



Faculdade de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Hortofruticultura

Conservação do medronho em fresco e em geleia

Mestrado em Hortofruticultura

Adriana Cavaco Guerreiro

Faro 2012



Faculdade de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Hortofruticultura

Conservação do medronho em fresco e em geleia

Adriana Cavaco Guerreiro

Dissertação apresentada à Universidade do Algarve para obtenção do Grau de Mestre em Hortofruticultura

Orientadores:

Prof^a Maria Dulce Carlos Antunes

Prof^a Maria da Graça Costa Miguel

Doutora Custódia Maria Luís Gago

Faro 2012

Agradecimentos

É com enorme prazer, que ao entregar este trabalho, agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram e ajudaram à sua realização e conclusão.

Em primeiro lugar, agradeço às minhas orientadoras Professora Maria Dulce Carlos Antunes, Professora Maria da Graça Costa Miguel e Doutora Custódia Maria Luís Gago por toda a ajuda e incentivo na realização do trabalho prático e escrito, pela permanente disponibilidade e acima de tudo pela amizade demonstrada.

À Professora Maria Leonor Faleiro, pela disponibilidade, pelos conhecimentos transmitidos e pelo auxílio prestado.

Por último, mas não menos importante, agradeço a todas as pessoas da minha família e amigos que me apoiaram incondicionalmente. Ao David por ser único, por sempre me encorajar, acompanhar e partilhar todas as ocasiões comigo, o que foi crucial para ultrapassar certas dificuldades inesperadas e momentos marcantes desta odisséia.

À minha mãe por todo o apoio, coragem, força e amor incondicional, por nunca me deixar desistir e por ter sempre uma palavra positiva. Ao meu pai, que à sua maneira soube demonstrar o seu carinho, apoio e amor sem limites. Aos dois agradeço por chegar até aqui.

A todos vós, um Muito Obrigada!

Resumo

O medronheiro (*Arbutus unedo* L.) é um arbusto nativo da região mediterrânica, estando distribuído por todo o território nacional. Na medicina tradicional, diversas partes da planta têm sido usadas, nomeadamente as folhas, frutos, casca e raízes, no tratamento de uma grande diversidade de doenças.

Neste momento a utilização principal dos frutos do medronheiro é para aguardente de medronho, sendo de importância procurar meios para a sua valorização através de utilizações alternativas. Assim, este trabalho pretende contribuir para essa valorização, estudando a qualidade do fruto para utilização em fresco e em geleias.

Para o estudo do fruto fresco e da geleia foram utilizadas amostras homogéneas de medronhos (*Arbutus unedo* L), no estado óptimo de maturação à colheita definido pela coloração e pela firmeza apresentadas. No caso do fruto realizaram-se duas colheitas, em meados de Outubro (1ºEnsaio) e no final de Novembro (2ºEnsaio). Os frutos foram armazenados em cuvetes de polietileno expandido e cobertas por dois tipos de película, uma de polietileno linear de baixa densidade com 10 µm de espessura e outra película perfurada com 10 mm de diâmetro, tendo cada cuvette 8 furos. Cada cuvette continha 15 frutos e representava um replicado. Por fim, as cuvetes foram armazenadas em varias câmaras de refrigeração a 0°C, 3°C e 6°C. Ao fim de 0, 3, 7 e 10 dias (1ºEnsaio) e 0, 4, 10 e 15 dias (2ºEnsaio), os frutos foram retirados para análise.

Para o processo de fabrico da geleia foi utilizado 1 kg de Medronho, 500mL de água e 1 kg de açúcar. Foram feitos 2 tipos de geleia, tradicional (só com medronho e açúcar) e juntando-se ácido cítrico (0.1%) e pectina (1%). Após a transformação, a geleia foi armazenada em frascos de vidro, e procedeu-se à sua pasteurização. A geleia foi armazenada à temperatura ambiente e a 6°C. As análises foram realizadas após 0, 2, 4 e 6 meses.

Em todos os ensaios e após o tempo de armazenamento, foram analisadas as características qualitativas. Cor (L*, a*, b*), firmeza, °Brix, actividade antioxidante pelos métodos TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) e oxigénio singleto, compostos fenólicos (fenóis totais, antocianinas, taninos), ácido ascórbico, carotenóides (β-Caroteno), açúcares (glucose e frutose) e etanol. Foram também feitos painéis de provadores.No caso da geleia efectuou-se ainda análise microbiológica (microrganismos mesófilos, psicrófilos e fungos e leveduras).

A utilização dos frutos, para fresco ou para transformação, apresenta-se como uma alternativa viável de rendimento em complemento à produção de aguardente de

medronho. Em relação à temperatura de conservação para frutos frescos verifica-se que a 0°C apresenta resultados nas análises físicas e químicas mais estáveis ao longo do tempo de conservação, pelo que foi considerada a temperatura óptima de conservação. Quanto às películas utilizadas não se verificou diferenças significativas entre ambas, tendo em atenção o tempo máximo de conservação no presente estudo (15 dias).

