

# Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial em doces de medronho

Andreia Silva

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto Ciências do Consumo e Nutrição

2014

MSC

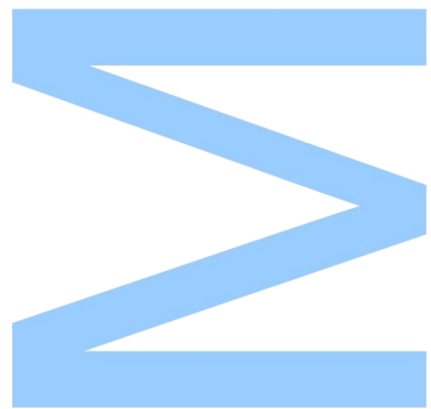
2.º CICLO

FCUP 2014



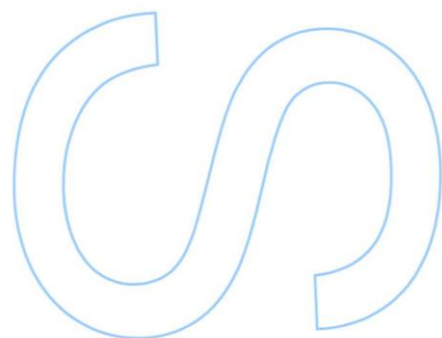
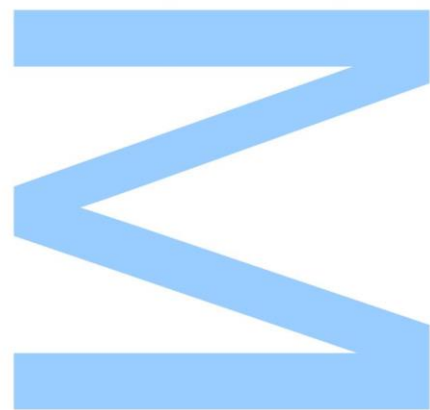
Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial em doces de medronho

Andreia Silva





# Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial em doces de medronho



**Andreia Silva**

Mestrado em Ciências do Consumo e Nutrição  
Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do Território  
(DGAOT)  
2014

**Orientador**

Doutor Carlos Manuel Marques Ribeiro, Professor adjunto do Instituto Politécnico de Beja

**Coorientador**

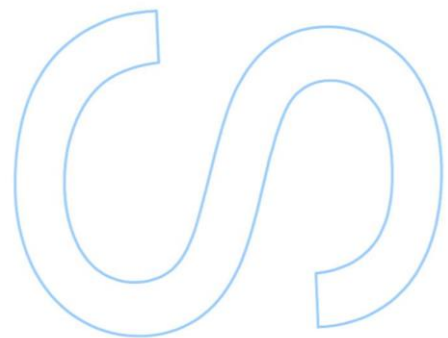
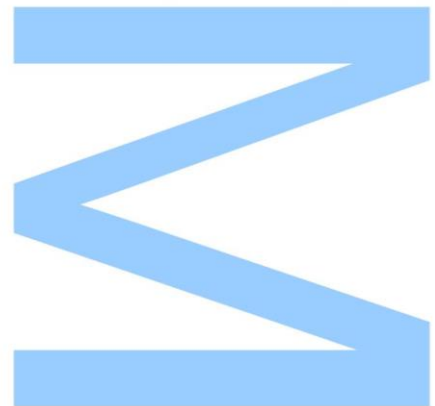
Doutor Luís Cunha, Professor associado da FCUP, FCNAUP (Universidade do Porto)





Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas. O Presidente do Júri,

Porto, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_





**“Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial em doces de medronho”**

***(“Physicochemical, microbiological and sensory characterization of strawberry tree fruit jams”)***

Andreia Raquel da Costa e Silva

(Licenciada em Biologia pela Universidade de Aveiro)

Faculdade de Ciências e Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da  
Universidade do Porto, Porto

Investigação efetuada na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja

**Orientador** Doutor Carlos Manuel Marques Ribeiro (Instituto Politécnico de Beja)

**Coorientador** Doutor Luís Cunha (Universidade do Porto)

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Ciências do Consumo e Nutrição  
apresentada à Faculdade de Ciências e Faculdade de Ciências da Nutrição e  
Alimentação da Universidade do Porto.

2014





# Agradecimentos

Os meus agradecimentos direcionam-se em primeiro lugar para os Doutores Carlos Ribeiro e Luís Cunha por terem aceitado ser orientador e coorientador da minha tese, respetivamente, e por se terem disponibilizado a ajudar-me nesta fase.

Expresso, também, os meus agradecimentos ao Instituto Politécnico de Beja por me ter acolhido, em particular à Escola Superior Agrária, seus docentes e colaboradores pela sua ajuda sempre que requisitada.

Às minhas colegas e amigas, Dina Soares, Marta Trinca, Ana Furão e Marcília Victoria o meu muito obrigada por tudo.

Agradeço à Faculdade de Ciências e à Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, por terem permitido a realização deste trabalho.

Reconheço igualmente a importância das pessoas que me acompanharam ao longo desta etapa, quer em presença física ou em pensamento, como os meus colegas de mestrado, que me acompanharam nas minhas dúvidas, em especial Rita e Sofia e as pessoas do segundo piso da Mista II, pela amizade ao longo deste ano.

Gostaria de agradecer principalmente à minha família pela motivação e por acreditarem sempre, mesmo nos momentos mais difíceis.

Gostaria ainda de dedicar este trabalho aos meus sobrinhos Guilherme e Alexandre.

A todos que me ajudaram, e que não enunciei, o meu obrigada.



## Resumo

O medronho é o fruto proveniente de *Arbutus unedo* L., uma espécie típica da zona mediterrânica, importante ao nível da fauna e flora envolvente, com diversos benefícios mencionados para a saúde humana. Existem registos da presença desta espécie desde a antiguidade, no entanto, atualmente o seu consumo encontra-se um pouco limitado a alguns hábitos tradicionais mantidos.

Os doces de medronho poderão ser apresentados ao consumidor como um produto proveniente de um fruto invulgar no mercado, com cores e sabores diferentes dos produtos disponíveis e com vários benefícios para a saúde.

Este trabalho teve como objetivo estudar a aptidão dos medronhos para elaboração de doces e avaliar a influência de diferentes formulações nas suas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas.

Partindo de alguns ensaios prévios foram consideradas oito formulações de doces para posterior caracterização. Para a elaboração dos doces à base de medronho avaliou-se os seguintes fatores: forma de incorporação do fruto, isto é, inteiro ou sob a forma de polme; o tipo de pectina (de alto metoxilo e de baixo metoxilo; no caso das de baixo metoxilo, na elaboração de doce de baixo valor calórico); e a concentração de pectina, aplicada em dois níveis de concentração.

Nas diferentes amostras de doces foi avaliada a presença de microrganismos totais a 30°C, não revelando valores significativos. Foram também determinados os atributos dos produtos obtidos, tais como, a cor, a textura, o resíduo seco solúvel, a acidez titulável, o pH e os compostos bioativos, incluindo fenóis totais, o ácido ascórbico e a capacidade antioxidante. Partindo dos valores de proteína, fibra, gordura, humidade e cinza foi determinado o valor nutricional dos oito produtos. As amostras foram ainda sujeitas a análise sensorial pelo método *Ultra Flash Profile* e por ordenação preferencial.

De acordo com os ensaios realizados, o medronho aparenta ser um fruto adequado para a produção de doces, com um teor de pectina e acidez suficiente para conferir gelificação nos doces produzidos com o fruto integral e com alto teor de açúcar. A adição de pectina é essencial em doces produzidos a partir do polme do medronho, ou quando é desejada maior dureza no produto.

Dentro das amostras registaram-se valores médios de 37,6 a 40,0°Brix em doces de baixo valor calórico e 61,3 a 64,6°Brix em doces de valor calórico normal. No geral a sacarose registou valores médios mais elevados que a frutose e a glucose, com

resultados entre 13,68 e 16,27 g/100g de sacarose nos doces de baixo valor calórico, 38,69 a 44,22 g/100g de sacarose nos doces formulados com pectina de alto metoxilo.

Os doces analisados obtiveram valores médios de dureza entre 0,42 e 1,71 N; coesividade entre 0,54 e 0,90; adesividade entre 2,21 e 8,94 (-N.s); cor, no espaço de cor *CI Lab*, com  $L^*$  entre 35,10 a 45,04,  $a^*$  entre 2,76 a 9,85 e  $b^*$  entre 21,08 a 35,32. O ácido ascórbico revelou valores (204,40 a 293,64 mg/100g) próximos aos encontrados em doce de cereja e para o ORAC foram registados valores (1,30 a 1,82 ET mmol/100g) próximos a dados registados para framboesa e morangos.

Ao nível do valor nutricional podem destacar-se as diferenças no tipo de pectina em relação ao valor energético e ainda na presença de fibra bruta, mais acentuada em doces com sementes.

Quanto à caracterização sensorial, os provadores revelaram preferência pelos doces formulados com pectina de alto metoxilo (doces com maior teor de açúcar), sem sementes e maior concentração de pectina.

**Palavras-Chave:** *Arbutus unedo*, Medronho, frutos silvestres, doce.

## Abstract

Strawberry tree berry is the fruit from *Arbutus unedo* L., a typical species from the Mediterranean, important for its surrounding fauna and flora, with many mentioned benefits to human health. There are records of the presence of this species since antiquity, however currently its use is somewhat limited to certain traditional habits maintained.

Strawberry tree fruit jams may be presented to the consumer as a product made with an unusual fruit in the market with different colours and flavours from the products available, with several health benefits.

This work aimed to study the suitability of *Arbutus unedo* fruit for the preparation of jams and evaluate the influence of different formulations on their physicochemical, sensory and microbiological characteristics.

Based on some preliminary tests, eight jam formulations were considered for further characterization. For the development of arbutus berries based jams the following factors were evaluated: the incorporation way of the fruit, that is, whole or in the form of polme; the type of pectin (high methoxy and low methoxy; in the case of low methoxy, in the preparation of low-calorie jams); and the concentration of pectin, applied in two concentration levels.

In the different jam samples total microorganisms at 30 ° C were quantified, showing no significant values. The attributes of the products obtained, such as the colour, texture, soluble dry matter, acidity and pH; bioactive compounds, including total phenols, ascorbic acid and antioxidant activity were also determined. Based on the levels of protein, fibre, fat, moisture and ash it was determined the nutritional value of the eight products. The samples were also subjected to sensorial examination by Ultra Profile Flash method and preferential ordering.

According to tests performed, strawberry tree fruit appears to be appropriate for the production of jams, with pectin and sufficient acidity to impart gelling produced in the jam with the whole fruit and high sugar content. Pectin is crucial in jams produced from the arbutus berries polme, or when higher hardness is desired in the product.

Within the samples were recorded average values from 37.6 to 40.0 °Brix in low calorie jams and 61.3 to 64.6 °Brix in ordinary caloric value jams. Overall sucrose recorded higher values than fructose and glucose, with results between 13.68 and 16.27 g/100g of sucrose in light jams and 38.69 to 44.22 g/100g of sucrose in jams made with high-methoxy pectin.

The analysed jams had average values of hardness between 0.42 and 1.71 N; cohesiveness between 0.54 and 0.90; adhesiveness between 2.21 and 8.94 (-N.s); colour, *CILab* colour space, with L\* between 35.10 to 45.04, a\* between 2.76 to 9.85, and b\* between 21.08 to 35.32. Ascorbic acid revealed average values (204.40 to 293.64 mg/100g) near the ones found in cherry jam and ORAC reported values (1.30 to 1.82 ET mmol/100g) close to data recorded for raspberry and strawberries.

Regarding the nutritional value, it can be noted differences on the type of pectin in relation to energetic value and further on the presence of fibre, more pronounced in jams with seeds.

As for the sensorial characterization, the panel revealed preference for jams made with high-methoxy pectin (jams with higher sugar content), without seeds and with higher pectin concentration.

**Keywords:** *Arbutus unedo*, Strawberry tree fruit, wild fruits, jam.

# Índice

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>VII</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XI</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>XIII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>XVII</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>XIX</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>XXI</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. OBJETIVOS .....	2
<b>2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO</b> .....	<b>3</b>
2.1. ARBUTUS UNEDO .....	3
2.1.1. <i>História, distribuição geográfica e fisiologia</i> .....	3
2.1.2. <i>Características nutricionais e aplicações do medronho</i> .....	5
2.2. DOCES .....	6
2.2.1. <i>Definição de doces</i> .....	7
2.2.2. <i>Características dos doces</i> .....	8
2.2.3. <i>Produção de doce</i> .....	8
2.2.3.1. <i>Pectina</i> .....	10
2.2.4. <i>Aplicação dos doces</i> .....	11
2.3. MICROBIOLOGIA .....	12
2.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS .....	12
2.4.1. <i>Cor</i> .....	12
2.4.2. <i>Reologia</i> .....	12
2.4.3. <i>Açúcar</i> .....	14
2.4.4. <i>Antioxidantes e fenóis</i> .....	14
2.4.4.1. <i>Métodos de avaliação da atividade antioxidante</i> .....	16
2.5. CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS .....	19
2.5.1. <i>Ultra-flash profile</i> .....	20
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
3.1. MATÉRIA-PRIMA .....	22

3.1.1.	<i>Características dos medronhos</i> .....	22
3.1.1.1.	<i>Teor de pectina</i> .....	24
3.2.	INGREDIENTES .....	25
3.3.	PREPARAÇÃO DO DOCE DE MEDRONHO.....	25
3.4.	MÉTODOS.....	30
3.4.1.	<i>Caraterização microbiológica</i> .....	30
3.4.2.	<i>Caraterização físico-química</i> .....	30
3.4.2.1.	<i>Resíduo seco solúvel</i> .....	30
3.4.2.2.	<i>Potencial hidrogeniônico (pH)</i> .....	31
3.4.2.3.	<i>Cor</i> .....	31
3.4.2.4.	<i>Textura</i> .....	31
3.4.2.5.	<i>Extrato seco</i> .....	31
3.4.2.6.	<i>Atividade da água (a<sub>w</sub>)</i> .....	31
3.4.2.7.	<i>Cinza</i> .....	32
3.4.2.8.	<i>Acidez titulável</i> .....	32
3.4.2.9.	<i>Açúcares</i> .....	32
3.4.2.10.	<i>Ácido ascórbico</i> .....	33
3.4.2.11.	<i>Fenóis totais</i> .....	34
3.4.2.12.	<i>Capacidade antioxidante (TEAC)</i> .....	34
3.4.2.13.	<i>Capacidade antioxidante (ORAC)</i> .....	35
3.4.2.14.	<i>Capacidade antioxidante (FRAP)</i> .....	35
3.4.2.15.	<i>Proteína</i> .....	35
3.4.2.16.	<i>Gordura total</i> .....	36
3.4.2.17.	<i>Fibra bruta</i> .....	36
3.4.3.	<i>Caraterização sensorial</i> .....	37
3.5.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	39
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>40</b>
4.1.	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	40
4.2.	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	40
	<i>Valor nutricional</i> .....	59
4.3.	ANÁLISE SENSORIAL .....	60
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>69</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>I</b>
	ANEXO A (CÁLCULOS) .....	III
	<i>Adição de açúcar</i> .....	III



<i>Adição de conservantes</i> .....	III
<i>Açúcares</i> .....	IV
<i>Valor nutricional</i> .....	V
<i>Humidade</i> .....	V
<i>Cinza</i> .....	V
<i>Fibra</i> .....	VI
<i>Gordura</i> .....	VI
<i>Proteína</i> .....	VI
<i>Ácido ascórbico</i> .....	VII
<i>Fenóis totais</i> .....	VII
<i>FRAP</i> .....	VII
<i>ORAC</i> .....	VII
<i>TEAC</i> .....	VII
ANEXO B (CURVAS PADRÃO).....	IX
<i>Ácido ascórbico</i> .....	IX
<i>Fenóis totais</i> .....	X
<i>FRAP</i> .....	X
<i>ORAC</i> .....	XI
<i>TEAC</i> .....	XI
ANEXO C (CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA POR EXTRATO SECO).....	XIII
ANEXO D (TABELAS DE CORRELAÇÃO) .....	XV



## Lista de figuras

Figura 1 – Medronheiro ( <i>Arbutus unedo</i> ) em processo de floração e frutificação.....	4
Figura 2 – Curva de análise de um perfil de textura generalizado.....	13
Figura 3 – Medronhos maduros inteiros.....	22
Figura 4 – Medronhos maduros cortados transversal e longitudinalmente.....	23
Figura 5 – Cavidades locais e conjuntos de sementes de medronho.....	23
Figura 6 – Sementes de medronho.....	24
Figura 7 – Processo para obtenção do polme.....	27
Figura 8 – Confeção dos doces.....	27
Figura 9 – Doces de medronho.....	28
Figura 10 – Fluxograma do processo de fabrico e análises dos doces.....	29
Figura 11 – Preparação das amostras para análise sensorial.....	37
Figura 12 – Preparação da cabine de prova para o método <i>Ultra Flash Profile</i> .....	38
Figura 13 – Execução do método de <i>Ultra Flash Profile</i> a amostras de doce de medronho. .....	38
Figura 14 – Avaliação da interação Tipo de pectina * Concentração de pectina na Dureza (N) dos doces de medronho.....	44
Figura 15 – Avaliação da interação Tipo de pectina * Concentração de pectina na Adesividade dos doces de medronho.....	45
Figura 16 – Avaliação da interação Tipo de pectina * Sementes na Adesividade dos doces de medronho.....	46
Figura 17 – Avaliação do fatores Sementes (à esquerda) e Tipo de pectina (à direita) na Coesividade dos doces de medronho.....	47
Figura 18 – Avaliação do fator Sementes na luminosidade (cor L*) dos doces de medronho.....	48
Figura 19 – Avaliação do fator Tipo de pectina na cor a* dos doces de medronho.....	49
Figura 20 – Avaliação do fator Concentração de pectina na cor a* dos doces de medronho.....	50
Figura 21 – Avaliação do fator Sementes na cor a* dos doces de medronho.....	50
Figura 22 – Avaliação do fator Sementes na cor b* dos doces de medronho.....	51
Figura 23 – Avaliação da interação dos fatores Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes na Glicose (g/100g) dos doces de medronho.....	53
Figura 24 – Avaliação da interação dos fatores Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes na Frutose (g/100g) dos doces de medronho.....	53

Figura 25 – Avaliação da interação dos fatores Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes na Sacarose (g/100g) dos doces de medronho. ....	54
Figura 26 – Avaliação da interação do Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes no $a_w$ dos doces de medronho. ....	56
Figura 27 – Avaliação da interação do Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes na humidade dos doces de medronho. ....	56
Figura 28 – Exemplo de posicionamento das amostras de doce (mapeamento projetivo). ....	60
Figura 29 – Avaliação da interação de Concentração de pectina * Sementes na preferência dos provadores na análise sensorial de doces de medronho. ....	62
Figura 30 – Conjunto dos resultados do mapeamento projetivo obtido para os diferentes doces de medronho. ....	63
Figura 31 – Resultados do <i>Ultra Flash Profile</i> para os diferentes doces de medronho. ....	64
Figura 32 – Resultados do mapeamento projetivo com o UFP e ordem de preferência para os diferentes doces de medronho. ....	65
Figura 33 – Curva de calibração para o método de determinação de ácido ascórbico por espectrofotometria em microplaca (absorvância a 510nm). ....	IX
Figura 34 – Curva de calibração para o método de determinação de fenóis totais por espectrofotometria em microplaca (absorvância a 740nm). ....	X
Figura 35 – Curva de calibração para o método de determinação de antioxidantes FRAP por espectrofotometria em microplaca (absorvância a 595nm). ....	X
Figura 36 – Curva de calibração para o método de determinação de antioxidantes ORAC por espectrofotometria em microplaca (excitação: 485nm; emissão: 520nm). ....	XI
Figura 37 – Curva de calibração para o método de determinação de antioxidantes TEAC por espectrofotometria em microplaca (absorvância a 730nm). ....	XI

## Lista de tabelas

Tabela 1 – Análise de ácido ascórbico, fenóis totais e antioxidantes comparativamente a outros frutos e doces. ....	17
Tabela 2 – Calibre médio dos medronhos maduros colhidos. ....	22
Tabela 3 – Frequência de sementes por fruto e por cavidades de medronho. ....	24
Tabela 4 – Formulações das amostras de doces de medronho ....	26
Tabela 5 – Parâmetros físico-químicos dos produtos finais por base húmida. ....	40
Tabela 6 – Influência da composição do doce na variável Dureza, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	43
Tabela 7 – Influência da composição do doce na variável Adesividade, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	45
Tabela 8 – Influência da composição do doce na variável Coesividade, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	47
Tabela 9 – Influencia da composição do doce na variável Luminosidade., avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	48
Tabela 10 – Influencia da composição do doce no parâmetro de cor a*, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	49
Tabela 11 – Influencia da composição do doce no parâmetro de cor b*, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	51
Tabela 12 – Influencia da composição do doce na variável glucose, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	52
Tabela 13 – Influencia da composição do doce na atividade da água, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	55
Tabela 14 – Influencia da composição do doce em antioxidantes, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores. ....	57
Tabela 15 – Informação nutricional média. ....	59
Tabela 16 – Ordem de preferência dos diferentes doces de medronho, atribuída pelos provadores. ....	61
Tabela 17 – Influência da composição do doce na ordem de preferência. ....	62
Tabela 18 – Cálculos para determinação da quantidade de benzoato de sódio e sorbato de potássio a utilizar. ....	III
Tabela 19 – Cálculos do conteúdo de sacarose, D-glucose e D-frutose. ....	IV
Tabela 20 – Cálculos da concentração de sacarose, D-glucose e D-frutose. ....	IV
Tabela 21 – Cálculos da variação de absorbâncias de sacarose, D-glucose e D-frutose. .	V

Tabela 22 – Parâmetros físico-químicos dos produtos finais por base seca. ....	XIII
Tabela 23 – Correlação multifatorial com as variáveis de textura. ....	XV
Tabela 24 – Correlação multifatorial com as variáveis de cor. ....	XV
Tabela 25 – Correlação multifatorial com as variáveis de açúcar.....	XVI

## Lista de Abreviaturas

### Cor (Parâmetros $CIE_{LAB}$ – *Commission Internationale de L'éclairage*)

**L\*** – luminosidade

**a\*** – gama de cor do verde ao vermelho

**b\*** – gama de cor do azul ao amarelo

### Fórmulas químicas

**2,4-DNPH** – 2,4 – dinitrofenil-hidrazina

**AAPH** – dicloreto de 2,2'-azobis(2-amidinopropano)

**ABTS** – 2,20-azinobis (3-etil-benzotiazolina-6-sulfonato)

**ADP** - adenosina-5'-difosfato

**ATP** - adenosina-5'-trifosfato

**Ca<sup>2+</sup>** – Ião de cálcio

**CaCl<sub>2</sub>** – Cloreto de cálcio

**COO<sup>-</sup>** – grupo carboxílico

**F-6-P** - frutose-6-fosfato

**G-6-P** - glucose-6-fosfato

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – peróxido de hidrogénio

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** – Ácido sulfúrico

**HCl** – Ácido clorídrico

**HK/G6P-DH** - hexoquinase com glucose-6-fosfato desidrogenase

**K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>** - persulfato de potássio

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** - carbonato de sódio

**NADP<sup>+</sup>** - nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato

**NaOH** – Hidróxido de sódio

**PGI** - fosfoglucoase isomerase

**ROO** – radical peroxil

**ROS** – espécies reativas de oxigénio

**TPTZ** – tripiridiltriazina

### Identificação dos doces

- A** – Doce com medronhos, baixo valor calórico e 0,5% de pectina.
- B** – Doce com medronhos, baixo valor calórico e 1% de pectina.
- C** – Doce com medronhos, alto valor calórico e 0% de pectina.
- D** – Doce com medronhos, alto valor calórico e 0,5% de pectina.
- E** – Doce com polme de medronhos, baixo valor calórico e 0,5% de pectina.
- F** – Doce com polme de medronhos, baixo valor calórico e 1% de pectina.
- G** – Doce com polme de medronhos, alto valor calórico e 0,5% de pectina.
- H** – Doce com polme de medronhos, alto valor calórico e 1% de pectina.

### K-SUFRG – Kit enzimático para açúcares

**ΔA** – variação da absorvância

**A1** – absorvância 1

**A2** – absorvância 2

**A3** – absorvância 3

### Métodos de determinação de antioxidantes

**EAG** – Equivalentes de ácido gálico

**ET** – Equivalentes de trolox

**FRAP** – *Ferric ion Reducing Antioxidant Power*

(Poder redutor antioxidante do ião férrico)

**ORAC** – *Oxygen Radical Absorbance Capacity*

(Capacidade de absorção de oxigénio radical)

**PBS** - tampão fosfato

**TEAC** – *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*

(Capacidade antioxidante de equivalente trolox)

**FCR** – reagente de Folin Ciocalteu

### Microbiologia

**UFC** – Unidades Formadoras de Colónias

**PCA** – “*Plate Count Agar*” (meio de cultura de Agar)

### Unidades de medida

**cm** – centímetro

**g** – grama

**kg** – quilograma

**mg** – miligrama



**ml** – mililitros

**mm** – milímetro

**mmol** – milimole

**nm** – nanómetro

#### Outros

**ADN** – Ácido desoxirribonucleico

**a<sub>w</sub>** – Atividade da água

**BH** – base húmida

**BS** – base seca

**CA** – Doce com concentração alta de pectina

**CB** – Doce com concentração baixa de pectina

**CS** – Doce com sementes

**PAM** – Pectina de alto metoxilo (pectina AM)

**PBM** – Pectina de baixo metoxilo (pectina BM)

**pH** – Potencial hidrogeniónico

**R.S.S.** – Resíduo Seco Solúvel (°Brix)

**SS** – Doce sem sementes

**TPA** – “*Texture Profile Analysis*” (teste de duas dentadas)

**UFP** – “*Ultra flash profile*”



# 1.Introdução

O medronho é um fruto com registos da sua presença na dieta humana há milhares de anos. O fruto provém de uma planta nativa do mediterrâneo, com importância a nível medicinal, ecológico e sociocultural, o medronheiro (Alarcao-E-Silva, et al., 2001; Takrouni, et al., 2012; Tereso, Ramil-Rego & Almeida-da-Silva, 2013; Tereso, 2012).

Uma vez que os medronhos maduros frescos só estão disponíveis durante alguns meses no ano (Males, Saric & Bojic, 2013; Takrouni et al., 2012), a aplicação em doces pode ser uma boa alternativa a esta sazonalidade.

Quando consumidos em quantidades adequadas, os doces são um bom complemento para a dieta, contendo múltiplos compostos de valor biológico que são preservados durante o seu processamento (Pacheco, 2012).

O medronho é, atualmente, um fruto em estudo em Portugal. Para este trabalho, optou-se por estudar a sua aplicação em doces.

Ao longo deste trabalho foram produzidos doces com 8 formulações diferentes, em que variaram a porção do fruto utilizada (fruto inteiro vs. polme), o seu valor calórico (alto vs. baixo) e a pectina adicionada. Uma vez que tanto a porção do fruto aplicada, como o resíduo seco solúvel do doce influenciam a sua capacidade de gelificação, distintas pectinas (alto / baixo grau de metoxilação), com diferentes percentagens foram aplicadas, conforme as características de cada doce, estando presentes 2 percentagens de pectina (uma mais alta e uma mais baixa) para comparação entre cada combinação de parte do fruto com valor calórico.

Para cada formulação foram realizadas análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais.

## 1.1. **Objetivos**

Este trabalho teve como intuito fazer uma ligação entre a tradição e o futuro pois, apesar de este fruto existir desde a antiguidade, para além da sua fermentação e subsequente destilação, atualmente não é muito explorado. A aplicação em doces pode ser um modo, tradicional ou industrial de preservar, ao longo do ano, o consumo de um fruto que aparenta ter boas características nutricionais.

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar as características físico-químicas, nutricionais, sensoriais e microbiológicas, dos produtos preparados à base de medronho (fruto de *Arbutus unedo* L.) colhido no sul de Portugal, com diferentes formulações para avaliar a aptidão de medronho para a produção de doces.

