentar uma drenagem deficiente e baixo arejamento, dificultando o crescimento das raízes e favorecendo o ataque de patogénios, tal como a *Phytophthora* (Parra, 2008).

Quando o solo apresenta um valor de pH superior a 5,5 é recomendada a aplicação de calcário ao solo com a finalidade de baixar o seu pH para níveis óptimos e assim oferecer melhores condições para o desenvolvimento das plantas. Quando o valor de pH do solo se situa acima de 6 o abaixamento do pH é difícil e muito oneroso, no entanto vários produtores observaram que o mirtilo pode ser cultivado, sem problemas aparentes, em solo com pH próximos de 6 desde o solo seja rico em matéria orgânica (Paal *et al.*, 2011).

6.2. Clima

O mirtilo adapta-se a diversos climas, tanto em zonas húmidas como secas, em invernos muito rigorosos ou verões muito quentes, desde que sejam selecionadas as cultivares que melhor se adaptam a estas condições. As plantas podem tolerar temperaturas superiores a 50 °C, se por períodos curtos, e mínimas de até -32 °C (Coletti, 2009).

Para o mirtilo, o frio é o factor mais importante durante o repouso vegetativo e a temperatura, a precipitação e a radiação solar são os factores preponderantes durante a fase vegetativa (Austin e Bondari, 2003). No repouso vegetativo, a planta necessita de um período de dormência, que varia entre 200 a 800 horas, com temperaturas inferiores a 7,2 °C para que ocorra a completa diferenciação dos gomos florais e atinja um balanço hormonal que permita a superação da dormência, ou seja, a iniciação do novo ciclo vegetativo (Serrado *et al.*, 2008). Segundo Trehane (2004) citado por Serrado *et al.*, (2008), na fase vegetativa, as plantas são vulneráveis aos ventos tardios da Primavera que possam ocorrer após abertura das flores. Temperaturas superiores a 30 °C no Verão podem levar à morte das folhas, uma vez que as raízes não conseguem absorver água suficiente para compensar as perdas por transpiração ocorridas nas folhas. Diferentes cultivares necessitam de diferentes acumulações de horas de frio, possuindo os gomos florais menores necessidades de frio do que

os gomos vegetativos (Fonseca, 2007). Caso não sejam atingidas as horas de frio necessárias durante o repouso vegetativo podem ocorrer atrasos no abrolhamento e redução na floração, diminuindo a produtividade e a qualidade dos frutos. Se pelo contrário, a planta cumpre antecipadamente a exigência em frio, a floração inicia-se no final do inverno e torna-se susceptível aos estragos causados pelas geadas (Coletti, 2009).

6.3. Exposição solar

O arbusto do mirtilo é uma planta que necessita de uma boa exposição solar. As parcelas que se encontram expostas a Sul recebem mais incidência solar, pelo que os riscos de geada são menores. A orientação das linhas deve ser, sempre que possível, Norte-Sul (Trehane, 2004).

6.4. Água

Depois de ser plantado e ao longo dos cinco primeiros anos de cultura o mirtilo exige regas regulares para se desenvolver e frutificar. Nos períodos de maior calor, se as partes terminais dos ramos das plantas começarem a murchar, é necessário regar as plantas, eventualmente duas vezes por dia. Na fase de formação do fruto a necessidade de água é crítica e, após a colheita, a deficiência em água pode comprometer a produção do ano seguinte. Uma vez que a maioria das variedades de mirtilo não possuem raízes de pelos radiculares que lhes proporcionem uma maior área de absorção, esta característica deve ser tida em conta quando se efetua a rega (Trehane, 2004).

7. ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DAS CULTIVARES ESTUDADAS

7.1. Duke

A cultivar Duke pertence à classe “Northern Highbush Blueberry”. O tamanho do arbusto varia entre 1,2 e 1,8 m, apresenta forma erecta e entroncada. A floração é tardia (protegendo a floração das geadas) mas a maturação do fruto acontece cedo. O fruto possui um tamanho médio a grande, é doce e apresenta cicatriz pequena e firme. O período de amadurecimento vai desde a quarta semana de maio à primeira semana de junho, datas relativas a Sever do Vouga (Weber, 2012; Machado e Jesus, 2012)

7.2. Bluecrop

Classificada como “Northern Highbush Blueberry” esta cultivar é considerada uma das melhores em termos de adaptabilidade, apresenta longo período de produção com elevado rendimento e boa resistência a doenças. O arbusto apresenta-se erecto e vigoroso com tamanho 1,2 a 1,8 metros com muitos lançamentos novos na coroa. É resistente à seca e fácil de produzir e os frutos são grandes e de sabor doce (Weber, 2012).

7.3. Ozarkblue

Esta cultivar foi classificada durante muitos anos como uma variedade do Sul até que se descobriu que o seu desempenho era bastante melhor se sofresse um arrefecimento de 800 horas durante o repouso vegetativo. É altamente recomendada para os agricultores que desejam alargar o período de colheita até ao mês de Agosto. Deve ser instalada com outra cultivar tardia, já

que só assim se garante uma boa polinização e frutos de boa qualidade (Machado e Jesus, 2012).

8. COLHEITA E PÓS-COLHEITA

As colheitas em Portugal decorrem entre meados de abril e inícios de setembro. O escalonamento da maturação dos frutos depende da cultivar, de tal forma que quanto mais velha for a plantação, mais produz e mais prolongado é o período de colheita. Dependendo da idade das plantas, o mirtilo entra em produção comercial aproximadamente ao 4º - 5º ano após a plantação e produz cerca de 0.5 a 1 ton/ha. A produção aumenta regularmente até atingir 12 ton/ha, aproximadamente ao 7º e 8º ano da cultura (Serrado *et al.*, 2008).

A colheita normalmente é manual e requer mão-de-obra significativa, sendo em média necessárias 20 pessoas/ha no pico da produção. Os frutos são colhidos e colocados em tabuleiros ou baldes de plástico de colheita. Posteriormente é efectuada a seleção dos frutos, eliminando-se os frutos de má qualidade, verdes, sujos, com podridões ou danificados. Este processo de colheita é um trabalho cuidadoso, devendo-se evitar ao máximo danos sobre a baga, pois estes constituem problemas graves durante o armazenamento. Os ferimentos rompem a película da baga, tornando-os mais susceptíveis ao ataque de patogénicos, aumentando a perda de água e diminuindo a qualidade comercial dos mesmos. Os fungos e bactérias são importantes causadores de perdas qualitativas e quantitativas dos frutos (Coutinho e Cantillano, 2007).

Coutinho e Cantillano (2007) apresentam um conjunto de recomendações ao realizar a colheita como por exemplo: não provocar qualquer tipo de dano mecânico no fruto, seja por choque com embalagens, utilização de ferramentas, ou queda de frutos; realizar a colheita nas horas mais frescas do dia, colocando as frutas num local protegido do sol (Figura 5); não realizar a colheita logo após a ocorrência de chuvas fortes; procurar colher os frutos com o mesmo grau de coloração; sempre que possível colher os

frutos diretamente na embalagem de comercialização; não realizar o empilhamento excessivo de caixas.



FIGURA 5. COLOCAÇÃO DOS FRUTOS NUM LOCAL SOMBRIO, IMPROVISADO NO CAMPO.

O grau ótimo de maturação do fruto no momento da colheita é fundamental, pois influencia diretamente o paladar do fruto e a consequente aceitação pelo consumidor, como também o máximo tempo de armazenamento. Assim, frutos colhidos imaturos, ainda que recebam manejo adequado de pós-colheita, possuem qualidade comercial e apresentação inferior àquele colhido com grau ótimo de maturação. O ideal seria colher os frutos que apresentem as características físico-químicas descritas na Tabela 3 (Coutinho e Cantillano, 2007).

TABELA 3. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS QUE OS FRUTOS DEVEM APRESENTAR NA ALTURA DA COLHEITA (ADAPTADO DE COUTINHO E CANTILLANO, 2007).

Características	Valor médio
Peso (g)	1,0-2,07
Sólidos solúveis totais (SST)	13-14
Acidez titulável (AT) (%ácido cítrico)	0,4-0,5
Relação SST/AT	36,0-37,0
Firmeza (libras / Força)	9,0-19,0

8.1. Pré arrefecimento

O pré arrefecimento é um método para eliminar rapidamente o calor que o fruto possui ao ser colhido. Este processo é realizado antes do armazenamento definitivo do fruto. O objectivo é reduzir rapidamente os processos de respiração e transpiração. No entanto, para que seja eficaz, deve ser realizado o mais rápido possível até cerca de 4 horas após a colheita.

Segundo Coutinho e Cantillano (2007), são recomendados dois tipos de sistemas de pré-resfriamento para mirtilos:

- Por água fria ou "hidrocooling": os frutos são submetidos à imersão em água fria (1 a 2°C) ou transportados e tratados através de um túnel onde estão localizadas duchas de água. Neste sistema, a transferência de calor é rápida e homogénea e a perda de peso é praticamente nula.
- Por circulação de ar frio ou "forced air cooling": neste sistema, o ar frio entra em contacto direto com o fruto proporcionando o arrefecimento. A eficiência deste método dependerá da qualidade de transferência de calor entre o ar, a embalagem e o produto.

8.2. Embalamento

Após a colheita e a seleção dos frutos, procede-se ao embalamento. Nesta fase faz-se uma nova triagem dos frutos seleciona-se os de melhor qualidade e calibre que são posteriormente colocados em covetes para comercialização. O embalamento (Figura 6) pode ser efectuado diretamente no campo, durante a colheita, colocando os frutos em covetes de comercialização, passando posteriormente para um lugar de calibração onde se efetua um segundo rastreio e pesagem das embalagens (Serrado *et al.*, 2008).



FIGURA 6. EMBALAMENTO DOS MIRTILOS (ADAPTADO DE SERRADO ET AL., 2008).

8.3. Armazenamento

Durante o armazenamento dos frutos ocorrem uma série de alterações físico-químicas, as quais diminuem a qualidade das bagas, conduzindo à senescência e morte das mesmas com o passar do tempo. O tempo de armazenamento e o tempo necessário para transportar o mirtilo são limitados principalmente por causa dos fungos e pela fácil capacidade que o mirtilo tem de desidratar (Severo *et al.*, 2008).

Neste sentido a atmosfera controlada possui um papel fundamental. A atmosfera controlada consiste em expor as frutas a uma concentração conhecida de gases, em que normalmente se reduz o O₂ e aumenta o CO₂. Esta técnica tem por objectivo reduzir, a um valor mínimo, a respiração do fruto. A conservação em atmosfera controlada permite manter as características sensoriais e a qualidade dos frutos. Os mirtilos são armazenados em arcas frigoríficas a temperaturas entre 2 a 4 °C e 85 a 90% de humidade relativa. Geralmente os frutos são conservados durante um período de 10 dias, dependendo da cultivar (Galarça *et al.*, 2008).

8.4. Transporte

Em Portugal o transporte efetua-se maioritariamente por via terrestre em camiões frigoríficos e com temperaturas que podem variar entre 2 a 4°C. No caso do Chile, por exemplo, o transporte efetua-se em barcos por via marítima (Serrado *et al.*, 2008).

9. COMERCIALIZAÇÃO

Os mirtilos destinam-se não só ao consumo em fresco, mas também para transformação industrial, sendo desidratados e incorporados em compotas, gelados, licores, sumos, bebidas, vinagre, chás, tisanas e muitas outras aplicações (Sousa, 2007).

Quando comercializados em fresco, podem ser embalados em cuvetes ou em caixas de 3 kg para granel. O conteúdo de cada embalagem deve ser homogéneo e conter apenas os frutos da mesma origem, mesma cultivar, qualidade e tamanho. Caso as diretrizes não sejam seguidas a qualidade é afectada e conseqüentemente o seu valor comercial é reduzido (Serrado *et al.*, 2008)

Para satisfazer as exigências cada vez maiores do mercado, o produtor pode aderir a sistemas de certificação de qualidade de produtos agrícolas. Um exemplo de certificação da qualidade e boas práticas agrícolas é a GLOBALGAP, certificação obrigatória para comercialização externa (Serrado *et al.*, 2008).

10. COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos resultam do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento, reprodução e pigmentação. Formam-se também em resposta a condições de stresse como, por exemplo, nos casos de infecções, ferimentos ou exposição acentuada à radiação ultravioleta. Nos alimentos, são muitas vezes responsáveis pela cor,

adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (Angelo e Jorge, 2007; ÇeviK *et al.*, 2013).

No mirtilo, o conteúdo de compostos fenólicos varia de acordo com a espécie, variedade, grau de maturação, solo, região e práticas culturais (Silveira *et al.*, 2007 e Paes *et al.*, 2014). Prior *et al.*, (1998) verificaram que mirtilos colhidos com maior grau de maturação aumentaram em 169% o conteúdo em compostos fenólicos totais, relativamente ao fruto verde. A atividade antioxidante está relacionada com o teor em compostos fenólicos, sugerindo que a concentração de polifenóis no fruto, possa ser indicadora da sua capacidade antioxidante. Na Figura 7, observam-se os compostos fitoquímicos, incluindo as principais classes de compostos fenólicos.

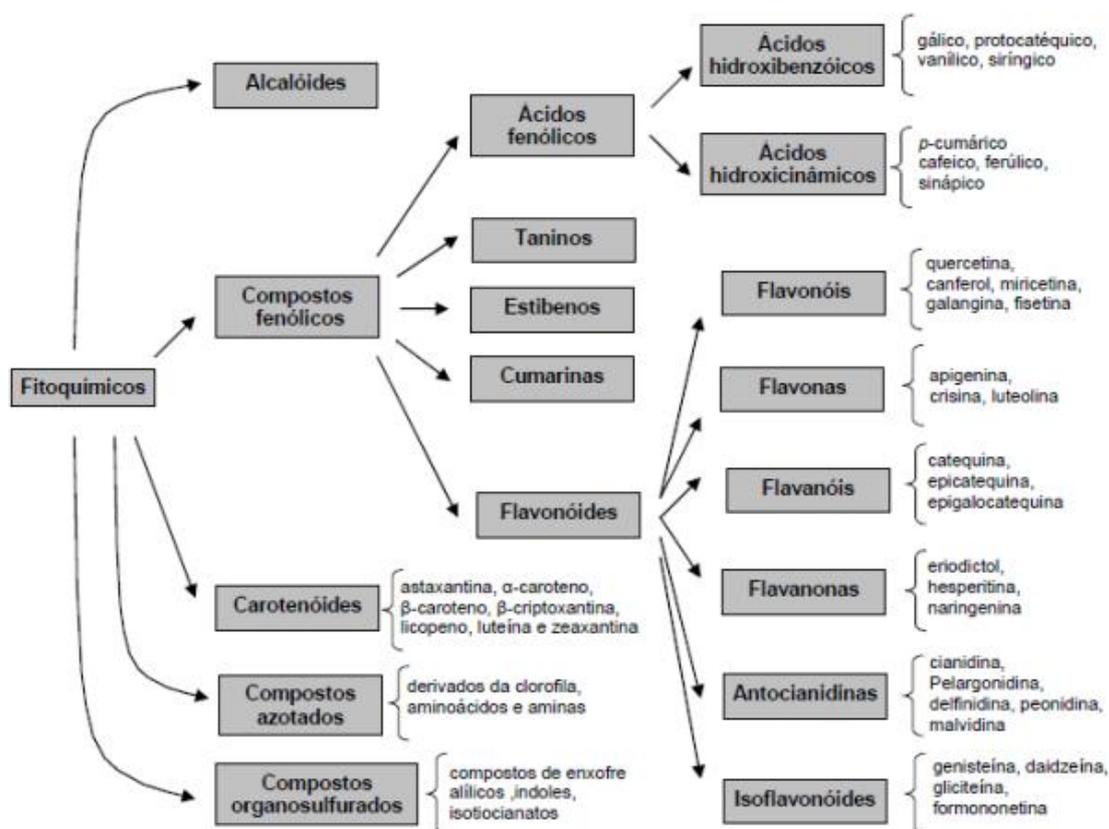


FIGURA 7. COMPOSTOS FITOQUÍMICOS, INCLUINDO AS PRINCIPAIS CLASSES DE COMPOSTOS FENÓLICOS (ADAPTADO DE: FERREIRA E ABREU, 2007).

10.1. Flavonóides

O grupo de compostos fenólicos mais relevante nos alimentos é o dos flavonóides. Este grupo engloba um número alargado de famílias de compostos como, os flavanóis, os flavonóis, as flavanonas, as flavonas, as antocianinas e os taninos que diferem no seu padrão de oxidação (Gonçalves, 2007). Os flavonóides são caracterizados pela estrutura C6-C3-C6 com dois anéis fenólicos (A e B) e um anel heterocíclico pirânico (C) que os une.