No caso da geleia de medronho, verifica-se que a geleia tradicional apresenta resultados nas análises físicas e químicas mais estáveis ao longo do tempo de conservação. Nesta situação a utilização de ácido cítrico e pectina teve benefício, pelo que não se justifica a sua adição. Em relação à temperatura de conservação da geleia, não existe necessidade de colocá-la no frio (6°C), podendo ser conservada à temperatura ambiente (20-23 °C) pelo menos durante 6 meses.

Palavras-chave: Medronho, *Arbutus unedo* L., geleia de medronho, actividade antioxidante, consumo em fresco, qualidade, conservação.

Abstract

The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) is a shrub native to the Mediterranean region, being distributed throughout the national territory. In traditional medicine, various parts of the plant have been used, including leaves, fruits, bark and roots to treat a wide variety of diseases.

Right now the main use of the fruits of strawberry tree is to “fairy water”, being important to find means for its recovery by alternative uses. This work aims to contribute to this enhancement, by studying the quality of the fruit for consumption as fresh and as jams.

For the study of fresh fruit and jam were used homogeneous samples of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) in the state of optimum harvest maturity defined by color and by the firmness. In the case of the fruit were done two harvests: one in mid-October (1st Experiment), and at the end of November (2nd Experiment). The fruits were stored in polyethylene foam trays and covered with two types of film: a linear low density polyethylene with 10 µm thick and a perforated film 10 mm in diameter, with 8 holes in each tray. Each tray contained 15 fruits and represented a replicate. Finally, the trays were stored in several cooling chambers at 0 °C, 3 °C and 6 °C. After 0, 3, 7 and 10 days (1st Experiment), and 0, 4, 10 and 15 days (2nd Experiment), the fruits were removed for analysis.

For the manufacturing process of the jelly was used 1 kg of strawberry tree fruits, 500 mL of water and 1 kg of sugar. We made two kinds of jams, traditional (only with sugar and strawberry tree fruit) and joining citric acid (0.1%) and pectin (1%). After processing, the jam was stored in glass bottles, and preceded to its pasteurization. The jelly was stored at room temperature and 6 °C. Analyses were performed after 0, 2, 4 and 6 months.

In all experiments and after each storage time, fruits were analyzed for color, firmness, °Brix, antioxidant activity by the methods TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) and singlet oxygen, phenolics compounds (total phenolics, anthocyanins, tannins), ascorbic acid, β-carotene, sugars (glucose and fructose) and ethanol. In the case of the jam were measured the qualitative characteristics such as color, firmness, °Brix, antioxidant activity by TEAC methods, ORAC and singlet oxygen, total phenolics, sugars (glucose and fructose) and microbiological analysis were carried out (microorganisms mesophyll, psicophyll and fungi and yeasts).

The alternative use of fruits, fresh or for processing, presents itself as a viable alternative income to complement the production of “fairy water” of strawberry tree

fruits. Regarding the storage temperature, was verified that the 0 °C gives results in physical and chemical analysis more stable over storage time, so it was considered the optimum temperature for the films used in storage. The films used had no significant differences between them, during the time in this study (15 days).

In the case of jams from strawberry tree fruits, it appears that the traditional jam presents results in physical and chemical analysis more stable over the storage time. In this situation the use of citric acid and pectin did not had the expected benefit, so is not justified its addition. Regarding the storage temperature of jam, there is no need to put it in the cold (6 °C) and can be stored at room temperature (20-23 °C) for at least 6 months.

Keywords: strawberry tree fruits, *Arbutus unedo* L., jam of strawberry tree fruits, antioxidant activity, fresh consumption, quality and conservation.

Índice Geral

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Interesse da Espécie	3
2.1.1. Classificação botânica	5
2.1.2. Distribuição Geográfica.....	6
2.1.3. Caracterização Botânica.....	7
2.1.4. Aspectos Ecológicos.....	10
2.2. Maturação do Fruto e Colheita.....	12
2.3. Fisiologia pós-colheita de hortofrutícolas	13
2.4. Armazenamento	15
2.4.1. Conservação pelo frio – Refrigeração.....	15
2.4.2. Atmosfera modificada	16
2.5. Parâmetros gerais de qualidade	16
2.6. Geleia	18
2.6.1. Conservação	18
2.6.1.1. Conservação tradicional	18
2.6.1.2. Ácido Cítrico	19
2.6.1.3. Efeito da pectina.....	20
2.7. Actividade antioxidante	21
3. Material e Métodos	24
3.1. Material vegetal e preparação das amostras	24
3.2. Parâmetros Gerais de Qualidade.....	25
3.2.1. Cor	25
3.2.2. Firmeza	26
3.2.3. °Brix.....	26
3.2.4. Perda de Peso.....	26
3.2.5. Painel de Provadores	27
3.3. Compostos Fenólicos	27
3.3.1. Antocianinas.....	27
3.3.2. Fenóis Totais e taninos.....	28
3.4. Actividade Antioxidante.....	31
3.4.1. Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)	31
3.4.2. Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).....	33
3.4.3. Oxigénio Singuleto.....	34