Pretendeu-se uma avaliação dos doces ao nível instrumental, do teor de açúcares, cor, textura (na formação e consistência do gel do produto assim como granulósidades) e possíveis benefícios para a saúde pelo teor de antioxidantes presentes após o tratamento térmico dos mesmos, assim como ao nível sensorial, tentando perceber qual a aceitação e preferência dos consumidores em relação à presença ou ausência de granulósidades, produtos convencionais ou de baixo valor calórico (apenas com menor adição de açúcar, sem edulcorantes) e a influência dos teores de pectina (alto e baixo metoxilo, e respetivas concentrações), no sentido de tentar avaliar qual o doce mais indicado para uma introdução do mercado.

## 2. Enquadramento teórico

### 2.1. *Arbutus unedo*

#### 2.1.1. História, distribuição geográfica e fisiologia

O medronho é o fruto proveniente de *Arbutus unedo* L., uma espécie pertencente à família *Ericaceae*, nativa da zona mediterrânica e respetivo clima, existindo atualmente além da Europa Mediterrânica, na Irlanda, em França e ilhas Macaronésias, no norte de África, e noutras regiões como o Médio Oriente e Transcaucásia (Alarcao-E-Silva et al., 2001; Guerreiro, et al., 2013; Males et al., 2013; Molina, et al., 2011; Orak et al., 2012; Pimpao et al., 2013; Ruiz-Rodriguez et al., 2011; Takrouni et al., 2012). Em Portugal, o medronheiro era inicialmente cultivado nas regiões mais a sul, espalhando-se por todo o país (Malheiro et al., 2012).

Desde o início da ocupação da zona mediterrânica que o consumo de plantas silvestres, em particular os seus frutos, faz parte da dieta humana, existindo diversos registos do consumo do fruto de *Arbutus unedo* na Península Ibérica (Morales et al., 2013). Vestígios carpológicos destas bagas foram encontrados na Península Ibérica, datados do Calcolítico, da Idade do Ferro e do período romano, apresentando agora uma longa tradição em contextos sociais, culturais e microeconómicos (Alarcao-E-Silva et al., 2001; Takrouni et al., 2012; Tereso et al., 2013; Tereso, 2012).

Esta planta perene, de porte arbustivo ou arbóreo (tipicamente 1,5 – 3 metros, podendo atingir eventualmente 9 – 12 metros de altura), designada de medronheiro, cresce em altitudes desde o nível do mar a 400 – 1200 metros, sendo encontrada em regiões com verões quentes e invernos ligeiramente chuvosos, em formações vegetais de carvalhos e pinheiros, matagais de folhas perenes, margens de florestas e encostas rochosas, em solos secos e argilosos, com substratos siliciosos ou descarbonificados, podendo também crescer em solos alcalinos e relativamente ácidos (Alarcao-E-Silva et al., 2001; Males et al., 2013; Mendes, et al., 2011; Molina et al., 2011; Orak et al., 2012; Takrouni et al., 2012).

A espécie *Arbutus unedo* L. é uma planta diploide, autógena, que se reproduz sexualmente (através das sementes dos seus frutos) e vegetativamente (através de rebentos de raiz). As sementes são dispersas por gravidade e animais (principalmente aves e mamíferos), acreditando-se que pode atingir longas distâncias (Takrouni et al., 2012).

A espécie *A. unedo* apresenta uma certa importância ecológica, pela sua contribuição para a manutenção da biodiversidade da fauna (servindo de alimento para diversas aves e mamíferos frugívoros), assim como pela capacidade de prevenção da erosão dos solos e regeneração e recolonização após fogos florestais, sobrevivência em solos pobres e contribuição também para a preservação e proteção da flora, sendo património paisagístico (Alarcao-E-Silva et al., 2001; Molina et al., 2011; Santo, et al., 2012; Takrouni et al., 2012).

As folhas desta espécie são alternadas, simples, verde-escuras, de pedúnculo curto e dentadas. As flores são em forma de sino, com lóbulos recurvados, com 8 – 9 milímetros, brancas (muitas vezes tingidas de rosa ou verde) e com aroma a mel (Males et al., 2013; Takrouni et al., 2012).

Num processo de floração e frutificação (Figura 1) que se estende de outubro a fevereiro, o medronheiro transporta frutos maduros e flores, ao mesmo tempo, uma vez que os seus frutos demoram cerca de 12 meses a amadurecer, tornando-se uma espécie atraente e por consequência valiosa como planta ornamental (Males et al., 2013; Takrouni et al., 2012).



Figura 1 – Medronheiro (*Arbutus unedo*) em processo de floração e frutificação.

Os frutos do medronheiro são bagas silvestres globosas/esféricas, que apresentam cerca de 1,5 a 2-3 centímetros de diâmetro. O seu amadurecimento ocorre do amarelo ao vermelho/vermelho escuro, sendo edíveis e saborosas quando atingem a maturação total, que ocorre no outono do ano seguinte à sua floração; enquanto não atingem a maturação apresentam um gosto amargo (Alarcao-E-Silva et al., 2001; Mendes et al., 2011; Oliveira, et al., 2011b; Pimpao et al., 2013; Takrouni et al., 2012).

As diversas partes da planta (folhas, frutos, casca e raízes) têm sido aplicadas na medicina tradicional, sendo apontadas propriedades antissépticas, anti-inflamatórias, digestivas, antidiabéticas, diuréticas e laxantes, são também usadas para tratar patologias cardiovasculares, como hipertensão arterial, ateroscleroses e trombooses, e ainda problemas gastrointestinais, dermatológicos, urológicos e renais (Guerreiro et al., 2013; Guimarães, et al., 2013a; Guimarães, et al., 2013b; Males et al., 2013; Malheiro et al., 2012; Morales et al., 2013; Oliveira, et al., 2011b; Orak et al., 2012; Ruiz-Rodriguez et al., 2011; Takrouni et al., 2012). Além do seu uso na medicina popular, alguns estudos demonstraram que esta espécie apresenta benefícios para a saúde humana, sugerindo o uso de extratos padronizados em medicamentos (Males et al., 2013).

### **2.1.2. Características nutricionais e aplicações do medronho**

Até há pouco tempo a aparência e paladar de frutas e legumes eram os atributos considerados mais importantes pelos consumidores, no entanto, atualmente a segurança alimentar e valores nutricionais ganham destaque (Guerreiro et al., 2013).

O medronho é uma boa fonte nutricional de antioxidantes (importantes na prevenção de cancro e doenças cardíacas e neurodegenerativas), incluindo compostos fenólicos (ex. antocianinas e outros flavonoides, derivados de ácido gálico e taninos) (o teor total de fenóis foi estimado em 14,6 mg/g de base seca), vitaminas C e E, e carotenoides (Akay, Alpak, & Yesil-Celiktas, 2011; Guerreiro et al., 2013; Males et al., 2013; Molina et al., 2011; Oliveira, et al., 2011b; Pimpao et al., 2013).

A humidade é o maior componente dos frutos do medronheiro, sendo também constituídos por elevadas concentrações de açúcares (42% a 52% do peso seco) e minerais (principalmente potássio e cálcio) (Guerreiro et al., 2013).

A combinação dos teores de açúcares e ácidos orgânicos é responsável pelas características sensoriais do alimento. Os medronhos poderão eventualmente ser considerados nutracêuticos, sendo uma fonte de compostos bioativos para suplementos alimentares ou alimentos funcionais. No entanto, ainda existem poucos estudos sobre a composição química destes frutos (Molina et al., 2011).

Atualmente a aplicação dos frutos ocorre pela continuação de hábitos tradicionais, por vezes, como complemento à renda rural. Ao nível económico há ainda uma falta de seleção e identificação varietal do medronheiro (Mendes et al., 2011; Takrouni et al., 2012).

O consumo de espécies locais tem vindo a ganhar um crescente interesse (Morales et al., 2013).

As bagas do medronheiro, quando estão maduras, podem ser consumidas em fresco, ou nos diversos preparados à base deste fruto.

As suas aplicações incluem principalmente a transformação em bebidas alcoólicas destiladas (como a aguardente de medronho) ou fermentadas, sendo ainda referidas, mas pouco estudadas, aplicações em conservas, compotas, geleias e doces. Pode ainda ser incorporado em iogurtes, produtos de confeitaria (recheios de tortas e doces, produtos de cereais, etc.). A sua serventia pode incluir a função de corante alimentar e ainda como antioxidante de proteínas em produtos cárneos (Alarcao-E-Silva et al., 2001; Mendes et al., 2011; Molina et al., 2011; Morales et al., 2013; Oliveira, et al., 2011a; Oliveira, et al., 2011b; Orak et al., 2012; Pimpao et al., 2013; Takrouni et al., 2012).

Os medronhos podem apresentar-se como um alimento exótico ou invulgar, com grande potencial para a indústria, sendo uma fonte de cores e sabores, assim como de moléculas bioativas para suplementos dietéticos ou alimentos funcionais. Estes frutos silvestres podem ser uma boa alternativa para a variedade de frutos edíveis disponível atualmente (Guimarães, et al., 2013b; Morales et al., 2013; Santo et al., 2012).

Um inconveniente à sua comercialização em fresco é o facto de se estragarem com facilidade (pois só possuem um sabor agradável quando atingem um ponto de maturação em que o seu alto teor de taninos diminui e aumenta o de açúcares), dificultando também o seu transporte (Guerreiro et al., 2013; Molina et al., 2011).

## **2.2. Doces**

Os doces surgiram inicialmente como uma forma de preservar as frutas após a sua época, possibilitando o seu consumo a longo prazo (Igal, et al., 2013b).

Atualmente os mesmos representam um produto importante na indústria das conservas, destacando-se pela qualidade, possibilidade de consumo ao longo do ano e pelo aproveitamento de frutos que, apesar de serem fontes de nutrientes essenciais e benéficos para a saúde humana, podem ser sazonais e perecíveis (Carvalho et al., 2013; Renna et al., 2013; Touati, et al., 2014).

O tratamento térmico representa uma alternativa à comercialização de frutos em fresco, sendo um processo com o intuito de prolongar a preservação de frutos,



suscetíveis à contaminação microbiológica, aos danos mecânicos, assim como às alterações físico-químicas e nutricionais. A aplicação destes frutos em doces é uma das formas de inativar enzimas e eliminar o oxigénio presente nestes produtos, permitindo prolongar a validade dos mesmos (Amaro et al., 2013; Pacheco, 2012).

O mercado tradicional de doces tem-se mantido estável nos últimos anos como consequência de mudanças nas práticas de consumo e presença de produtos alternativos ou novos no mercado. Assim, a indústria de doces de frutos precisa melhorar a sua competitividade e desenvolver novos produtos (Renna et al., 2013).

Uma alternativa aos produtos existentes no mercado é o doce de medronho, um produto ao mesmo tempo tradicional e contemporâneo.

### **2.2.1. Definição de doces**

De acordo com o Decreto-lei nº 230/2003 de 27 de Setembro, em conformidade com as diretivas da União Europeia, os Doces são definidos como um produto de consistência gelificada adequada, resultante da junção da polpa e/ou polme de um ou mais frutos, com açúcares e água. Sendo considerados como “frutos” apenas os alimentos saudáveis, em estado de maturação apropriado e devidamente higienizados, dos quais a “polpa” e o “polme” representam a porção edível, (por ventura descascados ou sem sementes), cortados em rodela, esmagados ou reduzidos a polme por peneiração ou outro método semelhante, respetivamente.

Na generalidade dos frutos o “doce” deve ter um teor mínimo de 35% de fruto, face ao produto acabado, enquanto o “doce extra” deve ter um mínimo de 45% de fruto. Estes produtos têm de ter um valor de resíduo seco solúvel superior a 60%, ou entre 30 a 60% (no caso de produtos com reduzido valor energético) desde que em conformidade com as restantes regras do mesmo diploma, devendo ainda obedecer às respetivas regras de rotulagem.

Além dos ingredientes mencionados anteriormente, outros podem ser adicionados como complemento ou em substituição (por exemplo mel ou edulcorantes em substituição do açúcar). Aditivos como conservantes e gelificantes permitem conferir uma funcionalidade tecnológica ao género alimentício em questão. Os conservantes permitem preservar os alimentos de danos causados por microrganismos e prevenir o seu desenvolvimento. As substâncias gelificantes permitem a produção de um gel, conferindo a devida textura aos alimentos produzidos. Os aditivos dos géneros alimentícios comercializados devem ser aplicados de acordo com as especificações da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos, respeitando os teores máximos. No caso das substâncias em que este valor não é indicado, as mesmas devem ser aplicadas em

conformidade com as boas práticas de fabrico (“quantum satis”), não excedendo a quantidade necessária para o resultado pretendido (nem induzindo o consumidor em erro) (Parlamento Europeu e do Conselho, 2004).

### **2.2.2. Características dos doces**

As características dos doces (nutricionais, tecnológicas, higiénicas e sensoriais) dependem de fatores como a tecnologia de fabricação e características físico-químicas essenciais da matéria-prima. Por sua vez, as características dos frutos estão associadas a critérios geográficos, climáticos e agronómicos (Ellouze, et al., 2011).

Os doces são alimentos com humidade e consistência moderada, preparados à base de fruta (um único fruto, ou a combinação de vários) e açúcar, podendo incluir a adição de pectina, ácido e outros ingredientes (conservantes, corantes e substâncias aromatizantes) (Chauhan, et al., 2013; Touati et al., 2014). As formulações dos doces poderão incluir a adição de acidulantes e pectina, caso não existam naturalmente em quantidades suficientes nos frutos aplicados (Correa, et al., 2014).

O produto final é obtido pela mistura dos ingredientes, que são cozinhados, de forma a obter uma consistência semissólida gelatinosa que lhe permita suportar os tecidos. Tendo em conta o teor de fruto, os doces geralmente contêm 50 a 75% de açúcar, 0,5 a 1% de pectina adicionada, 1% de ácido, e 33 a 38% de água (Correa et al., 2014; Díaz-Ocampo, Sanchez, & Franco, 2014).

Embora as elevadas temperaturas e longos tempos de processamento possam induzir perdas importantes de propriedades benéficas, este processamento destrói microrganismos presentes na matéria-prima. Simultaneamente, o elevado teor de açúcar, a baixa atividade de água e reduzido pH nos doces (assim como conservas e geleias) permitem preservar os alimentos (Gomez, et al., 2013).

O teor de polpa ou polme da fruta, o açúcar adicionado, a proporção e tipo de agente gelificante, além da temperatura de processamento, são fatores que influenciam diretamente as propriedades reológicas dos doces (Correa et al., 2014; Díaz-Ocampo et al., 2014).

### **2.2.3. Produção de doce**

Diversas técnicas de processamento, entre as quais a produção de doces, permitem aumentar a disponibilidade de medronhos pós-colheita (Molina et al., 2011).

Para a produção de doces, alguns autores recomendam o pré-cozimento das frutas e legumes para obter um puré, enquanto outros descrevem métodos com puré ou polpa

crus. Em resumo, frutas e legumes de elevada firmeza (tais como maçã, pera, abóbora, marmelo) são pré-cozidas antes de fazer o doce, enquanto os produtos de baixa textura (como a cereja, figo, laranja, morango) são geralmente processados em cru (Renna et al., 2013).

Existem dois métodos de aquecimento possíveis de usar na produção de doces, nomeadamente sistemas ao ar livre e sistemas fechados, operados sob baixa pressão. O sistema fechado a baixas pressões permite um processamento a baixas temperaturas, diminuindo os danos causados aos compostos bioativos pelo calor (Amaro et al., 2013).

Na produção tradicional de doces todos os ingredientes são misturados nas quantidades adequadas, sendo a mistura concentrada pela aplicação de um tratamento térmico intenso, de forma a atingir o conteúdo de sólidos solúveis final necessário. Este processo pode provocar a perda de parte do valor nutricional da fruta original, proporcionando um impacto indesejável em alguns dos seus atributos, como cor e sabor, devido ao longo período de tempo e elevada temperatura atingida no processo de cozimento (Iguar, et al., 2013a; Lespinard, Bambicha, & Mascheroni, 2012).

Outro processo é a desidratação osmótica, em que o fruto é imerso numa solução altamente concentrada, a temperatura moderada, levando à perda de água das células. Esta técnica permite diminuir a perda de pigmentos e compostos aromáticos, mantendo bom sabor, aroma e cor (Iguar et al., 2013a; Iguar et al., 2013b).

Também a aplicação de micro-ondas tem sido usada para a preparação de doces. As micro-ondas provocam um aquecimento interno da água e a sua evaporação, aumentando a pressão interna e gradiente de concentração. O tempo de processamento necessário é menor, podendo atingir maior qualidade no produto final (Iguar et al., 2013a; Iguar et al., 2013b).

Habitualmente, os frascos de doce, de vidro ou plástico, são armazenados à temperatura ambiente antes de serem abertos. A temperatura baixa geralmente não é considerada necessária para evitar a degradação, uma vez que durante o processamento, para além do tratamento térmico, é adicionado açúcar (e conservantes), sendo ainda o pH do produto normalmente baixo. O tempo de prateleira dos doces dura normalmente entre 6 a 12 meses, no entanto, no caso dos doces produzidos sem tratamento térmico é necessário armazenar em refrigeração, para evitar o desenvolvimento de reação de fermentação (Iguar et al., 2013b; Lespinard et al., 2012).

As diferentes técnicas de processamento podem afetar de forma diferente os seus compostos bioativos. Por esta razão, o método mais adequado para processar cada produto deve ser escolhido dependendo do tipo de compostos considerados mais importantes (Iguar et al., 2013a).

### 2.2.3.1. Pectina

Além dos principais ingredientes dos doces, como fruta, açúcar e ácido (presentes nos próprios frutos, ou adicionado), ingredientes de ligação da água, incluindo os hidrocolóides, tal como a pectina, têm sido aplicados para produzir a consistência desejada (Downing, 1996; Javanmard, et al., 2012).

Os doces de fruta podem ser considerados como um gel de uma rede tridimensional de pectina num sistema com determinado grau de elasticidade, entre puré de fruta, açúcar e ácido, portanto a qualidade dos doces depende fortemente da composição, principalmente do agente gelificante. A adição de um agente de gelificação é importante para assegurar que o produto tenha uma consistência de espessura e firmeza razoável, apresentando uma continuidade da estrutura. Para tal, doces e geleias devem ter entre 0,5 e 1,5% de pectina (Jackix, 1988; Javanmard et al., 2012).

A pectina existe naturalmente nas paredes celulares das plantas, sendo especialmente abundante em citrinos e maçãs. A sua formação ocorre naturalmente pela ação de enzimas na protopectina (insolúvel em água) durante o amadurecimento dos frutos. Sobre a pectina podem ocorrer outras reações, que levem à formação de ácido péctico e outras substâncias, que juntamente com a protopectina não apresentam características para formação de géis. Pelo que é necessário um ponto em que os frutos estejam suficientemente maduros para apresentarem um conteúdo elevado de pectina, mas não passem o estado de maturação em que a pectina dá lugar a outras substâncias (Downing, 1996).

A pectina é composta por um grupo de ésteres de ácido poligalacturónico, que formam um gel ou aumentam a viscosidade do fluido na presença de acidez adequada e teor de açúcar suficiente. Na indústria alimentar, a pectina é utilizada como espessante, estabilizante ou formador de gel na produção de doces, geleias, sumos de fruta, molhos, gelados, bebidas lácteas, iogurtes, produtos de confeitaria e recheios de panificação (Wang, et al., 2013).

Para a produção de doces outra característica a ter em conta na pectina é o seu conteúdo metoxilo (relacionado com a formação de gel) (Downing, 1996).

Na indústria de doces tradicional, a pectina de alto metoxilo (AM) é usada como o agente gelificante, sendo o polissacarídeo mais comum entre os hidrocoloides aplicados na indústria alimentar. A pectina AM é a mais comum nos frutos e atua através de interações hidrofóbicas e pontes de hidrogénio, em condições de baixo pH (<3,4) e baixa atividade de água (tipicamente cerca de 55% de teor de açúcar) tornando-a apropriada para aplicação em doces (Jackix, 1988; Javanmard, et al., 2012; Wang et al., 2013).

Em sistemas de gel aquosos puros, apenas existem interações entre o agente gelificante e a água, enquanto nos sistemas de gel alimentares, interações complexas estão envolvidas entre os vários componentes de um sistema multi-componente. Alterações da concentração e / ou substituição dos ingredientes convencionais, por novas substâncias irão alterar a estrutura do gel. Estas mudanças são propensas a ser perceptíveis através dos atributos de qualidade e características do alimento (Javanmard et al., 2012).

Para garantir a gelificação com pectina AM é necessário uma grande adição de açúcar, no entanto os consumidores cada vez mais procuram alimentos com baixo teor de açúcar e calórico (Wang et al., 2013). Para os doces de baixo valor calórico (*light*), com baixa concentração de açúcar, são aplicadas pectina de baixo teor de metoxilação (BM). Estas não formam gel da mesma forma que as pectinas AM. A pectina de baixo metoxilo necessita da presença de catiões bivalentes, como o cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), e pH adequado, para formar um gel (sem altas concentrações de açúcar). A estrutura do gel formado pela pectina BM envolve sequências de dois ácidos galacturónicos dispostos paralelamente, formando pontes entre os iões  $\text{Ca}^{2+}$  e grupos carboxílicos livres ( $\text{COO}^-$ ), além das pontes de hidrogénio. Por outro lado, o excesso de iões de cálcio pode causar a repulsão nas zonas de junção ou ligações excessivas entre as moléculas, causando contração e gerando a sinérese (expulsão da fase aquosa da rede do gel), sendo por isso necessário a aplicação da concentração adequada de  $\text{Ca}^{2+}$ .

Os doces de reduzido valor calórico carecem da adição de conservantes ou armazenamento sob refrigeração (Chim, Zambiazzi, & Bruscatto, 2006).

#### **2.2.4. Aplicação dos doces**

Em contraste com outras preparações à base de fruto, os doces destinam-se geralmente à venda ao consumidor final. As preparações podem ter como objetivo a integração em outros produtos, como iogurtes, gelados, produtos de panificação, entre outros (Fugel, Carle, & Schieber, 2005).

De um ponto de vista económico, a qualidade dos produtos é um importante fator de competição entre produtores. Sendo de particular importância a qualidade e autenticidade, no que diz respeito à expectativa do consumidor.

Puré de frutas, preparações de frutas e doces têm preços elevados e, portanto, representam alvos de adulterações, por exemplo, misturando frutas de alto preço com frutas mais baratas. Além da mistura de adulteradores, o conteúdo de fruta especificado pode não ser real (Fugel et al., 2005).

## **2.3. Microbiologia**

Nos doces a multiplicação de bactérias e formação de esporos de fungos são controladas pelo tratamento térmico do fruto que pode atingir 104°C, além da adição de açúcar (levando a uma diminuição da humidade e atividade da água) e pH baixo, estas condições podem atuar sinergicamente, podendo provocar uma desidratação osmótica nos microrganismos e afetar as suas funções biológicas (Wang, et al., 2007).

Quando produzidos a partir de frutos sãos, e armazenados corretamente, é improvável que os doces desenvolvam microrganismos. Após abrir os respetivos recipientes os doces devem ser mantidos em ambiente refrigerado (ou deve-se usar conservantes, tais como sorbato ou sais benzoicos) (Wang et al., 2007).

## **2.4. Características físico-químicas**

### **2.4.1. Cor**

Sendo os doces produtos geralmente comercializados em frascos de vidro, uma das características que irá influenciar o consumidor é a sua aparência visual. A cor, por sua vez, é influenciada pelos processos de fabrico (temperatura, pH, oxigénio, teor de açúcar e metais), uma vez que a cor original dos frutos se transforma à medida que os pigmentos (antocianinas, clorofila, etc.), ácido ascórbico e produtos da sacarose são degradados ou polimerizados segundo as reações de *Maillard*, levando à formação de compostos amarelados e escurecimento (Amaro et al., 2013; Igual et al., 2013b; Lespinard et al., 2012; Moura et al., 2012).

### **2.4.2. Reologia**

A reologia é importante no que diz respeito ao desenvolvimento de um novo produto, como os doces, estabelecendo uma correlação entre a textura dos alimentos e os seus atributos sensoriais, assim como para determinar a funcionalidade do ingrediente, nas operações unitárias de processamento e no controle de qualidade (Basu & Shivhare, 2013; Correa et al., 2014; Díaz-Ocampo et al., 2014).

Os comportamentos texturais, tais como dureza, trabalho de cisalhamento, viscosidade e adesão, além de avaliar as características reológicas, são também métodos comuns para avaliação das características dos doces (Javanmard et al., 2012). Os doces podem ser considerados um sistema de sólido-em-líquido gelatinoso, com uma

estrutura que imobiliza o líquido e confere propriedades viscoelásticas. Uma caracterização completa reológica das suas formulações deve abranger o comportamento de fluxo viscoso e viscoelasticidade linear (Díaz-Ocampo et al., 2014).

A variação de ingredientes ou da sua concentração pode provocar alterações na estrutura do alimento, influenciando a qualidade dos doces ao nível objetivo (cor, textura e reologia) e subjetivo (sensorial), levando por vezes a uma diferença na textura ou sabor/ sensação de boca, perceptível pelo consumidor. A sensação de boca de uma substância alimentar é uma sensação física (dura, macia, crocante, húmida ou seca) na boca ou na língua, influenciada pela textura, em que o provador pondera a qualidade do produto (fresco, obsoleto, tenro ou maduro) (Basu & Shivhare, 2013).

As propriedades reológicas de doces são afetadas principalmente pelo conteúdo de açúcar, agente gelificante, polpa de fruta e temperatura do processamento. No entanto, a otimização da composição de ingredientes para o processo de fabrico de doces é bastante limitada (Basu & Shivhare, 2013; Díaz-Ocampo et al., 2014).

Em alimentos gelificados a textura é uma das características mais importantes, sendo essencial o seu estudo em doces de fruta, de forma a harmonizar a estabilidade mecânica necessária no produto durante o armazenamento e processo de manipulação e a instabilidade pretendida necessária para obter a textura semi-macia para mastigação ou para espalhar o doce no pão (Javanmard et al., 2012).

O método TPA (*Texture Profile Analysis*) (Figura 2), também designado por teste de duas dentadas, foi desenvolvido para estudar as propriedades mecânicas dos alimentos e a sua relação com a textura.

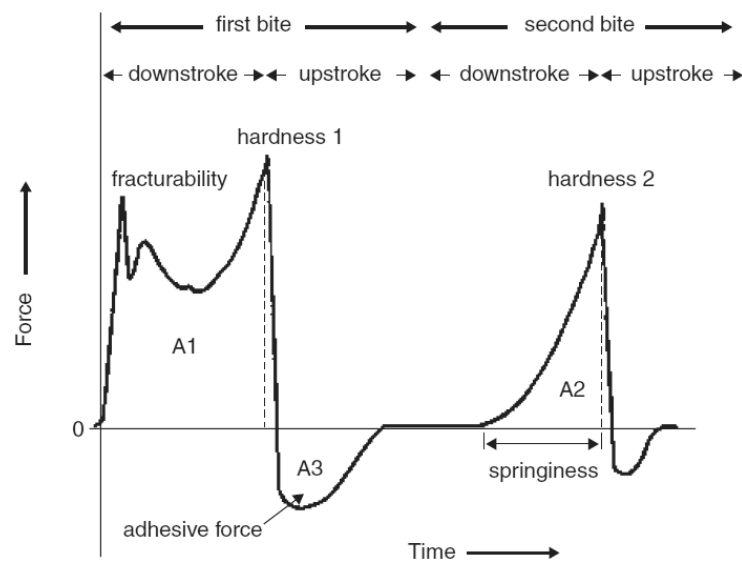


Figura 2 – Curva de análise de um perfil de textura generalizado.

A1: área 1; A2: área 2; A3: área 3. As linhas tracejadas indicam os tempos em que a dureza é medida (Mochizuki, 2001).

Partindo do gráfico obtido pelo método TPA podemos determinar a dureza, fraturabilidade, coesividade e adesividade.

A dureza é definida pela força máxima durante o primeiro ciclo de compressão.

Durante o primeiro ciclo de compressão a força exercida no primeiro pico do gráfico é designada por fraturabilidade.

A coesividade é obtida a partir da relação entre as áreas A2/A1, excluindo a área sob a parte de descompressão (movimento ascendente).

A adesividade é obtida pela área A3 (Mochizuki, 2001).

### **2.4.3. Açúcar**

Os doces são um produto de elevado valor calórico, apresentando entre 60 a 65% de sólidos solúveis totais (SST) devido à quantidade de açúcar adicionado à sua formulação (Basu & Shivhare, 2013).