Os flavonóides são metabolitos secundários produzidos pelas plantas para proteção contra os efeitos da radiação ultravioleta, herbívoros e agentes patogénicos, devido às suas propriedades fungicidas e bactericidas (Heim *et al.*, 2002; Barros, 2012).

Desempenham papel importante na biologia vegetal, respondem à luz e controlam os níveis de auxinas reguladoras do crescimento e diferenciação das plantas, sendo importantes na fixação de metais como o ferro e o cobre. Conferem coloração às plantas podendo, desta forma, contribuir para os fenómenos de polinização (Martinez-Flórez *et al.*, 2002).

Os compostos flavonóides não são sintetizados no organismo humano tendo, por isso, obrigatoriamente que ser obtidos pela dieta, através da ingestão de alimentos de origem vegetal que os contenham, ou de suplementos alimentares (Cao *et al.*, 1997; Barros, 2012).

Segundo Heim *et al.*, (2002), Cao *et al.*, (1997) e ÇeviK *et al.*, (2013) uma dieta rica em flavonoides está relacionada com:

- A diminuição da incidência de doenças cardíacas e a taxa de mortalidade que lhes está associada; prevenção da oxidação lipídica;
- Diminuição do risco de desenvolvimento de aterosclerose graças à sua capacidade de inibir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL);
- A redução da adesão e agregação plaquetária, com ação anti-inflamatória nos tecidos vasculares e redução da absorção de lipoproteínas no endotélio.
- A atividade antitumoral, anti-isquémica, anti-alérgica e anti-inflamatória.

Antocianinas

As antocianinas são glucósidos das antocianidinas, um dos sub-grupos dos flavonóides. São pigmentos naturais, responsáveis por uma variedade de cores atrativas de bagas (incluindo os mirtilos), frutos, flores e folhas, que variam do vermelho ao azul (Silveira *et al.*, 2007). Quando presentes nas flores atraem insectos polinizadores.

A composição e distribuição de antocianinas nos mirtilos dependem de factores genéticos, do grau de maturação e das condições ambientais. O grau de maturação está relacionado com o teor de antocianinas nas células epidérmicas e subepidérmicas do fruto onde estas substâncias parecem concentrar-se. Há medida que o fruto amadurece diminui a concentração em flavonóis e procianidinas e aumenta a concentração em antocianinas (Burdulis *et al.*, 2007; Kader, 1995).

Oliveira (2012) refere o aumento da concentração em antocianinas e fenóis totais durante a fase de amadurecimento, sendo esta variação perceptível, por exemplo, através da mudança de cor do fruto, para um azul mais escuro, que reflete um aumento dos teores de antocianinas.

Segundo Wang *et al.*, (2008) mirtilos produzidos nas mesmas condições de solo e clima em modo de produção biológico apresentam valores de fenóis totais, antocianinas e atividade antioxidante (determinada pelo método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)) significativamente maiores em relação aos mirtilos produzidos em agricultura convencional (Tabela 4).

TABELA 4. TEOR EM FENÓIS TOTAIS, ANTOCIANINAS E VALORES DE ORAC EM MIRTILOS DA VARIEDADE BLUECROP PRODUZIDOS EM MODO BIOLÓGICO E CONVENCIONAL (ADAPTADO DE WANG ET AL., (2008)).

	Modo de produção Biológica	Modo de produção Convencional
Fenóis totais (mg/100g de fruto)	319,30	190,30
Antocianinas (mg/100g de fruto)	131,00	82,36
ORAC (μmol Trolox /g de fruto)	46,14	30,76

Segundo Prior *et al.*, (1998), a presença de antocianinas apresenta efeitos benéficos para a saúde como, por exemplo actividade anti inflamatória,

prevenção da mutagénese e carcinogénese, capacidade de induzir, *in vitro*, a apoptose em células humanas leucémicas e de carcinoma do cólon.

10.2. Taninos

Os taninos desempenham um papel essencial na definição das propriedades sensoriais do fruto. Os taninos são responsáveis pelo sabor azedo e pelas alterações de cor nos frutos e nos sumos de fruta. Na fruta rica em antocianinas, como é o caso do mirtilo, os taninos ligam-se a estas formando co-polímeros, estabilizando-as. Este grupo de compostos que precipitam com as proteínas pode ser dividido em taninos hidrolisáveis e taninos condensados (procianidinas) (Shahidi e Naczk, 2004).

Os taninos hidrolisáveis têm como base um ácido fenólico, o ácido gálico (taninos gálicos) e o ácido elágico (taninos elágicos) ligados a uma molécula de açúcar. Na maior parte dos casos, estes encontram-se na natureza sobre a forma de ésteres múltiplos com açúcares, nomeadamente a D-glucose formando estruturas complexas. Esta molécula é a base da biossíntese dos taninos hidrolisáveis mais complexos como é o ácido tânico encontrado em partes não comestíveis de plantas (Gonçalves, 2007).

Os taninos condensados – flavanóis também designados como procianidinas são polímeros constituídos por duas ou mais unidades de flavan-3-óis. Através de reacções catalisadas pela luz, calor e oxigénio, os flavan-3-óis tendem a combinar com os ésteres do ácido gálico e elágico para formar compostos como elagitaninos e galotaninos. Os compostos mais simples da família dos flavanóis são as epicatequinas e as catequinas (monómeros) (Del Rio *et al.*, 2010).

. As catequinas são importantes constituintes dos frutos do mirtilo. As catequinas partilham a mesma estrutura molecular dos flavonóis, mas não possuem o grupo carbonilo C4 (Jesus, 2013).

11. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Um antioxidante é uma substância, que quando presente nos sistemas biológicos em baixas concentrações comparado com um determinado substrato, atrasa ou inibe significativamente a oxidação desse substrato (Magalhães *et al.*, 2008).

Os antioxidantes podem ser divididos em duas grandes classes: os enzimáticos e não os enzimáticos (Figura 8). Alguns são endógenos como enzimas, moléculas de baixo peso molecular, e cofatores enzimáticos. Entre os antioxidantes não enzimáticos muitos são obtidos por via alimentar pelo Homem, como é o caso dos polifenóis e das vitaminas, que formam as maiores classes destes compostos veiculados pela dieta, carotenóides, compostos organosulfurados e minerais (Ratnam *et al.*, 2006).

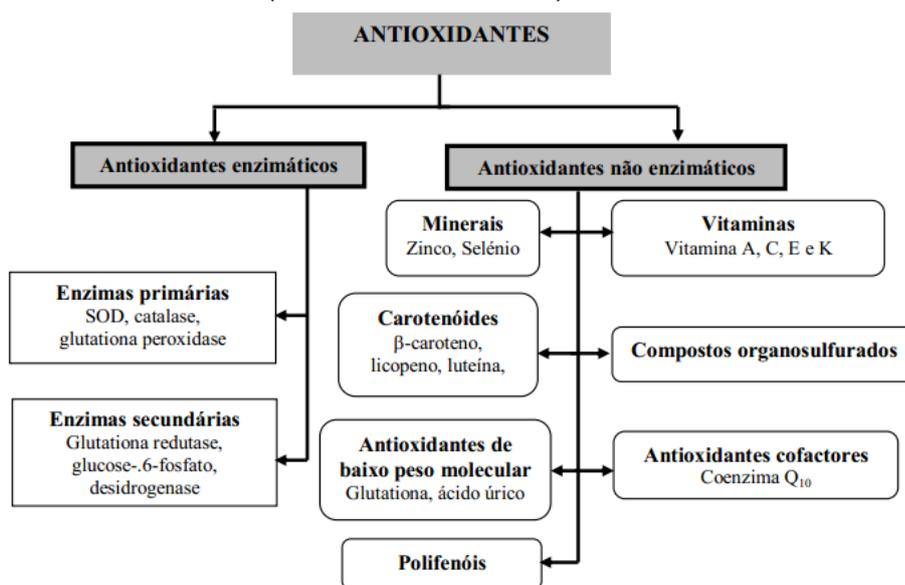


FIGURA 8. CLASSIFICAÇÃO DE ANTIOXIDANTES (ADAPTADO DE: RATNAM ET AL., 2006).

Métodos de avaliação da atividade antioxidante

A captação de radicais é o principal mecanismo de ação dos antioxidantes nos alimentos. Existem diversas metodologias para avaliação *in vitro* da capacidade antioxidante em produtos alimentares e fármacos recorrendo a diversos sistemas químicos, destacando-se o método ABTS e o DPPH (Antolovich *et al.*, 2002).

A utilização de espécies radicalares com máximo de absorção na zona do visível, tais como o radical 2,2'-difeníl- 1-picrilhidrazilo (DPPH) ou o radical gerado a partir do ácido 2,2'-azino-bis-(3-estilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), constituem a base de duas das metodologias *in vitro* usadas com frequência em ensaios preliminares, anteriores à separação e caracterização de compostos bioativos (Magalhães *et al.*, 2005).

O método de ABTS baseia-se na geração de um catião radicalar (ABTS^{•+}) através da reação entre o ABTS e o persulfato de potássio originando uma solução azul-esverdeada com capacidade de absorver a 734 nm. A adição de substâncias com poder antioxidante ao (ABTS^{•+}) provoca uma alteração estrutural que se traduz na descoloração e perda da capacidade de absorver nesse comprimento de onda. Apesar da facilidade e simplicidade com que estas metodologias são executadas, o controlo rigoroso das condições reacionais é fundamental para a obtenção de resultados fiáveis (Magalhães *et al.*, 2005).

Na maioria dos casos, o método de DPPH é utilizado para medir a captação de radicais 30 minutos depois de iniciada a reação. A atividade antioxidante pode ser expressa em equivalentes de um compostos, por exemplo o trolox, ou expresso em valor EC₅₀. O EC₅₀ é a concentração de antioxidante necessária para captar 50% dos radicais de DPPH num período de tempo determinado. O DPPH é um radical estável e com baixa taxa de deterioração e reatividade com a maioria dos compostos. Assim sendo, apenas reagentes redutores fortes são capazes de reagir com estes radicais estáveis num modo estequiométrico (Borges *et al.*, 2011).

O radical catiónico ABTS é mais reativo que o radical DPPH, logo, a reação ocorre completamente após 1 minuto. A atividade de captação de radicais pelo método de ABTS expressa-se geralmente em equivalentes de trolox por unidade de massa.

12. COR

A cor dos alimentos é um importante atributo de qualidade, que, não só serve de base à identificação e à aceitação de uma grande variedade de produtos, mas também influencia negativa ou positivamente na percepção dos atributos sensoriais (Pontes, 2004).

Segundo Billmeyer e Saltzmann (1981), a cor pode ser descrita por vários sistemas de coordenadas. Alguns dos sistemas mais conhecidos são: Hunter L a b, CIE (Comissão Internacional de “L’Eclairage”) $L^* a^* b^*$, CIE X Y Z ou CIE $L^* u^* v^*$. Estes diferem na simetria do espaço das cores e no sistema de coordenadas usado para definir pontos dentro desse espaço. Destes, o CIE e o sistema Hunter são os mais relevantes para a medição instrumental. O método proposto pela CIE, definido em 1976, baseia-se num espaço tridimensional de modo que cada cor é representada por um único ponto nesse espaço. É definido pelas coordenadas $L^* a^* b^*$, em que (Figura 9):

- ✓ Eixo L^* : representa a luminosidade numa escala de 0 (preto) a 100 (branco)
- ✓ Eixo a^* : representa uma escala de tonalidades desde vermelho (0 a $+a$) até verde (0 a $-a$)
- ✓ Eixo b^* : representa uma escala de tonalidades desde amarelo (0 a $+b$) até azul (0 a $-b$)

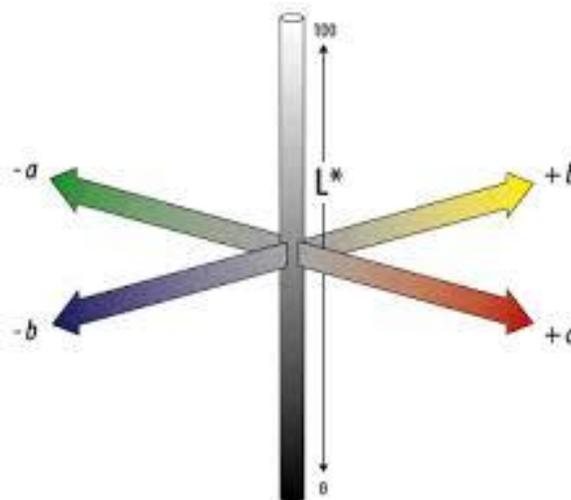


FIGURA 9. SISTEMA DE COORDENADAS DE CORES (ADAPTADO DE: MINOLTA, 1998).

Os instrumentos para avaliar a cor de um objecto o mais aproximado da forma que o ser humano a percebe são os colorímetros (Minolta, 1998).

13. TEXTURA

O termo textura é de difícil definição, no entanto pode ser definida segundo a norma ISO (1992) como sendo “o conjunto de propriedades mecânicas, geométricas e de superfície de um produto, detectáveis pelos receptores mecânicos e tácteis e, eventualmente pelos receptores visuais e auditivos”. As características de textura da superfície do alimento são um dos primeiros parâmetros de qualidade avaliados pelos consumidores, sendo fundamental para a aceitação do produto, mesmo antes de o mesmo ser levado à boca. A textura, é composta por um conjunto de atributos sensoriais de elevada relevância, uma vez que estas influenciam ou determinam a aceitação/rejeição do alimento (Carrilha e Guiné, 2010).

Segundo Kader *et al.*, (2001), a qualidade dos frutos e vegetais é uma combinação de atributos que determinam o seu valor como alimento, e que englobam a aparência visual (frescura, cor, defeitos, doenças), a textura (firmeza, suculência, integridade dos tecidos), o gosto (sabor, cheiro), o valor nutritivo (teor em vitaminas, minerais e fibras) ou a segurança (ausência de resíduos químicos e contaminação microbiana).

Para quantificar a qualidade é necessário recorrer a propriedades que se relacionem com ela. A possibilidade de medir as propriedades qualitativas permite supervisionar, normalizar e tipificar a qualidade dos produtos, de modo a conduzir a uma maior valorização económica dos mesmos (Ruiz e Ubierna, 1996).

Segundo Santos (2003) a firmeza é a resistência à penetração com ruptura, ou seja é um atributo de textura indicativo de consistência dos frutos. O ensaio mais comum para a sua determinação é o de Magness-Taylor, que em frutas permite avaliar qual o do momento óptimo de colheita, a qualidade durante o armazenamento, o efeito da conservação pelo frio ou o estado de maturação para posterior processamento industrial.

A dureza é força máxima registada no primeiro ciclo de penetração ou compressão (Noronha (2008), Na maior parte dos casos a dureza está relacionada com a força de ruptura do material. O mesmo autor descreve a elasticidade como sendo a percentagem de recuperação do material, e corresponde à razão entre duas deformações consecutivas.

III. MATERIAL E MÉTODOS



14. AMOSTRAS

No presente trabalho foram analisadas três variedades de mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) da classe Northern Highbush (Duke, Bluecrop, Ozarkblue) produzidas na zona geográfica abrangida pela AGIM (Associação para os Pequenos Frutos e Inovação Empresarial). As amostras de mirtilo produzidas em modo de Produção Biológico foram fornecidas pela Quinta da Boucinha (Figura 10) situada na Boucinha – Talhadas a uma altitude de cerca de 460 m. As amostras de mirtilo produzidas em modo de Produção Convencional foram fornecidas pela Quinta do Senhor Borges situada em Bouças a 525 m de altitude. Ambas encontram-se sediadas no concelho de Sever do Vouga.



FIGURA 10. FOTOGRAFIA DO CAMPO DE MIRTILOS DA QUINTA DA BOUCINHA.

As variedades foram fornecidas por ambos os produtores no estado de maturação em que as bagas são, normalmente, comercializadas, ou seja, no estado de plena maturação, quando os frutos se apresentam com a totalidade da coloração desenvolvida mas sem perda de turgescência.

As colheitas foram efectuadas entre as 7h30 e as 9h da manhã. Para todas as cultivares em estudo foram seleccionados campos com plantas de 20 anos de idade, isentas de contaminações e patogénicos. Para cada cultivar colheram-se aproximadamente 500 g de bagas, seleccionadas aleatoriamente em várias plantas, em diferentes pontos do mesmo campo.

Depois de colhidas, as amostras foram transportadas em caixas (Figura 11) para o laboratório da Escola Superior Agrária de Viseu (ESAV) no escuro, sob refrigeração, tendo sido preparadas para análise (realização dos extractos) num no prazo máximo de duas horas.



FIGURA 11. MIRTILOS COLOCADOS EM CAIXAS.