3.5.	Ácido Ascórbico	36
3.6.	β -Caroteno.....	37
3.7.	Açúcares (Glucose e Frutose)	39
3.8.	Etanol	41
3.9.	Análise Microbiológica	43
4.	Resultados e Discussão	44
4.1.	Fruto	44
4.1.1.	Parâmetros gerais de qualidade	44
4.1.1.1.	Luminosidade (L^*)	44
4.1.1.2.	Parâmetro de cor a^*	46
4.1.1.3.	Parâmetro de cor b^*	48
4.1.1.4.	Hue (h°).....	50
4.1.1.5.	Croma (C^*)	52
4.1.1.6.	Firmeza	54
4.1.1.7.	$^\circ$ Brix.....	56
4.1.1.8.	Perda de peso	58
4.1.2.	Compostos Fenólicos	60
4.1.2.1.	Fenóis Totais.....	60
4.1.2.2.	Antocianinas.....	62
4.1.2.3.	Taninos.....	64
4.1.3.	Actividade antioxidante	66
4.1.3.1.	Método TEAC(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)	66
4.1.3.1.1.	Extracto Etanólico.....	66
4.1.3.1.2.	Extracto Metanólico	68
4.1.3.1.3.	Extracto obtido com Hexano.....	70
4.1.3.2.	Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)	72
4.1.3.2.1.	Extracto Etanólico.....	72
4.1.3.2.2.	Extracto Metanólico	74
4.1.3.3.	Oxigénio Singuleto	76
4.1.3.3.1.	Extracto Etanólico.....	76
4.1.3.3.2.	Extracto Metanólico	77
4.1.3.3.3.	Extracto com hexano	79
4.1.4.	Ácido Ascórbico	81
4.1.5.	Carotenóides	83
4.1.5.1.	β -Caroteno	83

4.1.6.	Açúcares	85
4.1.6.1.	Glucose	85
4.1.6.2.	Frutose	87
4.1.7.	Etanol	89
4.1.8.	Análise Sensorial - Painel de Provedores	91
4.1.8.1.	1ºEnsaio	91
4.1.8.2.	2ºEnsaio	92
4.1.8.2.1.	Aparência do fruto	92
4.1.8.2.2.	Aparência da polpa.....	93
4.1.8.2.3.	Aroma.....	94
4.1.8.2.4.	Textura	95
4.1.8.2.5.	Doçura.....	96
4.1.8.2.6.	Acidez	97
4.1.8.2.7.	Sabor.....	98
4.2.	Geleia	99
4.2.1.	Parâmetros gerais de qualidade	99
4.2.1.1.	Luminosidade L*	99
4.2.1.2.	Parâmetro de cor a*	100
4.2.1.3.	Parâmetro de cor b*	101
4.2.1.4.	Hue (h°)	102
4.2.1.5.	Croma (C*)	103
4.2.1.6.	Firmeza	104
4.2.1.7.	°Brix.....	105
4.2.2.	Compostos Fenólicos	106
4.2.2.1.	Fenóis Totais.....	106
4.2.3.	Actividade antioxidante	108
4.2.3.1.	Método TEAC(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)	108
4.2.3.2.	ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)	109
4.2.3.3.	Oxigénio Singuleto	110
4.2.4.	Açúcares	111
4.2.4.1.	Glucose	111
4.2.4.2.	Frutose	112
4.2.5.	Análise Microbiológica	113
4.2.5.1.	Mesófilos e Psicrófilos	113
4.2.5.2.	Avaliação quantitativa de Fungos e Leveduras.....	114

4.2.6.	Painel de Provadores	116
4.2.6.1.	Aparência	116
4.2.6.2.	Aroma.....	117
4.2.6.3.	Textura	118
4.2.6.4.	Doçura.....	119
4.2.6.5.	Acidez	120
4.2.6.6.	Sabor.....	121
6.	Bibliografia.....	124
7.	Anexos	129

Índice de Figuras

Figura.1- Localização do medronheiro.....	7
Figura. 2- O medronheiro.....	7
Figura. 3- Folha do medronheiro.....	8
Figura. 4- Flores do medronheiro.....	8
Figuras. 5 e 6- Medronhos.....	9
Figura. 7- Copa do medronheiro (<i>Arbutus unedo L.</i>).....	10
Figura. 8: Padrão respiratório e evolução da taxa de produção de etileno em órgãos climactéricos e não-climactéricos.....	14
Figura.9: Componentes antioxidantes presentes no medronheiro (<i>Arbutus unedo L.</i>)	23
Figura 10- Sistema de cores CIELab (Anónimo, 2011d).	25
Figura.11: Curva padrão determinada para os Fenóis Totais.....	29
Figura.12: Curva padrão determinada para TEAC a partir do extracto metanólico e etanólico	32
Figura.13: Curva padrão determinada para TEAC a partir do extracto hexânico.....	32
Figura.14: Curva padrão determinada para ORAC	34
Figura.15: Curva padrão para o β -Caroteno.....	38
Figura.16: Luminosidade (L^*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no medronho. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições. PPL – película de polietileno linear; PP – película perfurada	45
Figura.17: Cor (a^*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	47
Figura.18: Cor (b^*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	49
Figura.19: Cor (h^0) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	51
Figura.20: Cor (C^*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	53
Figura.21: Firmeza (N) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.....	55
Figura.22: Sólidos solúveis totais ($^{\circ}$ Brix) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.....	57