Diversos problemas associados ao consumo excessivo de açúcar (obesidade e diabetes) têm vindo a consciencializar as pessoas para a redução do mesmo, optando muitas vezes por produtos de baixo teor calórico, em que a sacarose é substituída, total ou parcialmente, por outro adoçante (uma vez que os valores relativos de doçura diferem entre adoçantes), ou com redução do teor de açúcar (Basu & Shivhare, 2013; de Souza et al., 2013; Guilherme et al., 2012).

Uma vez que os mercados vão de encontro às necessidades e exigências dos consumidores (redução do consumo de açúcar, manutenção da saúde e preocupação com a estética corporal), tem-se vindo a registar um aumento na quantidade e variedade de produtos de baixo valor calórico disponíveis. A nível mundial a aquisição destes produtos cresce cerca de 30% ao ano, enfatizando nas indústrias de doces, e semelhantes, a importância do desenvolvimento dos produtos *diet* e *light*, como forma de permanecer competitivos no mercado (Chim et al., 2006).

### **2.4.4. Antioxidantes e fenóis**

As células humanas estão constantemente expostas a uma variedade de agentes oxidantes, externos (presentes no ar, alimentos e água), ou produzidos metabolicamente no interior das células (Igal et al., 2013a).

Embora inicialmente a oxidação fosse relacionada à incorporação de oxigénio, a oxidação é na verdade a perda de um ou mais eletrões de uma substância química para outra (o inverso é designado redução) (Alves, et al., 2010).



A troca de eletrões é essencial para a manutenção das células, no entanto pode ocorrer uma produção excessiva de radicais livres e outras espécies reativas de oxigénio (ROS), e provocar um desequilíbrio, levando a *stress oxidativo* (Alves et al., 2010; Igual et al., 2013a).

Os radicais livres desempenham funções significativas para o organismo (produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes), mas em demasia espécies reativas de oxigénio são prejudiciais ao mesmo, podendo oprimir enzimas protetoras (ex. superóxido dismutase, catalase e peroxidase), provocando danos no ADN, proteínas e organelos celulares, como mitocôndrias e membranas, levando a alterações na estrutura e funções celulares ou mesmo apoptose, estando associados a diversas patologias crónicas e degenerativas (ex. aterosclerose, cancro, diabetes *mellitus*, choque hemorrágico, cataratas, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas), assim como o próprio envelhecimento precoce (Alves et al., 2010; Antolovich, et al., 2002; Correa et al., 2014; Wang et al., 2007).

Para combater os radicais livres, os organismos vivos produzem substâncias que são capazes de regenerar ou prevenir os danos oxidativos, exercendo a função de antioxidantes (Alves et al., 2010). Os antioxidantes podem ser agrupados em antioxidantes primários (que quebram as cadeias) ou secundários (que retardam a taxa de oxidação). Os primários, mesmo em quantidades vestigiais, podem atrasar ou inibir o passo de iniciação, fazendo reagir com um radical lipídico, ou inibir o passo de propagação através da reação com radicais peróxido ou alcóxido. Quanto aos secundários, têm um efeito preventivo que pode ser obtido, por exemplo, através da remoção de substrato ou extinção de um oxigénio individual (Antolovich et al., 2002).

Os seres humanos além dos antioxidantes produzidos pelo próprio organismo podem contar com fontes externas, como alimentos e bebidas (Alves et al., 2010).

De forma a manter ótimas condições fisiológicas é necessário manter o equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes (ou seja, a relação entre as espécies reativas de oxigénio, as fontes externas e os mecanismos de defesa e reparação do organismo) (Antolovich et al., 2002; Igual et al., 2013a).

Uma dieta rica em antioxidantes pode proteger o organismo dos efeitos nocivos causados pelo processo de oxidação induzido por radicais livres (Correa et al., 2014). A atividade antioxidante permite reduzir o *stress oxidativo* devido à presença de compostos bioativos, nomeadamente fitoquímicos, maioritariamente representados pela classe dos compostos fenólicos (Amaro et al., 2013). As frutas e vegetais contêm uma grande variedade de compostos fitoquímicos, estando o seu consumo frequente associado a um

menor risco de cancro, doenças cardíacas, hipertensão e acidente vascular cerebral (Correa et al., 2014; Igual et al., 2013a).

Também o ácido ascórbico é considerado um dos antioxidantes mais importantes em plantas, apresentando, juntamente com os compostos fenólicos, propriedades potencialmente benéficas para a saúde (Mazur et al., 2014).

O processamento de alimentos pode levar a perdas consideráveis no conteúdo de antocianinas, ácido ascórbico e compostos fenólicos totais (Mazur et al., 2014).

#### **2.4.4.1. Métodos de avaliação da atividade antioxidante**

Existem diversos métodos para estimar a atividade antioxidante de substâncias biologicamente ativas, uma vez que se encontram diferentes tipos de radicais livres, com diferentes formas de atuação nos organismos vivos (Alves et al., 2010). A atividade antioxidante é medida em alimentos e sistemas biológicos pelos efeitos produzidos pelos antioxidantes no controlo da oxidação (Alves et al., 2010; Antolovich et al., 2002).

O ácido ascórbico (vitamina C) é um potente sequestrador para radicais hidrofílicos, mas pobre frente a radicais lipofílicos (Alves et al., 2010).

O ensaio da capacidade de absorção de radicais de oxigénio (ORAC – “*Oxygen Radical Absorbing Capacity*”) tem sido a escolha para determinar a capacidade antioxidante em extratos de bagas (Wang et al., 2007).

O método mede, por espectrofotometria, a atividade de eliminação antioxidante contra radicais peroxil (ROO), iniciada pela adição de AAPH [dicloreto de 2,2'-azobis(2-amidinopropano)], através da reação com um indicador fluorescente (Alves et al., 2010; Wang et al., 2007). A fluoresceína é um indicador de fluorescência, atualmente usado por ser mais foto-estável e não se ligar aos polifenóis (Wang et al., 2007).

A atividade antioxidante é determinada pela comparação entre a curva de decaimento de fluorescência da amostra e do branco (sem antioxidantes).

O trolox, um análogo de tocoferol (vitamina E) solúvel em água, é utilizado como padrão de forma a calcular a atividade ORAC da amostra, os resultados são tipicamente expressos como micromoles de equivalentes trolox por grama de peso fresco. (Alves et al., 2010; Wang et al., 2007).

O método TEAC – “*Trolox equivalent antioxidant capacity*” também se baseia em cálculos a partir de uma curva padrão determinada por diferentes soluções de trolox. Neste caso, avalia a eliminação do catião radical da solução ABTS [2,20-azinobis (3-etil-

benzotiazolina-6-sulfonato)] (García-Alonso, et al., 2004). O ABTS é um substrato de peroxidase (com elevada solubilidade em água) que, quando oxidado na presença de peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), gera um catião radical meta-estável. A produção do catião radical de ABTS ocorre devido à formação do radical de ferril-mioglobina (a partir de reação de metamioglobina com peróxido de hidrogénio) que reage com o ABTS (Antolovich et al., 2002).

A acumulação do radical ABTS pode ser inibida pela presença de um antioxidante no meio de reação. A capacidade relativa dos antioxidantes dadores de hidrogénio eliminarem o catião radical ABTS, pode ser medida espectrofotometricamente na região dos 734 nm (próximo do infravermelho), minimizando interferências de outros componentes absorventes e da turbidez da amostra (Antolovich et al., 2002).

O método FRAP – “*Ferric Reducing Antioxidant Power*” baseia-se na redução de um análogo de ferroína, o complexo de  $Fe^{3+}$  de tripiridiltriazina [ $Fe(TPTZ)^{3+}$ ], para o complexo  $Fe^{2+}$  de  $Fe(TPTZ)^{2+}$  (intensamente colorido de azul), por antioxidantes em meio ácido. Os resultados, obtidos pelo aumento da absorbância, refletem a concentração de antioxidante "total", sem medição e soma da concentração de todos os antioxidantes envolvidos (Antolovich et al., 2002).

Este método foi originalmente aplicado a plasma, mas tem sido estendido a outros fluidos biológicos, alimentos, extratos vegetais, etc. (Antolovich et al., 2002).

Abaixo encontra-se um enquadramento (Tabela 1) com alguns frutos e doces de frutos determinados em base húmida ou por base seca.

Tabela 1 – Análise de ácido ascórbico, fenóis totais e antioxidantes comparativamente a outros frutos e doces.

Produto \ Método	Ácido ascórbico (mg/100g)	Fenóis totais (mg/100g)	ORAC (mmol ET/100g)	TEAC (mmol ET/100g)	FRAP (mmol/100g)
Abacate (fruto)				0,1 BS <sup>c</sup>	
Alperce (doce)		51,5±5,1 BS <sup>g</sup>			
Alperce (fruto)		186,0±1,1 BS <sup>g</sup>			
Amora (doce)		76,91BH <sup>b</sup>			
Amora (fruto)		76,23-248 BH <sup>b,j</sup> 1214-1840 BS <sup>e,j</sup>	20,3-83 BH <sup>a,j</sup> 120,8- 146,4 BS <sup>i</sup>	19,2 BS <sup>c</sup>	
Banana (casca)					3.16±0.16 <sup>d</sup>
Banana (fruto)	91 BH <sup>h</sup>	56,1±2,8 BH <sup>h</sup>			3,89 BH <sup>d</sup>
Banana (polpa)					0.73±0.11 <sup>d</sup>
Cereja (casca)					2.82±0.29 <sup>d</sup>
Cereja (doce)	357,5-447,2 BH <sup>f</sup>	132,9-341,1 BH <sup>f</sup> 54,4±1,2 BS <sup>g</sup>			

Produto \ Método	Ácido ascórbico (mg/100g)	Fenóis totais (mg/100g)	ORAC (mmol ET/100g)	TEAC (mmol ET/100g)	FRAP (mmol/100g)
	205,6-255,8 BH <sup>f</sup>				
Cereja (fruto)	354,8-646,2 BH <sup>f</sup>	254,1-2098 BH <sup>f,i</sup> 451,3±5,7 BS <sup>g</sup>			4,58 BH <sup>d</sup>
Cereja (polpa)					0,99±0,21 <sup>d</sup>
Cereja (sementes)					0,77±0,12 <sup>d</sup>
Figo (doce)		29,1±4,5 BS <sup>g</sup>			
Figo (fruto)		139,0±3,4 BS <sup>g</sup>		0,4 BS <sup>c</sup>	
Framboesa (doce)	373,5-600,5 BH <sup>f</sup>	31,02BH <sup>b</sup> 351,9 BH <sup>f</sup> 218,9 BH <sup>f</sup>			
Framboesa (fruto)	692,3BH <sup>f</sup>	32,28-1079 BH <sup>a,b,f,j</sup> 1195-2990 BS <sup>e,j</sup>	1,3-5,8 BH <sup>a,j</sup> 9,1-13,6 BS <sup>j</sup>		
Groselha (doce)		60,47-72,17BH <sup>b</sup> 1400BS <sup>e</sup>			
Groselha (fruto)		61,90-74,48 BH <sup>b</sup> 2230-2790 BS <sup>e</sup>			
Laranja (casca)					5,69±0,26 BH <sup>d</sup>
Laranja (doce)		43,7±2,8 BS <sup>g</sup>			
Laranja (fruto)	450 BH <sup>h</sup>	56,8±0,9 BH <sup>h</sup> 122,4±2,1 BS <sup>g</sup>			7,58 BH <sup>d</sup>
Laranja (polpa)					1,89±0,19 BH <sub>d</sub>
Maça (fruto)	57 BH <sup>h</sup>	272,1BH <sup>h</sup> 1300-1310 BS <sup>e</sup>			
Medronho (fruto)				16,3 BS <sup>c</sup>	
Mirtilo (doce)		30,24 BH <sup>b</sup>			
Mirtilo (fruto)		33,50BH <sup>b</sup> 4180 <sup>i</sup> 3300-3820 BS <sup>e</sup>	3,7-13,9 <sup>a</sup>	18,7 BS <sup>c</sup>	
Morango (doce)		32,50BH <sup>b</sup> 57,8±8,2 BS <sup>g</sup>			
Morango (fruto)	370 BH <sup>h</sup>	8,50-147,8 BH <sup>b,g,h,j</sup> 850,3-2410 BS <sup>e,g,j</sup>	1,2-4,2 <sup>a,j</sup> 11,9 BS <sup>j</sup>		3,29 BH <sup>d</sup>
Pera (casca)					0,89±0,08 BH <sub>d</sub>
Pera (fruto)	40 BH <sup>h</sup>	53,6±2,5 BH <sup>h</sup>		0,3 BS <sup>c</sup>	3,17 BH <sup>d</sup>
Pera (polpa)					0,22±0,03 BH <sub>d</sub>
Pera (sementes)					2,06±0,09 BH <sub>d</sub>

<sup>a</sup> (Wang et al., 2007); <sup>b</sup> (Amakura, et al., 2000); <sup>c</sup> (García-Alonso et al., 2004); <sup>d</sup> (Guo et al., 2003); <sup>e</sup> (Kähkönen, Hopia, & Heinonen, 2001); <sup>f</sup> (Kim & Padilla-Zakour, 2004); <sup>g</sup> (Rababah et al., 2011); <sup>h</sup> (Sun, et al, 2002); <sup>i</sup> (Velioglu, et al., 1998); <sup>j</sup> (Wang & Lin, 2000).

**BH** – base húmida; **BS** – base seca.

## 2.5. **Características sensoriais**

Para os consumidores portugueses, as características sensoriais dos alimentos, são o principal fator de escolha alimentar individual (Cunha et al., 2013).

No respeitante aos doces, as características do fruto (afetadas por estado de maturação, cultivar, irrigação e fertilização), a receita, as condições de processamento, de armazenamento e de estabilidade, são fatores importantes para a qualidade dos mesmos, podendo afetar a sua qualidade gustativa (Amaro et al., 2013; Igual et al., 2013b). Mais ainda, entre os atributos que mais podem influenciar a aceitação do produto por parte dos consumidores encontram-se a cor, o sabor típico a fruta e uma consistência característica (Amaro et al., 2013; Igual et al., 2013b).

Na indústria alimentar, quer em gamas de produtos existentes (em mudanças no processo de fabrico ou de embalagem), quer na formulação de novos produtos, são aplicados métodos de análise quantitativa descritiva, com construção de perfis sensoriais, com o objetivo de explicar e possivelmente antecipar as preferências do consumidor. Estes métodos tentam descrever e quantificar as diferenças sensoriais entre produtos, atribuindo um posicionamento definido pela combinação dos seus atributos sensoriais (Delarue & Sieffermann, 2004).

A criação de um perfil do produto tem o intuito de elaborar uma descrição representativa da opinião generalizada (descrição independente do sujeito, livre de julgamentos hedónicos) e não apenas de um único perito, uma vez que diferentes pessoas reagem de forma diferente aos estímulos sensoriais e discriminação dos atributos. Assim, um painel de provadores, com um determinado nível de treino, é utilizado, a fim de estabilizar a descrição do produto gerada (Delarue & Sieffermann, 2004). Recentemente, a aplicação de metodologias expeditas para a construção de perfis sensoriais, tem vindo a ganhar um crescente interesse por parte da indústria e da comunidade científica, atendendo à possibilidade da sua implementação com painéis de provadores com reduzido treino, ou mesmo naïves (Laranjeira, 2013; Rocha, 2014)

Um método para determinação de perfil sensorial é o designado *Flash Profile*, uma técnica que combina perfil de escolha livre (*Free Choice Profiling*) com uma avaliação comparativa de um conjunto de produtos.

Esta técnica, inicialmente desenvolvida como um método flexível que visava facultar um acesso rápido ao posicionamento sensorial relativo de um conjunto de produtos, é uma ferramenta potencialmente útil para análises rápidas do mercado.

De modo a economizar tempo, as fases de familiarização com o espaço do produto, geração e classificação de atributos foram integradas numa só (Delarue & Sieffermann, 2004).

A principal especificidade do *flash profile* é o procedimento comparativo da avaliação de todo o conjunto de produtos. Os membros do painel simplesmente classificam os produtos atributo por atributo. Isso obriga-os a concentrar-se nas diferenças percebidas e usar apenas atributos discriminantes. Desta forma pode ser eliminada a etapa de familiarização com o produto, uma vez que os provadores têm um acesso simultâneo a todas as amostras. Uma vez que o *flash profile* se baseia num perfil de escolha livre, os provadores não estão sujeitos ao processo de construção de um espaço semântico consensual, na medida em que podem aplicar atributos na sua própria linguagem para descrever os produtos (Delarue & Sieffermann, 2004; Nestrud & Lawless, 2010; Perrin & Pages, 2009).

Ao painel de provadores é pedido que observem determinadas características (ex. cheiro e / ou sabor), conforme o que for pretendido, e produzam um conjunto de atributos, que devem ser suficientemente discriminante para permitir a classificação destes produtos (Valentin et al., 2012).

Para a implementação do *flash profile* é recomendado o recurso a um painel de provadores com treino em prova sensorial, isto é, que já tenham participado de várias tarefas de avaliação descritiva e que sejam capazes de compreender as instruções do líder do painel, gerando atributos discriminantes e não hedónicos. Esses provadores não necessitam ser treinados para um conjunto de produtos específicos, tendo experiência na exposição quantitativa das suas percepções (Delarue & Sieffermann, 2004).

### **2.5.1. Ultra-flash profile**

A variação do *Flash Profile* para *Ultra Flash Profile* (UFP) encontra-se na combinação do mapeamento projetivo (também designado por *Napping*®) com a anotação das características discriminadoras dos diferentes produtos em análise na própria folha de mapeamento (Nestrud & Lawless, 2010).

Embora os dados obtidos pelo *Ultra Flash Profile* sejam parcialmente arbitrários, são obtidas caracterizações dos produtos de forma mais fácil e rápida do que através de outros métodos mais convencionais (Perrin et al., 2008).

A codificação para esta análise pode incluir a atribuição do número 1 aos produtos em que um determinado atributo é descrito e o número 0 quando o mesmo não é descrito (Nestrud & Lawless, 2010).

O método descritivo *Ultra Flash Profile* pode ser considerado um complemento ao método de ordenação *Napping*®. Esta associação pretende obter as respostas semânticas do painel, de forma a estabelecer ligações entre os conceitos de escolha livre

e as características rápidas do vocabulário utilizado no *Flash Profile*. Esta combinação não substitui os dados quantitativos obtidos a partir de um painel treinado, mas pode ser utilizado quando não é necessário uma descrição mais precisa e o acesso a um painel de provadores treinado é limitado (Perrin et al., 2008).

O método *Napping*®, embora possibilite ter uma melhor avaliação da percepção individual, por si só não permite caracterizar um produto, necessitando do complemento de um método descritivo (como o *Ultra Flash Profile*). Este método consiste na obtenção da distância sensorial, percebida pelos provadores, através do posicionamento das amostras numa folha de papel, em que a proximidade representa similaridade e a distância representa diferenças entre os produtos (Maitre, et al., 2010; Nestrud & Lawless, 2010; Perrin et al., 2008; Rocha et al., 2014).

Na mesma folha em que é aplicado o *Napping*® pode ser aplicado o UFP, pelos mesmos provadores, assinalando os locais em que foram dispostos os produtos e escrevendo, junto aos mesmos, as características correspondentes (Perrin et al., 2008).

## 3. Material e Métodos

As análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais foram efetuadas nos laboratórios da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja.

### 3.1. Matéria-prima

A matéria-prima (frutos de *Arbutus unedo* L.) foi colhida na zona sul de Portugal, durante o outono de 2013 (São Marcos da Serra – concelho de Silves e São Barnabé – concelho de Almodôvar). No laboratório os medronhos foram escolhidos e separados por estado de maturação. Os frutos foram devidamente identificados e congelados a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.1.1. Características dos medronhos

De modo a caracterizar a matéria-prima, foram observados, em diferentes colheitas, exemplares aleatórios de tamanhos variados, em três estados de maturação (verdes, amarelos, vermelhos/maduros).

As suas características foram verificadas por medição de calibre (diâmetro, altura e peso) ( $n=60$ ) (Tabela 2), por contagem do número de cavidades e de sementes, sendo registado fotograficamente (Figura 3 e Figura 4) os frutos inteiros e posteriormente com cortes transversais ou longitudinais.

Tabela 2 – Calibre médio dos medronhos maduros colhidos.

Peso (g)	Diâmetro (cm)	Altura (cm)
$5,13\pm 2,61$	$2,2\pm 0,4$	$2,0\pm 0,3$



Figura 3 – Medronhos maduros inteiros.





Figura 4 – Medronhos maduros cortados transversal e longitudinalmente.

Verificou-se, em todos os estados de maturação, que existe uma divisão interna do fruto em 5 cavidades, com várias sementes (Figura 5), independentemente do seu tamanho.



Figura 5 – Cavidades locais e conjuntos de sementes de medronho

Os medronhos apresentam 5 conjuntos de sementes por fruto, com número variável de sementes em cada cavidade, tendo-se observado que, em alguns dos frutos mais pequenos, algumas cavidades não apresentavam sementes plenamente formadas. Abaixo encontra-se representada uma tabela resumo da distribuição das sementes nos medronhos analisados (Tabela 3). O número máximo de sementes por cavidade e por fruto foi registado no maior medronho entre os exemplares estudados (peso: 11,34 g; diâmetro: 2,9 cm; altura: 2,6 cm). O número mínimo de sementes foi registado num fruto

de pequenas dimensões, mas não no menor (peso do fruto: 3,38 g; diâmetro e altura: 1,9 cm). A ausência de sementes por cavidade foi observada em mais de um fruto.

Tabela 3 – Frequência de sementes por fruto e por cavidades de medronho.

		Sementes
Fruto	Média	30,0±16,3
	Máximo	66
	Mínimo	6
Cavidade	Média	6,0±3,5
	Máximo	15
	Mínimo	0

As sementes apresentam um formato variado e dimensões pequenas (Figura 6).



Figura 6 – Sementes de medronho

#### 3.1.1.1. Teor de pectina

De forma a perceber qual o teor de pectina nos diferentes estados de maturação do medronho, foi realizado um ensaio em medronhos de uma das colheitas, baseado no método de Carré e Haynes (Pearson, 1976).

O peso seco dos resíduos foi obtido e de acordo com o ensaio realizado, a percentagem de pectina por 100 g de fruto fresco é de 0,37% em medronhos verdes, 0,91% em amarelos e 0,59% nos frutos maduros.

Como se verificou, a percentagem de pectina nos medronhos variou conforme o seu estado de maturação. Este facto pode ser explicado pela decomposição da pectina em ácido péctico com amadurecimento dos frutos (Jackix, 1988).

Tendo em consideração que o teor de pectina necessário para obter uma consistência adequada (entre 0,5 e 1,5%), tanto os medronhos amarelos como vermelhos

poderiam ser aplicados na produção dos respetivos doces (Jackix, 1988; Molina et al., 2011).

### **3.2. Ingredientes**

As diversas formulações incluíram açúcar branco granulado e toda a água aplicada foi previamente destilada.

Relativamente à pectina foram aplicados dois tipos diferentes, para doces de baixo valor calórico foi aplicada pectina de baixo metoxilo (*Genu® tipo LM-101 AS*) (pectina padronizada com sacarose E-440), para doces com maior índice calórico foi aplicada pectina de alto metoxilo (*Pectina Cítrica Icopa*).

Foi utilizado cloreto de cálcio anidro em pó 96% ( $\text{CaCl}_2$ ) em combinação com a pectina de baixo metoxilo, para permitir a formação de gel nesses doces, e os conservantes Benzoato de sódio (E-211) e Sorbato de potássio (E-202), que se complementam uma vez que o benzoato de sódio tem maior atividade contra leveduras e bactérias e o sorbato de potássio além das leveduras é ativo contra bolores. Os respetivos sais de ácido benzoico e ácido sórbico foram aplicados pois, a par dos seus ácidos, são os conservantes mais comuns, mas apresentam maior solubilidade (Jackix, 1988).

### **3.3. Preparação do doce de medronho**

De modo a obter uma amostra uniforme para todos os doces, os medronhos obtidos nos diferentes locais foram misturados, sendo depois separadas as porções necessárias para a produção de cada formulação.

As formulações dos doces de medronho foram elaboradas de forma a incluírem diferentes valores calóricos (resíduo seco solúvel aproximado de 30 e 60°Brix), a presença ou ausência das sementes e de outras partes rígidas do medronho, e diferentes percentagens de pectina adicionada (de acordo com a Tabela 4).

Os ingredientes aplicados nas formulações tiveram em consideração informação presente na literatura, alguns ensaios prévios, assim como a legislação em vigor, no que diz respeito ao teor mínimo de fruto e resíduo seco solúvel, pectina, assim como os conservantes, benzoato de sódio e sorbato de potássio (Regulamento (CE) nº. 1333/2008 do parlamento europeu e do conselho).

Tabela 4 – Formulações das amostras de doces de medronho

Valor Calórico Concentração de pectina	Ingredientes (g) por 1kg							
	Doce com sementes				Doce sem sementes			
	Baixo		Alto		Baixo		Alto	
	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta
Fruto total aproximado	500	500	500	500	900	900	900	900
Fruto inteiro	500,0	500,0	500,0	500,0	-	-	-	-
Polme do fruto	-	-	-	-	500,0	500,0	500,0	500,0
Açúcar	195,0	190,0	500,0	495,0	195,0	190,0	495,0	490,0
Água	300,0	300,0	0	0	300,0	300,0	0	0
Pectina (BM)	5,00	10,00	-	-	5,00	10,00	-	-
Cloreto de cálcio	0,50	1,00	-	-	0,50	1,00	-	-
Pectina (AM)	-	-	0	5,00	-	-	5,00	10,00
Benzoato de sódio	0,59	0,59	0	0	0,59	0,59	0	0
Sorbato de potássio	0,67	0,67	0	0	0,67	0,67	0	0
Formulação	A	B	C	D	E	F	G	H

Neste trabalho o cloreto de cálcio foi introduzido nas formulações dos doces de reduzido valor energético, pela sua função de agente de endurecimento, em combinação com um gelificante (a pectina de baixo metoxilo), para produzir ou reforçar o gel dos doces.

A adição de moléculas de cálcio à estrutura dos doces, além de melhorar o valor do produto final para a saúde, favorece a gelificação da pectina a concentrações mais baixas de açúcar (Javanmard et al., 2012).

Sendo a presença ou ausência de sementes um dos fatores a analisar, uma parte dos doces foi realizada com os frutos inteiros e a outra com o polme do medronho. Para obter o polme, os medronhos foram triturados e colocados numa tela de tecido com diâmetro dos poros reduzido (para não permitir a passagem das sementes entre outras granuloses), comprimindo a tela de forma a expulsar o polme do seu interior (Figura 7).

Uma vez que ocorrem perdas na filtragem, a quantidade de fruto total necessária para produzir os doces sem sementes foi superior à dos doces com sementes.



Figura 7 – Processo para obtenção do polme.

Para uma melhor dissolução (Downing, 1996), a pectina (juntamente com o cloreto de cálcio, benzoato de sódio e sorbato de potássio, quando aplicável) foi misturada com parte do açúcar antes de adicionar ao fruto e água. Todos os ingredientes foram misturados de modo a incorporarem todo o doce uniformemente.

O doce foi mantido em placa de aquecimento até a evaporação completa da água adicionada para esse efeito (sendo verificado o teor de resíduo seco solúvel várias vezes ao longo da confeção, assim como o peso total) (Figura 8).



Figura 8 – Confeção dos doces.

Para cada formulação foram efetuadas várias réplicas em frascos de vidro (Figura 9), devidamente esterilizados (Downing, 1996), de modo a realizar as análises microbiológicas, físico-químicas (2 frascos) e sensoriais (3 frascos).

Os frascos foram fechados após a introdução das respetivas amostras, e até serem abertos foram colocados dentro de um armário, sendo mantidos à temperatura ambiente, secos e ao abrigo da luz.



Figura 9 – Doces de medronho.

Abaixo (Figura 10) encontra-se uma esquematização sumária do procedimento e métodos aplicados.