Posteriormente procedeu-se à avaliação dos parâmetros químicos e físicos em diferentes estados de conservação (à colheita (0DAC), 7 dias após a colheita (7DAC) e 14 dias após a colheita (14DAC)) quando armazenados no frio à temperatura de 4 °C e HR de 85 a 90%.

Para além disso, e apenas para a cultivar Duke complementou-se o estudo avaliando também as alterações nos mirtilos quando armazenados à temperatura ambiente (a rondar os 15 a 25 °C e 30 a 60 % de HR) quando produzidos em modo convencional. A Tabela 5 resume de forma sucinta as condições relativas a cada amostra estudada.

TABELA 5. TABELA ESQUEMÁTICA DO ESTUDO REALIZADO.

Amostra	Código	Data de Colheita	Armazenamento	
			No frio	À Temperatura ambiente
Duke Convencional à colheita	Dc	24-06-2013	-	-
Duke Convencional 7 dias após a colheita	Dc7DAC	-	√	√
Duke Convencional 14 dias após a colheita	Dc14DAC	-	√	√
Duke Biológico à colheita	Db	24-06-2013	-	-
Duke Biológico 7 dias após a colheita	Db7DAC	-	√	-
Duke Biológico 14 dias após a colheita	Db14DAC	-	√	-
Bluecrop Convencional à colheita	Bc	11-07-2013	-	-
Bluecrop Biológico à colheita	Bb	24-06-2013	-	-
Ozarkblue Convencional à colheita	Oc	11-07-2013	-	-
Ozarkblue Convencional 7 dias após a colheita	Oc7DAC	-	√	-
Ozarkblue Convencional 14 dias após a colheita	Oc14DAC	-	√	-
Ozarkblue Biológico à colheita	Ob	11-07-2013	-	-
Ozarkblue Biológico 7 dias após a colheita	Ob7DAC	-	√	-
Ozarkblue Biológico 14 dias após a colheita	Ob14DAC	-	√	-

15. MÉTODOLOGIAS DE ANÁLISE

As análises foram realizadas, pelo menos, em triplicado, sendo depois calculados os valores médios e os respectivos desvios padrão.

No caso da composição fenólica e da atividade antioxidante, os resultados são apresentados por grama de fruto fresco, tendo em conta o volume de solvente extrator e a massa de amostra usados.

15.1. Determinação do peso e calibre

Para a determinação das características biométricas peso e calibre selecionaram-se aleatoriamente 30 bagas representativas de cada amostra em estudo. Com o auxílio de uma balança de precisão determinou-se o peso de cada baga e através de uma craveira determinou-se o calibre.

15.2. Determinação da cor

Para a determinação das coordenadas de cor (L^* , a^* e b^*) selecionaram-se aleatoriamente 55 bagas representativas de cada amostra, tendo as determinações sido efetuadas com o auxílio de um colorímetro portátil (CR 400, Konica Minolta). Também neste caso foram calculados os valores médios e os desvios padrão a partir do conjunto de medições efetuadas.

15.3. Determinação da textura

Para a determinação dos atributos de textura (firmeza e elasticidade) selecionaram-se aleatoriamente também 55 bagas representativas de cada amostra. As análises foram feitas com um texturómetro (TA.XT, Stable Micro Systems) cujos resultados foram tratados com o software Exponent TEE (Stable Micro Systems) (Figura 12). A figura 13, mostra a título de exemplo, o perfil de textura obtido, a partir do qual foi possível determinar a firmeza (força no pico mais alto) e a elasticidade (distância no ponto mais alto).



FIGURA 12. REALIZAÇÃO EXPERIMENTAL DE UMA ANÁLISE DE TEXTURA AO MIRTILO.

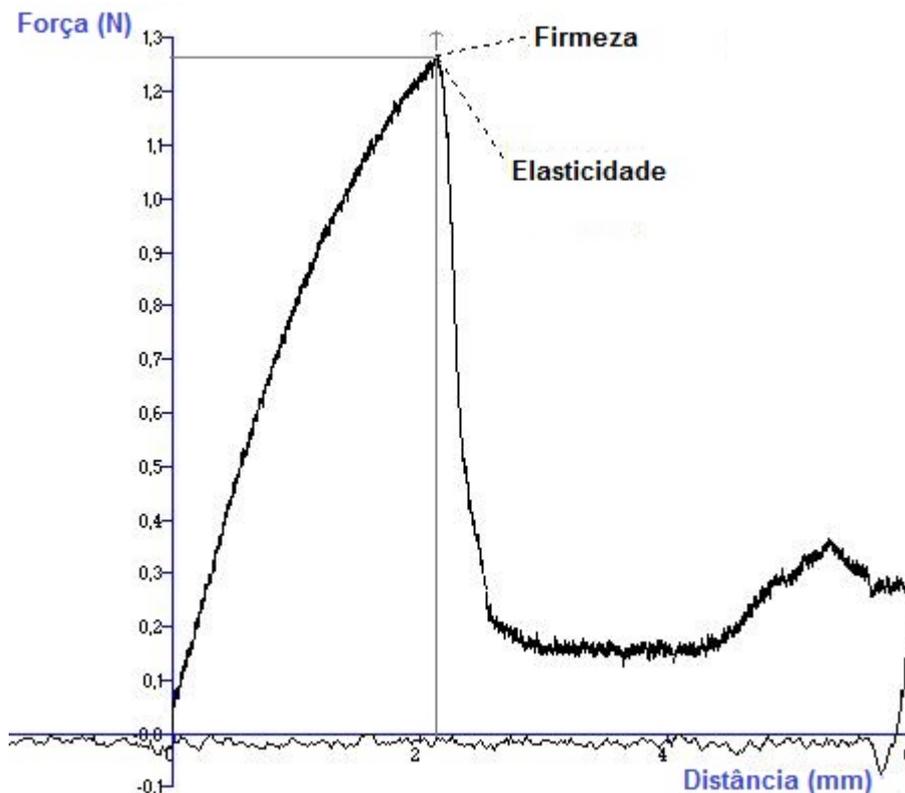


FIGURA 13. ANÁLISE DE TEXTURA AO MIRTILO.

15.4. Determinação do teor de sólidos solúveis (grau Brix)

O grau Brix indica a percentagem de sólidos solúveis no sumo do fruto. Cada grau Brix corresponde a 1g de sólidos solúveis/açúcares por 100 g de sumo. A determinação do grau Brix é usada como referência de ponto de colheita e consumo para a maioria das frutas, especialmente para as não-climatéricas. Nos mirtilos, este parâmetro é influenciado por vários factores nos quais se incluem a variedade, a região de cultivo, factores climatéricos e estado de maturação (Turkmen e Eksi, 2011).

Para a determinação da concentração de sólidos solúveis extraiu-se o sumo de 5 bagas de amostra, o qual posteriormente foi analisado através de um refratómetro de bancada (ATAGO 3T), com correção de temperatura sendo o resultado expresso em ° Brix (correspondente à % de sólidos solúveis).

15.5. Determinação da acidez

Para a determinação da acidez pesou-se uma toma de 5 gramas de amostra homogeneizada (triturada) e introduziu-se num Erlenmeyer de 200 ml. Adicionou-se 20 ml de água destilada, a qual tinha sido recentemente fervida, e após arrefecimento foi neutralizada com solução de NaOH 0,1N. De seguida, agitou-se até obtenção de um líquido homogéneo, adaptou-se ao Erlenmeyer um tubo de vidro servindo de condensador de refluxo e aqueceu-se em banho-maria durante 30 minutos.

Deixou-se arrefecer, transferiu-se para um balão de precisão de 50 ml, lavando e completando o seu volume com água destilada, a uma temperatura da ordem dos 20 °C recentemente fervida. A solução foi homogeneizada e filtrada. Por fim verteu-se uma proveta de 50 ml e registado o volume.

Titulação com indicador

Para um Erlenmeyer de 200 ml mediu-se com pipeta de precisão 10 ml do líquido obtido na preparação da amostra. Por fim, adicionou-se três gotas de solução alcoólica de fenolftaleína ao Erlenmeyer e agitou-se manualmente, titulou-se com NaOH 0,1 N tida em bureta, até à viragem para a coloração rosada, persistentemente pelo menos três segundos.

Os resultados do teor de acidez dos frutos foram expressos em mg de ácido cítrico/100g de amostra.

15.6. Determinação da matéria seca

Para a determinação da matéria seca selecionaram-se aleatoriamente para cada amostra quatro bagas de mirtilo. Estas foram divididas ao meio com auxílio de um bisturi e posteriormente colocadas numa balança de halogéneo (HG53, Mettler Toledo) para a determinação do teor de matéria seca, por perda de água.

15.7. Obtenção dos extractos

Segundo Smith *et al.*, (2000), a melhor estratégia de armazenamento dos extractos é mantê-los no escuro a baixas temperaturas, separados em porta amostras, de forma a retirar apenas a quantidade necessária a cada ensaio. Assim, durante todo o manuseamento das amostras para obtenção dos extractos, separação em porta amostras e realização das análises, foi minimizado o contacto com a luz, oxigénio e temperaturas elevadas.

Os compostos presentes nos frutos foram extraídos segundo adaptação do método proposto por Ferreira *et al.*, (2002). Pesaram-se 5 g de amostra e maceraram-se num copo de precipitação durante 5 minutos. Adicionaram-se 50 mL de solução de metanol: ácido acético (98:2 v/v) e manteve-se em agitação magnética, durante 1 hora, à temperatura ambiente (Figura13).



FIGURA 14. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DO MIRTILO

A mistura foi filtrada e o sobrenadante colocado em porta-amostras. Este procedimento de extração foi repetido 3 vezes sucessivamente sobre o mesmo material sólido. Os diferentes sobrenadantes foram todos adicionados no mesmo porta-amostras correspondendo assim ao extracto de metanol.

Seguidamente realizaram-se mais 3 extrações, também sucessivas e sobre o meso resíduo sólido, com uma solução de acetona:água (60:40 v/v) de forma semelhante à descrita acima. O conjunto destes sobrenadantes foi designado como extracto de acetona.

A Tabela 6 evidencia as condições específicas do método utilizado para a obtenção dos extratos.

TABELA 6. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO UTILIZADAS.

Quantidade de amostra (g)	Solventes de extração	Proporção dos solventes (v:v)	Tempo de extração (min)	Nº de repetições
5,0	Metanol/ácido acético	98:2	60	3
5,0	acetona/água	60:40	60	3

Os extratos obtidos foram usados para a quantificação dos compostos fenólicos totais, antocianinas, taninos, e atividade antioxidante.

15.8. Determinação da capacidade antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante foi efetuada pelo método DPPH, por adaptação do método descrito por Brand-Williams *et al.*, (1995) e pelo método ABTS, por adaptação do método descrito por Miller *et al.*, (1993). Os resultados foram obtidos a partir da recta padrão e foram expressos em μmol de equivalentes trolox (ET) por grama de amostra.

Método DPPH

Num tubo juntaram-se 100 μL de amostra e 2 mL de DPPH, previamente preparado (com metanol 100% até atingir absorvâncias, medidas no espectrofotómetro, na ordem dos 0,700) e em seguida colocaram-se as amostras em sítio escuro, à temperatura ambiente, durante 30 minutos. Por fim procedeu-se à leitura das amostras num espectrofotómetro a um comprimento de onda de 515 nm. A análise foi feita em triplicado.

Para a conversão do valor lido de absorvância em concentração, foi traçada uma reta de calibração a partir das absorvâncias de soluções de concentração conhecida de trolox (0,02; 0,06; 0,08 e 0,10 mM):

$$\% \text{ de inibição} = 281,45 * \text{Concentração [mM]} + 0,8955 \quad (R^2 = 0,9839)$$

Método ABTS

Num tubo, juntaram-se 100 µL de amostra e 2 mL de ABTS, previamente preparado (com solução tamponada até atingir absorvâncias, medidas no espectrofotómetro na ordem dos 0,700) e em seguida colocaram-se as amostras no escuro, à temperatura ambiente, durante 15 minutos. Por fim procedeu-se à leitura das absorvâncias das amostras num espectrofotómetro a um comprimento de onda de 734 nm. Efetuaram-se 3 repetições em cada amostra.

Neste caso foi também feita uma reta de calibração com soluções de concentração conhecida de trolox (0,02; 0,06; 0,08 e 0,10 mM):

$$\% \text{ de inibição} = 778,07 * \text{Concentração [mM]} - 2,1521 \quad (R^2 = 0,9954)$$

15.9. Quantificação dos compostos fenólicos totais

Uma das formas para avaliar o teor de compostos fenólicos totais é através do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Estes compostos interagem com o reagente de Folin-Ciocalteu através dos grupos hidroxilo oxidáveis, resultando uma coloração cuja intensidade é medida espectrofotometricamente e a sua concentração é determinada através de retas de calibração.

No presente trabalho o teor de compostos fenólicos totais foi quantificado através do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, adaptado de Singleton e Rossi, (1965). Para tal, num tubo juntaram-se 750 µL de água destilada, 125 µL de amostra e 125 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Aguardaram-se 6 minutos e adicionaram-se 2 ml de solução de carbonato de sódio a 5% (m/v). Em seguida colocaram-se as amostras no escuro, à temperatura ambiente, durante 90 minutos. Por fim procedeu-se à leitura das amostras num espectrofotómetro ao comprimento de onda de 760 nm. A análise foi feita em triplicado separadamente nos extractos de metanol e de acetona.

Os resultados foram expressos em μg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de amostra e a reta de calibração foi feita com soluções de concentração conhecida de ácido gálico (0,02 - 0,50 g/L):

$$\text{Absorvância} = 3,6693 * \text{Concentração [g/L]} - 0,0765 \quad (R^2 = 0,98854)$$

15.10. Quantificação dos taninos totais

A quantificação dos taninos totais nos frutos em estudo foi efectuada pelo método de Cheynier *et al.*, (1989). Inicialmente preparou-se num balão de 500 mL uma solução standard composta por 200 mL de HCl, 200 mL de butanol e 60 mg de sulfato de ferro hexahidratado. De seguida, foram retirados 100 μl de amostra para um balão de diluição de 5 mL e perfez-se o conteúdo com água destilada. Tapou-se e homogeneizou-se a solução, a qual foi identificada como solução A. De seguida colocou-se num tubo de ensaio 2 mL da solução A e adicionaram-se 6 mL da solução standard, o qual foi tapado e agitado cuidadosamente. Dividiu-se o conteúdo em dois tubos de ensaio, com 4 mL cada e identificaram-se como tubo 1 e tubo 2. O tubo 1 foi colocado em banho fervente (100 °C) durante 30 minutos e arrefecido de seguida. O tubo 2 foi colocado no escuro, à temperatura ambiente, durante 30 minutos. Após isto, a absorvância das soluções (Abs1 e Abs2, respectivamente) foi determinada no espectrofotómetro a 540 nm. A análise foi efectuada em triplicado. A quantificação dos taninos totais em solução foi calculada através da equação:

$$\text{Taninos Totais (g/L)} = (\text{Abs2} - \text{Abs1}) \times 0.1736 \times 50$$

Os resultados do teor em taninos totais foram expressos em mg/g de fruto fresco.

15.11. Quantificação das antocianinas totais

A quantificação das antocianinas totais foi determinada através do método de Boulton (2001). Num copo colocou-se 1 mL de HCl, 70 ml de etanol e 30 ml de água destilada e homogeneizou-se a solução. De seguida, colocaram-se 100 µl de amostra num balão de diluição de 5 ml, perpez-se o conteúdo do balão com a solução anteriormente preparada e homogeneizou-se de seguida. Procedeu-se à leitura da absorvância a 540 nm e a análise foi efectuada em triplicado. Para o cálculo das antocianinas totais foi utilizada a equação:

$$\text{Antocianinas Totais (mg/L)} = \text{Abs}(540) \times 16.17 \times 50$$

Os resultados do teor em antocianinas totais nos frutos estudados foram expressos em equivalentes de malvidina-3-glucósido por grama (EMvG/g) de fruto fresco.

16. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para o tratamento dos resultados foram usados testes de inferência estatística para a comparação de variáveis. Foram usados, consoante as condições aplicáveis a cada caso os seguintes testes: Kruscal Wallis, U Mann Whitney e t de student para amostras independentes. Foram ainda calculados os coeficientes de correlação de Pierson.

A análise estatística foi feita com um nível de significância de 95% e foi usado o software SPSS versão 21.

IV. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS



18. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos na quantificação das propriedades nos mirtilos das variedades Duke (D), Bluecrop (B) e Ozarkblue (O), em modo de produção convencional (c) e Biológico (b). As amostras foram analisadas à colheita (0), e ao fim de sete (7) e catorze (14) dias após a colheita (DAC). Durante este período, as amostras foram mantidas no frio (F) ou à temperatura ambiente (Ta), consoante os casos.