Figura.23: Perda de Peso (% peso perdido) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	59
Figura.24: Fenóis Totais (mg/ 100g GAE) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	61
Figura.25: Antocianinas (mg/ 100g Cyanidin-3-glucoside) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	63
Figura.26: Taninos (mg/ 100g GAE) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	65
Figura.27: Actividade antioxidante determinada a partir do método TEAC em extracto etanólico (mM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	67
Figura.28: Actividade antioxidante determinada a partir do método TEAC em extracto metanólico (mM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	69
Figura.29: Actividade antioxidante determinada a partir do método TEAC em extracto hexânico (mM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	71
Figura.30: Actividade antioxidante dos extractos etanólico determinada usando o método ORAC (mM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	73
Figura.31: Actividade antioxidante dos extractos metanólico determinada usando o método ORAC (mM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	75
Figura.32: Oxigénio Singuleto em extracto etanólico (% inibição) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	76
Figura.33: Oxigénio Singuleto em extracto metanólico (% inibição) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	78
Figura.34: Oxigénio Singuleto em extracto com hexano (% inibição) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	80

Figura.35: Vitamina C – Ácido Ascórbico (mg/ 100g Acido Ascórbico) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	82
Figura.36: β -caroteno (mg/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	84
Figura.37: Glucose (g/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	86
Figura.38: Frutose (g/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	88
Figura.39: Etanol (g/100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	90
Figura.40: Painel de Provadores efectuado no tempo inicial, registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média ± erro padrão.	91
Figura.41: Painel de Provadores referente à aparência do fruto registada durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.	92
Figura.42: Painel de Provadores referente à aparência da polpa durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.	93
Figura.43: Painel de Provadores referente ao aroma registado durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.	94
Figura.44: Painel de Provadores referente à textura registada durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.	95
Figura.45: Painel de Provadores referente à doçura registada durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.	96
Figura.46: Painel de Provadores referente à acidez registada durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.	97
Figura.47: Painel de Provadores referente ao sabor registado durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.	98
Figura.48: Luminosidade (L^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	99
Figura.49: Cor (a^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	100
Figura.50: Cor (b^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	101
Figura.51: Cor (h^0) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	102
Figura.52: Cor (C^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.	103

Figura.53: Firmeza (N) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	104
Figura.54: Sólidos solúveis totais(°Brix) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.....	105
Figura.55: Fenóis Totais (mg/ 100g GAE) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	107
Figura.56: Actividade antioxidante determinada usando o método TEAC em extracto metanólico (mM TE/ 100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.....	108
Figura.57: Actividade antioxidante determinada usando o método ORAC em extracto metanólico (μ M TE/ 100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.....	109
Figura.58: Oxigénio Singuleto em extracto metanólico (% inibição) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	110
Figura.59: Glucose (g/ 100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	111
Figura.60: Frutose (g/ 100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	112
Figura.61: Determinação de microrganismos mesófilos (Log_{10} UFC/g) da geleia de medronho durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	114
Figura.62: Determinação do número de fungos e leveduras (UFC/g) em geleia de medronho durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.	115
Figura.63: Painel de Provadores referente à aparência para a geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.	116
Figura.64: Painel de Provadores referente ao aroma para a geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.	117
Figura.65: Painel de Provadores referente à textura para a geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.	118
Figura.61: Painel de Provadores referente à doçura para a geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.	119
Figura.67: Painel de Provadores referente à acidez para a geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.	120
Figura.68: Painel de Provadores referente ao sabor para a geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.	121

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Classificação taxonómica da espécie <i>Arbutus unedo</i> L.	6
Tabela.2: Factores de qualidade	17
Quadro 3 - Mecanismos de acção dos antioxidantes	21

1. INTRODUÇÃO

O medronheiro (*Arbutus unedo* L.) é um arbusto nativo da região mediterrânica, estando distribuído por todo o território nacional. Na medicina tradicional, diversas partes da planta têm sido usadas, nomeadamente as folhas, frutos, casca e raízes, no tratamento de uma grande diversidade de doenças. Acresce ainda o interesse ecológico e económico desta planta, sendo os seus frutos usados no fabrico de aguardente de medronho.

Apesar de todas estas aplicações e potencialidades, o medronheiro tem vindo lentamente a desaparecer, pelo que urge encontrar meios que valorizem esta espécie vegetal.

A utilização alternativa dos frutos, para fresco ou para transformação, apresenta-se como uma alternativa viável de rendimento. Esta possibilidade não foi explorada até ao momento, embora alguns estudos prévios tenham mostrado que o fruto tem propriedades nutricionais interessantes que nos indicam ser um potencial para aumentar a rentabilidade dos produtores.