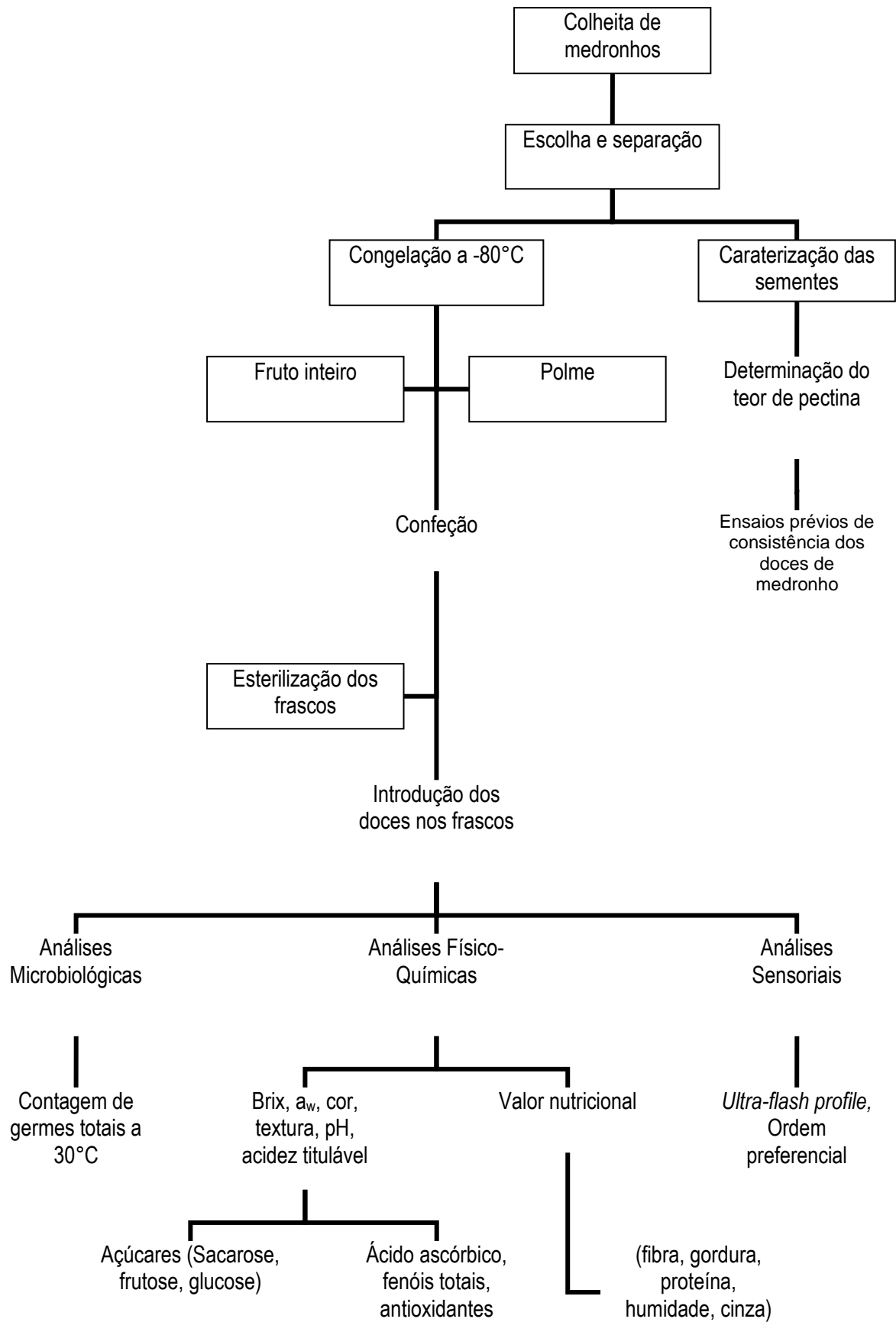


Figura 10 – Fluxograma do processo de fabrico e análises dos doces.

### **3.4. Métodos**

De modo a avaliar os diferentes doces de medronho foram realizadas análises microbiológicas, físico-químicas [cor (L, a, b), textura (TPA), acidez titulável, valor nutricional (fibra, gordura, proteína, humidade, cinza), açúcares, ácido ascórbico, atividade antioxidante (ORAC, TEAC e FRAP)], e sensoriais.

#### **3.4.1. Caraterização microbiológica**

A composição microbiológica das diferentes amostras foi determinada através da contagem de microrganismos presentes nas diferentes amostras, segundo a norma NP – 1409 (IPQ, 1987).

Os frascos utilizados para este efeito apenas foram abertos à chama, sendo todo o material aplicado previamente esterilizado, para que não houvesse contaminação.

Foi realizada uma contagem de germes totais a 30°C, para a qual foram incorporadas as amostras com três diluições diferentes ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), usando o reagente de Ringer e o meio de cultura PCA – *Plate Count Agar* (Oxoid Ltd). As culturas foram incubadas a 30°C durante 72h.

#### **3.4.2. Caraterização físico-química**

A composição físico-química foi determinada em diversos parâmetros, através de métodos específicos e adequados a cada uma delas, sendo as determinações realizadas no mínimo em quadruplicado e apresentadas as respetivas médias.

##### **3.4.2.1. Resíduo seco solúvel**

O teor de resíduo seco solúvel (°Brix) foi determinado pela leitura das amostras de doce, colocadas na superfície do prisma de um refratómetro digital com sistema de controlo termodinâmico (*RFM330 refractometer, Bellingham+Stanley Ltd.*) a cerca de 20°C, previamente calibrado com soluções de sacarose.



#### 3.4.2.2. Potencial hidrogeniónico (pH)

O pH das amostras foi determinado com recurso a um potenciómetro (713 *pH Meter, Metrohm*), previamente calibrado com uma solução ácida e uma básica.

#### 3.4.2.3. Cor

Relativamente à cor, estas foram determinadas através de um colorímetro (*Minolta CR-300®*). Após calibrar o mesmo, com uma placa de cerâmica branca ( $Y= 93,0$ ;  $X= 0,3133$ ;  $Z=93,85$ ), as amostras foram colocadas numa placa de *petri* com cerca de 1cm de espessura e medidas.

Os valores obtidos ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) correspondem a uma escala de classificação pré-definida pela *Commission Internationale de L'éclairage – CIE<sub>Lab</sub>*, em que a luminosidade ( $L^*$ ) se encontra entre 0 (preto) e 100% (branco), e as cores verde/vermelho ( $-a^*/+a^*$ ) ou azul/amarelo ( $-b^*/+b^*$ ) oscilam entre -60 e +60 (Pacheco, 2012; Moura et al., 2012).

#### 3.4.2.4. Textura

Para determinar a textura os diferentes doces foram colocados em pequenos copos de modo a perfazer cerca de 4 centímetros de altura. O aparelho, um texturómetro (*Texture Expert, Stable Micro Systems Ltd., Version 1.20*), com capacidade máxima para 25kg, foi calibrado conforme indicado pelo programa com um peso de 5kg (*Interchangeable load cell for the texture analyser*).

Foi aplicada uma sonda de 20mm e definidas as condições do teste TPA (teste de duas dentadas) (Mochizuki, 2001). Foram realizadas algumas réplicas, estando as amostras a cerca de 20°C (interior verificado com *Cooking thermo timer*).

#### 3.4.2.5. Extrato seco

O extrato seco foi efetuado de acordo com o método AOAC 920.151 para sólidos (totais) em frutos e produtos derivados de frutos, em que existe matéria insolúvel presente, através da remoção de humidade a 70°C em estufa de vácuo (*Binder*).

#### 3.4.2.6. Atividade da água ( $a_w$ )

A atividade da água presente nos doces foi determinada por um higrómetro (*rotronic - Hygroskop DT*) com banho termostático a temperatura próxima de 20°C,

após estabilização. As amostras foram fechadas hermeticamente na célula do aparelho, sendo obtidos os registos, em percentagem, da leitura efetuada pelo sensor (localizado na parte superior da célula) da humidade relativa do alimento em equilíbrio com a humidade relativa do ambiente no interior da célula.

#### 3.4.2.7. Cinza

A determinação do teor de cinza teve como base o método AOAC 940.26 (1998) para frutos e seus derivados, sendo utilizada uma mufla (*Nabertherm*<sup>®</sup>).

#### 3.4.2.8. Acidez titulável

A acidez foi determinada por titulação potenciométrica, com NaOH aferido a 0,10N segundo a norma portuguesa 1421 de 1977, para géneros alimentícios derivados de frutos e de produtos hortícolas.

#### 3.4.2.9. Açúcares

O teor de açúcares foi avaliado através da determinação do teor de sacarose, glucose e frutose por métodos enzimáticos (*Sucrose/D-Fructose/D-Glucose Assay Kit, Megazym*).

A preparação das amostras envolveu dissolução em água e posterior filtragem, não sendo necessária diluição adicional.

O procedimento, tal como descrito no manual do *kit* enzimático foi separado por sacarose e D-glucose/D-frutose, tendo os brancos e as amostras (da mesma preparação) para cada.

Numa primeira fase foi adicionada a solução de  $\beta$ -fructosidase (pH 4,6) (nas cuvets para sacarose) e os extratos das amostras.

Após alguns minutos, água, solução tampão (pH 7,6) e solução de NADP<sup>+</sup> (nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato) com ATP (adenosina-5'-trifosfato) foram pipetadas para todas as cuvets.

Após alguns minutos foi lida a absorvância (A1).

Uma suspensão de HK/G6P-DH (hexoquinase com glucose-6-fosfato desidrogenase) foi adicionada às cuvets anteriores e a sua absorvância lida no final da reação (A2).

Finalmente, uma suspensão de fosfoglucose isomerase (PGI) foi pipetada para as cuvets de D-glucose/D-frutose, sendo lida a sua absorvância após cerca de 10 minutos (A3).

De acordo com o princípio de procedimento do ensaio descrito no manual do *kit* enzimático (*K-SUFR, Megazyme*), com a adição de  $\beta$ -frutosidase (pH 4,6), a sacarose é hidrolisada a D-glucose e D-frutose. Antes e após esta hidrólise é determinada a concentração de D-glucose na amostra, e após isomerização por fosfoglucose isomerase (PGI) é determinado o conteúdo de D-frutose.

A D-glucose na amostra a seguir à hidrólise de sacarose (D-glucose total) é determinada como descrito abaixo, sendo calculado o teor de sacarose a partir da diferença nas concentrações de D-glucose antes e depois da hidrólise por  $\beta$ -frutosidase.

A D-glucose é fosforilada pelo ATP (catalisado por HK, a pH 7,6) em glucose-6-fosfato e adenosina-5'-difosfato (G-6-P + ADP). Por sua vez G-6-P é oxidada por  $\text{NADP}^+$  (na presença da enzima G6P-DH) em gluconato-6-fosfato e NADPH. NADPH é medido pelo aumento na absorvância a 340nm, estabelecendo a relação com a quantidade de D-glucose presente na amostra.

Em combinação com o ATP e na presença do catalizador HK, a D-frutose é fosforilada em frutose-6-fosfato (F-6-P), com formação de ADP. Com o PGI, o F-6-P é convertido em G-6-P. Tal como ocorre para D-glucose, a nova formação de NADH provoca um aumento na absorvância medida, sendo estequiométrica com a quantidade de D-frutose.

As absorvâncias foram medidas a 340 nm, em cuvets com 1cm de espessura, no espectrofotómetro *Hitachi, modelo U-2000 Spectrophotometer*.

#### 3.4.2.10. Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, assim como os fenóis totais e os métodos para determinar a capacidade antioxidante (*ORAC – Oxygen Radical Absorbance Capacity, TEAC – Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, FRAP - Ferric ion Reducing Antioxidant Power*) presentes nas amostras foram determinados por espectrofotometria em microplacas de fundo plano com 96 poços (*Greiner*), tendo por base o trabalho de *Müller et al, 2010*.

A preparação das amostras incluiu a sua extração com ácido metafosfórico, através de várias agitações (*Reax 2000, Heidolph*) e centrifugações (*MegaFuge 1.0R, Heraeus e Micro 200, Hettich*).

O extrato foi misturado com TCA e novamente centrifugado, sendo adicionado DNP-reagente (previamente preparado a partir de soluções de tiourea, sulfato de cobre II, ácido sulfúrico e 2,4-DNPH) à parte do sobrenadante e levado durante 1 hora a

agitação com aquecimento em termobloco (*MB-102, Bioer*). Após a mistura ser arrefecida com gelo, foi adicionado ácido sulfúrico e novamente agitada.

Finalmente, após colocar no escuro durante cerca de 20 minutos, os extratos de amostra foram pipetados para os poços de microplaca e lidos a 510nm em espectrofotómetro (*Fluostar Optima, BMG Labtech*) (tendo ácido metafosfórico como branco).

O conteúdo de ácido ascórbico nas amostras (mg/100g) foi calculado tendo em conta uma curva de calibração preparada com soluções padrão de ácido ascórbico.

#### 3.4.2.11. Fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais teve por base o método *Folin Ciocalteu* (Müller et al, 2010), sendo o resultado expresso em equivalentes de ácido gálico (EAG mg/100g).

As amostras foram extraídas com água através de agitação e centrifugação. O extrato obtido foi pipetado para uma microplaca juntamente com as soluções de reagente *Folin Ciocalteu* (FCR) e de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) previamente preparadas. A microplaca foi colocada no escuro durante cerca de 2 horas à temperatura ambiente e posteriormente lida a 740nm (como branco foi utilizada água).

O conteúdo de fenóis totais foi calculado a partir de uma curva de calibração com diferentes concentrações de ácido gálico.

#### 3.4.2.12. Capacidade antioxidante (TEAC)

O método TEAC seguiu a mesma forma de preparação de amostra que o método para os fenóis totais.

O ensaio para leitura da capacidade antioxidante em equivalentes de trolox foi realizado com o radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , obtido da junção de uma solução ABTS com uma solução de persulfato de potássio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) (mantida 24h no escuro à temperatura ambiente).

A solução de trabalho  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , realizada diariamente, era obtida do acerto ( $0,70 \pm 0,05$ ; 730nm) da solução anterior com uma solução de tampão fosfato (PBS) (com fosfato monossódico e dissódico).

Para as microplacas era pipetado o extrato obtido da amostra e a solução diária de  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  (e água como branco), a leitura era feita a 730nm.

Os resultados foram expressos em equivalentes de trolox (mmol/100g), usando uma curva de regressão linear de soluções trolox como base de cálculo.

#### 3.4.2.13. Capacidade antioxidante (ORAC)

O extrato de amostra foi preparado da mesma forma que no ponto anterior.

Os antioxidantes determinados pelo método ORAC tiveram a fluoresceína (diluída em PBS) como sonda de fluorescência.

Para a microplaca foi pipetado o extrato de amostra, solução PBS, solução fluoresceína (preparada no próprio dia) e, após aquecer durante 10 minutos a 37°C no aparelho (*Fluostar Optima, BMG Labtech*), adicionou-se AAPH (previamente preparada com PBS e arrefecida em gelo).

Além dos poços com branco (PBS), foi preenchido um poço com PBS e a solução de fluoresceína, para controlar a fotoestabilidade de fluoresceína (Müller et al, 2010).

Foram utilizados filtros de fluorescência de 485nm (excitação) e 520nm (emissão), sendo medida a intensidade de fluorescência a cada minuto, durante cerca de 2 horas, a 37°C.

Os resultados foram expressos em equivalentes de trolox (mmol/100g).

#### 3.4.2.14. Capacidade antioxidante (FRAP)

Tal como nos pontos anteriores o extrato de amostra foi obtido pela extração com água.

Na microplaca foi colocado o extrato aquoso, água e o reagente FRAP. Este é preparado diariamente com tampão de acetato (acetato de sódio, água e ácido acético glacial), solução de cloreto de ferro (III) e solução de TPTZ em ácido clorídrico.

A absorvância das amostras foi lida a 595nm, após 8 minutos da junção dos compostos, tendo água como branco.

O método FRAP mede o potencial de redução do complexo férrico TPTZ à sua forma em ferro (II), pelos antioxidantes. Este é calculado, em mmol Fe<sup>2+</sup>/100g, partindo de uma curva de calibração com soluções de sulfato ferroso (Müller et al, 2010).

#### 3.4.2.15. Proteína

O teor de proteína foi estimado através de uma adaptação ao método de Kjeldhal referido na norma portuguesa 1612 de 1979. Segundo esta norma, no processo ocorre a transformação do azoto orgânico em iões de amónio, pela adição de ácido sulfúrico, sulfato de cobre II e sulfato de potássio (como catalisadores). A adição de hidróxido de sódio provoca a libertação do amoníaco, sendo este posteriormente titulado e determinada a quantidade de azoto contida na amostra.

As amostras foram colocadas no aparelho *DK Heating Digester, VELP Scientifica* até apresentar uma cor azul esverdeada. Para a titulação efetuou-se a leitura no aparelho *Kjeltec Auto 1030 Analyzer, Tecator*, após determinar e indicar no aparelho o valor médio de dois brancos. Realizando-se posteriormente os cálculos com base nos valores do volume de HCl titulado e sua concentração.

#### 3.4.2.16. Gordura total

O cálculo do teor de gordura foi efetuado tendo em conta a aplicação de uma adaptação da NP-1613 de 1979, em que as amostras foram colocadas em cartuchos filtrantes de gordura, envolvidos no solvente de extração (éter de petróleo), no aparelho *SOXTEC System HT, 1043 Extraction Unit (com 1046 Service Unit)*. O solvente evapora e condensa, circulando através da amostra e permitindo que as substâncias solúveis no éter (como a gordura) sejam arrastadas pelo solvente para o copo do aparelho previamente pesado. Após a extração o copo é levado à estufa, de modo a evaporar o solvente remanescente.

#### 3.4.2.17. Fibra bruta

Utilizando o aparelho *Fibertec System M, Tecator (1020 Hot extraction)*, com base numa adaptação da norma portuguesa 2029 de 1983, a percentagem de fibra foi calculada partindo do teor de celulose bruta determinado. A celulose bruta corresponde à matéria orgânica que permanece insolúvel após o tratamento ácido (com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e alcalino (com NaOH) (DGQ, 1983).

### 3.4.3. Caraterização sensorial

Para obter uma descrição sensorial dos doces de medronho, foi efetuado o método descritivo expedito de *Ultra Flash Profile*, descrito em 2.5.1. Esta prova foi complementada com uma ordenação final das amostras, de acordo com a preferência global face às mesmas. As provas foram realizadas em sala de análise sensorial, em cabines individuais, de fundo branco, com iluminação individual, de modo a garantir a máxima concentração dos provadores.

A cada amostra foi atribuído um código aleatório de três dígitos (ver Figura 11). As oito amostras foram apresentadas simultaneamente, sendo a sua disposição realizada também de forma aleatória, de modo a minimizar eventuais efeitos de ordem.

Em frente a uma cartolina branca (tamanho A2), além das oito amostras, em copo transparente, foi apresentado um copo com água e bolachas de água e sal, para limpar o palato entre provas, juntamente com uma colher de café e um guardanapo (Figura 12). O painel de provadores incluiu algumas pessoas com experiência em análise sensorial, mas sem experiência no método de *Ultra Flash Profile* (Figura 13).



Figura 11 – Preparação das amostras para análise sensorial.



Figura 12 – Preparação da cabine de prova para o método *Ultra Flash Profile*.



Figura 13 – Execução do método de *Ultra Flash Profile* a amostras de doce de medronho.

Apresenta-se a fase em que o provador, após realizar o mapeamento projetivo, regista os atributos que considera diferenciadores de cada amostra ou conjunto de amostras.



### **3.5. Análises estatísticas**

Para a análise estatística dos dados obtidos foram utilizadas folhas de cálculo Microsoft Excel® 2013, o programa IBM® SPSS® Statistics 22 e o programa XL-Stat®.

A determinação do efeito do tipo de pectina, da sua concentração e da presença de sementes de medronho, nas diferentes características dos doces, bem como na preferência dos mesmos, foi avaliada com recurso à ANOVA a três fatores. Atendendo a que o planeamento experimental cumpria um Plano Fatorial Completo, a dois níveis (contemplando oito doces, correspondente a  $2^3$  combinações) (Zar, 2009), avaliou-se o efeito de todas as interações entre os três fatores em estudo. Exceto se referido em contrário, todos os testes estatísticos foram aplicados com um grau de confiança de 95%.

A avaliação dos resultados do mapeamento projetivo dos doces, após análise sensorial, foi efetuada com base na Análise de Procrustes Generalizada (Gower, 1975), aplicada sobre os valores das coordenadas de cada amostra, num eixo ortogonal x,y, medidas as distâncias de latitude e longitude, a partir do canto inferior esquerdo da folha (Varela & Ares, 2013). Os resultados conjuntos do UFP foram analisados por aplicação de Análise Fatorial Múltipla (Escofier & Pagès, 1990), utilizando a ordem média de preferência como variável suplementar. Ambas por aplicação do programa XL-Stat (Addinsoft, 2014).

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Análises Microbiológicas

Após realizar a contagem de microrganismos totais a 30°C considerou-se para todos os doces a contagem  $<1 \times 10^6$  ufc/g. Pelo que não se realizou outras contagens, tais como bolores e leveduras.

### 4.2. Análises Físico-Químicas

Tendo como base as diversas réplicas efetuadas por amostra foram determinadas médias e desvios padrão para as diversas análises físico-químicas realizadas aos diferentes doces, de forma a sumarizar os resultados obtidos, sendo apresentados abaixo por base húmida (Tabela 5) e por base seca (Tabela 22, em anexo).

De forma a perceber se as diferenças entre doces são significativas e quais os fatores que interferem nessas diferenças foram realizadas as análises estatísticas descritas no ponto 3.5.

Tabela 5 – Parâmetros físico-químicos dos produtos finais por base húmida.

		Doce com sementes				Doce sem sementes			
		Baixo		Alto		Baixo		Alto	
Valor Calórico [Pectina]		baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta
Análise / Descrição		Doce A	Doce B	Doce C	Doce D	Doce E	Doce F	Doce G	Doce H
Textura	Coesividade	0,65 ( $\pm 0,12$ ) a,b	0,71 ( $\pm 0,06$ ) a,b	0,54 ( $\pm 0,16$ ) a	0,54 ( $\pm 0,10$ ) a	0,90 ( $\pm 0,02$ ) c	0,78 ( $\pm 0,05$ ) b,c	0,74 ( $\pm 0,11$ ) b,c	0,70 ( $\pm 0,06$ ) a,b
	Adesividade (-N.s)	2,81 ( $\pm 0,30$ ) a,b	4,32 ( $\pm 0,46$ ) b	2,21 ( $\pm 0,17$ ) a	6,37 ( $\pm 0,62$ ) c	2,45 ( $\pm 0,32$ ) a	3,38 ( $\pm 0,47$ ) a,b	4,17 ( $\pm 1,62$ ) a,b,c	8,94 ( $\pm 2,82$ ) d
	Dureza (N)	0,68 ( $\pm 0,17$ ) b,c	0,80 ( $\pm 0,17$ ) c	0,89 ( $\pm 0,16$ ) c	1,71 ( $\pm 0,13$ ) d	0,42 ( $\pm 0,04$ ) a	0,52 ( $\pm 0,06$ ) a,b	0,67 ( $\pm 0,16$ ) a,b,c	1,46 ( $\pm 0,16$ ) d
Resíduo seco solúvel ( $^{\circ}$ Brix)		37,70 ( $\pm 0,11$ ) a	38,35 ( $\pm 0,24$ ) a	64,53 ( $\pm 0,73$ ) d	64,27 ( $\pm 0,67$ ) d	40,00 ( $\pm 0,89$ ) b	37,59 ( $\pm 0,46$ ) a	64,60 ( $\pm 1,61$ ) d	61,33 ( $\pm 1,11$ ) c
pH		3,34 ( $\pm 0,02$ ) a,b	3,32 ( $\pm 0,04$ ) a	3,42 ( $\pm 0,04$ ) c	3,42 ( $\pm 0,02$ ) c	3,31 ( $\pm 0,01$ ) a	3,31 ( $\pm 0,03$ ) a	3,40 ( $\pm 0,08$ ) b,c	3,42 ( $\pm 0,03$ ) c

Valor Calórico		Doce com sementes				Doce sem sementes			
		Baixo		Alto		Baixo		Alto	
[Pectina]		baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta
Análise / Descrição		Doce A	Doce B	Doce C	Doce D	Doce E	Doce F	Doce G	Doce H
Cor	L*	40,79 (±1,18) b,c	40,60 (±0,44) b	39,67 (±3,96) b	35,10 (±0,79) a	40,34 (±0,77) b	42,99 (±0,36) b,c,d	45,04 (±5,31) d	44,88 (±2,95) c,d
	a*	9,85 (±0,75) c	8,59 (±0,76) c	9,08 (±1,04) c	9,57 (±0,98) c	5,70 (±1,95) b	2,96 (±0,35) a	3,06 (±1,02) a	2,76 (±0,46) a
	b*	30,12 (±2,13) b,c	28,51 (±1,13) b,c	27,53 (±2,81) b	21,08 (±1,64) a	29,99 (±1,19) b,c	32,06 (±0,38) c,d	32,27 (±4,63) c,d	35,32 (±4,46) d
Atividade da água (a <sub>w</sub> ) (%)		93,88 (±0,91) d	94,08 (±0,71) d	86,36 (±1,38) b	87,07 (±1,61) b	92,80 (±1,04) c,d	91,76 (±0,86) c	87,42 (±1,57) b	81,05 (±1,80) a
Açúcares	Glucose (g/100g)	6,80 (±0,18) e	6,28 (±0,07) d	5,15 (±0,22) b	5,58 (±0,24) c	7,00 (±0,18) e	6,77 (±0,06) e	5,84 (±0,06) c	4,52 (±0,08) a
	Frutose (g/100g)	9,75 (±0,29) d,e	9,31 (±0,17) d	7,12 (±0,36) b	7,32 (±0,19) b	10,57 (±0,14) f	10,11 (±0,19) e,f	7,97 (±0,14) c	6,59 (±0,09) a
	Sacarose (g/100g)	13,68 (±0,77) a	14,44 (±0,70) a,b	44,22 (±0,89) e	38,69 (±1,70) c	16,27 (±0,51) b	14,84 (±0,68) a,b	41,52 (±1,67) d	42,59 (±0,35) d,e
Extrato seco (%)		42,78 (±0,41) b,c	43,22 (±0,32) c	67,04 (±0,22) e	68,16 (±0,99) e	42,07 (±0,88) b	39,36 (±0,36) a	68,33 (±0,21) e	64,25 (±1,17) d
Cinza (%)		0,47 (±0,04) b	0,53 (±0,02) c	0,25 (±0,04) a	0,24 (±0,02) a	0,51 (±0,02) b,c	0,53 (±0,02) c	0,27 (±0,02) a	0,28 (±0,01) a
Acidez titulável (% ácido cítrico mono-hidratado)		0,55 (±0,02) b	0,54 (±0,02) b	0,39 (±0,02) a	0,41 (±0,03) a	0,64 (±0,01) c	0,62 (±0,05) c	0,46 (±0,05) a	0,46 (±0,02) a
Ácido ascórbico (mg/100g)		270,84 (±18,03)	293,64 (±19,39)	256,16 (±93,97)	249,85 (±58,11)	208,57 (±39,03)	204,40 (±41,94)	279,70 (±63,80)	235,09 (±29,55)
Fenóis totais (EAG mg/100g)		229,78 (±15,66)	205,09 (±19,35)	595,88 (±85,36)	769,79 (±50,10)	210,54 (±11,60)	162,97 (±6,07)	820,45 (±71,65)	829,87 (±94,20)
Antioxidantes	TEAC (ET mmol/100g)	4,31 (±0,33)	3,22 (±0,88)	9,44 (±1,20)	9,22 (±1,57)	3,19 (±0,20)	2,13 (±0,16)	7,97 (±1,83)	7,64 (±1,05)
	ORAC (ET mmol/100g)	1,82 (±0,14)	1,71 (±0,20)	1,30 (±0,15)	1,73 (±0,37)	1,61 (±0,16)	1,35 (±0,08)	1,49 (±0,13)	1,30 (±0,12)
	FRAP (mmol Fe <sup>2+</sup> /100g)	0,93 (±0,06)	0,94 (±0,06)	7,90 (±0,64)	9,21 (±0,58)	0,87 (±0,05)	0,80 (±0,03)	8,61 (±0,61)	8,65 (±0,57)

Valor Calórico [Pectina]	Doce com sementes				Doce sem sementes			
	Baixo		Alto		Baixo		Alto	
	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta
Análise / Descrição	Doce A	Doce B	Doce C	Doce D	Doce E	Doce F	Doce G	Doce H
<b>Proteína (%)</b>	0,05 (±0,01) c	0,06 (±0,02) c	0,05 (±0,01) c	0,04 (±0,01) b,c	0,02 (±0,00) a,b	0,02 (±0,00) a,b	0,01 (±0,00) a	0,01 (±0,00) a
<b>Fibra bruta (%)</b>	5,08 (±0,76) d	4,42 (±0,69) c,d	3,87 (±0,13) b,c	3,12 (±0,29) b	1,45 (±0,27) a	1,08 (±0,17) a	1,07 (±0,05) a	1,08 (±0,20) a
<b>Gordura total (%)</b>	0,37 (±0,59) a	0,23 (±0,29) a	0,06 (±0,07) a	0,00 (±0,00) a	0,13 (±0,13) a	0,13 (±0,25) a	0,02 (±0,01) a	0,08 (±0,11) a

A tabela representa as médias ( $\pm$  desvio padrão) do conjunto de amostras analisado, em que  $n \geq 4$ .

a, b, c, d, e, f – representam grupos homogêneos, por análise (por linha), de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As letras foram atribuídas dos doces com menor média para doces com maior média, conforme existam ou não diferenças nas respetivas características (média e desvio padrão) nos diferentes doces analisados.