17.1. Calibre

À colheita, os mirtilos da variedade Duke apresentaram calibres médios superiores às restantes cultivares (Figura 15), quer em modo de produção biológico quer convencional. Observa-se ainda que a cultivar que apresentou um calibre médio inferior foi a cultivar Bluecrop (0,85 cm) cultivada em modo de produção convencional. No caso da variedade Ozarkblue, os mirtilos em modo de produção convencional apresentavam calibre superior (1,10 cm) face aos de produção biológica (0,90 cm).

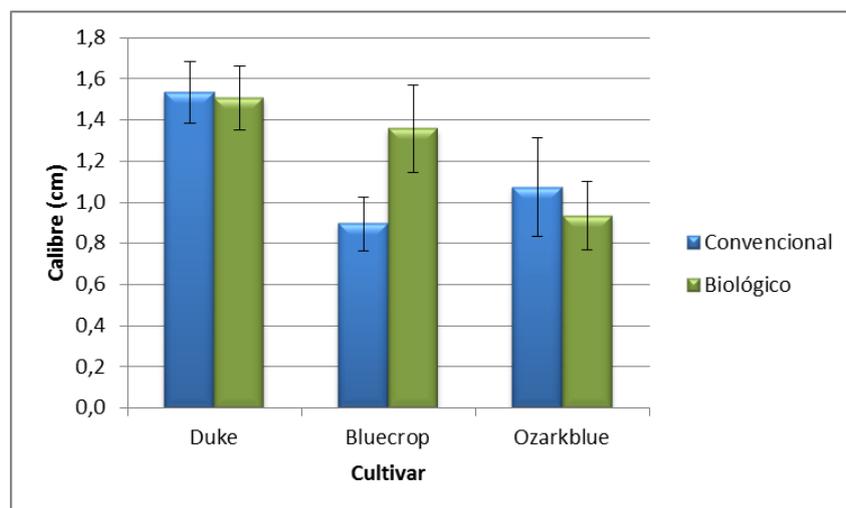


FIGURA 15. CALIBRE DAS AMOSTRAS DE MIRTILO À DATA DA COLHEITA.

O calibre obtido à colheita para a cultivar Ozarkblue rondaram os 0,90 e os 1,10 cm o que são valores inferiores aos resultados de 1,60 cm obtidos por

achado e Jesus (2012) para a mesma cultivar. No entanto, os valores de calibre do mirtilo à colheita obtidos são semelhantes aos valores obtidos por Sousa (2007) (valores entre 1,01 a 2,25 cm).

17.2. Massa

Os resultados apresentados na Tabela 7 mostram que a massa dos mirtilos varia em função da cultivar, do modo de produção e ao longo do período de conservação. À colheita, as bagas mais pesadas eram da cultivar Ozarkblue (2,40 g), produzidas em modo de produção convencional (OcF). Para esta cultivar observou-se uma diferença assinalável entre a massa das bagas produzidas em modo convencional e as produzidas em modo biológico, com estas últimas a apresentarem em média menos 0,35 g por baga. Esta tendência para que os frutos sejam mais leves quando produzidos em modo de produção biológico foi observada para as outras duas variedades estudadas, embora as diferenças tenham sido menos expressivas, em particular na Bluecrop, onde a diferença foi mínima.

Foi ainda possível observar que com o decorrer do período de conservação ocorreu uma perda de massa que variou entre 2% a 13% ao longo de 14 dias (Tabela 7) a qual se poderá tornar relevante quando se trata de grandes quantidade de fruto e armazenados por períodos superiores a duas semanas.

TABELA 7. MASSA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO AO LONGO DO PERÍODO DE CONSERVAÇÃO.

Amostra ⁽¹⁾	Massa média (g) ao longo do tempo ⁽²⁾			Perda total de massa em 14 dias (%)
	0 DAC	7 DAC	14 DAC	
DcF	2,17 ± 0,36	2,07 ± 0,34	2,01 ± 0,36	7
DcTa	-	-	-	-
DbF	1,75 ± 0,36	1,61 ± 0,38	1,53 ± 0,38	13
Bc	1,77 ± 0,27	-	-	-
Bb	1,75 ± 0,53	-	-	-
OcF	2,40 ± 0,92	2,33 ± 0,89	2,22 ± 0,93	7
ObF	2,05 ± 0,31	2,03 ± 0,37	2,01 ± 0,39	2

⁽¹⁾Cultivar: D=Duke, B=Bluecrop, O=Ozarkblue; Modo de produção: c=convencional, b=biológico; Conservação: F=frio, Ta=temperatura ambiente.

⁽²⁾DAC=dias após a colheita; - não foram realizados testes

Os resultados obtidos para a massa à colheita variaram de 1,75 a 2,40 g, o que são valores superiores aos obtidos por Sousa (2007), cujo maior valor registado foi 1,74 g. Os resultados obtidos por Machado e Jesus (2007) (1,74 a 2,07 g de massa) aproximam-se dos resultados obtidos.

17.3. Teor de matéria seca

Na Figura 16, é possível observar a percentagem de matéria seca obtida nas diferentes amostras em estudo. Verifica-se que à data da colheita não há diferenças significativas no teor em matéria seca para uma mesma variedade em função do modo de produção (convencional ou biológico). Estatisticamente verificou-se que não existem diferenças significativas no que respeita ao teor de matéria seca entre os mirtilos cultivados em modo de produção biológico e convencional (teste U Mann Whitney: $p=0,154$).

Por outro lado, verificaram-se diferenças significativas no teor de matéria seca à colheita em função variedade (teste de Kruskal Wallis: $p = 0,045$), sendo maior na cultivar Bluecrop. O Teor de matéria seca obtido no mirtilo da cultivar Bluecrop à colheita (24% de MS em modo de produção Biológico, 23% de MS em modo de produção Convencional) é superior ao obtido por Skupien (2006) (16% de matéria seca). No estudo de Kalt e McDonald (1996) os valores de matéria seca obtidos em mirtilo à colheita rondaram os 13,8%.

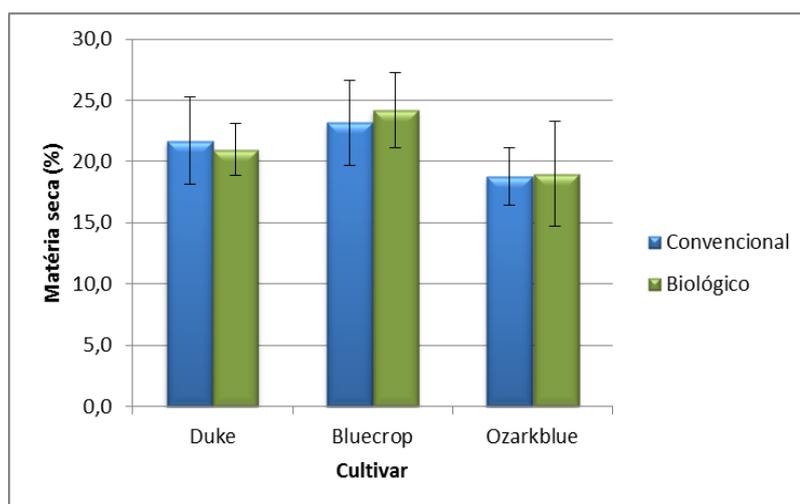


FIGURA 16. TEORES DE MATÉRIA SECA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA.

Observa-se na Figura 17 que o efeito do armazenamento sobre o teor de matéria seca de algumas das amostras em estudo. Os resultados evidenciam que o efeito do armazenamento à temperatura ambiente foi igual ao do armazenamento em frio no que respeita à composição em matéria seca. Esta observação foi comprovada estatisticamente com o teste de U Mann Whitney, que mostrou não haver diferenças significativas ($p=0,204$). Por outro lado, o efeito do tempo de conservação em frio não produziu um padrão constante no teor de matéria seca, não sendo por isso possível observar uma tendência no que respeita a este aspeto.

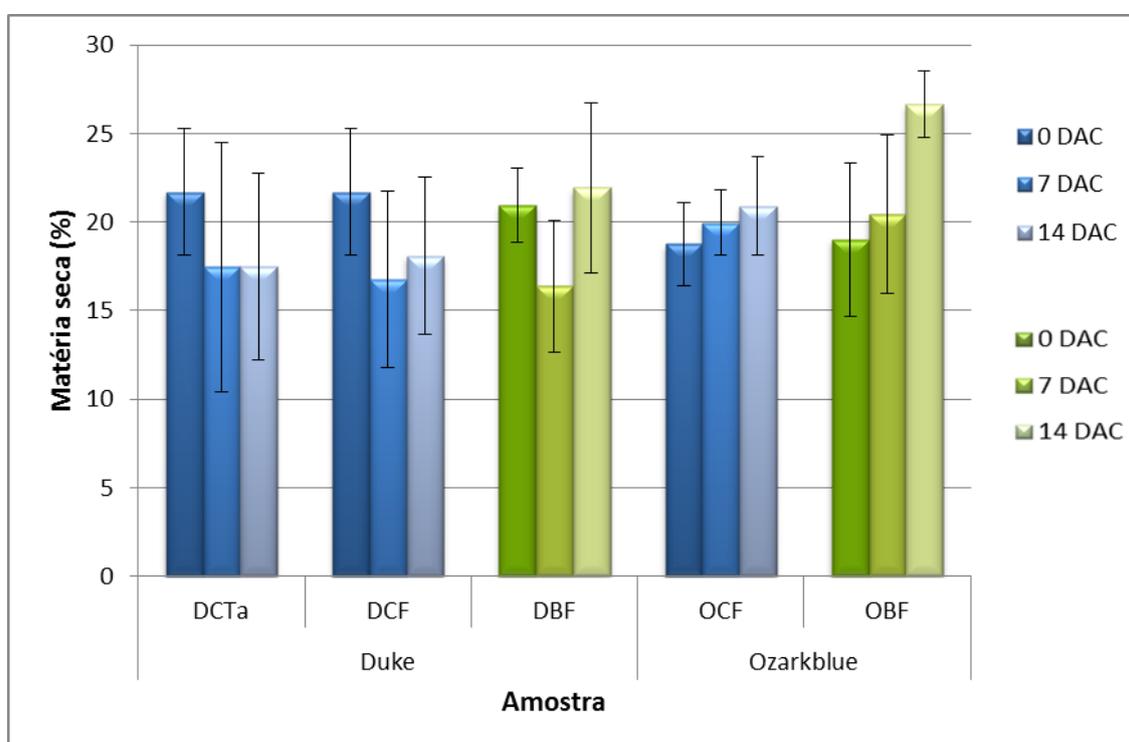


FIGURA 17. TEORES DE MATÉRIA SECA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS). LEGENDA: DAC=DIAS APÓS A COLHEITA; CULTIVAR: D=DUKE, O=OZARKBLUE; MODO DE PRODUÇÃO: C=CONVENCIONAL, B=BIOLÓGICO; CONSERVAÇÃO: F=FRIO, TA=TEMPERATURA AMBIENTE.

17.4. Sólidos solúveis totais

A Figura 18 mostra os teores em sólidos solúveis totais em °Brix (g de sacarose por 100 gramas de amostra) das diferentes amostras estudadas à colheita.

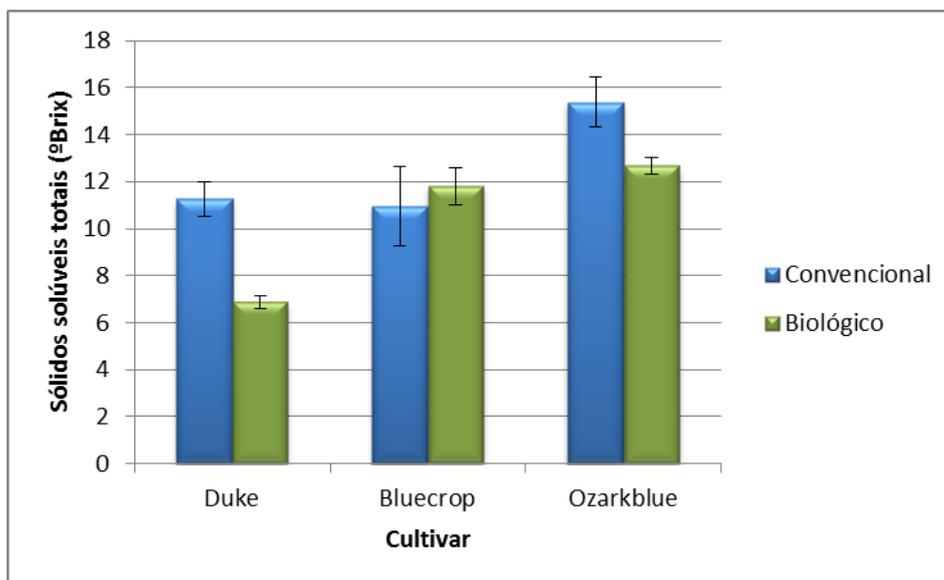


FIGURA 18. TEORES DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA.

A cultivar que apresentou à colheita maior quantidade de sólidos solúveis totais foi a cultivar Ozarkblue, produzida em modo de produção convencional (15 ° Brix). No entanto, estatisticamente a variedade tem uma influência marginal sobre o teor em sólidos solúveis totais (teste U Mann Whitney: $p = 0,089$).

A cultivar Duke produzida em modo de produção convencional, à colheita apresenta valor de sólidos solúveis totais de 11,26 °Brix, sendo superior ao valor de 10,96 °Brix obtidos na amostra Bluecrop no mesmo modo de produção. O mesmo resultado foi obtido por Solvita *et al.*, (2009) em que a cultivar Duke quando produzida em modo convencional, à colheita, apresentava valores ligeiramente superiores de Sólidos solúveis totais (média 12,99 °Brix) face à cultivar Bluecrop (12 °Brix).

No que respeita à comparação entre os modos de produção de acordo com o teste de U Mann Whitney existem diferenças altamente significativas

($p < 0,001$) sendo que as amostras produzidas em modo de produção convencional apresentam quantidades superiores de açúcar, face as mesmas cultivares produzidas em modo biológico. Estas diferenças podem ser devidas, entre outros, a tratamentos fitossanitários, auxiliares de maturação, entre outros.

A Figura 19 mostra a evolução do teor de sólidos solúveis totais ao longo da conservação. Uma vez mais neste caso as tendências observadas são contraditórias, não havendo uma tendência geral, o que foi comprovado pelo teste estatístico de U Mann Whitney que revelou não haverem diferenças estatísticas significativas consoante as condições de conservação ($p = 0,451$).

Ainda assim, na cultivar Ozarkblue pode-se dizer que haverá uma ligeira tendência de diminuição do teor de sólidos solúveis totais ao longo dos 14 dias de armazenamento de (15,39 a 14,04 °Brix no caso de produção convencional e 12,66 a 10,56 °Brix nos produzidos em agricultura biológica) tal como sugere o estudo realizado por Zheng *et al.*, (2003).

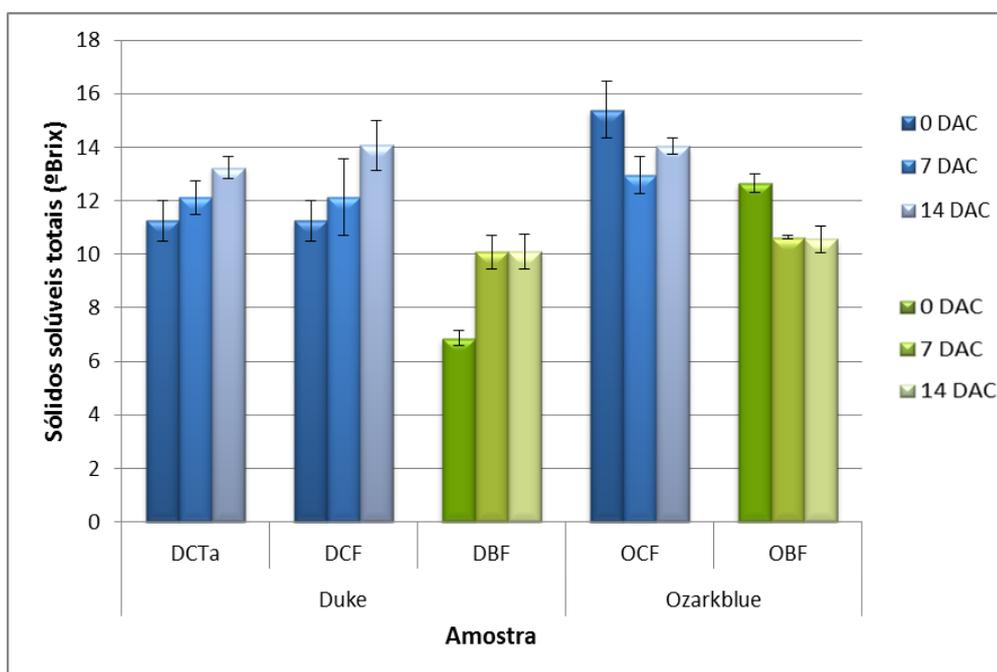


FIGURA 19. TEORES DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS). LEGENDA: DAC=DIAS APÓS A COLHEITA; CULTIVAR: D=DUKE, O=OZARKBLUE; MODO DE PRODUÇÃO: C=CONVENCIONAL, B=BIOLÓGICO; CONSERVAÇÃO: F=FRIO, TA=TEMPERATURA AMBIENTE.