O medronheiro é um arbusto pertencente à família *Ericaceae*, e ao género *Arbutus*. Encontra-se distribuída por países da orla mediterrânica, nomeadamente todo o sul da Europa, norte de África e Palestina. Pode ainda encontrar-se distribuída por países da orla atlântica, tais como Irlanda e Macaronésia (Canárias). (Celikel *et al.*, 2008). Em Portugal existe preponderantemente a sul do rio Tejo nomeadamente na região da Serra do Caldeirão e Monchique (Algarve), podendo contudo, encontrar-se difundido por todo o país, inclusive em Trás-os-Montes. (Pedro, 1994).

São várias as partes desta planta com aplicações quer na produção de geleias, compotas, aplicação em pastelaria e produção de aguardente para o caso dos frutos (medronho) e aplicação em fitoterapia, nomeadamente folhas, frutos, cascas e raízes.

A nível nacional existe pouca informação acerca desta espécie. Os trabalhos desenvolvidos dizem respeito sobretudo à produção e caracterização de aguardentes de medronho e da composição dos frutos, mas tendo como objectivo melhorar a produção desta bebida.

Neste sentido, com este trabalho pretendeu-se assim, contribuir para aumentar o conhecimento sobre a utilização alternativa dos frutos de medronheiro, nomeadamente ao nível da composição química dos frutos e avaliação da sua actividade antioxidante, quando utilizados em fresco ou em geleia.

Deste modo, os objectivos do presente estudo foram otimizar o tempo de conservação dos frutos para consumo em fresco, avaliando os principais parâmetros

de qualidade sensorial e nutricional ao longo do tempo de armazenamento do fruto a diferentes temperaturas e com diferentes películas de cobertura. O segundo objectivo foi utilizar os frutos para geleia elaborada de forma tradicional ou utilizando um conservante.comparando a sua qualidade ao longo do tempo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Interesse da Espécie

O medronheiro é uma das poucas espécies que conseguiu suportar os períodos frios do Quaternário e adaptar-se ao clima mediterrânico, onde apresenta sucesso na colonização de ambientes diversos (Silva, 2007). Desde há muito que o medronheiro se desenvolve espontaneamente, quase sem intervenção humana, nas encostas das serras do Algarve e do sul do Baixo Alentejo, uma vez que é nesta zona do país que esta espécie encontra excelentes condições de vegetação e se encontra perfeitamente adaptada. (Tapum, 1982).

A exploração do medronheiro está fortemente enraizada nos hábitos culturais destas populações. A contribuição mais relevante a nível económico e social é a produção de aguardente, centrando-se nas regiões serranas do Algarve, Serra do Caldeirão e Serra de Monchique e na região Centro (Pampilhosa, Sertã e Oleiros). (Cardoso, 2004; Silva, 2007).

Actualmente, a produção de aguardente de medronho, é muito menor do que outrora. No entanto, a procura continua a ser elevada. (Jacinto, 1996).

O medronheiro pode também ser utilizado como combustível, proporcionando carvão vegetal e lenha de boa qualidade (Núñez e Castro, 1991; Cela *et al.*, 2003). Além disso, a madeira, por apresentar boas características, entre as quais se salientam a sua homogeneidade, densidade, dureza e facilidade de manuseamento, é apreciada no torneamento. (Ferreira e Gonçalves, 2001).

Recentemente, tem-se registado uma crescente procura de folhagem para arranjos florais e decorações (Correia e Varela, 1996; González, 2006), expandindo-se assim o interesse da espécie como ornamental (Correia e Varela, 1996; González, 2006; Smets e Pyck, 2006). Em tempos antigos, esta espécie ornamental era utilizado pelos Romanos, nomeadamente nos seus jardins. (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001). Os ramos mais jovens são utilizados na cestaria, as folhas podem servir para forragem e as folhas e cascas podem ser utilizadas na indústria de curtumes. (Núñez e Castro, 1991; Cardoso, 2004; González, 2006). Devido à abundância da sua floração, o medronheiro é uma espécie com interesse do ponto de vista apícola, pois as abelhas procuram o néctar das suas flores, o que a torna numa excelente planta melífera. (Núñez e Castro, 1991; Correia e Varela, 1996). O mercado é deficitário relativamente à procura de

ramos e fruto, o que levou alguns países (Espanha, Itália e Grécia) a encetar programas de melhoramento. (Torres *et al.*, 2002).

O medronheiro é igualmente importante na preservação e protecção da flora e do património paisagístico (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001), de tal modo que se tem vindo a potenciar o seu efeito como espécie de compartimentação de terrenos e de fauna (Correia e Oliveira, 2002) e a expandir o seu uso como espécie ornamental.

Esta planta é ainda tolerante ao stresse hídrico e ao frio e tem um grande potencial de regeneração, uma característica particularmente importante nas regiões em que os fogos são frequentes como é o caso das regiões do sul da Europa. (Mereti *et al.*, 2002). Numa perspectiva ecológica, contribui para a biodiversidade da fauna, combate a erosão dos solos e coloniza facilmente solos marginais. (Piotto *et al.*, 2001; Ferreira *et al.*, 2005).