### Resíduo seco solúvel, acidez titulável e pH

Observando a tabela resumo das médias dos resultados físico-químicos verifica-se um teor de resíduo seco solúvel (intencionalmente) mais elevado nos doces C, D, G e H, embora existam 4 grupos homogêneos, a intenção era apenas existirem dois grupos, um para os doces de alto metoxilo e outro para os doces de baixo metoxilo.

Quanto à acidez, embora não tenha sido adicionado intencionalmente nenhum acidulante (uma vez que o fruto apresentava teor de ácidos suficiente para a gelificação), os doces de baixo metoxilo apresentam, em média, valores de acidez titulável superiores aos doces de alto metoxilo (pH inferior).

## Textura

Tendo em conta a Tabela 23, em anexo, existe uma correlação entre os fatores analisados (“tipo de pectina”, “concentração de pectina” e “sementes”) e a variável “dureza”, assim como entre “tipo de pectina” e “concentração de pectina” com a variável “adesividade” além de “tipo de pectina” e “sementes” com a variável “coesividade”. Também entre as variáveis existe uma correlação inversa, em que quanto maior a dureza, menor a adesividade e a coesividade (e vice-versa).

Ao analisar-se os dados da variável “dureza” verificou-se que existem diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 6) entre a força máxima de compressão nos doces de medronho relativamente às características estudadas [presença/ausência de sementes, tipo de pectina (PAM/PBM) e concentração de pectina], verificando-se uma interação entre o “tipo de pectina” e a “concentração de pectina”. Pela correlação entre os dados de textura e as características dos doces (Tabela 23), assim como na Figura 14 podemos observar que os doces elaborados com pectina de alto metoxilo obtêm um maior aumento da dureza quando a concentração de pectina é maior, em comparação à pectina de baixo metoxilo. Quanto à presença ou ausência de sementes, pode considerar-se que os doces elaborados com polme apresentam uma dureza significativamente mais baixa que os doces elaborados com os frutos inteiros. Este facto poderá dever-se à resistência de partes de fruto remanescentes no doce, à passagem da sonda do texturómetro.

Tabela 6 – Influência da composição do doce na variável Dureza, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

<b>Fator</b>	<b>valor-p</b>
Tipo de pectina	<0,001*
Concentração de pectina	<0,001*
Sementes	<0,001*
Tipo de pectina * Concentração de pectina	<0,001*
Tipo de pectina * Sementes	0,664
Concentração de pectina * Sementes	0,773
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	0,915

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

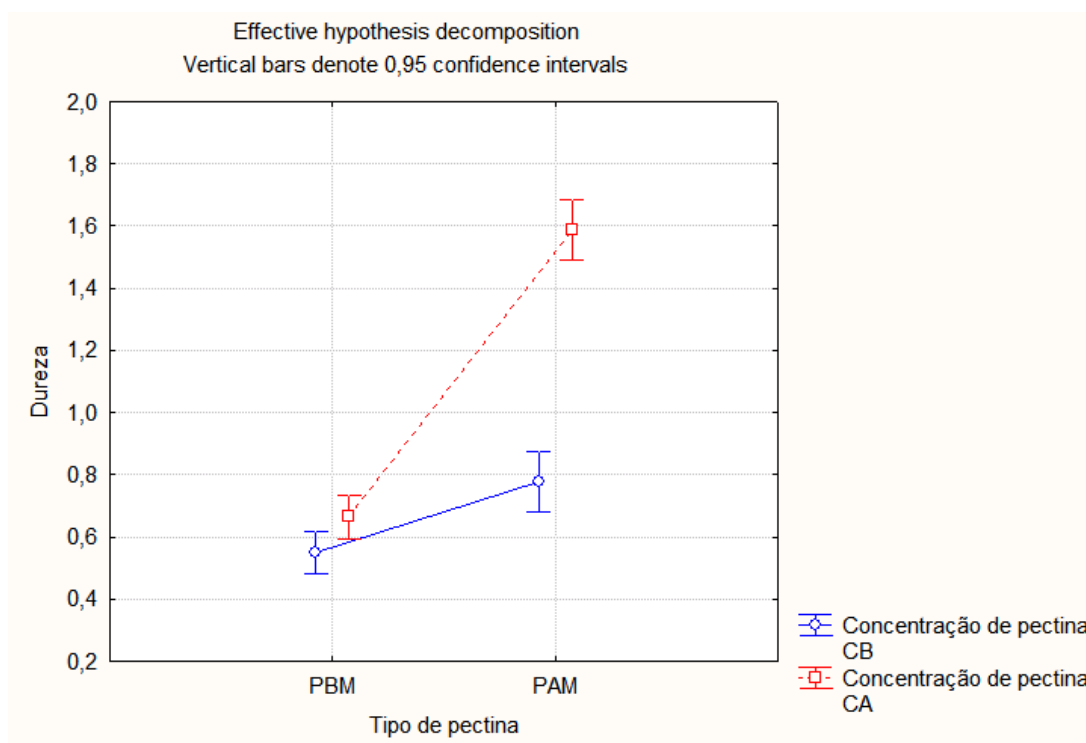


Figura 14 – Avaliação da interação Tipo de pectina \* Concentração de pectina na Dureza (N) dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 % de confiança. CA – Concentração alta; CB – Concentração baixa; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo.

Existe um efeito de correlação da “adesividade” face à “dureza” (Tabela 23), verificando-se também (Tabela 7) diferenças quanto aos três fatores determinados, além de um efeito entre tipo e concentração de pectina (Figura 15) e entre tipo de pectina e sementes (Figura 16). A adição de pectina leva a um aumento de adesividade, com efeito mais acentuado em doces de alto metoxilo. Relativamente às sementes existe um efeito inverso para os dois tipos de pectina, doces com baixo metoxilo têm maior adesividade sem sementes e doces PBM têm adesividade ligeiramente superior com sementes.

Tabela 7 – Influência da composição do doce na variável Adesividade, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

Efeito	valor-p
Tipo de pectina	<0,001*
Concentração de pectina	<0,001*
Sementes	0,011*
Tipo de pectina * Concentração de pectina	<0,001*
Tipo de pectina * Sementes	<0,001*
Concentração de pectina * Sementes	0,978
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	0,327

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

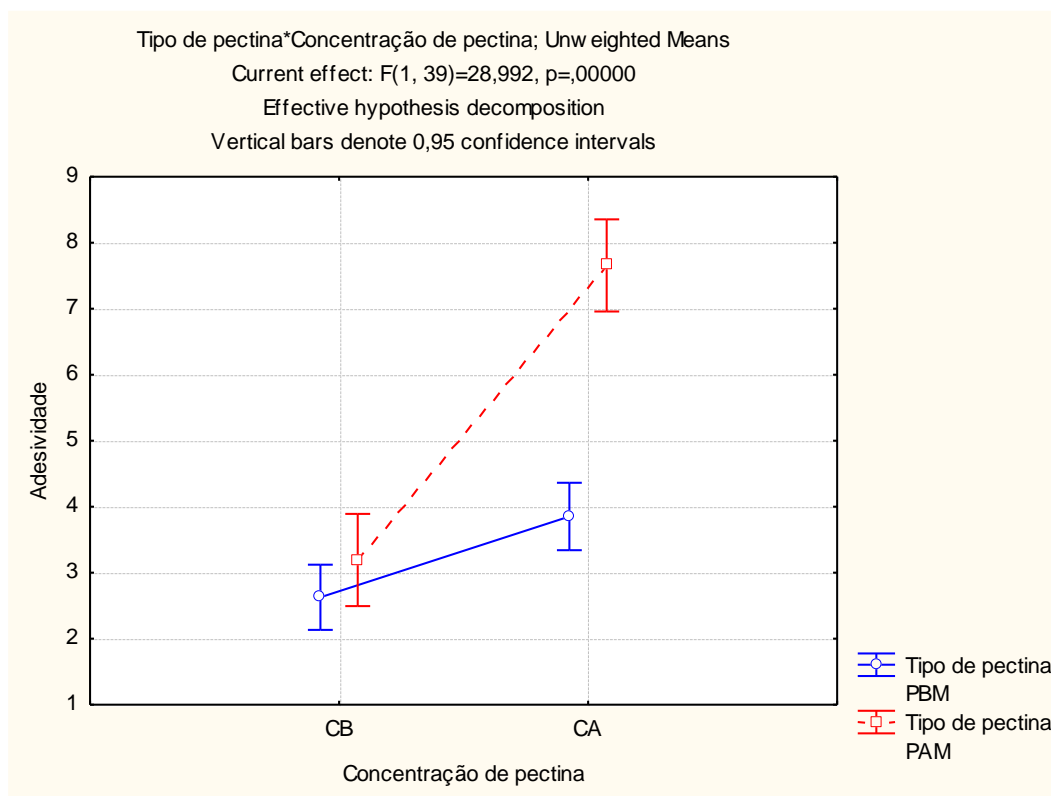


Figura 15 – Avaliação da interação Tipo de pectina \* Concentração de pectina na Adesividade dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. CA – Concentração alta; CB – Concentração baixa; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo.

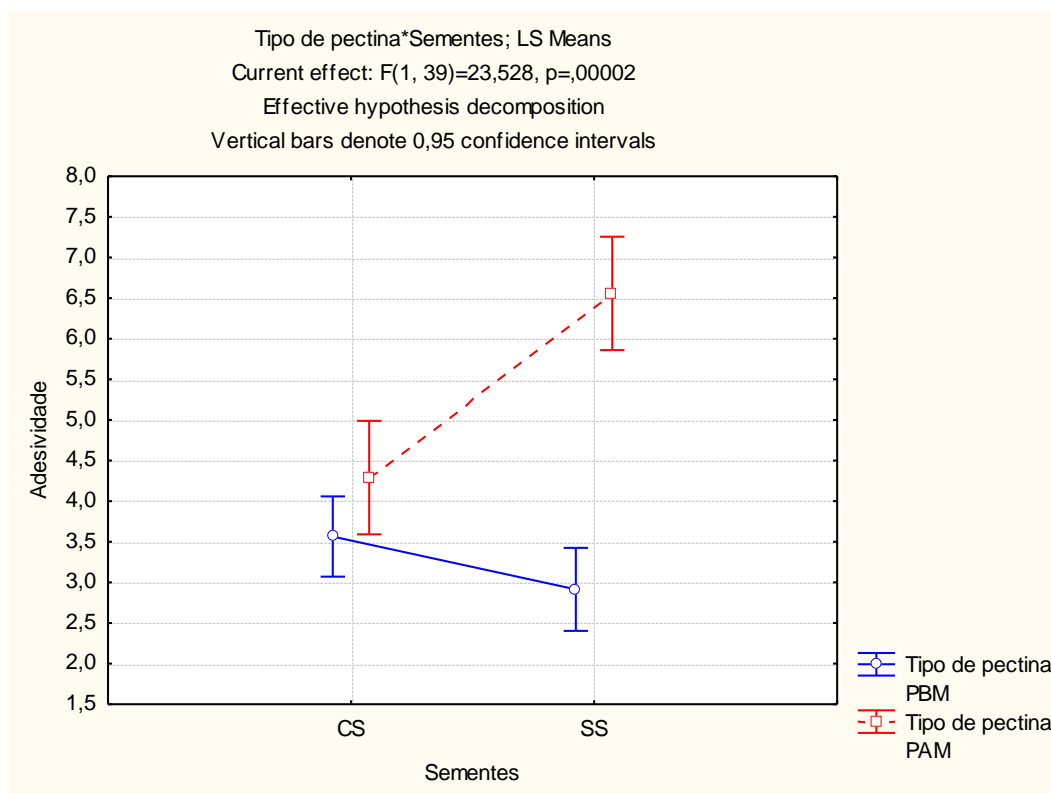


Figura 16 – Avaliação da interação Tipo de pectina \* Sementes na Adesividade dos doces de medronho. Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. CS – Com sementes; SS – Sem sementes; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo.

A “Coesividade” nos doces analisados apresentou diferenças significativas ( $p<0,05$ ) (Tabela 8) nas características “tipo de pectina” e “sementes”, não existindo evidências significativas de que a interação entre algumas das três características analisadas influenciassem os valores da coesividade.

Doces com menor açúcar adicionado apresentaram maior coesividade, também os doces sem sementes reportaram maior coesividade (Figura 17).



Tabela 8 – Influência da composição do doce na variável Coesividade, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

Efeito	valor-p
Tipo de pectina	<0,001*
Concentração de pectina	0,364
Sementes	<0,001*
Tipo de pectina * Concentração de pectina	0,836
Tipo de pectina * Sementes	0,702
Concentração de pectina * Sementes	0,065
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	0,213

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

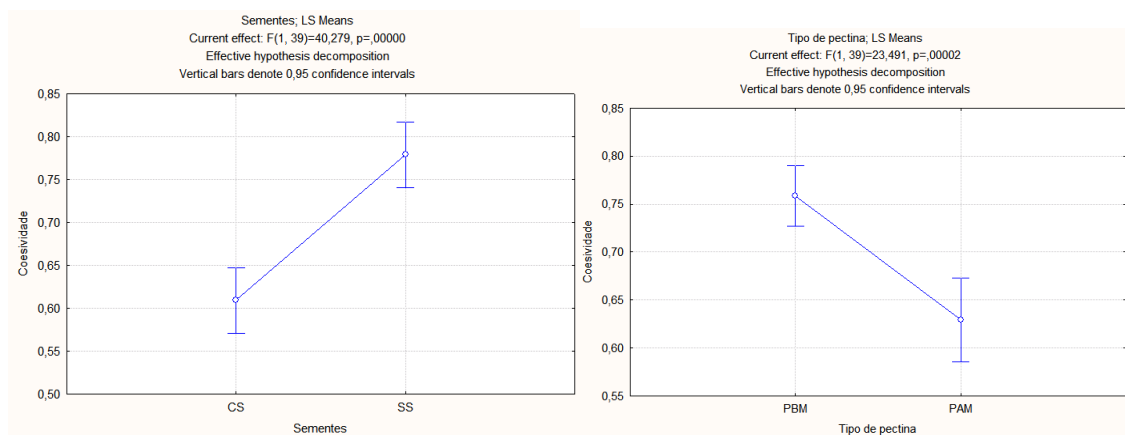


Figura 17 – Avaliação do fatores Sementes (à esquerda) e Tipo de pectina (à direita) na Coesividade dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. CS – Com Sementes; SS – Sem sementes; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo.

## Cor

Considerando os dados obtidos, existe uma correlação estatisticamente significativa (Tabela 24) entre a presença ou ausência de sementes e a cor dos doces. Os parâmetros  $L^*$  e  $b^*$  apresentam uma correlação positiva e o parâmetro  $a^*$  uma correlação negativa.

Os doces sem sementes apresentam maior luminosidade (Tabela 9, Figura 18) possivelmente por as sementes terem uma cor mais escura que afeta a luminosidade nos doces com sementes. A luminosidade ( $L^*$ ) além de apresentar diferenças para o fator sementes, registou interações quando emparelhados os fatores (Tabela 9).

Também os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  são afetados pela presença ou ausência de sementes (Tabela 10, Tabela 11, Figura 19 e Figura 20), uma vez que além das sementes mais escuras os doces elaborados com os frutos inteiros incluem na sua

composição a pele do fruto com uma tonalidade vermelha (separada no processo para obtenção do polme).

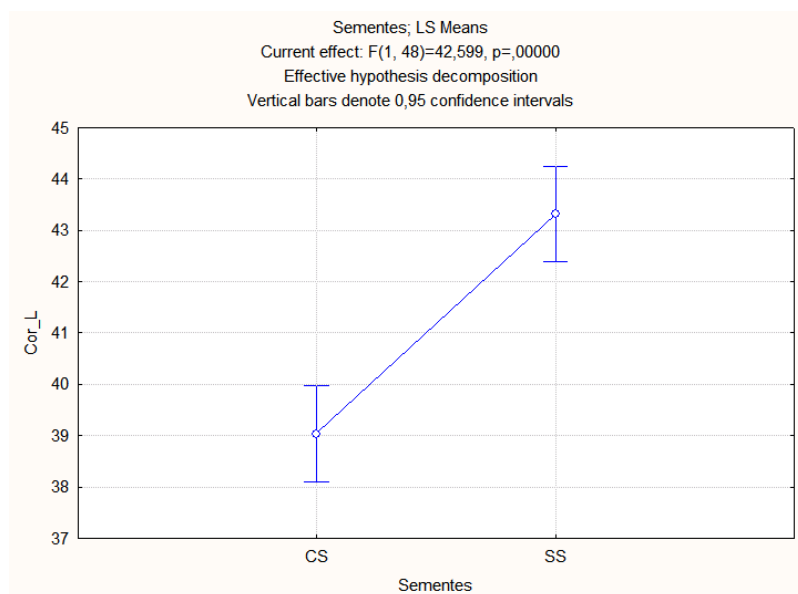


Figura 18 – Avaliação do fator Sementes na luminosidade (cor L\*) dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. CS – Com Sementes; SS – Sem sementes.

Tabela 9 – Influência da composição do doce na variável Luminosidade., avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

Efeito	valor-p
Tipo de pectina	0,986
Concentração de pectina	0,392
Sementes	<0,001 *
Tipo de pectina * Concentração de pectina	0,008*
Tipo de pectina * Sementes	<0,001*
Concentração de pectina * Sementes	0,008*
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	0,551

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

Na gama de cores entre o verde (-a) e o vermelho (+a), apenas a interação entre os três fatores analisados não apresentou diferenças significativas (Tabela 10, Figura 19, Figura 20, Figura 21), ainda que os valores se apresentem sempre do lado +a.

Tabela 10 – Influência da composição do doce no parâmetro de cor a\*, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

Efeito	valor-p
Tipo de pectina	0,023*
Concentração de pectina	0,001*
Sementes	<0,001*
Tipo de pectina * Concentração de pectina	<0,001*
Tipo de pectina * Sementes	0,009*
Concentração de pectina * Sementes	0,048*
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	0,538

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

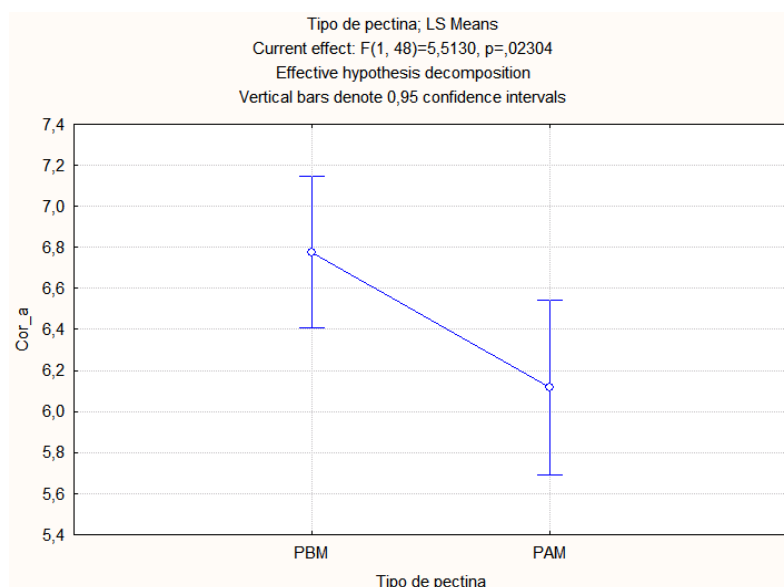


Figura 19 – Avaliação do fator Tipo de pectina na cor a\* dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo.

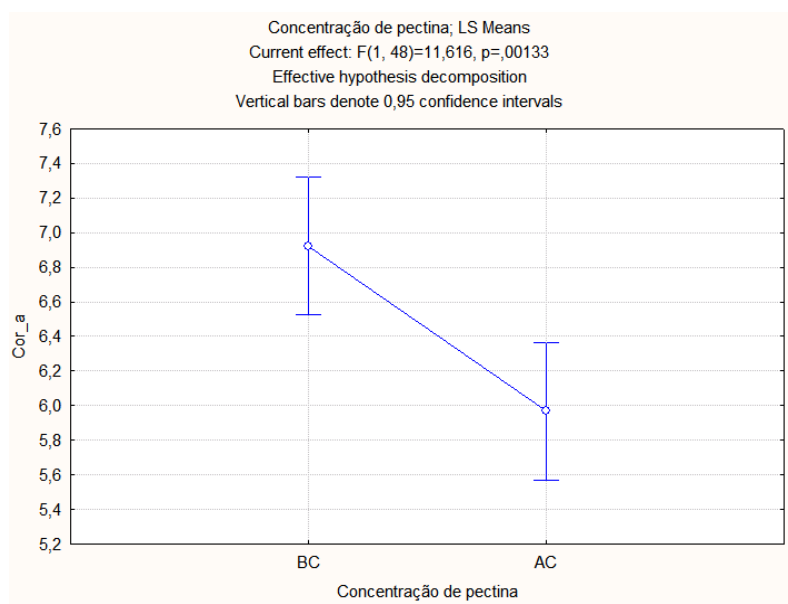


Figura 20 – Avaliação do fator Concentração de pectina na cor  $a^*$  dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. BC – baixa concentração; AC – alta concentração.

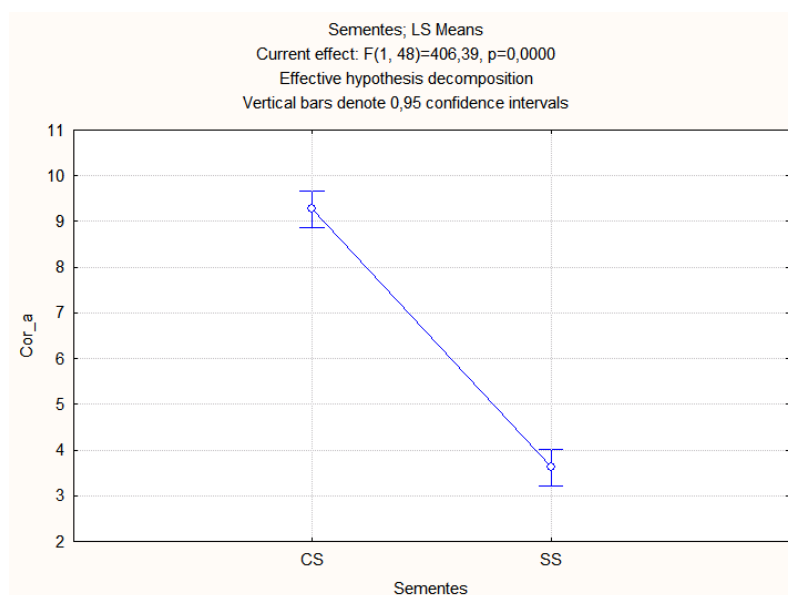


Figura 21 – Avaliação do fator Sementes na cor  $a^*$  dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. CS – com sementes; SS – sem sementes.

Quanto à gama de cores entre o azul (-b) e o amarelo (+b), os seus valores também foram registados do lado positivo (+b), verificando-se diferenças significativas para o fator sementes e na interação deste com os restantes fatores analisados (Tabela 11; Figura 22).

Tabela 11 – Influência da composição do doce no parâmetro de cor  $b^*$ , avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

Efeito	valor-p
Tipo de pectina	0,110
Concentração de pectina	0,289
Sementes	<0,001*
Tipo de pectina * Concentração de pectina	0,169
Tipo de pectina * Sementes	<0,001*
Concentração de pectina * Sementes	<0,001*
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	0,039*

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

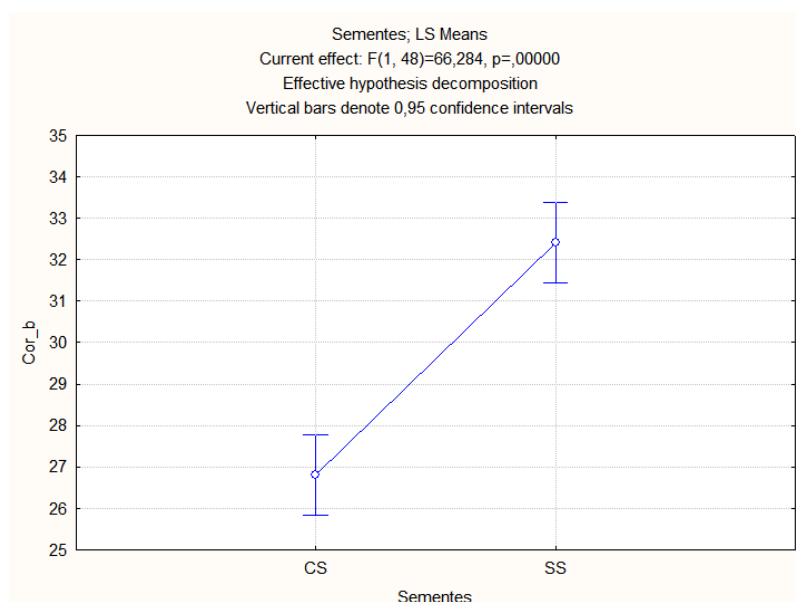


Figura 22 – Avaliação do fator Sementes na cor  $b^*$  dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. CS – com sementes; SS – sem sementes.

De um modo geral, verifica-se pela análise da Tabela 5 que há, em média, uma maior luminosidade nos doces G e H (sem sementes, com pectina de alto metoxilo) e menor luminosidade no doce D (com sementes, pectina de alto metoxilo, alta concentração de pectina). De forma semelhante se verificam maiores valores de  $b^*$  (tons amarelos) nos doces G e H e menor no doce D.

Inversamente os doces G e H, juntamente com F apresentam maiores valores de  $a^*$  (tons mais vermelhos), observando-se ainda a existências de mais dois grupos estatisticamente homogêneos.

## Açúcares

Relativamente aos açúcares, podemos observar (Tabela 5) que no geral existem valores superiores de sacarose aos de glucose ou frutose em todos os doces, existindo diferenças (Tabela 12) quanto ao tipo e concentração de pectina nas três variáveis, observando-se ainda diferenças no que diz respeito às sementes nos resultados da frutose e sacarose.

Tabela 12 – Influência da composição do doce na variável glucose, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

Efeito	valor-p		
	glucose	frutose	sacarose
Tipo de pectina	<0,001*	<0,001*	<0,001*
Concentração de pectina	<0,001*	<0,001*	0,001*
Sementes	0,144	<0,001*	0,007*
Tipo de pectina * Concentração de pectina	0,539	0,379	0,013*
Tipo de pectina * Sementes	<0,001*	<0,001*	0,215
Concentração de pectina * Sementes	<0,001*	<0,001*	0,005*
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	<0,001*	<0,001*	<0,001*

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

Nas representações abaixo (Figura 23; Figura 24; Figura 25) encontram-se os efeitos das interações dos três fatores nas variáveis glucose, frutose e sacarose.

Doces com pectina de alto metoxilo têm valores ainda mais acentuados de sacarose. Contrariamente à sacarose, a glucose e frutose apresentam valores mais baixos nos doces com pectina de alto metoxilo. Este facto poderá estar ligado à ocorrência de maior acidez titulável, e por sua vez pH inferior, nos doces de baixo metoxilo, uma vez que uma maior acidez poderá favorecer o desdobramento da sacarose (inicialmente adicionada em todos os doces) em frutose e glucose.

Observando a tabela de correlação dos açúcares (Tabela 25), além da relação entre as variáveis glucose, frutose e sacarose, é possível identificar uma correlação entre o tipo de pectina e os açúcares.