17.5. Acidez

Os resultados do teor de acidez, expressos em mg ácido cítrico/100g, obtidos nas diferentes amostras analisadas encontram-se nas Figura 20 e 21.

Os valores superiores de acidez foram registados na cultivar ozarkblue produzida em modo convencional (0,098 mg ácido cítrico/100g) e menor na cultivar Duke produzida em modo de biológico (0,044 mg ácido cítrico/100g).

Os valores médios de acidez à colheita variaram entre os 0,044 e os 0,098 mg ácido cítrico/100g. Kalt e McDonald (1996) obtiveram à colheita na cultivar Duke, valores de 0,049 mg ácido cítrico/100g, que são semelhantes aos resultados obtidos neste estudo para esta mesma cultivar. À colheita Zheng *et al.*, (2003), obtiveram valores de acidez de 0,082 mg ácido cítrico/100g.

O teste de Kruskal Wallis revelou que não dá diferenças estatisticamente significativas para a acidez entre as variedades estudadas ($p = 0,083$), ou que estas são apenas marginais.

De acordo com o teste de U Mann Whitney existem diferenças altamente significativas no que respeita à acidez em função do modo de produção ($p < 0,001$), sendo que as amostras produzidas em modo de produção convencional apresentam maiores teores de acidez.

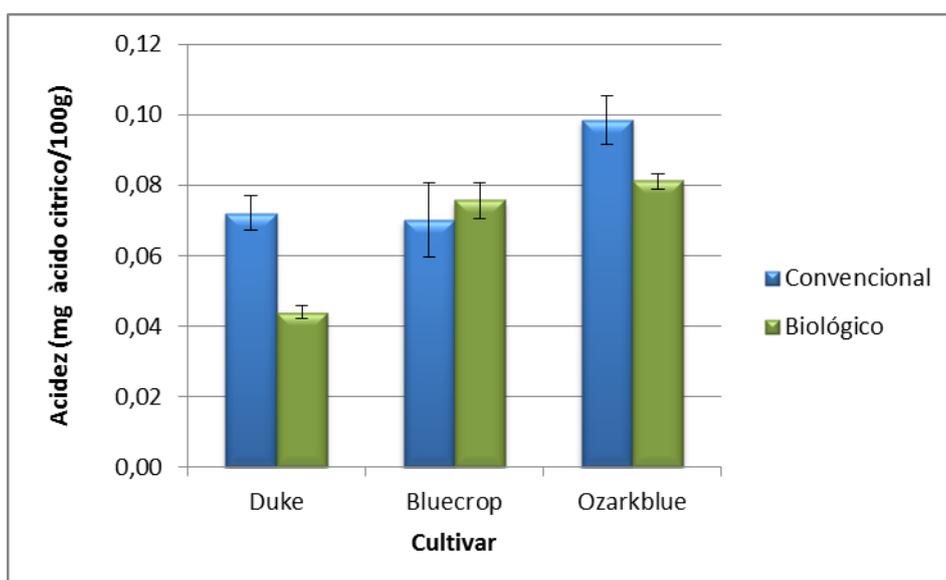


FIGURA 20. TEORES DE ACIDEZ DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA.

No que respeita ao efeito da conservação sobre a acidez (Figura 21), os mirtilos da cultivar Ozarkblue parecem exibir uma tendência em que com o passar do tempo diminui o teor de acidez (no caso da amostra OcF de 15,39 para 14,04 mg ácido cítrico/100g e da amostra ObF de 12,66 para 10,56 mg ácido cítrico/100g). A mesma tendência foi verificada por Zheng *et al.*, (2003), no qual se verificou a diminuição da acidez ao longo dos 35 dias de armazenamento após a colheita. Contudo, no presente trabalho esta tendência não foi observada nas restantes amostras e também não foi comprovada estatisticamente (teste de U Mann Whitney: $p = 0,451$).

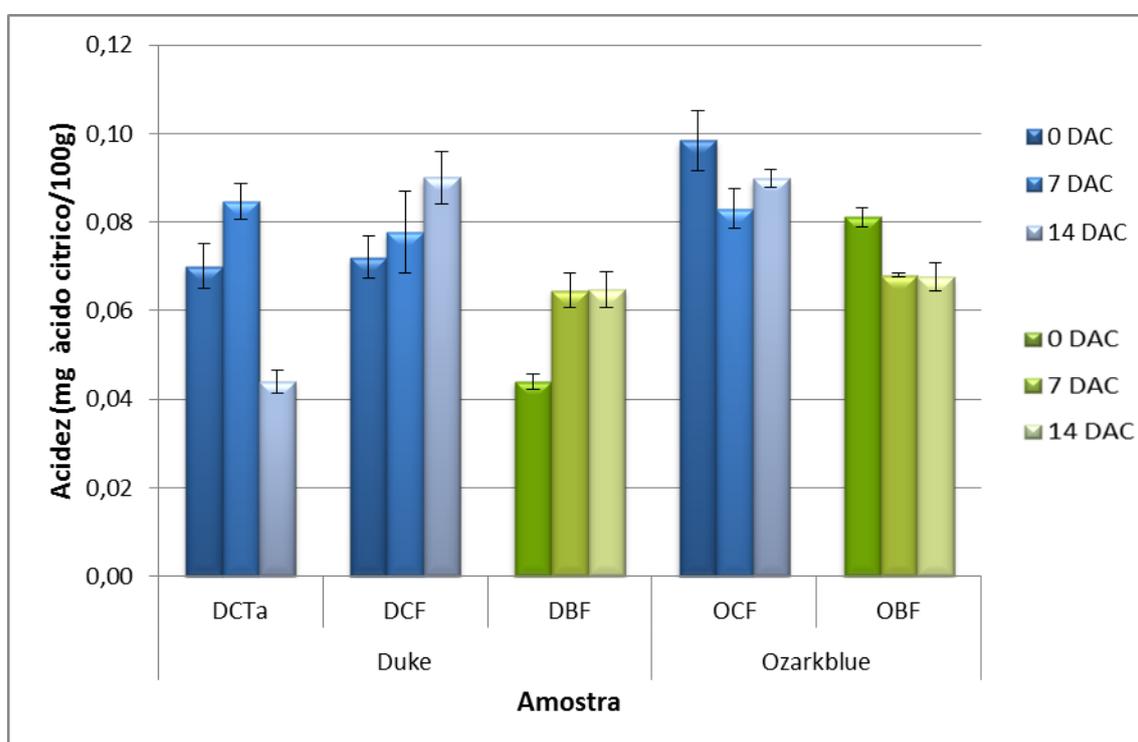


FIGURA 21. TEORES DE ACIDEZ DAS AMOSTRAS EM ESTUDO À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS). LEGENDA: DAC=DIAS APÓS A COLHEITA; CULTIVAR: D=DUKE, O=OZARKBLUE; MODO DE PRODUÇÃO: C=CONVENCIONAL, B=BIOLÓGICO; CONSERVAÇÃO: F=FRIO, TA=TEMPERATURA AMBIENTE.

17.6. Cor

Coordenada cromática L*

Na Figura 22, é possível observar os valores de luminosidade (coordenada de cor L*), obtidos nas amostras à altura da colheita.

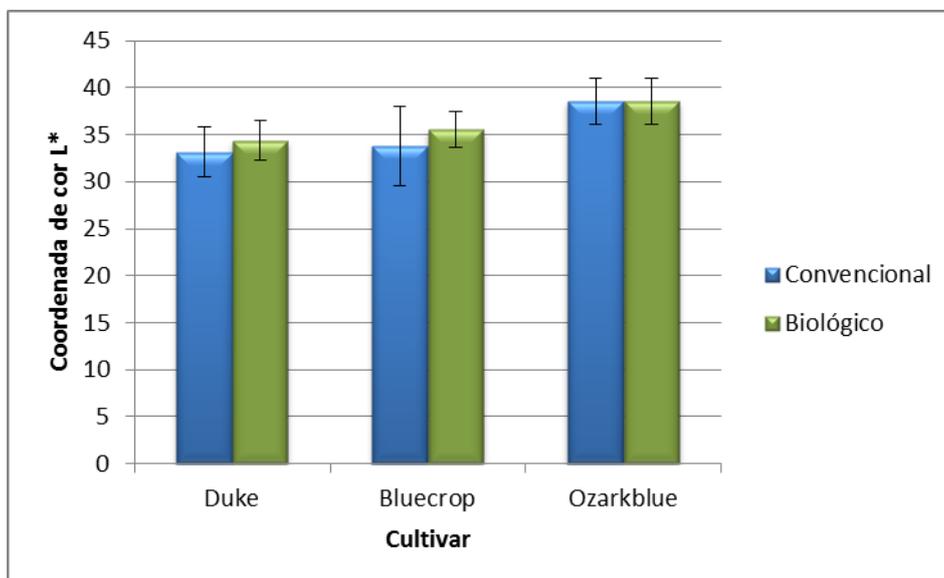


FIGURA 22. VALORES DE LUMINOSIDADE (L*) OBTIDOS NAS AMOSTRAS À COLHEITA.

Após análise estatística usando o teste de Kruskal Wallis verificou-se que existem diferenças altamente significativas entre as variedades ($p < 0,001$), sendo que os valores de L*, que traduz o brilho ou a intensidade luminosa, são maiores na cultivar Ozarkblue ($L^* = 38$ no modo de produção convencional e Biológico) e menores na cultivar Duke ($L^* = 32$ no modo de produção Convencional e $L^* = 34$ quando produzido no modo Biológico). Quanto maior L* menos escura é a amostra.

Verificou-se ainda estatisticamente com auxílio ao teste de t de student para amostra independentes que existem diferenças altamente significativas ($p < 0,001$), sendo que o valor de L* é superior nas cultivares produzidas em modo de produção biológico.

A Figura 23 mostra a evolução ao longo do tempo de conservação da luminosidade das amostras.

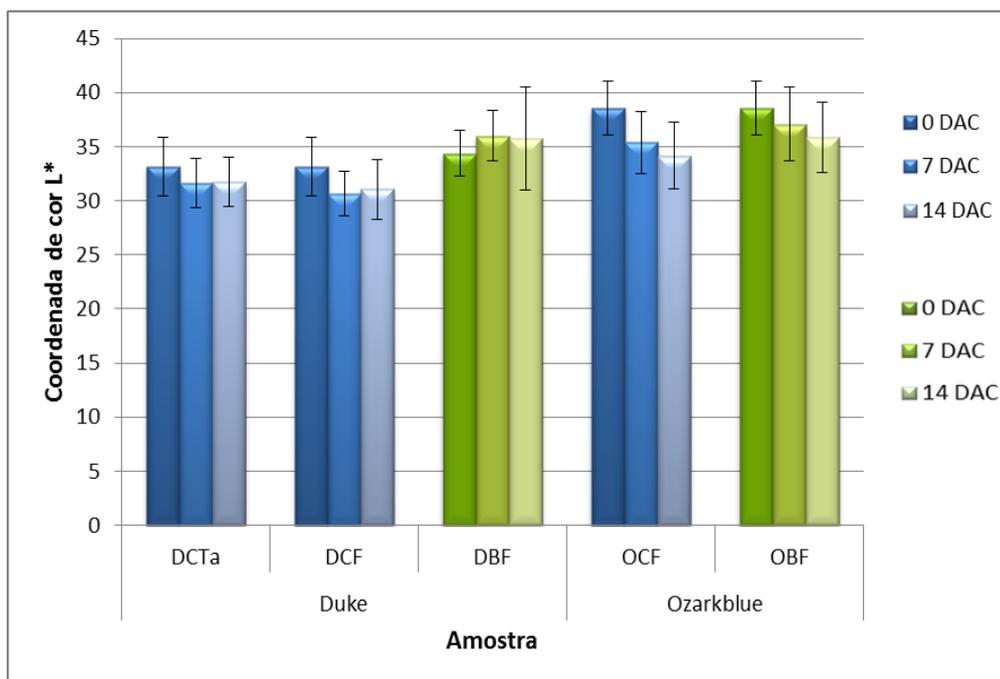


FIGURA 23. VALORES DA COORDENADA DE COR L* À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS). LEGENDA: DAC=DIAS APÓS A COLHEITA; CULTIVAR: D=DUKE, O=OZARKBLUE; MODO DE PRODUÇÃO: C=CONVENCIONAL, B=BIOLÓGICO; CONSERVAÇÃO: F=FRIO, TA=TEMPERATURA AMBIENTE.

Conclui-se por meio do teste U Mann Whitney que existem diferenças altamente significativas ($p < 0,001$) no que respeita às condições de conservação, havendo uma tendência para o escurecimento ao longo da mesma (L^* baixa).

Os valores de luminosidade obtidos nas amostras aproximam-se aos valores obtidos por Zheng *et al.*, (2003) e Rocha (2009) em que o parâmetro L^* varia entre 31 à colheita e 28,5 ao fim de 30 dias de conservação.

Coordenada cromática b^*

Na Figura 24, é possível observar os valores da coordenada de cor b^* obtidos nas amostras em estudo.

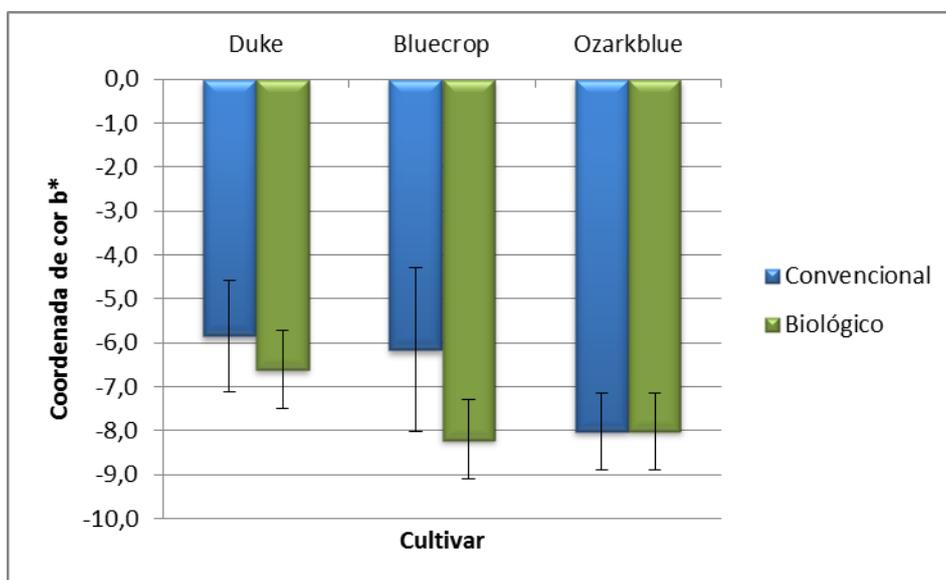


FIGURA 24. VALORES DA COORDENADA DE COR B^* OBTIDOS NAS AMOSTRAS À COLHEITA.

Os valores são negativos, variando o valor da coordenada de cor b^* entre - 8,0 a - 5,9, indicando a presença da cor azul em detrimento do amarelo.

Após análise estatística usando o teste de Kruskal Wallis verificou-se que existem diferenças altamente significativas ($p < 0,001$), sendo que os valores de b^* são maiores na cultivar Duke, indicando que neste caso a intensidade da cor azul é menor (valores menos negativos).

Verificou-se ainda, com auxílio ao teste de t de student para amostras independentes, que existem diferenças altamente significativas no que respeita ao modo de produção ($p < 0,001$), sendo que os mirtilos produzidos em modo de produção biológico apresentam uma coloração azul mais forte do que os mirtilos produzidos em modo de produção convencional.

A Figura 25 mostra a evolução ao longo da conservação da coloração azul (b^*).