Do ponto de vista ambiental, tem uma excelente acção ao nível da fixação, da melhoria e protecção dos solos devido ao seu sistema radicular ser extremamente ramificado, à libertação de matéria orgânica pela decomposição das folhas e à densidade da sua copa.

Tal como muitas outras espécies, o medronheiro também tem sido utilizada na medicina popular. Pabuçcuoglu *et al.* (2003) refere que tisanas preparadas a partir das folhas têm efeitos diuréticos. As folhas do medronheiro são utilizadas na medicina popular. Pabuçcuoglu *et al.* (2003) refere que tisanas preparadas a partir das folhas têm efeitos diuréticos. mas outras propriedades têm sido descritas: anti-sépticas urinárias, anti-diarreicas, adstringentes, depurativas, anti-hipertensivas e anti-bleorrágicas (Ziyat e Boussairi, 1998; Ziyat *et al.*, 2002; Pabuçcuoglu *et al.*, 2003; Legssyer *et al.*, 2004; Pawlowska *et al.*, 2006) e também na terapia de diabetes. (Legssyer *et al.*, 2004).

Os frutos desta planta são comestíveis quando estão totalmente maduros, ou seja, apresentam coloração vermelho escuro (no Outono), sendo raramente ingeridos quando são imaturos. Tal como já foi referido, têm alguma importância económica na agricultura local pois são utilizados para a produção de bebidas alcoólicas, altamente apreciadas, tais como vinhos, licores, brandis e a famosa aguardente de medronho. Os frutos podem ainda ser utilizados na produção de conservas, compotas, geleias, marmeladas, iogurtes ou usados na doçaria tradicional na confecção de tartes, recheios, entre outras aplicações. (Pawlowska *et al.*, 2006).

2.1.1. Classificação botânica

O nome da espécie *Arbutus unedo*, provém do latim *arbor* que significa em português árvore, empregado como diminutivo de árvore, ou do céltico *arbois* que significa fruto granuloso, pois a superfície é rugosa e tem muitas sementes. (Núñez e Castro, 1991; González, 2006).

O medronho é comestível mas, segundo a crença popular, a sua ingestão em grandes quantidades pode causar problemas digestivos e mal-estar geral, provavelmente devido ao seu conteúdo em álcool quando está muito maduro, daí derivando o restritivo específico *unedo*, do verbo latim *edo*: comer e do numeral *unus*: um só, ou seja, comer apenas um. (Cela *et al.*, 2003; González, 2006).

A designação comum em inglês “strawberry tree” deve-se ao facto do próprio fruto ter semelhanças com o morango e ser comestível, com um paladar muito característico (Burnie *et al.*, 2004). Em Portugal é vulgarmente conhecido como medronheiro, êvedo, ervedeiro ou érvodo (Núñez e Castro, 1991; Burnie *et al.*, 2004; González, 2006).

O medronheiro é um membro da família *Ericaceae* que engloba cerca de 80 géneros e 2000 espécies distribuídas por todo o mundo (Heywood, 1979). O género *Arbutus* inclui cerca de 20 espécies destacando-se, com maior interesse económico, o *Arbutus unedo* (Mereti *et al.*, 2002). Na região mediterrânica existem apenas 4 espécies e dois híbridos: *Arbutus unedo* L., *Arbutus andrachne* L. (região Este), *Arbutus pavarii* Pampanini (Costa da Líbia), *Arbutus canariensis* Veill. (Canárias), *Arbutus* × *andrachnoides* Link (*A. unedo* × *A. andrachne*, região Este) e *Arbutus* × *androsterilis* Salas, Acebes & Arco (*A. unedo* × *A. canariensis*, nas ilhas Canárias). (Torres *et al.*, 2002).

A Taxonomia desta espécie é apresentada na tabela 1. O medronheiro pertence à mesma família de outras espécies bem conhecidas como os membros do género *Vaccinium*, muito procurados pela produção de frutos e os rododendros utilizados como ornamentais. (Sauer, 1993).

Tabela 1 – Classificação taxonómica da espécie *Arbutus unedo* L.

Taxon	Designação
Reino	<i>Plantae</i>
Filo	<i>Tracheophyta</i>
Sub-Filo	<i>Spermatophytina</i>
Infra-Filo	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sub-Classe	<i>Dilleniidae</i>
Super-Ordem	<i>Ericanae</i>
Ordem	<i>Ericales</i>
Família	<i>Ericaceae</i>
Sub-Família	<i>Arbutoideae</i>
Género	<i>Arbutus</i>
Restritivo específico	<i>unedo</i>

2.1.2. Distribuição Geográfica

Arbutus unedo é uma espécie nativa da Irlanda, sul da Europa e da região Oeste do Mediterrâneo (Núñez e Castro, 1991; Burnie *et al.*, 2004; González, 2006). O medronheiro é uma das plantas mais comuns que cresce espontaneamente na bacia do Mediterrâneo (Núñez e Castro, 1991; Ferreira e Gonçalves, 2001; Correia e Oliveira, 2002; Lebreton e Bayet, 2002; Mereti *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2002; Cela *et al.*, 2003), sendo de vulgar ocorrência na Península Ibérica, França, Sul de Itália, Sul da Grécia, em quase todas as ilhas Mediterrânicas, Irlanda, Israel, Noroeste de África, Oeste da Ásia e Macaronésia (Fig. 1). (Núñez e Castro, 1991; Ferreira e Gonçalves, 2001; Torres *et al.*, 2002; Correia e Oliveira, 2002; Cela *et al.*, 2003).