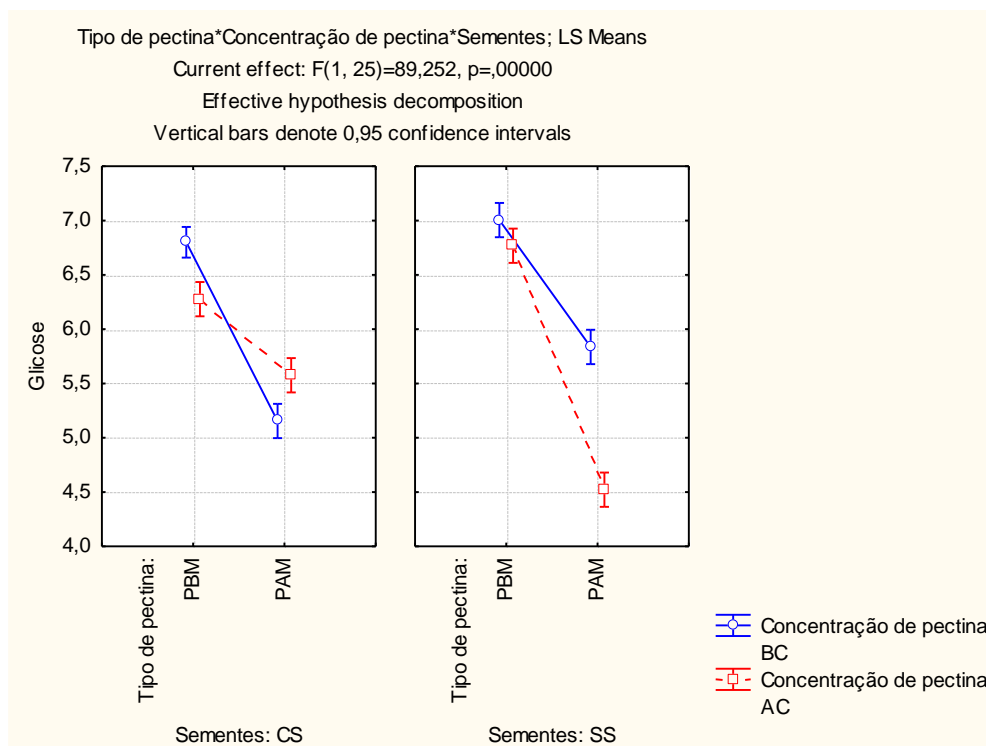


Figura 23 – Avaliação da interação dos fatores Tipo de pectina \* Concentração de pectina \* Sementes na Glucose (g/100g) dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 % de confiança. BC - Baixa concentração; AC – alta concentração; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo; CS – com sementes; SS – sem sementes.

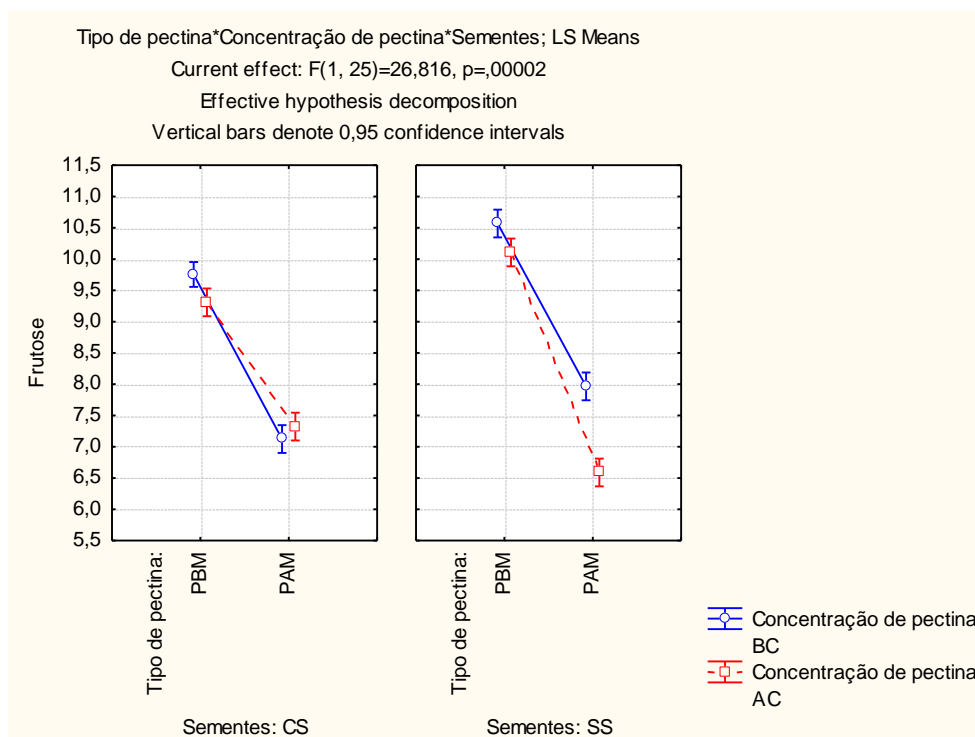


Figura 24 – Avaliação da interação dos fatores Tipo de pectina \* Concentração de pectina \* Sementes na Frutose (g/100g) dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 % de confiança. BC - Baixa concentração; AC – alta concentração; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo; CS – com sementes; SS – sem sementes.

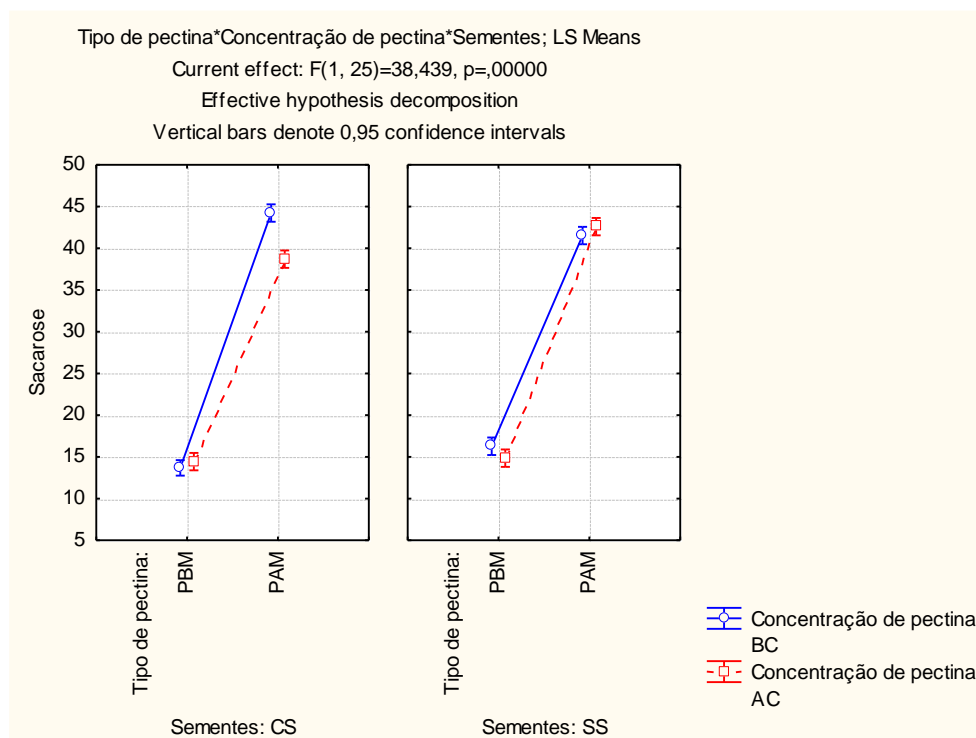


Figura 25 – Avaliação da interação dos fatores Tipo de pectina \* Concentração de pectina \* Sementes na Sacarose (g/100g) dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 % de confiança. BC - Baixa concentração; AC – alta concentração; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo; CS – com sementes; SS – sem sementes.

### **$a_w$ e humidade/ extrato seco total**

A atividade da água apresenta diferenças significativas (Tabela 13) na disponibilidade de água quanto ao “tipo de pectina”, “concentração de pectina”, “sementes” e relações entre “tipo de pectina\*concentração de pectina”, “concentração de pectina\*sementes” e na interação entre as três características. Já à humidade, ou extrato seco total, não apresenta diferenças na interação “tipo de pectina\*concentração de pectina”, tendo diferenças quanto ao “tipo de pectina\*sementes”.



Tabela 13 – Influência da composição do doce na atividade da água, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

Efeito	valor-p	
	a <sub>w</sub>	humidade
Tipo de pectina	<0,001*	<0,001*
Concentração de pectina	<0,001*	<0,001*
Sementes	<0,001*	<0,001*
Tipo de pectina * Concentração de pectina	0,001*	0,376
Tipo de pectina * Sementes	0,248	0,015*
Concentração de pectina * Sementes	<0,001*	<0,001*
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	<0,001*	0,010*

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

Comparando a actividade da água (a<sub>w</sub>) (Figura 26) com a percentagem de toda a água (humidade) (Figura 27) nos doces, verifica-se que estas variáveis não reagem da mesma forma. Ambas são influenciadas significativamente pelos três fatores individualmente, no entanto, reagem de forma diferente.

Como referido, na Tabela 5 observa-se que os doces formulados com pectina de baixo metoxilo têm °Brix inferior, ou seja, um resíduo seco solúvel menor, logo um menor extrato seco (maior humidade) e maior a<sub>w</sub> correspondente.

O aumento da concentração de pectina originou um acréscimo da atividade de água nos doces com sementes, apesar da diminuição de humidade nos mesmos, o que indica que se encontrava água retida com ligações de menor força. No caso dos doces sem sementes ocorreu o inverso, com o aumento de pectina houve diminuição da disponibilidade da água, apesar de ocorrer um aumento da humidade. Poderá considerar-se que a ausência de sementes terá levado a um aumento da porção de materiais, presentes no doce, com maior afinidade para a água, assim mesmo tendo maior percentagem de água, esta terá ficado, pelo menos em parte, mais fortemente retida, diminuindo a sua disponibilidade.

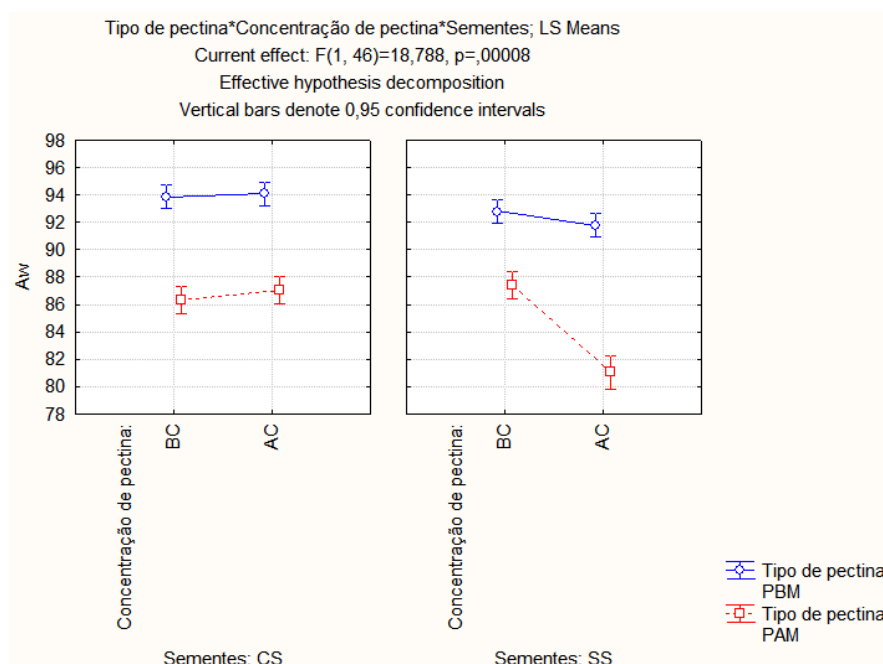


Figura 26 – Avaliação da interação do Tipo de pectina \* Concentração de pectina \* Sementes no  $a_w$  dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 % de confiança. BC - Baixa concentração; AC – alta concentração; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo; CS – com sementes; SS – sem sementes.

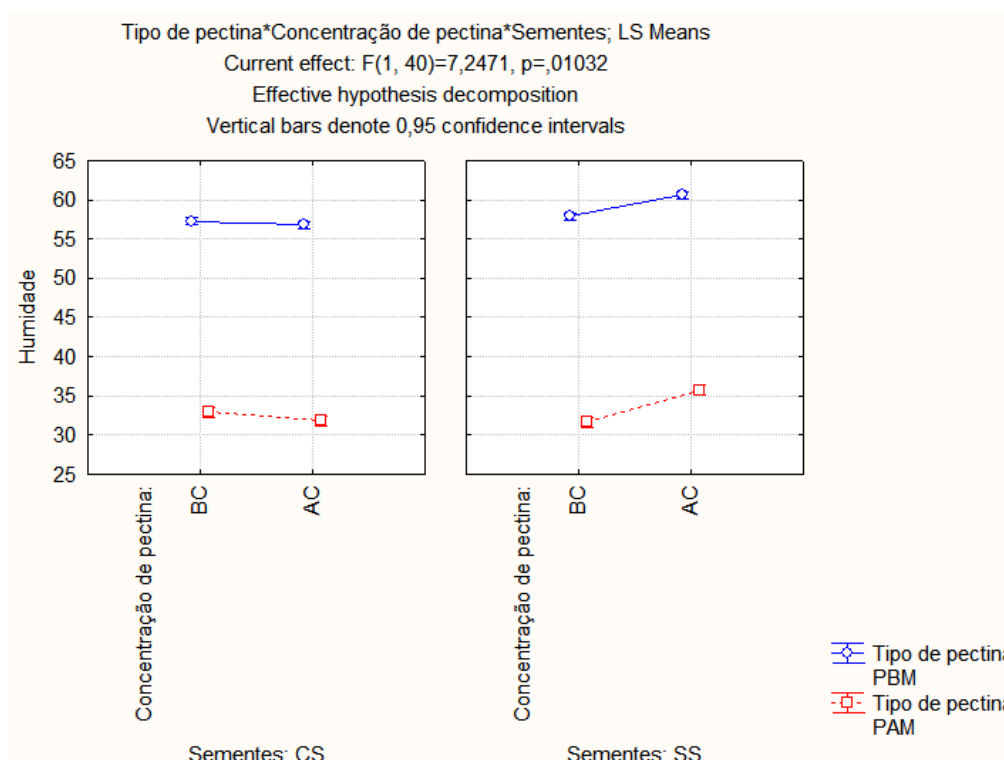


Figura 27 – Avaliação da interação do Tipo de pectina \* Concentração de pectina \* Sementes na humidade dos doces de medronho.

Pontos representam as médias e as barras verticais os intervalos de confiança da média, a 95 %. BC - Baixa concentração; AC – alta concentração; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo; CS – com sementes; SS – sem sementes.

## Cinza

Considerando a Tabela 5, o grupo homogéneo a engloba todos os doces formulados com pectina de alto metoxilo, ou seja os doces C, D, G e H apresentam distintamente menos cinza que os restantes doces. Este facto pode dever-se à presença de cloreto de cálcio na formulação dos doces de baixo metoxilo. Uma vez que a sua forma anidra (aplicada nos respetivos doces) apresenta o seu ponto de fusão (782,0°C) e ebulição (>1600,0°C) (Fisher, 2014) superior à temperatura aplicada no método de determinação das cinzas, o mesmo poderá ter permanecido nas cápsulas dos doces PBM, influenciando no peso final.

## Antioxidantes

A análise das diferenças entre os métodos de determinação de antioxidantes referentes aos doces de medronho em estudo encontra-se na Tabela 14.

Tabela 14 – Influência da composição do doce em antioxidantes, avaliada através do valor-p resultante da aplicação da ANOVA a três fatores.

Fatores	<i>valor-p</i>				
	AA	Fenóis	TEAC	ORAC	FRAP
Tipo de pectina	0,145	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
Concentração de pectina	0,277	<0,001*	<0,001*	0,183	<0,001*
Sementes	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,843
Tipo de pectina * Concentração de pectina	0,020*	<0,001*	0,006*	<0,001*	<0,001*
Tipo de pectina * Sementes	<0,001*	<0,001*	0,145	0,002*	0,107
Concentração de pectina * Sementes	0,029*	<0,001*	0,894	<0,001*	<0,001*
Tipo de pectina * Concentração de pectina * Sementes	0,702	<0,001*	0,798	<0,001*	<0,001*

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

No respeitante ao ácido ascórbico, a presença de sementes aumentou o seu teor, ainda que ligeiramente, tal como se pode verificar pela Tabela 5. Os outros fatores aparentemente não influenciaram este parâmetro.

Quanto ao teor de fenóis totais, há a destacar a influência do tipo de pectina; de facto, os doces com pectina de alto metoxilo obtiveram valores de fenóis totais elevados. Sendo a pectina um aditivo extraído, neste caso, de subprodutos da indústria de transformação de citrinos, provavelmente a própria pectina de alto metoxilo introduziu substâncias fenólicas nos produtos elaborados. A quantificação do teor de fenóis totais na pectina de alto metoxilo, não efetuada, teria permitido confirmar ou não esta hipótese.

A atividade antioxidante avaliada pelos métodos TEAC e FRAP, e uma vez mais recorrendo aos dados apresentados na Tabela 5, seguem a tendência, anteriormente referida para os fenóis, isto é, do aumento da atividade antioxidante com a utilização da pectina de alto metoxilo. Esta tendência não ocorreu para a atividade antioxidante avaliada pelo método ORAC.

Pela análise da capacidade antioxidante em outros frutos (Tabela 1) podemos observar algumas disparidades nos resultados, pelo que futuramente poderá ser abordado um estudo mais aprofundado relativamente a este tópico.

### Valor nutricional

O valor nutricional dos diferentes doces de medronho (Tabela 15) foi calculado (por 100g de produto) tendo em conta as fórmulas presentes no anexo A.

Quanto à percentagem de fibra bruta, gordura total e proteína, observam-se valores relativamente baixos, sendo que em doces com sementes há uma maior percentagem de fibra. Tal como a fibra, a proteína apresenta um grupo com médias inferiores nos doces elaborados a partir do polme. Este facto deverá ocorrer pela extração das porções mais fibrosas e proteicas do fruto (como as sementes) para a obtenção do polme de medronho.

Para a gordura não se registaram valores que permitissem distinguir mais que um grupo homogéneo (Tabela 5). Sendo o medronho um alimento com baixa percentagem de gordura total não irá influenciar a comparação dos doces com o fruto inteiro ou com o polme.

Tabela 15 – Informação nutricional média.

Valor Calórico	Doce com sementes				Doce sem sementes			
	Baixo		Alto		Baixo		Alto	
[Pectina]	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta
	Doce A	Doce B	Doce C	Doce D	Doce E	Doce F	Doce G	Doce H
<b>Valor energético (kcal/kJ)</b>	150,76 / 640,28	154,22 / 655,17	251,97 / 1070,79	259,21 / 1101,66	161,11 / 684,54	151,67 / 644,43	268,05 / 1139,19	252,12 / 1071,40
<b>Hidratos de Carbono (g)</b>	36,81	37,98	62,81	64,76	39,96	37,60	66,96	62,84
<b>Proteínas (g)</b>	0,05	0,06	0,05	0,04	0,02	0,02	0,01	0,01
<b>Lípidos (g)</b>	0,37	0,23	0,06	0,00	0,13	0,13	0,02	0,08
<b>Fibras (g)</b>	5,08	4,42	3,87	3,12	1,45	1,08	1,07	1,08

### 4.3. Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada por um painel de 12 provadores com experiência de prova, constituído por 75% de mulheres, com uma idade média de  $40,6 \pm 11,2$  anos e 83% de elementos com formação superior, recrutados no IPBeja, que aplicaram o UFP e ordenaram as oito amostras quanto à sua preferência global. Na Figura 28 apresenta-se uma representação esquemática do mapeamento projetivo realizado por um dos provadores.

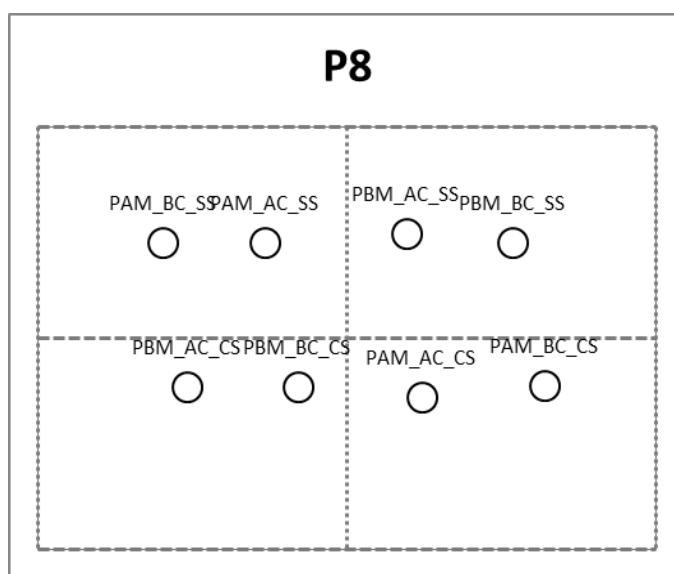


Figura 28 – Exemplo de posicionamento das amostras de doce (mapeamento projetivo).

Neste exemplo os doces foram distribuídos pela folha conforme os critérios de seleção do provador número 8. Verifica-se uma divisão nos 4 quadrantes conforme a presença ou ausência de sementes (zona de baixo e de cima, respetivamente) e o tipo de pectina/valor calórico (diagonalmente).

Doces com o mesmo tipo de pectina e porção do fruto foram dispostos no mesmo quadrante, mas mantendo alguma distância quanto à concentração de pectina.

É possível verificar a existência de dois grupos distintos (a, b) quanto à preferência dos provadores (Tabela 16). O doce com maior preferência foi o doce com pectina de alto metoxilo (ou seja com maior teor de açúcar), alta concentração de pectina e sem sementes.

Tabela 16 – Ordem de preferência dos diferentes doces de medronho, atribuída pelos provadores.

	Amostras							
	A	B	C	D	E	F	G	H
	PBM_BC_CS	PBM_AC_CS	PAM_BC_CS	PAM_AC_CS	PBM_BC_SS	PBM_AC_SS	PAM_BC_SS	PAM_AC_SS
Provador 1	2	1	5	6	3	4	7	8
Provador 2	5	6	7	8	1	2	3	4
Provador 3	3	4	5	6	2	1	7	8
Provador 4	6	5	7	8	1	2	3	4
Provador 5	4	3	5	6	2	1	7	8
Provador 6	5	6	4	3	2	1	8	7
Provador 7	3	4	8	5	2	1	7	6
Provador 8	2	1	4	3	5	6	8	7
Provador 9	8	7	5	6	1	2	4	3
Provador 10	6	5	8	7	1	2	4	3
Provador 11	2	1	5	6	4	3	7	8
Provador 12	3	4	6	5	2	1	7	8
<b>Média</b>	<b>4,1</b>	<b>3,9</b>	<b>5,8</b>	<b>5,8</b>	<b>2,2</b>	<b>2,2</b>	<b>6,0</b>	<b>6,2</b>
Desvio padrão	1,9	2,1	1,4	1,6	1,3	1,5	1,9	2,1
Comparação múltipla	<i>a,b</i>	<i>a,b</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>a</i>

A figura retrata os valores atribuídos a cada um dos oito doces, avaliados sensorialmente numa escala de preferência pelos 12 provadores.

*a, b* – representam grupos homogéneos ( $p < 0,05$ ). As letras foram atribuídas dos doces com menor média para doces com maior média, conforme existam ou não diferenças nas respetivas características (média e desvio padrão) nos diferentes doces analisados.

Analisando as preferências globais dos provadores, verifica-se que os doces PAM (com pectina de alto metoxilo), ou seja, doces com maior valor calórico, tiveram uma preferência em média mais elevada.

A presença de sementes é um pouco contraditória, pois embora os doces G e H (alto metoxilo, sem sementes) apresentem maior preferência global e em relação aos doces C e D (alto metoxilo com sementes), o mesmo não se verifica para os doces de baixo valor calórico, ou seja os doces A e B (baixo metoxilo, com sementes) tiveram maior aceitação que os doces E e F (baixo metoxilo, sem sementes).

Embora haja uma preferência global (sendo o doce H o que apresenta uma média mais elevada), a ordem preferencial dos provadores não é unânime, abrindo um espaço para a introdução de doces de medronho com diferentes características no mercado.

Abaixo (Tabela 17) observa-se a existência de diferenças significativas relativamente aos fatores “tipo de pectina”, “concentração de pectina” e “sementes” e ainda na interação entre os dois últimos (Figura 29).

Tabela 17 – Influência da composição do doce na ordem de preferência.

Efeito	valor-p
Tipo de pectina	< 0,0001*
Concentração de pectina	0,022*
Sementes	0,038*
Tipo de pectina * Concentração de pectina	0,999
Tipo de pectina * Sementes	0,912
Concentração de pectina * Sementes	< 0,0001*

\* representa a existência de valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) comparativamente ao fator ou interação dos factores respetivo.

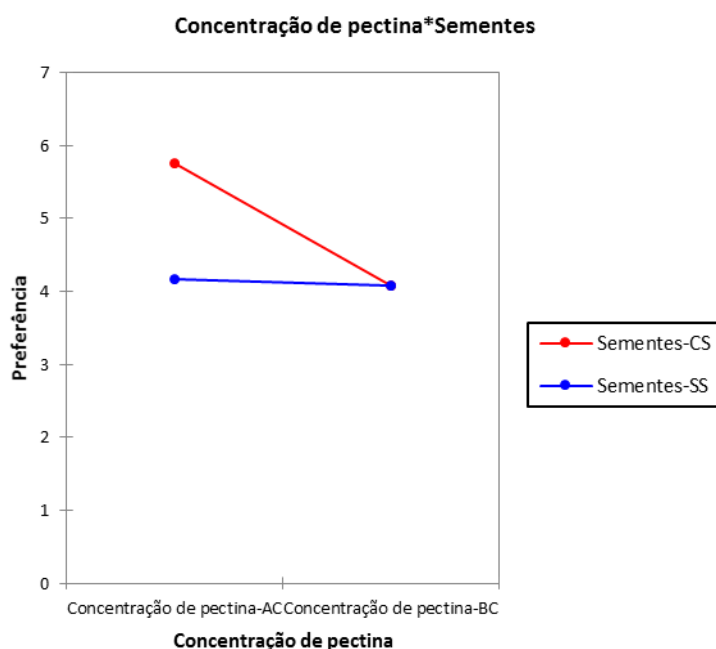


Figura 29 – Avaliação da interação de Concentração de pectina \* Sementes na preferência dos provadores na análise sensorial de doces de medronho.

Os pontos representam as médias. BC - Baixa concentração; AC – alta concentração; PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo; CS – com sementes; SS – sem sementes.



Da análise do mapeamento projetivo, por aplicação da Análise de Procrustes Generalizada, resulta a clara distinção entre as amostras com e sem sementes e as amostras com pectina de alto e baixo metoxilo (Figura 30). Embora menos evidente, verifica-se uma tendência geral de afastamento das amostras de baixa e alta concentração, dentro de cada um dos sub-grupos.

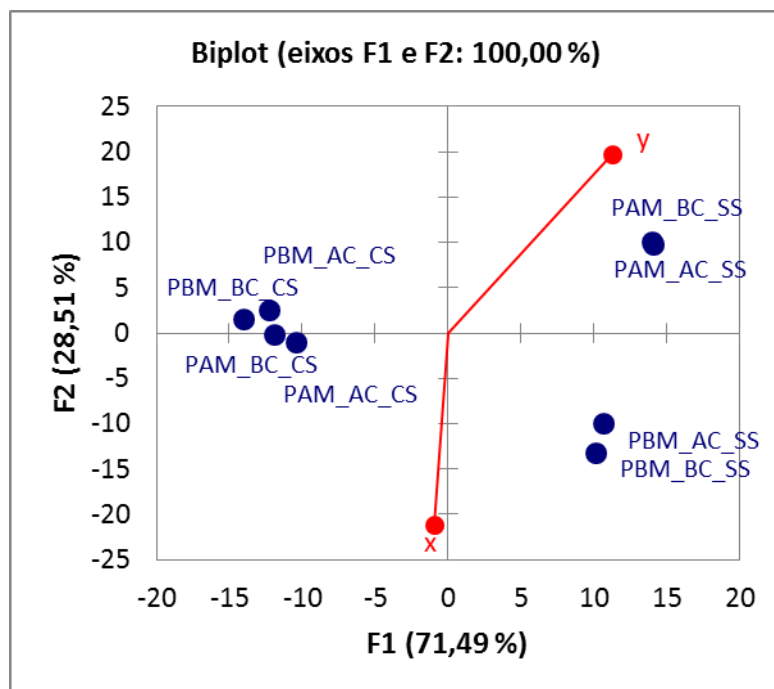


Figura 30 – Conjunto dos resultados do mapeamento projetivo obtido para os diferentes doces de medronho. PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo; BC - baixa concentração de pectina; AC – alta concentração de pectina; CS – doce com sementes; SS – doce sem sementes.