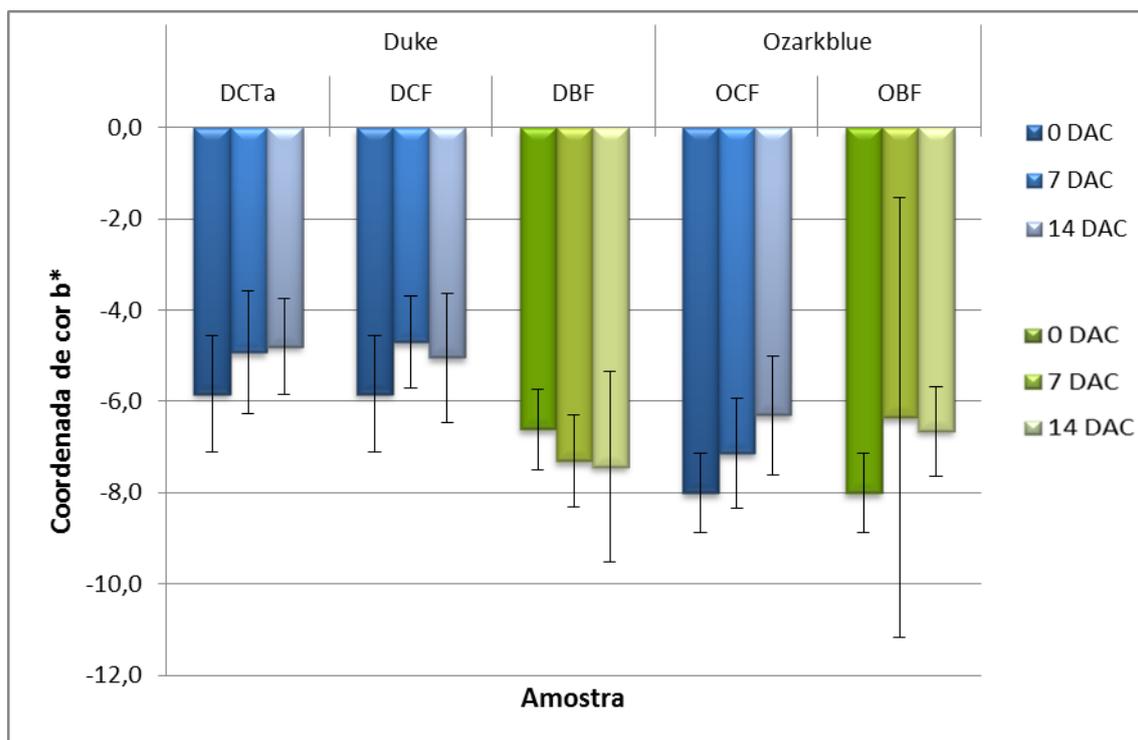


FIGURA 25. VALORES DA COORDENADA DE COR b^* À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS). LEGENDA: DAC=DIAS APÓS A COLHEITA; CULTIVAR: D=DUKE, B=BLUECROP, O=OZARKBLUE; MODO DE PRODUÇÃO: C=CONVENCIONAL, B=BIOLÓGICO; CONSERVAÇÃO: F=FRIO, TA=TEMPERATURA AMBIENTE.

Conclui-se por meio do teste U Mann Whitney que existem diferenças altamente significativas ($p < 0,001$), sendo que o valor de b^* é superior nos mirtilos armazenados à temperatura ambiente, ou seja, os mirtilos conservados à temperatura ambiente não mantêm uma cor azul tão forte quanto os armazenados em refrigeração.

Os resultados obtidos neste estudo são maiores que no estudo efectuado por Zheng *et al.*, (2003) em que os valores da coordenada b^* foram os seguintes: à colheita 0,46; 7 dias após a colheita -1,85; e 14 dias após a colheita -1,62.

Coordenada cromática a*

Na Figura 26, é possível observar os valores de a*, obtidos para as diferentes amostras estudadas à colheita.

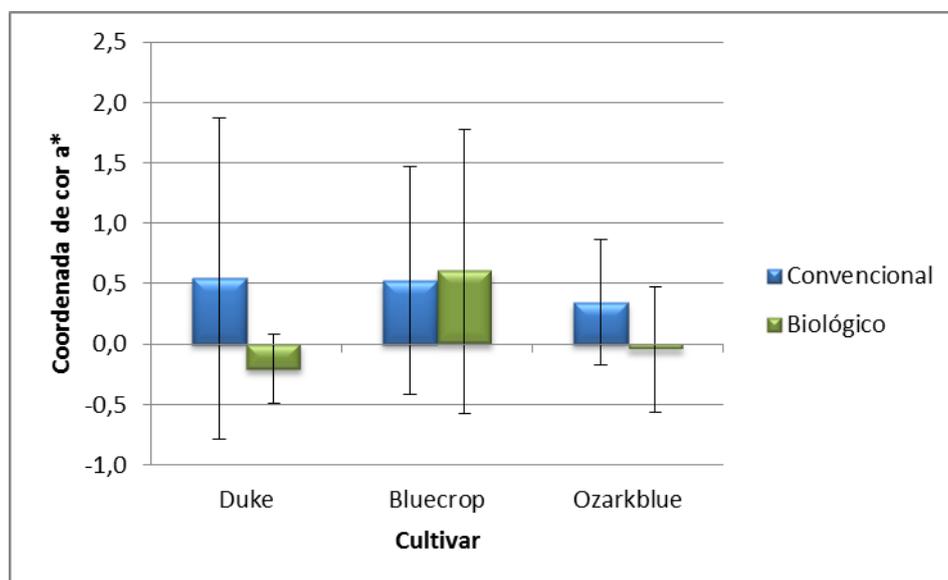


FIGURA 26. VALORES DA COORDENADA DE COR A* OBTIDOS NAS AMOSTRAS À COLHEITA.

Esta coordenada assume valores positivos quando a cor é vermelha e negativos quando a cor é verde. Neste caso os valores são muito próximos de zero e ora negativos ora positivos, indicando que esta coordenada de cor não é de todo determinante na definição da cor das amostras em estudo, sendo, isso sim, definida pelas restantes coordenadas (L* e b*).

Num estudo efectuado por Rocha (2009), o autor concluiu que, em condições similares, os valores da coordenada a* eram 0,36 e 2,23. Zheng *et al.*, (2003) obteve à colheita valores de a* de 4,68. Os resultados obtidos neste estudo aproximam-se desses valores.

Após análise estatística usando o teste de Kruskal Wallis verificou-se que existem diferenças altamente significativas em função da variedade ($p < 0,001$), sendo que os valores de a* são em média maiores na cultivar Bluecrop (0,5 a 0,6) e menores na cultivar Duke produzida em modo biológico (0,3). No que respeita ao modo de produção, o teste t de student para amostras independentes revelou que não há diferenças significativas entre as amostras ($p = 0,630$).

A Figura 27 mostra a evolução ao longo da conservação da coordenada de cor a^* . Conclui-se por meio do teste U Mann Whitney que não existem diferenças significativas ($p = 0,162$), ou seja não há uma influência das condições de conservação sobre esta coordenada cromática.

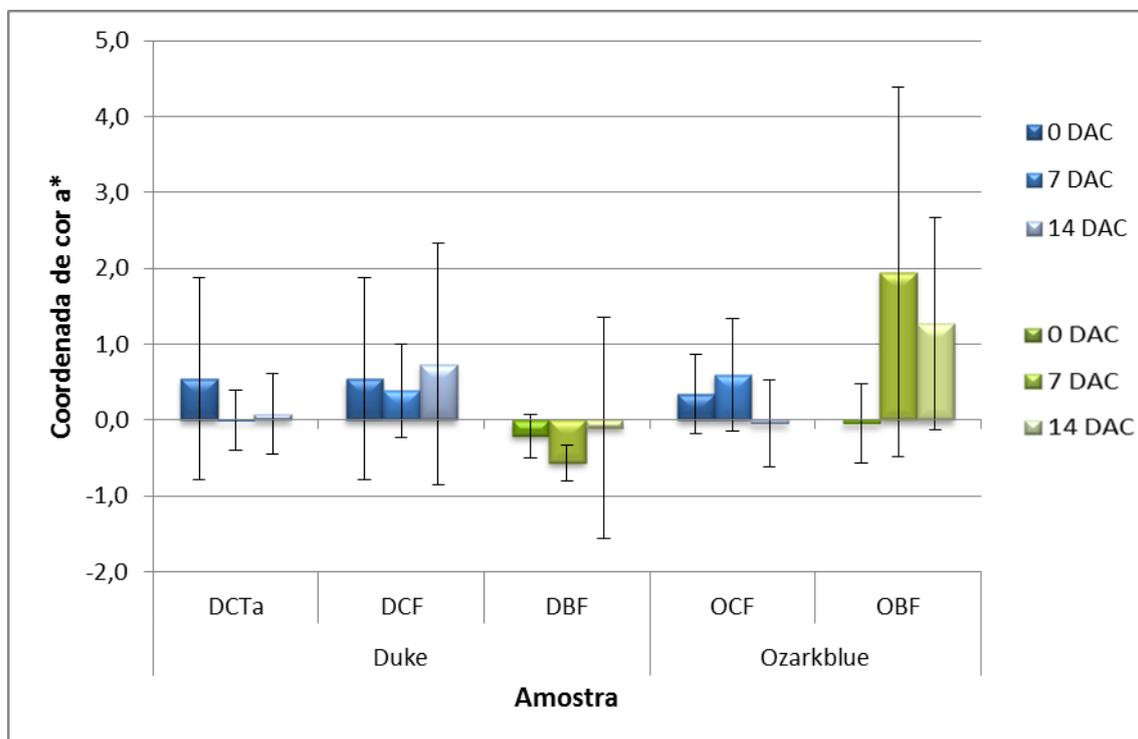


FIGURA 27. VALORES DA COORDENADA DE COR A^* À COLHEITA E APÓS CONSERVAÇÃO (7 E 14 DIAS). LEGENDA: DAC=DIAS APÓS A COLHEITA; CULTIVAR: D=DUKE, B=BLUECROP, O=OZARKBLUE; MODO DE PRODUÇÃO: C=CONVENCIONAL, B=BIOLÓGICO; CONSERVAÇÃO: F=FRIO, TA=TEMPERATURA AMBIENTE.

17.7. Textura

Firmeza

Na Tabela 8, é possível observar os valores de firmeza obtidos nas amostras estudadas.

Os valores de firmeza são superiores na cultivar Duke, produzidos em modo de produção convencional (DbF), (1,70 N) e menores na cultivar Bluecrop produzida em modo produção biológico (BbF) (1,31 N).

TABELA 8. VALORES DE FIRMEZA OBTIDOS PARA AS AMOSTRAS EM ESTUDO.

Amostra ⁽¹⁾	Firmeza (N) ao longo do tempo ⁽²⁾		
	0 DAC	7 DAC	14 DAC
DcF	1,70 ± 0,16	1,90 ± 0,20	1,99 ± 0,28
DcTa	1,70 ± 0,16	1,31 ± 0,32	1,34 ± 0,37
DbF	1,63 ± 0,25	1,86 ± 0,26	1,89 ± 0,44
Bc	1,46 ± 0,23	-	-
Bb	1,31 ± 0,22	-	-
OcF	1,40 ± 0,25	1,53 ± 0,34	1,50 ± 0,45
ObF	1,36 ± 0,17	1,71 ± 0,33	1,57 ± 0,48

⁽¹⁾Cultivar: D=Duke, B=Bluecrop, O=Ozarkblue; Modo de produção:

c=convencional, b=biológico; Conservação: F=frio, Ta=temperatura ambiente.

⁽²⁾DAC=dias após a colheita; - não foram realizados testes

A análise estatística revelou que, de acordo com os resultados do teste de Kruskal Wallis há diferenças altamente significativas ($p < 0,001$) na firmeza das variedades, sendo maior na variedade Duke. Por outro lado, o teste t de student para amostras independentes revelou que não há diferenças significativas no que respeita ao modo de produção ($p = 0,073$), ou seja a firmeza não varia consoante a produção se faça em modo convencional ou biológico.

O valor mínimo registado para a cultivar Duke durante o período de armazenamento no frio, ao longo dos 14 dias, nunca foi inferior a 1,7 N, enquanto que os mirtilos da mesma cultivar quando armazenados a temperatura ambiente perderam firmeza, atingindo um mínimo de 1,31 N. O teste de U Mann Whitney mostrou que há diferenças altamente significativas em relação à conservação ($p < 0,001$), sendo que a firmeza na baga na cultivar é superior em mirtilos armazenados no frio quando comparada com a dos mirtilos armazenados à temperatura ambiente.

Os valores da firmeza à data da colheita variam entre 1,31 e 1,70 N, que são semelhantes aos encontrados no estudo efectuado por Kalt e McDonald (1996) em mirtilos maduros, tendo registado valores de firmeza de cerca de 2 N.

Elasticidade

Na Tabela 9, é possível observar os valores de elasticidade obtidos nas amostras de mirtilos das diferentes cultivares em estudo.

Há colheita verifica-se que a cultivar Duke produzida em modo de produção convencional (DcF), apresenta um valor de elasticidade superior (2,89 mm) às restantes cultivares em estudo. Em contraponto, a cultivar Ozarkblue, independentemente do modo de produção apresentou valores de elasticidade inferiores (2,02 a 2,19 mm).

TABELA 9. VALORES DE ELASTICIDADE OBTIDOS PARA AS AMOSTRAS EM ESTUDO.

Amostra ⁽¹⁾	Elasticidade (mm) ao longo do tempo ⁽²⁾		
	0 DAC	7 DAC	14 DAC
DcF	2,89 ± 0,42	3,15 ± 0,45	3,15 ± 0,68
DcTa	2,89 ± 0,42	2,83± 0,50	2,79 ± 0,77
DbF	2,44 ± 0,38	3,04± 0,46	4,08± 0,63
Bc	2,49 ± 0,46	-	-
Bb	2,93 ± 0,42	-	-
OcF	2,19 ± 0,45	2,32 ± 0,39	2,99± 0,71
ObF	2,02 ± 0,36	1,97 ± 0,26	2,43 ± 0,61

⁽¹⁾Cultivar: D=Duke, B=Bluecrop, O=Ozarkblue; Modo de produção: c=convencional, b=biológico; Conservação: F=frio, Ta=temperatura ambiente.

⁽²⁾DAC=dias após a colheita; - não foram realizados testes

Após análise estatística usando o teste de Kruskal Wallis verificou-se que existem diferenças altamente significativas entre a elasticidade das diferentes variedades de mirtilos ($p < 0,001$), sendo que os valores de elasticidade são maiores na cultivar Duke (2,44 mm a 4,08 mm). Verificou-se ainda estatisticamente com auxílio ao teste de t de student para amostras independentes que existem diferenças bastante significativas no que respeita ao modo de produção ($p = 0,001$), sendo que o mirtilos produzidos em modo de produção convencional apresentam elasticidade superior quando comparados com as cultivares produzidas em modo de produção Biológico.

O valor mínimo registado para a cultivar Duke durante o período de armazenamento ao longo dos 14 dias, foi praticamente constante (3,15 mm), enquanto os mirtilos da mesma cultivar armazenados a temperatura ambiente perderam elasticidade, atingindo um mínimo de 2,79 mm. Conclui-se assim por

meio do teste U Mann Whitney que existem diferenças altamente significativas respeitantes às condições de conservação ($p < 0,001$).

17.8. Compostos fenólicos totais

O teor em compostos fenólicos totais ($\mu\text{g EAG/g}$ fruto fresco), presentes nos extratos de metanol e nos extratos de acetona está apresentado na tabela 10.

TABELA 10. TEOR EM COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS PRESENTES NOS EXTRATOS DE METANOL E ACETONA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO.

Amostra ⁽¹⁾	Compostos fenólicos totais ($\mu\text{g EAG/g}$) ao longo do tempo ⁽²⁾		
	0 DAC	7 DAC	14 DAC
<i>Extratos de metanol</i>			
DcF	5,07 \pm 0,36	5,5 \pm 0,26	4,39 \pm 0,11
DcTa		4,51 \pm 0,23	5,91 \pm 0,11
DbF	6,53 \pm 0,22	6,44 \pm 0,24	6,54 \pm 0,36
Bc	3,51 \pm 0,19	-	-
Bb	3,90 \pm 0,18	-	-
OcF	4,84 \pm 0,23	6,44 \pm 0,52	5,94 \pm 0,18
ObF	5,38 \pm 0,60	4,71 \pm 0,14	5,38 \pm 0,32
<i>Extratos de acetona</i>			
DcF	1,06 \pm 0,10	1,33 \pm 0,03	1,12 \pm 0,12
DcTa		1,30 \pm 0,12	1,65 \pm 0,33
DbF	1,69 \pm 0,05	1,67 \pm 0,08	1,69 \pm 0,13
Bc	1,46 \pm 0,07	-	-
Bb	1,33 \pm 0,03	-	-
OcF	1,30 \pm 0,12	1,64 \pm 0,06	1,64 \pm 0,11
ObF	1,38 \pm 0,10	1,51 \pm 0,10	1,48 \pm 0,11

⁽¹⁾ Cultivar: D=Duke, B=Bluecrop, O=Ozarkblue; Modo de produção: c=convencional, b=biológico; Conservação: F=frio, Ta=temperatura ambiente.

