O mirtilo é uma fruta rica em antocianinas, substância de alto poder antioxidante que auxilia na prevenção várias doenças, sendo que o suco é um dos principais derivados deste fruto. Os processos tradicionais de extração de suco apresentam, de forma geral, elevadas perdas de nutrientes, no presente caso, das antocianinas. O método de extração enzimática é uma alternativa para a obtenção do suco de mirtilo, gerando um produto final com reduzida viscosidade em relação ao suco cru e elevados teores de compostos antociânicos. Em vista disto, o objetivo do presente estudo foi determinar a condição ótima de extração enzimática do suco utilizando a enzima Novozyme® 33103 (Novozymes®), visando o máximo teor de antocianina e a redução da viscosidade. O estudo foi conduzido seguindo um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com ponto central, variando-se a concentração de enzima (0,496 a 1,984%) e a temperatura (30 a 40 °C). Os frutos da variedade Vaccinium corymbosum foram descongelados a 5 °C, por 24 horas, desintegrados, submetidos a uma etapa de branqueamento (aquecimento a 90 °C, durante 3 min) e imediatamente resfriados a 50 °C para a adição da enzima. A polpa foi mantida em banho termostático com agitação constante durante 1 hora, prensada a 7 bar de pressão para a obtenção do suco filtrado. Os resultados obtidos indicam que a viscosidade, o índice de refração e o teor de antocianinas do suco são fortemente influenciados pela temperatura, pela concentração da enzima e pela interação entre elas. A condição ótima de extração para a enzima utilizada é alcançada com a concentração de aproximadamente 0,5% e temperatura de 50 °C.