Ao combinar os resultados do mapeamento projetivo com o UFP, é possível identificar os principais atributos associados a cada uma das amostras (ver Figura 31).

A título de exemplo, é possível verificar que as amostras com pectina de alto metoxilo, sem sementes, são valorizadas por: aparência “amarelo claro” e brilhante, aroma “frutado”, “homogéneas”, “consistentes”, “com textura de compota”.

Ao associar à Análise Fatorial Múltipla, a ordem de preferência como variável suplementar, é possível fazer uma leitura mais relevante dos dados (ver Figura 32).

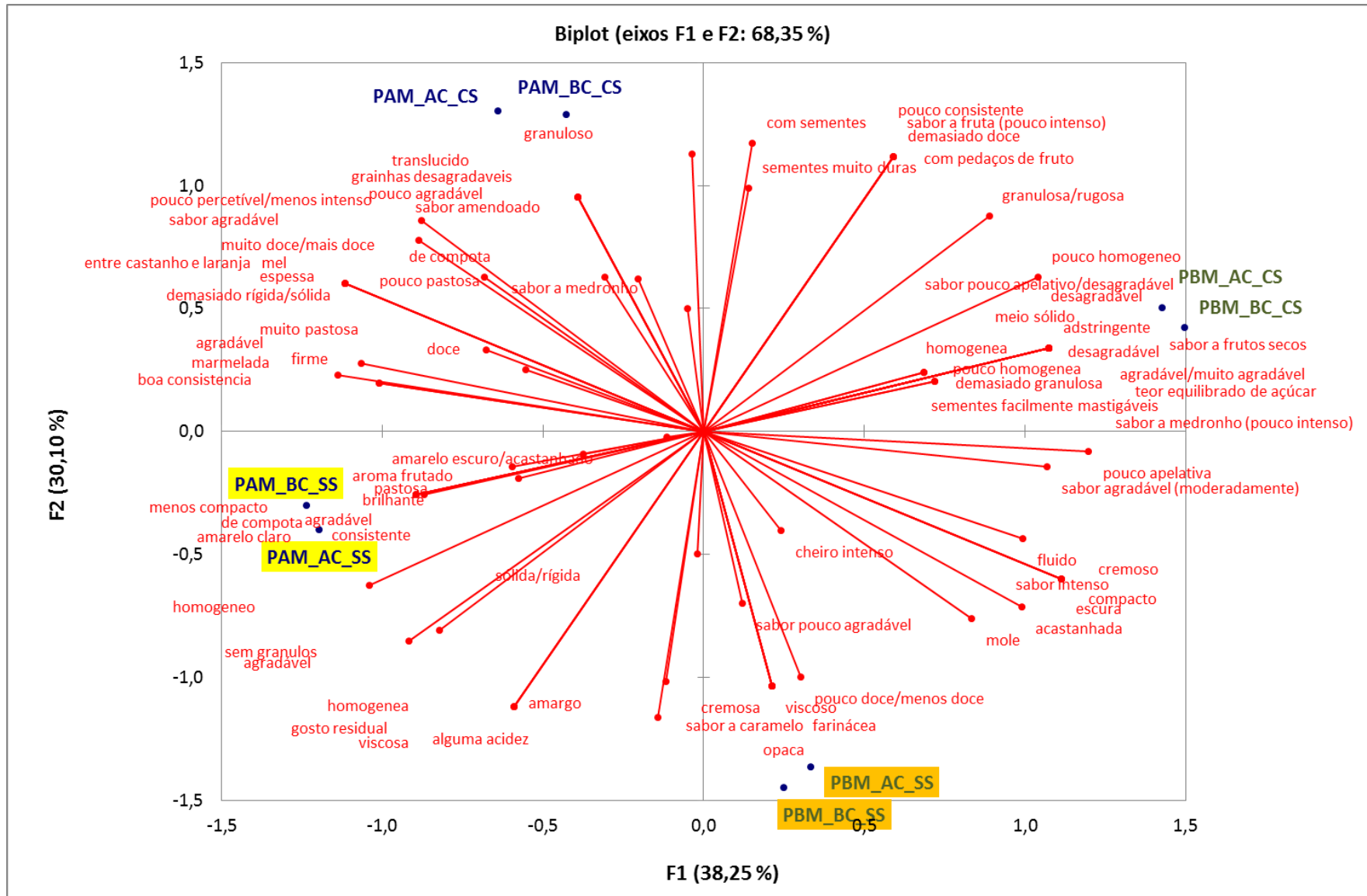


Figura 31 – Resultados do *Ultra Flash Profile* para os diferentes doces de medronho.

Características descritas pelos provadores em combinação com o mapeamento das amostras. PBM – pectina de baixo metoxilo; PAM – pectina de alto metoxilo; BC - baixa concentração de pectina; AC – alta concentração de pectina; CS – doce com sementes; SS – doce sem sementes.

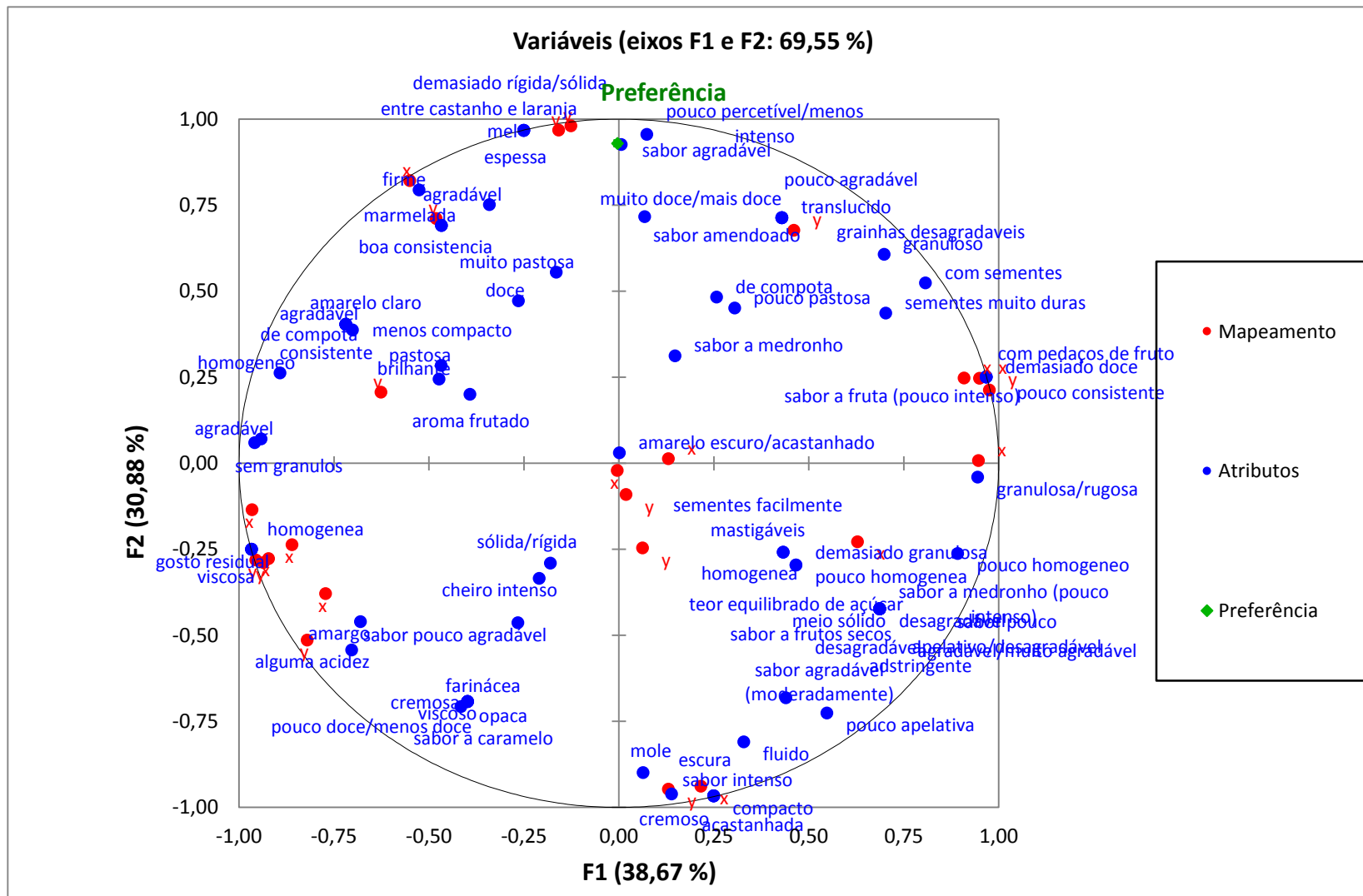


Figura 32 – Resultados do mapeamento projetivo com o UFP e ordem de preferência para os diferentes doces de medronho.

Da comparação dos dois últimos gráficos, é possível verificar que os atributos mais distantes da ordem de preferência são: “mole”, “escuro”, “acastanhado”, “compacto”, “sabor intenso”, “pouco doce”, “farináceo” e “pouco apelativo”. Estes atributos estão fortemente correlacionados com as amostras com pectina de baixo metoxilo, sem sementes (PBM\_AC ou BC\_SS).

Verifica-se que a descrição “pouco doce” se encontra no mesmo quadrante que dois doces PBM, ou seja, o facto de serem light (com reduzido teor de açúcar) foi detetado por alguns provadores como uma característica depreciativa.

Os resultados obtidos na análise sensorial apontam para uma preferência dos doces de alto metoxilo sem sementes, ou alto metoxilo com sementes.

## 5. Conclusões

O medronho aparenta ser um fruto com perspectivas de prosperar futuramente no mercado, quer pela sua associação aos benefícios para a saúde humana, quer como uma ligação ao passado e às tradições mediterrânicas, ou mesmo como um fruto silvestre invulgar no mercado atual.

Este fruto aparenta também ser adequado para a produção de doces, com um teor de pectina e acidez suficientes para conferir gelificação nos doces produzidos sem peneiração e com alto teor de açúcar.

O seu doce representa uma possível forma de aplicação de um fruto tão sensível como o medronho que, embora seja fabricado tradicionalmente, ainda não foi introduzido no grande mercado.

Este estudo poderá ser um contributo importante pois, apesar de vários artigos referirem a possibilidade da utilização do medronho na produção de doces, não há uma descrição do produto, bem como da otimização da sua formulação, através da avaliação das respetivas características físico-químicas, sensoriais ou microbiológicas.

No que concerne à microbiologia, foi possível verificar que os doces de todas as formulações, como seria de prever, não apresentaram valores de microrganismos relevantes.

No que diz respeito às características físico-químicas, tal como era de esperar, houve algumas diferenças entre as várias formulações. Podemos concluir, por exemplo, que variáveis como dureza, adesividade, tonalidade vermelha, frutose e sacarose foram influenciadas pelos fatores tipo de pectina, concentração de pectina e sementes. Outras características como a coesividade, luminosidade, tonalidade amarela, ou glucose, embora não apresentassem diferenças relativamente aos 3 fatores, foram influenciadas por pelo menos um deles para que os doces com diferentes formulações apresentassem resultados diferentes.

Verificou-se sensorialmente que a preferência dos provadores aponta para os doces formulados com pectina de alto metoxilo (doces com maior teor de açúcar), sem sementes e maior concentração de pectina. Este estudo poderá ser a base de trabalhos futuros e poderá ser um indicador para a produção de doces de medronho com maior saída no mercado.

Numa primeira introdução comercial do doce de medronho talvez fosse mais sensato optar pelos doces sem sementes e com maior teor de açúcar, pois, embora a sua produção possa ser um pouco mais dispendiosa, no que diz respeito ao processo de

obtenção do polme do medronho, esta formulação obteve maior aceitação pelo painel de provadores, o que indica que uma maior percentagem de consumidores poderia aderir melhor à inserção deste produto no mercado. Após uma familiarização e aceitação do doce, uma gama de produtos poderia ser criada para as diferentes exigências do público-alvo.

## Referências Bibliográficas

- Akay, S., Alpak, I., & Yesil-Celiktas, O. (2011). Effects of process parameters on supercritical CO<sub>2</sub> extraction of total phenols from strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: An optimization study. *Journal of Separation Science*, *34*(15), 1925-1931. doi: 10.1002/jssc.201100361
- Alarcao-E-Silva, M., Leitao, A. E. B., Azinheira, H. G., & Leitao, M. C. A. (2001). The *Arbutus* berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, *14*(1), 27-35. doi: 10.1006/jfca.2000.0962
- Alves, C. Q., David, J. M., David, J. P., Bahia, M. V., & Aguiar, R. M. (2010). Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Química Nova*, *33*, 2202-2210.
- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., & Tonogai, Y. (2000). Influence of Jam Processing on the Radical Scavenging Activity and Phenolic Content in Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(12), 6292-6297. doi: 10.1021/jf000849z
- Amaro, L. F., Soares, T. M., Pinho, C., Almeida, I. F., Pinho, O., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2013). Processing and storage effects on anthocyanin composition and antioxidant activity of jams produced with Camarosa strawberry. *International Journal of Food Science and Technology*, *48*(10), 2071-2077. doi: 10.1111/ijfs.12188
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. [Critical review]. *Analyst*, *127*, 183-198. doi: 10.1039/b009171p
- AOAC. (1998). Official Methods of Analysis: Association of Official Analytical Chemists.
- Basu, S., & Shivhare, U. S. (2013). Rheological, Textural, Microstructural, and Sensory Properties of Sorbitol-Substituted Mango Jam. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(6), 1401-1413. doi: 10.1007/s11947-012-0795-8
- Carvalho, A. C. G., Galli de Oliveira, R. C., Polonio Navacchi, M. F., Mareze da Costa, C. E., Mantovani, D., Dacome, A. S., . . . da Costa, S. C. (2013). Evaluation of the potential use of rebaudioside-A as sweetener for diet jam. *Food Science and Technology*, *33*(3), 555-560. doi: 10.1590/s0101-20612013005000080
- Chauhan, O. P., Archana, B. S., Singh, A., Raju, P. S., & Bawa, A. S. (2013). Utilization of Tender Coconut Pulp for Jam Making and Its Quality Evaluation During Storage. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(6), 1444-1449. doi: 10.1007/s11947-012-0920-8
- Chim, J. F., Zambiazzi, R. C., & Bruscatto, M. H. (2006). Doces em massa light de morango: caracterização físico-química e sensorial. *Alimentos e Nutrição, Araquara*, *17*(3), 295-201.
- Correa, R. C. G., Haminiuk, C. W. I., Sora, G. T. S., Bergamasco, R., & Vieira, A. M. S. (2014). Antioxidant and rheological properties of guava jam with added concentrated grape juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *94*(1), 146-152. doi: 10.1002/jsfa.6233

- de Souza, V. R., Pereira, P. A. P., Pinheiro, A. C. M., Bolini, H. M. A., Borges, S. V., & Queiroz, F. (2013). Analysis of various sweeteners in low-sugar mixed fruit jam: equivalent sweetness, time-intensity analysis and acceptance test. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(7), 1541-1548. doi: 10.1111/ijfs.12123
- Decreto-Lei n.º 230/2003 (2003).
- Delarue, J., & Sieffermann, J.-M. (2004). Sensory mapping using Flash profile. Comparison with a conventional descriptive method for the evaluation of the flavour of fruit dairy products. *Food Quality and Preference*, 15(4), 383-392. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0950-3293\(03\)00085-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0950-3293(03)00085-5)
- Díaz-Ocampo, R., Sanchez, R., & Franco, J. M. (2014). Rheology of commercial and model borojo jam formulations. *International Journal of Food Properties*, 17(4), 791-805. doi: 10.1080/10942912.2012.665406
- Directiva 2001/113/CE do Conselho, de 20 de Dezembro de 2001, relativa aos doces e geleias de frutos, citrinadas e creme de castanha destinados à alimentação humana. Jornal Oficial das Comunidades Europeias.
- Downing, D. L. (1996). Preserves (jams), jellies, and related products *A complete course in canning and related processes* (13th ed., Vol. III, pp. 537). USA: CTI Publications, Inc.
- Ellouze, I., Debbabi, H., Belkacem, A., & Rekik, B. (2011). Variation in physicochemical and sensory quality of sour orange (*Citrus aurantium* L.) marmalade from the Cap Bon region in North-East Tunisia. *Fruits*, 66(5), 315-325. doi: 10.1051/fruits/2011045
- Escofier, B., Pagès, J. (1994). "Multiple factor analysis (AFMULT package)". *Computational Statistics & Data Analysis* 18: 121.
- Parlamento Europeu e do Conselho (2004). Diretiva 95/2/CE do parlamento europeu e do conselho relativa aos aditivos alimentares com excepção dos corantes e dos edulcorantes. *CONSLEG: 1995L0002 — 29/01/2004*. Serviço das Publicações Oficiais das Comunidades Europeias.
- Fisher Scientific (2014). Calcium chloride, 96%, Acros Organics. Acedido em: [http://www.fishersci.com/ecom/servlet/fsproductdetail?storeId=10652&productId=17141860&catalogId=29104&matchedCatNo=AC192735000|AC192731000&fromSearch=1&searchKey=CaCl2&highlightProductsItemsFlag=Y&endecaSearchQuery=%23store%3DRE\\_SC%23nav%3D0%23rpp%3D25%23offset%3D0%23keyWord%3DCaCl2%23searchType%3DPROD%23SWKeyList%3D%5B%5D&xrefPartType=From&savings=0.0&xrefEvent=1418074368138\\_13&searchType=PROD&hasPromo=1](http://www.fishersci.com/ecom/servlet/fsproductdetail?storeId=10652&productId=17141860&catalogId=29104&matchedCatNo=AC192735000|AC192731000&fromSearch=1&searchKey=CaCl2&highlightProductsItemsFlag=Y&endecaSearchQuery=%23store%3DRE_SC%23nav%3D0%23rpp%3D25%23offset%3D0%23keyWord%3DCaCl2%23searchType%3DPROD%23SWKeyList%3D%5B%5D&xrefPartType=From&savings=0.0&xrefEvent=1418074368138_13&searchType=PROD&hasPromo=1)
- Fugel, R., Carle, R., & Schieber, A. (2005). Quality and authenticity control of fruit purees, fruit preparations and jams - a review. *Trends in Food Science & Technology*, 16(10), 433-441. doi: 10.1016/j.tifs.2005.07.001
- García-Alonso, M., de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2004). Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*, 84(1), 13-18. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00160-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00160-2)
- Gomez, F., Igual, M., Camacho, M. M., & Pagan, M. J. (2013). Effect of the addition of plant extracts on the microbiota of minimally processed strawberry jam and its physicochemical and sensorial properties. *Cyta-Journal of Food*, 11(2), 171-178. doi: 10.1080/19476337.2012.712058
- Gower, J. C. (1975). "Generalized procrustes analysis". *Psychometrika* 40: 33-31.



- Guerreiro, A. C., Gago, C. M. L., Miguel, M. G. C., & Antunes, M. D. C. (2013). The effect of temperature and film covers on the storage ability of *Arbutus unedo* L. fresh fruit. *Scientia Horticulturae*, 159, 96-102. doi: 10.1016/j.scienta.2013.04.030
- Guilherme, P. R., Pessatto, C. C., Zaika, W. R., Quast, E., Quast, L. B., Ormenese, R. d. C. S. C., & Raupp, D. d. S. (2012). Desenvolvimento de geleia de tamarillo contendo polpa integral. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(2), 141-149.
- Guimarães, R., Barros, L., Calheta, R. C., Carvalho, A. M., Queiroz, M. J. R. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2013a). Bioactivity of Different Enriched Phenolic Extracts of Wild Fruits from Northeastern Portugal: A Comparative Study. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1-6.
- Guimarães, R., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Queiroz, M. J. R. P., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2013b). Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal. *Food Chemistry*, 141(4), 3721-3730.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719-1726. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2003.08.005>
- Igual, M., Garcia-Martinez, E., Camacho, M. M., & Martinez-Navarrete, N. (2013a). Jam processing and storage effects on beta-carotene and flavonoids content in grapefruit. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 736-744. doi: 10.1016/j.jff.2013.01.019
- Igual, M., Garcia-Martinez, E., del Mar Camacho, M., & Martinez-Navarrete, N. (2013b). Physicochemical and Sensorial Properties of Grapefruit Jams as Affected by Processing. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 177-185. doi: 10.1007/s11947-011-0696-2
- Microbiologia alimentar. Frutos, produtos hortícolas e seus derivados. Contagem de microrganismos a 30°C. (1987).
- Jackix, M. H. (1988). *Doces, geléias e frutas em calda* (Vol. Tecnologia de alimentos).
- Javanmard, M., Chin, N. L., Mirhosseini, S. H., & Endan, J. (2012a). Characteristics of gelling agent substituted fruit jam: studies on the textural, optical, physicochemical and sensory properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(9), 1808-1818. doi: 10.1111/j.1365-2621.2012.03036.x
- Javanmard, M., Chin, N. L., Yusof, Y. A., & Endan, J. (2012b). Application of sago starch as a gelling agent in jam. *Cyta-Journal of Food*, 10(4), 275-286. doi: 10.1080/19476337.2011.653693
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M. (2001). Berry Phenolics and Their Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 4076-4082. doi: 10.1021/jf010152t
- Kim, D. O., & Padilla-Zakour, O. I. (2004). Jam Processing Effect on Phenolics and Antioxidant Capacity in Anthocyanin-rich Fruits: Cherry, Plum, and Raspberry. *Journal of Food Science*, 69(9), S395-S400. doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb09956.x
- Laranjeira, A. R. D. V. C. (2013). Avaliação sensorial de novos produtos: técnicas de perfil aplicadas a "arroz de pato". Dissertação de mestrado em Ciências do Consumo e Nutrição, FCUP, FCNAUP, Porto.

- Lespinard, A. R., Bambicha, R. R., & Mascheroni, R. H. (2012). Quality parameters assessment in kiwi jam during pasteurization. Modelling and optimization of the thermal process. *Food and Bioproducts Processing*, 90(C4), 799-808. doi: 10.1016/j.fbp.2012.03.001
- Maitre, I., Symoneaux, R., Jourjon, F., & Mehinagic, E. (2010). Sensory typicality of wines: How scientists have recently dealt with this subject. [Article]. *Food Quality and Preference*, 21, 726-731. doi: 10.1016/j.foodqual.2010.06.003
- Males, Z., Saric, D., & Bojic, M. (2013). Quantitative Determination of Flavonoids and Chlorogenic Acid in the Leaves of *Arbutus unedo* L. Using Thin Layer Chromatography. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. doi: 10.1155/2013/385473
- Malheiro, R., Sa, O., Pereira, E., Aguiar, C., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2012). *Arbutus unedo* L. leaves as source of phytochemicals with bioactive properties. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 473-478. doi: 10.1016/j.indcrop.2011.07.023
- Mazur, S. P., Nes, A., Wold, A.-B., Remberg, S. F., Martinsen, B. K., & Aaby, K. (2014). Effects of ripeness and cultivar on chemical composition of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits and their suitability for jam production as a stable product at different storage temperatures. *Food Chemistry*, 146, 412-422. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.086
- Mendes, L., de Freitas, V., Baptista, P., & Carvalho, M. (2011). Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2285-2291. doi: 10.1016/j.fct.2011.06.028
- Mochizuki, Y. (2001). Texture Profile Analysis. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, H2.3.1-H2.3.7.
- Molina, M., Pardo-De-Santayana, M., Aceituno, L., Morales, R., & Tardio, J. (2011). Fruit production of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) in two Spanish forests. *Forestry*, 84(4), 419-429. doi: 10.1093/forestry/cpr031
- Morales, P., Ferreira, I. C. F. R., Carvalho, A. M., Fernandez-Ruiz, V., Cortes Sanchez-Mata, M., Camara, M., . . . Tardio, J. (2013). Wild edible fruits as a potential source of phytochemicals with capacity to inhibit lipid peroxidation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(2), 176-185. doi: 10.1002/ejlt.201200162
- Moura, S. C. S. R., da Rocha Tavares, P. E., Marconi Germer, S. P., Andrade Coelho Nisida, A. L., Alves, A. B., & Kanaan, A. S. (2012). Degradation Kinetics of Anthocyanin of Traditional and Low-Sugar Blackberry Jam. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2488-2496. doi: 10.1007/s11947-011-0578-7
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken A. M., Bohm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology* 43 (2010) 992–999.
- Nestrud, M. A., & Lawless, H. T. (2010). PERCEPTUAL MAPPING OF APPLES AND CHEESES USING PROJECTIVE MAPPING AND SORTING. *Journal of Sensory Studies*, 25(3), 390-405. doi: 10.1111/j.1745-459X.2009.00266.x
- NP 1421. Géneros Alimentícios Derivados de Frutos e de Produtos Hortícolas: Determinação da Acidez (1977).
- NP-1612. Determinação do teor de azoto total (1979a).
- NP-1613. Determinação da matéria gorda total (1979b).
- NP-2029. Determinação do teor de celulose bruta (1983).

- Oliveira, I., Baptista, P., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A., & Pereira, J. A. (2011a). Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Research International*, *44*(5), 1401-1407. doi: 10.1016/j.foodres.2011.02.009
- Oliveira, I., de Pinho, P. G., Malheiro, R., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2011b). Volatile profile of *Arbutus unedo* L. fruits through ripening stage. *Food Chemistry*, *128*(3), 667-673. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.03.084
- Orak, H. H., Aktas, T., Yagar, H., Isbilir, S. S., Ekinci, N., & Sahin, F. H. (2012). Effects of hot air and freeze drying methods on antioxidant activity, colour and some nutritional characteristics of strawberry tree (*Arbutus unedo* L) fruit. *Food Science and Technology International*, *18*(4), 391-402. doi: 10.1177/1082013211428213
- Pacheco, A. C. d. S. (2012). *Conservação dos frutos de duas cultivares de framboesa (Sevillana e Maravilla) em fresco e em doce*. Dissertação de mestrado, Tecnologia de Alimentos, Universidade do Algarve.
- Pearson, D. (1976). Chapter Fruit and Vegetable products. *The Chemical analysis of foods* (Seventh ed., pp. 159-160). Churchill Livingstone, Edinburgh London and New York: Longman Group Limited.
- Perrin, L., & Pages, J. (2009). CONSTRUCTION OF A PRODUCT SPACE FROM THE ULTRA-FLASH PROFILING METHOD: APPLICATION TO 10 RED WINES FROM THE LOIRE VALLEY. [Article]. *Journal of Sensory Studies*, *24*(3), 372-395. doi: 10.1111/j.1745-459X.2009.00216.x
- Perrin, L., Symoneaux, R., Maitre, I., Asselin, C., Jourjon, F., & Pages, J. (2008). Comparison of three sensory Napping (R) procedure: Case of methods for use with the ten wines from Loire valley. [Article]. *Food Quality and Preference*, *19*(1), 1-11. doi: 10.1016/j.foodqual.2007.06.005
- Pimpao, R. C., Dew, T., Oliveira, P. B., Williamson, G., Ferreira, R. B., & Santos, C. N. (2013). Analysis of Phenolic Compounds in Portuguese Wild and Commercial Berries after Multienzyme Hydrolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(17), 4053-4062. doi: 10.1021/jf305498j
- Rababah, T. M., Al-Mahasneh, M. A., Kilani, I., Yang, W., Alhamad, M. N., Ereifej, K., & Al-u'datt, M. (2011). Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *91*(6), 1096-1102. doi: 10.1002/jsfa.4289
- Renna, M., Pace, B., Cefola, M., Santamaria, P., Serio, F., & Gonnella, M. (2013). Comparison of two jam making methods to preserve the quality of colored carrots. *Lwt-Food Science and Technology*, *53*(2), 547-554. doi: 10.1016/j.lwt.2013.03.018
- Rocha, Célia Ferreira (2014). O consumidor como fonte de inovação : ferramentas de avaliação sensorial para o desenvolvimento de novos produtos alimentares. Dissertação de Mestrado em Ciências do Consumo, Universidade Aberta.
- Ruiz-Rodriguez, B.-M., Morales, P., Fernandez-Ruiz, V., Sanchez-Mata, M.-C., Camara, M., Diez-Marques, C., . . . Tardio, J. (2011). Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. *Food Research International*, *44*(5), 1244-1253. doi: 10.1016/j.foodres.2010.11.015
- Santo, D. E., Galego, L., Goncalves, T., & Quintas, C. (2012). Yeast diversity in the Mediterranean strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits' fermentations.