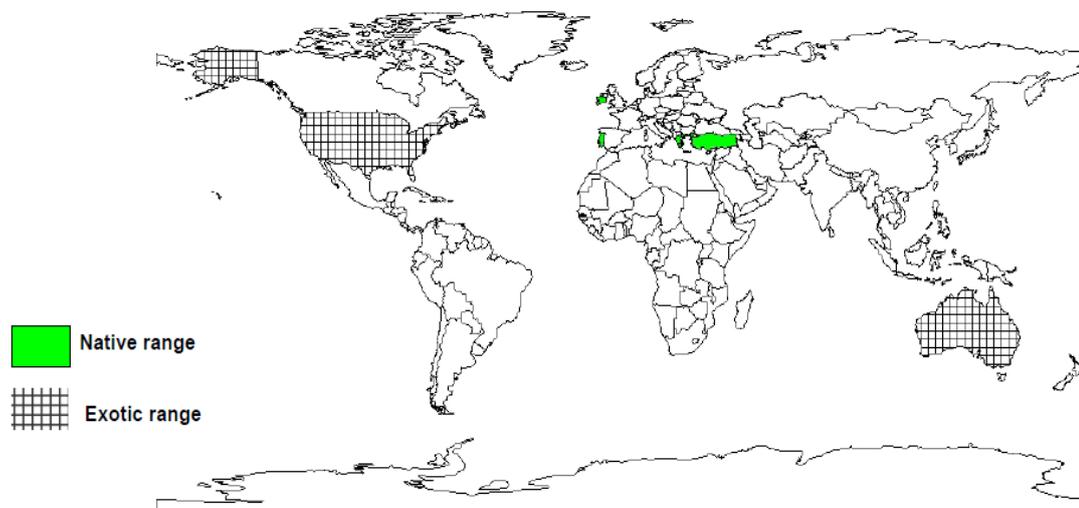


Figura.1- Localização do medronheiro.

2.1.3. Caracterização Botânica

O medronheiro é um arbusto (Fig. 2) ou árvore de pequenas dimensões, podendo atingir os 12 metros de altura, embora a altura média esteja compreendida entre 6 e 8 metros. (Cela *et al.*, 2003; Mereti *et al.*, 2002).

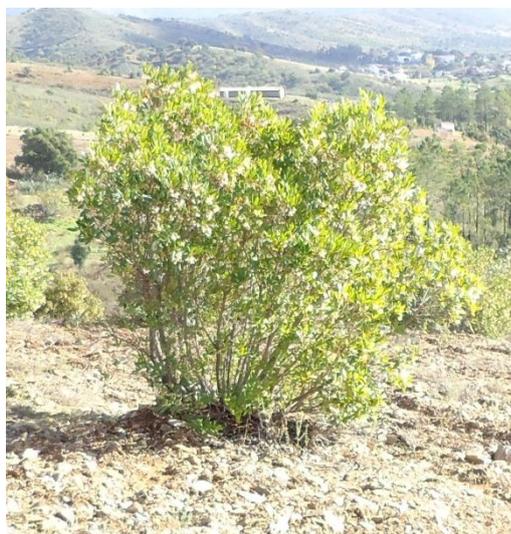


Figura. 2- O medronheiro

O tronco desta planta lenhosa possui um ritidoma pardo avermelhado / acinzentado pardo, fendilhado, escamoso, com pequenas placas que se desprendem facilmente nos exemplares mais antigos. (Cela *et al.*, 2003; González, 2006).

As folhas (Fig. 3) são persistentes, de 4 – 11cm de comprimento, coriáceas, glabras excepto na base, dispostas alternadamente, apresentam contorno oblongo-lanceolado com pecíolo curto, lustrosas, verde-escuro intenso e brilhante na página superior e mais claras na página inferior, com margem serrilhada ou subinteira, muito semelhantes com as do loureiro. (Cela *et al.*, 2003; González, 2006).



Figura. 3- Folha do medronheiro.

As flores (Fig.4) são pequenas, reunidas em panículas ou ramalhetes compostos, bracteados, terminais, pendentes e nutantes. A corola é de cor branca mas surge frequentemente rosada ou esverdeada e tem uma forma em jarro ou de campainha (González, 2006).



Figura. 4- Flores do medronheiro.

O medronho (Figs. 5 e 6) é carnudo, baciforme, de cor verde no início, passando por tons de amarelo a vermelho à medida que amadurece. Quando maduros os frutos apresentam a polpa amarela (Núñez e Castro, 1991; González, 2006) e contêm

numerosas sementes pequenas, angulares e de cor castanha (Castro-Díez *et al.*, 2003).