⁽²⁾ DAC=dias após a colheita ; - não foram realizados testes

O teor em compostos fenóis totais, obtido pela soma dos extratos de metanol e acetona, variaram entre um mínimo de 4,97 $\mu\text{g EAG/g}$ (amostra Bluecrop em modo de produção convencional à colheita (BcF) e um máximo de 8,22 $\mu\text{g EAG/g}$ (amostra Duke em modo de produção biológico à colheita (DbF)).

Os resultados obtidos evidenciam uma maior capacidade de extração dos compostos fenólicos por parte do solvente metanol (3,51 a 6,54 µg EAG/g) quando comparado com a solução aquosa de acetona (1,06 a 1,69 µg EAG/g).

Após análise estatística usando o teste de t de student para amostras independentes verificou-se que existem diferenças altamente significativas no teor de fenóis totais em função do solvente usado para a extração ($p < 0,001$). Spagolla *et al.*, (2009), no mirtilo *Vaccinium ashei* em condições semelhantes de extração e determinação também verificaram que no extracto de metanol se obteve maior teor de compostos fenólicos totais.

Os resultados do teste de Kruskal Wallis revelaram ainda que o teor de fenóis totais não é influenciado pela variedade do mirtilo ($p = 0,843$). Também as condições de produção (biológico ou convencional) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (teste t de student para amostras independentes: $p = 0,527$).

Estudos apresentados por Solvita *et al.*, (2009), em condições de extracção similares, obtiveram para a cultivar Duke 2,2 µg/g EAG de compostos fenólicos totais, valores inferiores aos resultados obtidos no presente trabalho para as amostras de duke produzidas em modo de produção biológico (8,22 µg/g EAG) e convencional (6,13 µg/g EAG).

Ao longo do período de conservação, à excepção da amostra Duke produzida em modo convencional e armazenada no frio (DcF), findo os 14 dias de armazenamento, todas as amostras em estudo aumentaram a quantidade de compostos fenólicos totais, ainda que de forma ligeira. No entanto, o teste de U Mann Whitney revelou que não há diferenças significativas no teor de fenóis totais ao longo da conservação ($p = 0,155$).

17.9. Taninos totais

Na Tabela 11 é possível observar os valores de taninos totais, obtidos nas amostras nos extratos de metanol e acetona.

À colheita, os extratos de metanol das amostras Duke biológico (DbF) e Ozarkblue convencional (OcF) eram as que continham o valor (1,99 mg/g de fruto) mais elevado de taninos. Os extratos de metanol representavam entre 46 e 61% do total de compostos fenólicos extraídos. Relativamente aos extratos de acetona, a amostra DbF continha o valor mais elevado, 1,82 mg de taninos /g, seguido pela BcF e OcF, com 1,58 e 1,52 mg/g de fruto, respectivamente.

TABELA 11. TEOR EM TANINOS TOTAIS PRESENTES NOS EXTRATOS DE METANOL E ACETONA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO.

Amostra ⁽¹⁾	Taninos totais (mg /g) ao longo do tempo ⁽²⁾		
	0 DAC	7 DAC	14 DAC
<i>Extratos de metanol</i>			
DcF	0,80 ± 0,19	0,84 ± 0,20	1,33 ± 0,46
DcTa		0,88 ± 0,28	1,31 ± 0,29
DbF	1,99 ± 0,39	3,64 ± 0,54	1,06 ± 0,18
Bc	1,35 ± 0,18	-	-
Bb	1,40 ± 0,21	-	-
OcF	1,22 ± 0,11	1,80 ± 0,13	0,99 ± 0,25
ObF	1,88 ± 0,29	1,98 ± 0,23	2,91 ± 0,17
<i>Extratos de acetona</i>			
DcF	0,68 ± 0,21	0,36 ± 0,17	1,27 ± 0,14
DcTa		0,86 ± 0,05	0,70 ± 0,18
DbF	1,82 ± 0,39	1,43 ± 0,08	0,50 ± 0,09
Bc	1,58 ± 0,24	-	-
Bb	0,91 ± 0,07	-	-
OcF	0,83 ± 0,08	1,00 ± 0,22	0,88 ± 0,09
ObF	1,30 ± 0,10	0,32 ± 0,07	0,279 ± 0,02

⁽¹⁾Cultivar: D=Duke, B=Bluecrop, O=Ozarkblue; Modo de produção:

c=convencional, b=biológico; Conservação: F=frio, Ta=temperatura ambiente.

⁽²⁾DAC=dias após a colheita; - não foram realizados testes

A cultivar com quantidades de taninos superiores à colheita é a Duke produzida em modo produção biológico (DbF), com um valor de 3,81 mg/g e a menor quantidade de taninos foi observada na cultivar Duke produzida em

modo de produção Convencional (DcF) com um valor de 1,48 mg/g. Estas diferenças são bastante significativas ($p = 0,003$).

Após análise estatística usando o teste de t de student para amostras independentes verificou-se que existem diferenças altamente significativas relativamente ao solvente de extração utilizado ($p < 0,001$), sendo a concentração de taninos superior nos extratos de metanol. Verificou-se ainda estatisticamente com auxílio ao teste de t de student para amostras independentes que existem diferenças altamente significativas em relação à ordem da extração ($p < 0,001$), sendo a concentração de taninos totais superior nas primeiras extrações.

Os valores de taninos totais obtidos neste trabalho, resultantes da soma dos dois tipos de extrato, variam entre os 1,00 e os 5,07 mg/g, e são semelhantes aos valores obtidos por Soutinho (2012), que para mirtilos cultivados em modo de produção Biológico obteve os valores de 0,96 a 1,38 mg/g.

No que respeita às influências da variedade e das condições de conservação os resultados dos testes estatísticos efetuados revelaram que em qualquer dos casos as diferenças não são significativas (teste de Kruskal Wallis: $p = 0,369$ no primeiro caso e teste de U Mann Whitney: $p = 0,061$ no segundo caso).

17.10. Antocianinas totais

A tabela 12 mostra os valores de antocianinas totais obtidos nas nos extratos de metanol e de acetona para as amostras em estudo.

A cultivar com quantidades de antocianinas totais superiores à colheita é a Duke produzida em modo produção biológico (DbF), com um valor de 2,79 mg/g EMvG/g e a menor quantidade antocianinas totais foi observada na cultivar Bluecrop produzida em modo de produção biológico (BbF) com um valor de 1,52 mg/g EMvG/g. No entanto estas diferenças não eram estatisticamente distintas, de acordo com o teste de Kruskal Wallis ($p = 0,337$).

Os teores de antocianinas totais obtidos nas amostras em estudo são inferiores aos resultados obtidos por Rocha (2009) em condições de determinação similares, para a variedade *Vaccinium myrtillus* (5,89 mg/g EMvG/g).

TABELA 12. TEOR EM ANTOCIANINAS TOTAIS PRESENTES NOS EXTRATOS DE METANOL E ACETONA DAS AMOSTRAS EM ESTUDO.

Amostra ⁽¹⁾	Antocianinas totais (mg/g EMvG /g) ao longo do tempo ⁽²⁾		
	0 DAC	7 DAC	14 DAC
Extratos de metanol			
DcF	1,84 ± 0,13	2,33 ± 0,03	1,53 ± 0,02
DcTa		2,15 ± 0,07	2,87 ± 0,06
DbF	2,68 ± 0,06	2,78 ± 0,1	3,00 ± 0,01
Bc	1,89 ± 0,01	-	-
Bb	1,42 ± 0,02	-	-
OcF	1,60 ± 0,08	1,78 ± 0,11	1,73 ± 0,05
ObF	1,69 ± 0,05	1,01 ± 0,02	1,11 ± 0,04
Extratos de acetona			
DcF	0,02 ± 0,01	0,21 ± 0,02	0,03 ± 0,01
DcTa		0,06 ± 0,03	0,08 ± 0,01
DbF	0,11 ± 0,05	0,21 ± 0,03	0,09 ± 0,01
Bc	0,04 ± 0,00	-	-
Bb	0,10 ± 0,01	-	-
OcF	0,01 ± 0,00	0,05 ± 0,02	0,07 ± 0,03
ObF	0,07 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01

⁽¹⁾Cultivar: D=Duke, B=Bluecrop, O=Ozarkblue; Modo de produção: c=convencional, b=biológico; Conservação: F=frio, Ta=temperatura ambiente.

⁽²⁾DAC=dias após a colheita; - não foram realizados testes

Após análise estatística usando o teste de t de student para amostras independentes verificou-se que existem diferenças altamente significativas relativamente ao solvente de extração usado ($p < 0,001$), sendo os valores de antocianinas superior nas extrações de metanol quando comparados com os de acetona. Verificou-se também, e à semelhança do observado anteriormente, que existem diferenças altamente significativas na ordem da extração (teste de t de student para amostras independentes: $p < 0,001$), sendo o teor de antocianinas superior nas primeiras extrações quando comparadas com as segundas.

Relativamente ao modo de produção, os resultados dos testes estatísticos efetuados não revelaram que estes fatores influenciem o teor em antocianinas totais (teste t de student independente: $p = 0,910$).

Nas amostras Duke produzida em modo convencional armazenada à temperatura ambiente (DcTa), ocorreu um aumento de 1,87 para 2,95 mg/g EMvG/g findo os 14 dias após a colheita (14DAC). O mesmo se verifica na amostra Duke produzida em modo biológico armazenada no frio (DbF) (2,78 a 3,10 mg/g EMvG/g) e na Ozarkblue produzida em modo convencional armazenada no frio (OcF), ocorre um aumento de 1,61 a 1,79 mg/g EMvG/g findo os 14 dias. Parece haver uma ligeira tendência para o teor de antocianinas aumentar com o passar do tempo, tal como sugere Kalt e McDonald (1996), mas essa tendência não foi confirmada pelo teste de U Mann Whitney ($p = 0,882$).

17.11. Atividade antioxidante

Relativamente à capacidade antioxidante dos frutos em estudo, apresentam-se na Tabela 13 os resultados obtidos pelos dois métodos utilizados, método DPPH e método ABTS.

TABELA 13. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE QUANTIFICADAS PELOS MÉTODOS ABTS E DPPH NAS AMOSTRAS EM ESTUDO.

Amostra ⁽¹⁾	Atividade antioxidante ($\mu\text{mol trolox/g}$) ao longo do tempo ⁽²⁾		
	0 DAC	7 DAC	14 DAC
Método DPPH			
DcF	9,97 \pm 1,11	13,73 \pm 1,06	11,82 \pm 1,61
DcTa		10,67 \pm 1,86	16,71 \pm 2,01
DbF	23,22 \pm 1,69	13,75 \pm 0,69	14,21 \pm 1,48
Bc	20,63 \pm 1,26	-	-
Bb	16,27 \pm 1,85	-	-
OcF	10,70 \pm 1,51	20,00 \pm 0,81	13,87 \pm 0,54
ObF	9,28 \pm 1,16	17,74 \pm 1,26	13,57 \pm 1,79
Método ABTS			
DcF	24,66 \pm 1,63	40,46 \pm 1,14	17,36 \pm 0,66
DcTa		30,06 \pm 1,24	41,64 \pm 2,54
DbF	53,45 \pm 2,23	41,27 \pm 2,08	41,94 \pm 2,18
Bc	50,23 \pm 2,68	-	-
Bb	43,50 \pm 2,07	-	-
OcF	28,31 \pm 3,90	43,24 \pm 3,25	41,71 \pm 2,35
ObF	24,49 \pm 1,61	37,09 \pm 1,81	38,97 \pm 0,84

⁽¹⁾Cultivar: D=Duke, B=Bluecrop, O=Ozarkblue; Modo de produção: c=convencional, b=biológico; Conservação: F=frio, Ta=temperatura ambiente.

⁽²⁾DAC=dias após a colheita; - não foram realizados testes

À colheita, a cultivar Duke produzida em modo de produção biológica (DbF) foi a que apresentou valores superiores de Actividade Antioxidante (53,45 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método ABTS e 23,22 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método DPPH) e a menor actividade antioxidante foi registada na cultivar Ozarkblue produzida em modo de produção convencional (OcF) (24,49 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método ABTS e e 9,28 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método DPPH). Porém, o teste de Kruskal Wallis não confirmou estas diferenças já que

não foram encontradas diferenças significativas entre as variedades ($p = 0,768$ e $p = 0,247$, respetivamente para os métodos DPPH e ABTS).

No caso da cultivar bluecrop, a amostra produzida em modo convencional (BcF) apresentou valores superiores de Actividade Antioxidante (50,23 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método ABTS e 20,63 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método DPPH) face à mesma cultivar produzida am modo de produção biológico (43,50 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método ABTS e 16,27 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método DPPH).

No entanto, relativamente ao modo de produção, não foram encontradas diferenças significativas (teste t de student independente: $p = 0,526$ e $p = 0,439$, para os métodos DPPH e ABTS, respetivamente).

Na amostra Duke produzida em modo convencional armazenada à temperatura ambiente (DcTa), ocorre um amento da Actividade Antioxidante de 24,66 para 41,64 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método ABTS e 9,97 para 16,71 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método DPPH) findo os 14 dias após a colheita (14DAC). O mesmo se verifica na amostra Ozarkblue produzida em modo convencional armazenada no frio (OcF) onde ocorre um amento da Actividade Antioxidante de 28,31 para 41,71 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método ABTS e 10,70 para 13,57 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método DPPH. Na Ozarkblue produzida em modo biológico armazenada no frio (ObF), ocorre também um aumento da Actividade Antioxidante de 24,49 para 38,97 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método ABTS e 9,28 para 13,57 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra pelo método DPPH). No entanto no que respeita às condições de conservação não foram encontradas diferenças significativas (teste de U Mann Whitney: $p = 0,725$ e $p = 0,396$, para os métodos DPPH e ABTS, respetivamente).

Os valores de atividade antioxidante total variaram no método DPPH entre os 9,28 e os 23,22 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra, e no método ABTS entre os 17,36 e os 53,45 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra. Os resultados obtidos são semelhantes ao estudo apresentado por Rodrigues *et al.*, (2010) que demonstram que em condições de extração similares, o teor de atividade antioxidante pela determinação usando o metodo ABTS variou entre 12,3 e os 24,4 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra. O teor de atividade antioxidante pela determinação usando o metodo DPPH variou entre 10,1 e os 20,5 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra. Rys *et al.*, (2009) na

determinação da actividade antioxidante pelo método ABTS obteve para o mirtilo valores de 16,8 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra.

17.12. Correlações entre as varáveis em estudo

A Tabela 14 mostra os coeficientes de correlação de Pearson entre as propriedades físico-químicas.

TABELA 14. CORRELAÇÕES DE PEARSON ENTRE AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.

	Tcon	H	Ac	SST	L*	a*	b*	Fir	Elas
H	0,057								
Ac	0,194	0,144							
SST	0,188	0,144	1,000**						
L*	-0,183**	0,122	0,122	0,125					
a*	0,082*	-0,395**	-0,114	-0,110	-0,210				
b*	0,196**	0,139	-0,089	-0,093	-0,706**	0,241**			
Fir	0,162**	0,027	-0,266	-0,268	-0,134**	0,040	0,120**		
Elas	0,381**	0,134	-0,018	-0,019	-0,274**	-0,089**	0,145**	0,327**	

Legenda: Tcon=temperatura de conservação, H=humidade, Ac=acidez, SST= sólidos solúveis totais, Fir=firmeza, Elas=elasticidade.

** Correlação é significativa ao nível de 0,01

* Correlação é significativa ao nível de 0,05

Verifica-se que de uma forma geral as correlações são fracas, com valores absolutos inferiores a 0,5. No entanto, de ressaltar uma correlação negativa forte ($r = -0,706$) entre dois atributos de cor, o b^* (cor azul) e o L^* (luminosidade), indicando que variam em sentido inverso, ou seja quanto mais baixo o valor de b^* (mais azul) mais elevado o valor de L^* (menos escuro). De notar ainda a correlação perfeita ($r = 0,9996 \cong 1$) entre os valores de sólidos solúveis totais e a acidez, a qual pode ainda ser verificada na Figura 28.