- Food Research International*, 47(1), 45-50. doi: 10.1016/j.foodres.2012.01.009
- Sun, J., Chu, Y.-F., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7449-7454. doi: 10.1021/jf0207530
- Takrouni, M. M., Ali, I. B. E. H., Messaoued, C., & Boussaid, M. (2012). Genetic variability of Tunisian wild strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) populations interfered from isozyme markers. *Scientia Horticulturae*, 146, 92-98. doi: 10.1016/j.scienta.2012.08.005
- Tereso, J. P., Ramil-Rego, P., & Almeida-da-Silva, R. (2013). Roman agriculture in the conventus Bracaraugustanus (NW Iberia). [Review]. *Journal of Archaeological Science*, xxx, 1-11.
- Tereso, J. P. V. (2012). *Environmental Change, agricultural development and social trends in NW Iberia from the Late Prehistory to the Late Antiquity*. Programa Doutoral de Biologia, Universidade do Porto, Porto.
- Touati, N., Patricia Tarazona-Diaz, M., Aguayo, E., & Louaileche, H. (2014). Effect of storage time and temperature on the physicochemical and sensory characteristics of commercial apricot jam. *Food Chemistry*, 145, 23-27. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.08.037
- Valentin, D., Chollet, S., Lelièvre, M., & Abdi, H. (2012). Quick and dirty but still pretty good: a review of new descriptive methods in food science. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(8), 1563-1578. doi: 10.1111/j.1365-2621.2012.03022.x
- Varela, P., Ares, G. & Fiszman, S. (2013). Texture and Semantics: The Conceptual Structure in Consumers' Minds. *Journal of Sensory Studies*, 28 (3), 194-204.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117. doi: 10.1021/jf9801973
- Wang, S. Y., Howard, L. R., Hager, T. J., & Figuerola, F. (2007). *Berry Fruit: Value-Added Products for Health Promotion*: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Wang, S. Y., & Lin, H.-S. (2000). Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 140-146. doi: 10.1021/jf9908345
- Wang, Y. T., Lien, L. L., Chang, Y. C., & Wu, J. S. B. (2013). Pectin methyl esterase treatment on high-methoxy pectin for making fruit jam with reduced sugar content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 382-388. doi: 10.1002/jsfa.5772
- Zar, Jerrold H. 2010. *Biostatistical Analysis*. 5th Edition. Pearson Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ. 944 pp.

# Anexos

II

FCUP

Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial em doces de medronho

## **Anexo A (Cálculos)**

### **Adição de açúcar**

Considerando o teor de resíduo seco solúvel do medronho próximo de 20°Brix, ou seja 20g de R.S.S./100g de fruto, por cada quilograma de doce, com 500g de fruto, o medronho irá contribuir com cerca de 100g de sólidos solúveis.

Nos doces de maior índice calórico por 1kg de doce com 60% R.S.S. devem existir 600g de R.S.S., uma vez que o fruto contribui com 100g os restantes 500g serão representados pelo açúcar (em alguns casos uma parte menor por pectina).

Nos doces com baixo índice calórico para 1 kg de doce com 30% R.S.S. devem existir 300g de R.S.S., logo devem ser adicionados cerca de 200g de açúcar. Os restantes 300g de produto são então constituídos por água.

### **Adição de conservantes**

Considerando a regulamentação referente aos aditivos alimentares, particularmente os conservantes benzoato de sódio e sorbato de potássio, foi calculada a quantidade dos respetivos sais (Tabela 18), tendo em conta os teores máximos permitidos para doces com baixo teor de açúcar e de baixo índice calórico, expressos em ácidos livres (mg/kg)(Europeia, 2004).

Tabela 18 – Cálculos para determinação da quantidade de benzoato de sódio e sorbato de potássio a utilizar.

<b>Conservante</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Massa molecular (g/mol)</b>	<b>Teor máximo indicado (mg/kg)</b>	<b>Quantidade do sal (mg/kg)</b>
Ácido benzoico (Ab)	$C_6H_5COOH$	122,12	500	
Ácido sórbico (As)	$C_6H_8O_2$	112,13		
Ab + As			1000	1259,88
Benzoato de sódio	$NaC_6H_5CO_2$	144,11		590,02
Sorbato de potássio	$C_6H_7KO_2$	150,22		669,87

## Açúcares

O conteúdo de açúcares (sacarose, D-glucose e D-frutose) é calculado (em g/100g de produto) tendo por base as fórmulas apresentadas abaixo (Tabela 19).

Tabela 19 – Cálculos do conteúdo de sacarose, D-glucose e D-frutose.

<b>Sacarose</b>	$= \frac{c_{sacarose} [g/L \text{ solução de amostra}]}{\text{peso}_{amostra} [g/L \text{ solução de amostra}]} \times 100$
<b>D-frutose</b>	$= \frac{c_{D-frutose} [g/L \text{ solução de amostra}]}{\text{peso}_{amostra} [g/L \text{ solução de amostra}]} \times 100$
<b>D-glucose</b>	$= \frac{c_{D-glicose} [g/L \text{ solução de amostra}]}{\text{peso}_{amostra} [g/L \text{ solução de amostra}]} \times 100$

Em que, a concentração (em g/L) é obtida pelos cálculos abaixo (Tabela 20).

Tabela 20 – Cálculos da concentração de sacarose, D-glucose e D-frutose.

Sacarose	$c = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A_{amostra}$	$c = \frac{2,42 \times 342,3}{6300 \times 1 \times 0,10} \times \Delta A_{sacarose} = 1,315 \times \Delta A_{sacarose}$
D-frutose		$c = \frac{2,44 \times 180,16}{6300 \times 1 \times 0,10} \times \Delta A_{D-frutose} = 0,6978 \times \Delta A_{D-frutose}$
D-glucose		$c = \frac{2,42 \times 180,16}{6300 \times 1 \times 0,10} \times \Delta A_{D-glucose} = 0,6920 \times \Delta A_{D-glucose}$

Onde:

V = volume final [ml]

MW = peso molecular da substancia de ensaio [g/mol]

$\varepsilon$  = coeficiente de extinção de NADPH a 340nm = 6300 [l x mol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>]

d = percurso da luz [cm]

v = volume da amostra [ml]

$\Delta A$  = variação da absorvância

As absorvâncias são obtidas diretamente da leitura do espectrofotómetro em três momentos diferentes (A1, A2 e A3), conforme a adição dos reagentes e tempos de espera. A sua variação resulta da combinação entre diferentes absorvâncias (Tabela 21).



Tabela 21 – Cálculos da variação de absorbâncias de sacarose, D-glucose e D-frutose.

		A partir de:
<b>D-glucose livre</b>	$\Delta A_{D\text{-glucose}} = (A_2 - A_1)$ da amostra - $(A_2 - A_1)$ do branco	amostra de D-glucose / D-frutose
<b>Sacarose</b>	$\Delta A_{\text{sacarose}} = \Delta A_{D\text{-glucose total}} - \Delta A_{D\text{-glucose}}$	amostra de D-glucose / D-frutose
	$\Delta A_{D\text{-glucose total}} = (A_2 - A_1)$ da amostra - $(A_2 - A_1)$ do branco	amostra de sacarose
<b>D-frutose livre</b>	$\Delta A_{\text{frutose}} = (A_3 - A_2)$ da amostra - $(A_3 - A_2)$ do branco	amostra de D-glucose / D-frutose

### Valor nutricional

O valor energético foi calculado em kcal e kJ, considerando

$$\text{kcal} = (\% \text{ proteína} \times 4) + (\% \text{ hidratos de carbono} \times 4) + (\% \text{ lípidos} \times 9)$$

$$\text{kJ} = (\% \text{ proteína} \times 17) + (\% \text{ hidratos de carbono} \times 17) + (\% \text{ lípidos} \times 37)$$

O teor de hidratos de carbono foi calculado tendo em conta,

$$\% \text{ Hidratos de carbono} = 100 - (\% \text{ proteína} + \% \text{ fibra} + \% \text{ gordura} + \% \text{ humidade} + \% \text{ cinza})$$

### Humidade

$$\% \text{ Humidade} = 100 \times (\text{perda de massa} / \text{amostra húmida})$$

Em que,

Perda de massa= amostra húmida - amostra seca

Amostra húmida= peso da cápsula com amostra inicial - peso cápsula

Amostra seca= menor peso registado (capsula com amostra final) - peso cápsula

### Cinza

$$\% \text{ Cinza} = 100 - (100 \times (\text{perda de massa} / \text{amostra húmida}))$$

Em que,

Perda de massa= amostra húmida - amostra seca

Amostra húmida= peso da cápsula com amostra inicial - peso cápsula

Amostra seca= menor peso registado (capsula com amostra final) - peso cápsula

### **Fibra**

$$\%Fibra = [(P1 - P2) \times 100] / P3$$

Sabendo que,

P1 – Peso do cadinho filtrante após estufa.

P2 – Peso do cadinho filtrante após mufla

P3 – Peso da amostra inicial

### **Gordura**

$$\%Gordura = [(P1 - P2) / P3] \times 100$$

Sabendo que,

P1 – Peso seco após extração.

P2 – Peso do copo de alumínio

P3 – Peso da amostra inicial

### **Proteína**

O teor de proteína bruta pode ser determinado a partir do teor de azoto total, partindo do pressuposto de que a proteína contém 16% de azoto (N), ou seja multiplicando o seu teor em azoto pelo fator 6,25.

$$\%Proteína = \% \text{Azoto Total} \times 6,25$$

Em que,

$\% \text{Azoto Total} = (\text{Volume HCl titulado (ml)} \times \text{Normalidade HCl} \times 0,14) / (\text{massa da amostra (g)})$

14 = % Valor (g) de N que reage com 1 ml de HCl 1 mol.dm<sup>-3</sup>.

### **Ácido ascórbico**

$$[\text{Ácido ascórbico (mg/100g de doce)}] = ([\text{extrato original}] \times \text{volume} / \text{peso amostra}) / 1000$$

### **Fenóis totais**

$$[\text{Fenóis totais (EAG/100g de doce)}] = ([\text{extrato original}] \times \text{volume} / \text{peso amostra})$$

### **FRAP**

$$[\text{FRAP (mmol de Fe}^{2+}\text{/100g de doce)}] = ([\text{extrato original}] \times \text{volume} / \text{peso amostra}) / 1000$$

### **ORAC**

$$[\text{ORAC (ET mmol /100g de doce)}] = ([\text{extrato original}] \times \text{volume} / \text{peso amostra}) / 1000$$

### **TEAC**

$$[\text{TEAC (ET mmol /100g de doce)}] = ([\text{extrato original}] \times \text{volume} / \text{peso amostra}) / 1000$$

Em que, (para o ácido ascórbico, fenóis totais, FRAP, ORAC e TEAC)

Concentração no extrato original = concentração obtida a partir da respetiva curva de calibração e absorvância x fator de diluição



## **Anexo B (Curvas padrão)**

As figuras abaixo representam as curvas padrão aplicadas nos cálculos para determinação do teor de ácido ascórbico (Figura 33), fenóis totais (Figura 34) e antioxidantes (Figura 35, Figura 36, Figura 37).

### **Ácido ascórbico**

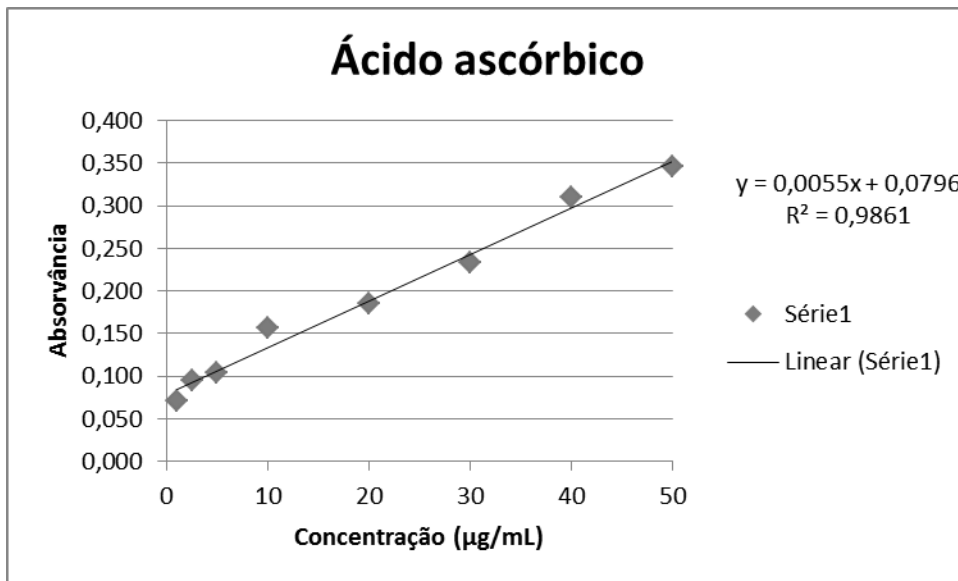


Figura 33 – Curva de calibração para o método de determinação de ácido ascórbico por espectrofotometria em microplaca (absorvância a 510nm).

## Fenóis totais

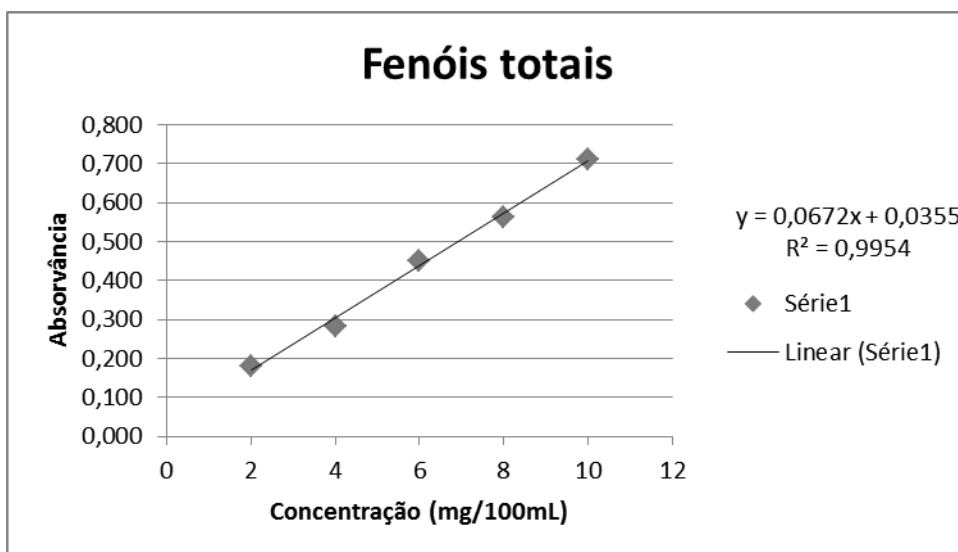


Figura 34 – Curva de calibração para o método de determinação de fenóis totais por espectrofotometria em microplaca (absorvância a 740nm).

## FRAP

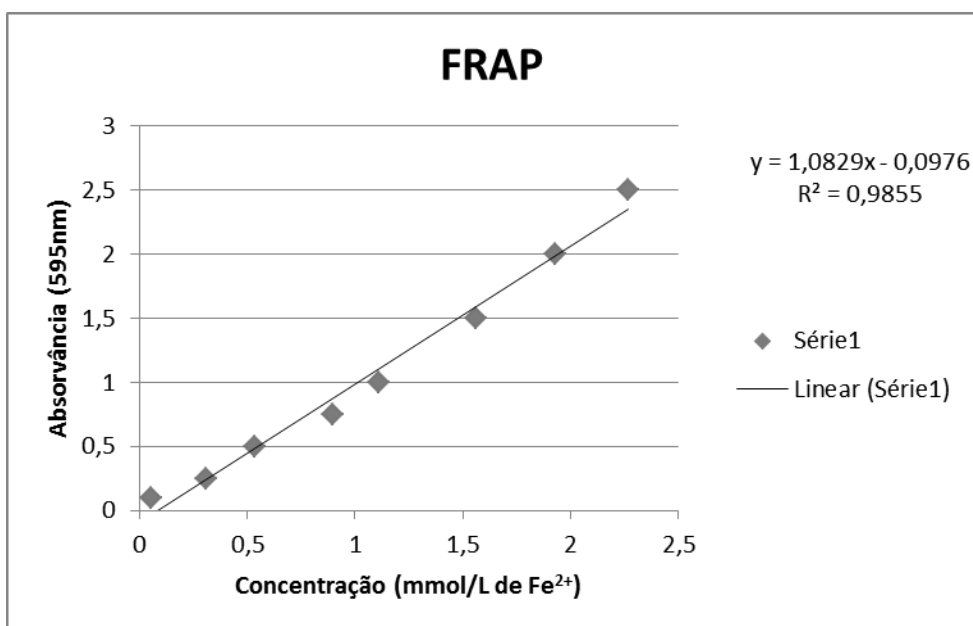


Figura 35 – Curva de calibração para o método de determinação de antioxidantes FRAP por espectrofotometria em microplaca (absorvância a 595nm).

### ORAC

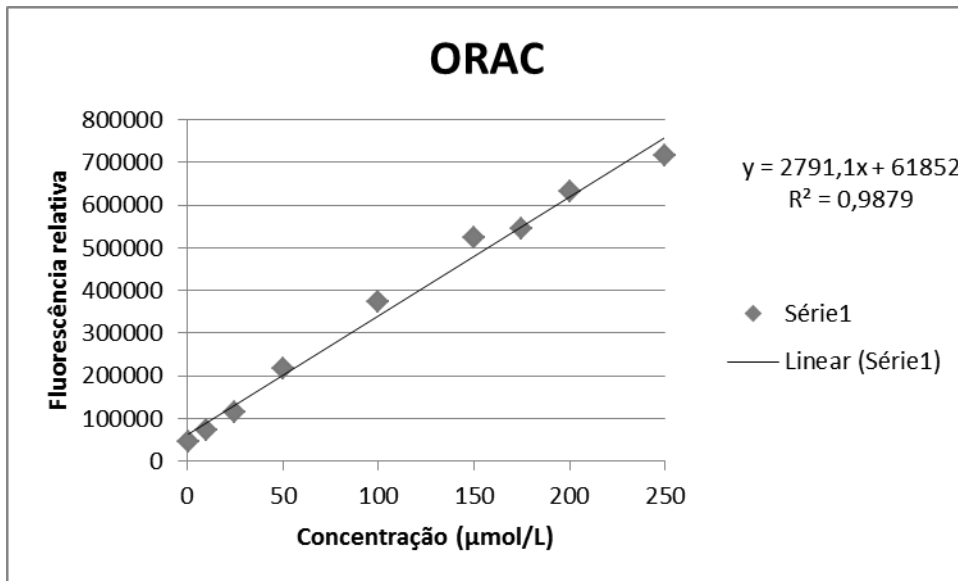


Figura 36 – Curva de calibração para o método de determinação de antioxidantes ORAC por espectrofotometria em microplaca (excitação: 485nm; emissão: 520nm).

### TEAC

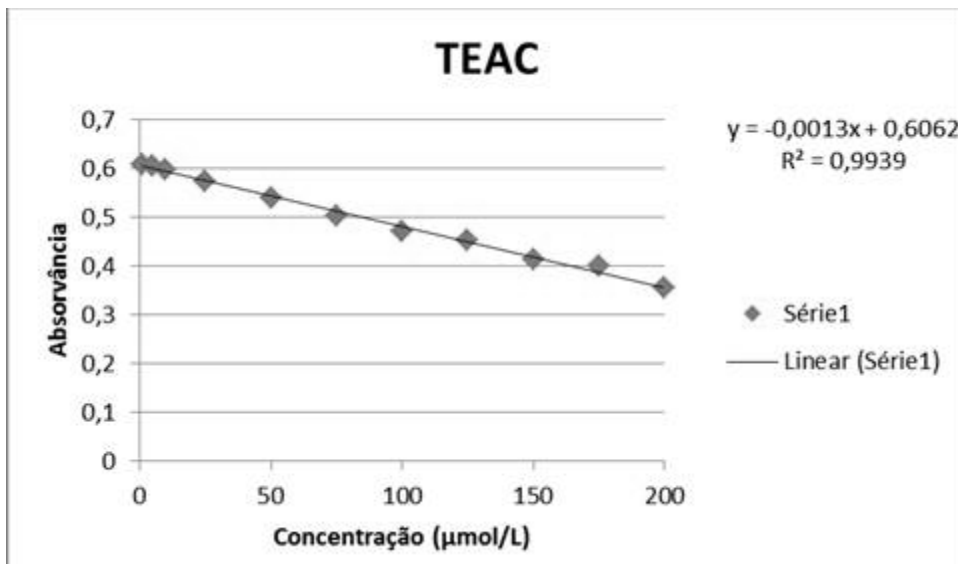


Figura 37 – Curva de calibração para o método de determinação de antioxidantes TEAC por espectrofotometria em microplaca (absorvância a 730nm).





## **Anexo C (Caraterização físico-química por extrato seco)**

A Tabela 22 abaixo representa os valores obtidos nas análises físico-químicas por base seca [médias ( $\pm$  desvio padrão)], ou tendo em conta o teor de humidade média de cada doce.

Tabela 22 – Parâmetros físico-químicos dos produtos finais por base seca.

Valor Calórico		Doce com sementes				Doce sem sementes			
		Baixo		Alto		Baixo		Alto	
[Pectina]		baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta	baixa	alta
Análise / Descrição		Doce A	Doce B	Doce C	Doce D	Doce E	Doce F	Doce G	Doce H
Açúcares	Glucose (g/100g)	15,90 ( $\pm 0,41$ )	14,52 ( $\pm 0,16$ )	7,69 ( $\pm 0,32$ )	8,09 ( $\pm 0,36$ )	16,65 ( $\pm 0,43$ )	17,19 ( $\pm 0,16$ )	8,54 ( $\pm 0,09$ )	7,04 ( $\pm 0,13$ )
	Frutose (g/100g)	21,38 ( $\pm 2,97$ )	21,54 ( $\pm 0,40$ )	10,63 ( $\pm 0,54$ )	10,68 ( $\pm 0,29$ )	25,12 ( $\pm 0,33$ )	25,67 ( $\pm 0,50$ )	11,66 ( $\pm 0,20$ )	10,26 ( $\pm 0,14$ )
	Sacarose (g/100g)	28,85 ( $\pm 7,29$ )	33,40 ( $\pm 1,62$ )	65,97 ( $\pm 1,33$ )	57,87 ( $\pm 1,40$ )	38,67 ( $\pm 1,21$ )	37,71 ( $\pm 1,72$ )	60,77 ( $\pm 2,44$ )	66,29 ( $\pm 0,54$ )
Ácido ascórbico [mg/100g]		633,11 ( $\pm 42,14$ )	679,43 ( $\pm 44,85$ )	382,11 ( $\pm 140,18$ )	366,54 ( $\pm 85,25$ )	495,72 ( $\pm 92,76$ )	519,26 ( $\pm 106,54$ )	409,36 ( $\pm 93,37$ )	365,90 ( $\pm 46,00$ )
Fenóis totais [EAG/100g]		537,14 ( $\pm 36,60$ )	474,54 ( $\pm 44,76$ )	888,89 ( $\pm 127,33$ )	1 129,33 ( $\pm 73,50$ )	500,42 ( $\pm 27,56$ )	413,99 ( $\pm 15,41$ )	1 200,75 ( $\pm 104,86$ )	1 291,63 ( $\pm 146,62$ )
Antioxidantes	TEAC [ET mmol/100g]	10,07 ( $\pm 0,78$ )	7,45 ( $\pm 2,02$ )	14,08 ( $\pm 1,79$ )	13,52 ( $\pm 2,31$ )	7,57 ( $\pm 0,47$ )	5,42 ( $\pm 0,41$ )	11,66 ( $\pm 2,67$ )	11,88 ( $\pm 1,63$ )
	ORAC [ET mmol/100g]	4,26 ( $\pm 0,33$ )	3,97 ( $\pm 0,45$ )	1,94 ( $\pm 0,50$ )	2,53 ( $\pm 0,73$ )	3,83 ( $\pm 0,38$ )	3,42 ( $\pm 0,20$ )	2,19 ( $\pm 0,20$ )	2,03 ( $\pm 0,18$ )
	FRAP [mmol Fe <sup>2+</sup> /100g]	2,17 ( $\pm 0,14$ )	2,17 ( $\pm 0,13$ )	11,79 ( $\pm 0,96$ )	13,51 ( $\pm 0,86$ )	2,07 ( $\pm 0,13$ )	2,03 ( $\pm 0,08$ )	12,60 ( $\pm 0,89$ )	13,46 ( $\pm 0,89$ )
Fibra bruta (%)		11,87 ( $\pm 1,77$ )	10,22 ( $\pm 1,59$ )	5,78 ( $\pm 0,20$ )	4,58 ( $\pm 0,42$ )	3,44 ( $\pm 0,65$ )	2,74 ( $\pm 0,44$ )	1,57 ( $\pm 0,08$ )	1,54 ( $\pm 0,30$ )
Gordura total (%)		0,82 ( $\pm 1,38$ )	0,54 ( $\pm 0,67$ )	0,09 ( $\pm 0,10$ )	0,00 ( $\pm 0,00$ )	0,32 ( $\pm 0,28$ )	0,34 ( $\pm 0,63$ )	0,03 ( $\pm 0,02$ )	0,12 ( $\pm 0,18$ )
Proteína (%)		0,12 ( $\pm 0,03$ )	0,13 ( $\pm 0,04$ )	0,07 ( $\pm 0,01$ )	0,06 ( $\pm 0,01$ )	0,05 ( $\pm 0,00$ )	0,06 ( $\pm 0,00$ )	0,02 ( $\pm 0,00$ )	0,01 ( $\pm 0,00$ )



## **Anexo D (Tabelas de correlação)**

As tabelas abaixo apresentam as correlações nas variáveis de textura (Tabela 23), cor (Tabela 24) e açúcar (Tabela 25), em que as células marcadas a cinzento representam correlações significativas ( $p < 0,05$ ).

Tabela 23 – Correlação multifatorial com as variáveis de textura.

	Tipo de pectina	Concentração de pectina	Sementes	Dureza	Adesividade	Coabilidade
Tipo de pectina	1,00	0,02	0,02	0,67	0,50	-0,45
Concentração de pectina	0,02	1,00	-0,02	0,45	0,57	-0,11
Sementes	0,02	-0,02	1,00	-0,31	0,08	0,61
Dureza	0,67	0,45	-0,31	1,00	0,78	-0,64
Adesividade	0,50	0,57	0,08	0,78	1,00	-0,22
Coabilidade	-0,45	-0,11	0,61	-0,64	-0,22	1,00

Tabela 24 – Correlação multifatorial com as variáveis de cor.

	Tipo de pectina	Concentração de pectina	Sementes	Cor L*	Cor a*	Cor b*
Tipo de pectina	1,00	0,00	-0,00	-0,00	-0,11	-0,13
Concentração de pectina	0,00	1,00	-0,00	-0,04	-0,18	-0,07
Sementes	-0,00	-0,00	1,00	0,53	-0,90	0,58
Cor L*	-0,00	-0,04	0,53	1,00	-0,62	0,92
Cor a*	-0,11	-0,18	-0,90	-0,62	1,00	-0,60
Cor b*	-0,13	-0,07	0,58	0,92	-0,60	1,00

Tabela 25 – Correlação multifatorial com as variáveis de açúcar.

	Tipo de pectina	Concentração de pectina	Sementes	Glucose	Frutose	Sacarose
Tipo de pectina	1,00	0,03	0,03	-0,87	-0,93	0,99
Concentração de pectina	0,03	1,00	0,03	-0,27	-0,20	-0,01
Sementes	0,03	0,03	1,00	0,02	0,12	0,07
Glucose	-0,87	-0,27	0,02	1,00	0,97	-0,88
Frutose	-0,93	-0,20	0,12	0,97	1,00	-0,92
Sacarose	0,99	-0,01	0,07	-0,88	-0,92	1,00