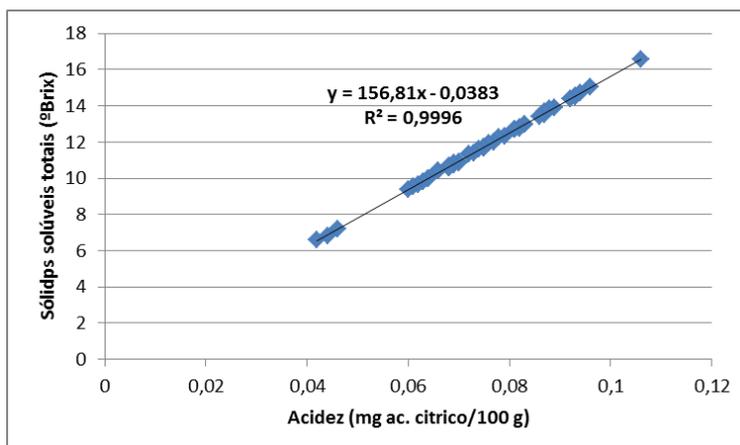


FIGURA 28. CORRELAÇÃO ENTRE O TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS E A ACIDEZ.

Os coeficientes de correlação de Pearson para as propriedades relacionadas com a composição fenólica são apresentados na Tabela 15. De referir que em todos os casos os coeficientes são maiores que 0,5, indicando relações fortes entre as variáveis. Existem alguns coeficientes que são particularmente elevados (superiores a 0,8), como sejam o caso da correlação entre os resultados da atividade antioxidante dados pelos dois métodos (ABTS e DPPH), ou o teor em compostos fenólicos e a atividade antioxidantes (independentemente do método usado para a quantificar). Também as antocianinas se relacionam muito fortemente com a atividade antioxidante e com os compostos fenólicos.

TABELA 15. CORRELAÇÕES DE PEARSON ENTRE AS PROPRIEDADES RELACIONADAS COM A COMPOSIÇÃO FENÓLICA.

	DPPH	ABTS	CFT	Tan	Anto
ABTS	0,958**				
CFT	0,871**	0,920**			
Tan	0,597**	0,586**	0,616**		
Anto	0,865**	0,917**	0,947**	0,500**	

Legenda: CFT=compostos fenólicos totais, Tan=taninos totais, Anto=antocianinas totais.

** Correlação é significativa ao nível de 0,01

18. CONCLUSÕES

O estudo efetuado permitiu concluir, no que respeita à comparação das três variedades de mirtilo estudadas (Duke, Bluecrop e Ozarkblue), que a cultivar Duke apresentou calibres médios superiores às restantes cultivares, tinha uma cor mais intensa em azul e mais escura, apresentando também uma textura mais firme e mais elástica.

Relativamente ao teor de sólidos solúveis não se verificaram diferenças significativas entre as variedades estudadas.

No que respeita ao modo e produção foi possível observar que os mirtilos produzidos em modo de produção Biológico apresentam menores teores de acidez e sólidos solúveis totais, apresentavam uma cor azul mais intensa, menor elasticidade e eram mais ricos em taninos quando comparados com os mirtilos produzidos em modo de produção convencional.

Os valores de atividade antioxidante total variaram no método DPPH entre os 9,28 e os 23,22 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra, e no método ABTS entre os 17,36 e os 53,45 $\mu\text{mol trolox/g}$ amostra. À colheita, a cultivar Duke produzida em modo de produção biológico foi a que apresentou valores superiores de atividade antioxidante e a menor atividade antioxidante foi registada na cultivar Ozarkblue produzida em modo de produção convencional.

No que respeita à composição fenólica, verificou-se que os teores de fenóis totais, de antocianinas totais e de taninos totais eram superiores nos extratos de metanol em comparação com os de acetona.

A temperatura de conservação do mirtilo (no frio ou à temperatura ambiente) não influenciou significativamente as propriedades químicas do mirtilo, porém influenciou significativamente as propriedades físicas, de tal forma que os mirtilos conservados no frio apresentavam uma cor menos intensa (menos azul e mais claros) e uma textura mais firme e menos elástica. Verificou-se ainda que a firmeza na baga era maior na cultivar Duke e menor na cultivar Ozarkblue.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



- Angelo, P., Jorge, N., 2007. Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. *Revista Instituto Adolfo Lutz*.
- Antolovich, M., Prenzler, P., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., 2002. Methods for testing antioxidant activity. *School of Science Technology, Charles Sturt University*. 127, 183–198.
- Austin, M., Bondari, K., 2003. The effect of chilling temperature on flower bud expansion of rabbiteye blueberry. *Department of Horticulture. University of Georgia. Coastal Plain Experiment. Station. Tifton GA 31793 USA* 31, 71–79.
- Barros, M., 2012. Preparação de novos derivados flavonóides com potencial atividade biológica (Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial). *Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra*.
- Biologica, Fundação, 2009. Manual de criação e manutenção de uma horta biológica, *Manual BioHorta – Criação de uma Horta Biológica*.
- Billmeyer, F., Saltzmann, M., 1981. *Principles of color technology*, Wiley-Interscience, New York.
- Borges, L., Lúcio, T., Gil, E., Barbosa, E., 2011. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. *Enciclopédia Biosfera. Centro Científico Conhecer Goiã*.
- Boulton, R., 2001. The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 52, 67–87.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science Technologie*. 28, 25–30.

- Burdulis, D., Ivanauskas, L., Dirsė, V., Kazlauskas, S., Ražukas, A., 2007. Study of diversity of anthocyanin composit. *Medicina Kaunas* 43, 971–977.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R., 1997. Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. *Free Radical Biology & Medicine*. 22, 749–760.
- Carrilha, F., Guiné, R., 2010. Avaliação da textura da pêra passa de S.Bartolomeu obtida por diferentes métodos de secagem. Escola Superior Agrária de Viseu, Instituto Politécnico de Viseu.
- ÇeviK, N., Turker, G., Kizilkaya, B., 2013. The phenolic compounds in berries: Beneficial effects on human Health. *Food Technolgie Program Bayramiç Vocational College*. 1314-5703, 52–54.
- Cheyrier, V., Rigaud, J., Souquet, M., Barrillère, J.M., Moutounet, M., 1989. Effect of Pomace Contact and Hyperoxidation on the Phenolic Composition and Quality of Grenache and Chardonnay Wines. *American Journal of Enolgy and Viticulture*. 36–42.
- Coletti, R., 2009. Fenologia, produção e superação da dormência do mirtilo em ambiente protegido. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo.
- Coutinho, E., Cantillano, R., 2007. Conservação pós-colheita. *Embrapa Clima Temperado Sist. Produção* 8 ISSN 1806-9207 - Versão Eletrônica 8.
- Del Rio, D., Borges, G., Crozier, A., 2010. Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects. *British Journal of Nutrition*. 104, 67–90.
- Fachinello, J.C., 2008. Mirtilo. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 30.
- FAOSTAT, 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations; FAOSTAT-Production,crops

Blueberry.<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> (accessed 10.26.14).

- Ferreira, D., Guyot, S., Marnet, N., Delgadillo, I., Renard, C., Coimbra, M., 2002. Composition of Phenolic Compounds in a Portuguese Pear (*Pyrus communis* L. Var. S. Bartolomeu) and Changes after Sun-Drying. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50, 4537–4544.
- Ferreira, I., Abreu, R., 2007. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. *Bioanalise IV2* 2, 32–39.
- Fonseca, L., 2007. A planta de mirtilo: Morfologia e fisiologia. Folhas Divulg. Agro 556 N^o2 “Diversificação Produção Frutícola Com Novas Espécies E Tecnologias que assegurem a qualidade agro-Alimentar. 556.
- Fonseca, L., Oliveira, P.B., 2000. A produção de mirtilos em Portugal, I Colóquio nacional da produção de morangos e outros pequenos frutos. Oeiras.
- Galarça, S., Cantillano, R., Schunemamn, A., Lima, C., 2008. Influência da atmosfera controlada no sabor do mirtilo “bluegem” em armazenamento refrigerado. Universidade Federal de Pelotas.
- Galletta, G.J., Ballington, J.R., 1996. Blueberry, cranberries, and lingonberries. *Fruit Breeding: vine and small fruits*. New York. Willey & Sons 1–108.
- Giovanelli, G., Buratti, S., 2009. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chemical*. 901–910.
- Gonçalves, R., 2007. Estudo da inibição de tripsina por compostos fenólicos isolados de fontes naturais .Efeito anti nutricional de bebidas comuns. Departamento Químico da Faculdade de Ciências. Universidade Porto
- Heim, K., Tagliaferro, A., Bobilya, D., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13, 572–584.

- IFOAM, I.F. of organic agriculture movements, 2005. Principles of organic agriculture.http://www.ifoam.org/sites/default/files/ifoam_poa.pdf (accessed 10.26.14).
- INTERBIO, Associação interprofissional para agricultura biologica, 2011. Política Nacional de agricultura biologica.20-23.
- Jesus, T., 2013. O Mirtilo e suas Propriedades Terapêuticas. Universidade Fernando Pessoa - Faculdade de Ciências da Saúde.
- Kader, A., 1995. Maturity, ripening and quality relationships of fruit-vegetables. *Acta Horticulture, ISHS Davis USA* 12, 249–255.
- Kader, A., Ben, R., Philosoph-Hadas, S., 2001. Quality assurance of harvested horticultural perishables. *Proc. Fourth Int. Conf. Postharvest Sci. Acta-Hortic.* 51–55.
- Kalt, W., McDonald, J., 1996. Chemical Composition of Lowbush Blueberry Cultivars. Agriculture and Agri-Food Canada Research Centre Kentville, Nova. Scotia. 142–146.
- Lavadinho, C., Sousa, M., Martins, M., 2001. Influência da data de colheita na qualidade do mirtilo., *Atas 5º Encontro de Química de Alimentos: Qualidade, Segurança, Inovação.*
- Machado, R., Jesus, R., 2012. Avaliação de cultivares de mirtilo. . Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM) Universidade de Évora.
- Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Siquet, C., Reis, S., Lima, J., 2005. Determinação e aplicação de uma metodologia automática para determinação da capacidade antioxidante em alimentos., *7º Encontro de Química dos Alimentos, Viseu.*
- Magalhães, L., Segundo, M., Reis, S., Lima, J., 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta* 613 1–19.

- Masabni, J., 2007. Blueberry production. UKREC, Princeont Ky.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M., Gopinathan, V., Milner, A., 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*. 84, 407–412.
- Minolta, K., 1998. Precise color communication: color control from perception to instrumentation. Japan: Minolta Co Ltda 57.
- Martinez-Flórez, S., González-Galego, J., Culebras, J.M., Tunón, M.J., 2002. Revisión Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrition Hospitalaria*. 6, 271–278.
- Noronha, A., 2008. Apresentação da textura. Escola Superior Agrária de Coimbra.
- Oliveira, P., 2012. Influência dos fatores ambientais, de produção e do grau de amadurecimento nas propriedades antioxidantes e antimutagénicas de diferentes cultivares de *Vaccinium* spp, produzidas em Portugal. Faculdade de Ciências e Tecnologia Universidade Nova de Lisboa.
- Paal, T., Starast, M., Noormets-Sanski, M., Vool, E., Tasa, T., Karp, K., 2011. Influence of liming and fertilization on lowbush blueberry in harvested peat field condition. Estonian University of Life Sciences, Institute of Forestry and Rural Engineering, Estonia. 130, 157–163.
- Paes, J., Dotta, R., Barbero, G., Martínez, J., 2014. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO₂ and pressurized liquids. *The Journal of Supercritical Fluids*. 95, 8–16.
- Parra, M., 2008. Producción de arándano: puntos claves de manejo del cultivo. Simpósio Nac. Morango Encontro Sobre Pequenas Frutas Nativas da Mercosul 3.

- Pontes, L., 2004. Avaliação sensorial e instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais. Dissertação Mestrado. Programa Pós Graduação. Em Ciências e Tecnologias. Alimentares.
- Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., Mainland, C.M., 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2686–2693.
- Ratnam, D.V., Ankola, D., Bhardwaj, V., Sahana, D., Kumar, M., 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*. 13, 189–207.
- Rocha, F., 2009. Avaliação da cor e da Actividade antioxidante da polpa e do extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó. Universidade Federal de Viçosa.
- Rodrigues, E., Poerner, N., Rockenbach, I., Gonzaga, L., Mendes, C., Fett, R., 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of blueberry cultivars. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*.
- Ruiz, A., Ubierna, C., 1996. Propriedades cualitativas de las frutas para el consumidor. Qué se puede medir hoy?. *Fruticultura Profesional*. 48–54.
- Rys, E., Korona, M., Kalbarczyk, J., 2009. Antioxidant capacity ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits. Department of Fruit, Vegetable and Mushroom Technology University of Life Sciences in Lublin Skromna.
- Sandhu, H., Wratten, S., Cullen, R., 2010. Organic agriculture and ecosystem services. *Environmental Science & Policy*. 13, 1–7.

- Santos, A., 2003. Importância e métodos físicos de avaliação da qualidade da matéria-prima. Laboratório de Tecnologia e Pós-colheita da Universidade de Évora.
- Serrado, F., Pereira, M., Freitas, S., Martins, S., Dias, T., 2008. Mirtilos: Guia de boas práticas para produção, promoção e comercialização.
- Severo, J., Galarça, S., Aires, R., Rufino, F.F., Rombaldi, C., Silva, J., 2008. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina c e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada.
- Shahidi, F., Naczk, M., 2004. Phenolic compounds in fruits and vegetables. *Phenol Food Nutr* 131–156.
- Silveira, N.G., Vargas, P.N., Rosa, C.S., 2007. Teor de polifenóis e composição química do mirtilo do grupo highbush. *Alimentos e Nutrição*. 18.
- Singleton, V.L., Rossi, A., 1965. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 144–158.
- Skupien, K., 2006. Evaluation of Chemical composition of fresh and frozen blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta Sci Pol Hortorum Cultus* 5 19–25.
- Smith, M.A.L., Marley, K.A., Seigler, D., Singletary, K.W., Meline, B., 2000. Bioactive properties of wild blueberry fruits., *Journal of Food Science – Sensory and Nutritive Qualities of Food*.
- Solvita, K., Elga, S., Dace, S., Inta, K., 2009. Chemical composition of highbush blueberry cultivars. Faculty of Food Technology, Latvia University of Agriculture (LLU), Liela Street 2, Jelgava, Latvia.

- Sousa, M.B., 2007. Mirtilo – Qualidade Pós-Colheita. Folhas Divulg. Agro 556 N°8 “Diversificação Produção Frutícola Com Novas Espécies E Tecnologias que Assegurem a Qualidade Agro Alimentar. 556.
- Sousa, M.B., Curado, T., 2000. Avaliação de atributos de qualidade, em quatro cultivares de mirtilo (*Vaccinium* sp) para o mercado fresco, . I Colóquio nacional da produção de morangos e outros pequenos frutos. ed. Oeiras.
- Sousa, M.B., Curado, T., Lavadinho, C., Martins, M., 2006. A survey of Quality Factors in Highbush and Rabbiteye Blueberry cultivars in Portugal, *Acta Horticulturae*.
- Sousa, M., Curado, T., Vasconcellos, F.N., Trigo, M.J., 2007. Mirtilo: qualidade pós colheita. Agro divulgação, Edição no âmbito do Projecto PO AGRO DE&D N° 556 “Diversificação da produção frutícola com novas espécies e tecnologias que assegurem a qualidade agro-alimentar.” ed.
- Soutinho, S., 2012. Avaliação dos compostos fenólicos e da actividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modo biológico. Escola Superior Agrária de Viseu.
- Spagolla, L., Santos, M., Passos, L., Aguiar, C., 2009. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 30, 59–64.
- Trehane, J., 2004. *Blueberries, Cranberries and Other Vacciniums*, Royal Horticultural Society, Portland, U.S.A.
- Turkmen, I., Eksi, A., 2011. Brix degree and sorbitol/xylitol level of authentic pomegranate (*Punica granatum*) juice. *Food Chemistry*. 127, 1404–1407.
- USDA, 2010. National nutrient database for standard reference, Release 23. <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=8964> (accessed 6.28.14).

- USDA, 2011. Database for the flavonoid content of selected foods, Release 3.<http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=8964> (accessed 8.8.14).
- Vizzotto, M., Pereira, M.C., 2009. Mirtilo: a fruta da longevidade. Diário Manhã 25 Maio 8.
- Wang, S., Chen, C., Sciarappa, W., Wang, C., Camp, M., 2008. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organ... - PubMed - NCBI. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56, 5788–95.
- Weber, C., 2012. Blueberry Variety Review. College of Agriculture And Life Sciences. Cornell Cooperative Extension.
- Westwood, N.H., 1982. Fruticultura de zonas templadas. S.A. Mundi-Prensa Libros, Madrid.
- Zheng, Y., Chien, W., Shiow, Y., Zheng, W., 2003. Effect of High-Oxygen Atmospheres on Blueberry Phenolics, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. Department of Agriculture, Beltsville, Maryland 20705 51.