Figuras. 5 e 6- Medronhos

Os frutos são ricos em algumas vitaminas, incluindo niacinas, vitaminas A e C (Ayaz *et al.*, 2000; Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001). O elevado teor de açúcares (42%) juntamente com o conteúdo em ácidos (8,62%) pode provavelmente explicar o seu sabor agridoce.

Por outro lado, o alto conteúdo de ácido quínico e sua conversão para ácido hipúrico no corpo humano, que se pensa ter efeitos antibacterianos (Hancock *et al.*, 1993; Ayaz *et al.*, 2000; Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001), pode, provavelmente, explicar a sua utilidade em infecções urinárias (Ayaz *et al.*, 2000; Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001).

Apesar dos grandes contrastes climatéricos entre as estações Mediterrâneas, os processos de floração e de frutificação estendem-se desde Outubro até Fevereiro. Além do mais, a mesma população pode manifestar a coexistência de flores e frutos, na mesma época e no mesmo indivíduo (Castro-Díez *et al.*, 1998; Lebreton e Bayet, 2002). Esta ocorrência pode dever-se, quer à variabilidade fisiológica, quer ao polimorfismo bioquímico (Lebreton e Bayet, 2002). É possível contemplar uma copa colorida de grande beleza (Fig. 7), com o verde brilhante das folhas, o branco ou rosa das flores e as cores das diferentes fases de maturação dos frutos (Núñez e Castro, 1991; Ferreira e Gonçalves, 2001; González, 2006).



Figura. 7- Copa do medronheiro (*Arbutus unedo* L.)

2.1.4. Aspectos Ecológicos

Arbutus unedo encontra-se principalmente em matagais, matas, matos, pinhais e orlas de bosques. O medronheiro, devido à degradação da floresta primitiva, é hoje uma das únicas espécies com porte arbóreo em matos perenes, nas orlas de bosques e nas encostas outrora cobertas de carvalhos. As populações podem ser uniformes ou podem crescer associadas a outras espécies, em particular da família Fagaceae, como o *Quercus suber* L. (Neppi, 2001).

Em Portugal Continental o medronheiro é uma espécie espontânea em matos, pinhais e bosques, aparecendo como parte integrante do subcoberto dos povoamentos de sobreiro e de azinheira (Ferreira e Gonçalves, 2001; Correia e Oliveira, 2002), encontrando-se em todo o território, mas principalmente a sul do rio Tejo (Correia e Oliveira, 2002).

O seu *habitat* natural situa-se entre 25° e 38° de Latitude Norte, 15° de Longitude Oeste e 30° de Este do meridiano de Greenwich (Tapum, 1982) e pode ser encontrada desde o nível do mar até aos 1200 m de altitude (Ferreira e Gonçalves, 2001; González, 2006; Silva, 2007).

Esta espécie prefere climas temperados, com Invernos de temperaturas suaves e poucos dias de baixas temperaturas, sendo rara ou inexistente nos locais mais termófilos e secos do mediterrâneo (Tapum, 1982; Silva, 2007). A temperatura média anual deverá ser superior a 12,5 °C e a média mínima entre -12°C e 6°C. Os valores de precipitação média anual podem variar entre os 500 e 1400 mm (Ferreira e Gonçalves, 2001; Correia e Oliveira, 2002; Silva, 2007). As chuvas intensas, desde meados de Janeiro até fins de Março são extremamente perigosas porque destroem

as flores. As chuvas tardias, desde Junho a Agosto podem provocar a queda dos frutos induzindo feridas nas plantas e aumentando, deste modo, a susceptibilidade a invasões de agentes patogénicos (Ferreira e Gonçalves, 2001; Correia e Oliveira, 2002).

O medronheiro pode-se considerar indiferente às características edáficas, embora tenha preferências em relação às propriedades físicas e químicas (Correia e Oliveira, 2002). A nível físico prefere solos frescos, arenosos, siliciosos, feldspáticos, graníticos, calcários (Ferreira e Gonçalves, 2001; Correia e Oliveira, 2002; Torres *et al.*, 2002; González, 2006; Silva, 2007) e também vegeta bem em solos áridos (Martínez-Vilalta *et al.*, 2002). A nível químico prefere solos ácidos, embora vegete também em solos alcalinos (Ferreira e Gonçalves, 2001; Correia e Oliveira, 2002; Mereti *et al.*, 2002; González, 2006; Silva, 2007).

Do ponto de vista ecológico, a capacidade de adaptação do *Arbutus unedo L* sob condições de stresse faz com que esta espécie seja altamente competitiva nas comunidades mediterrânicas (Vitale e Manes, 2005). Esta planta dominante, desenvolve estratégias de crescimento rápido, após a devastação quer por fogo quer por pastoreio, para, posteriormente, usufruir dos recursos disponíveis. Sob altas temperaturas e ausência de água, consegue modular o seu processo fotossintético para evitar perdas de água e conseqüentemente manter os balanços de carbono e hídricos positivos (Vitale e Manes, 2005).

2.2. Maturação do Fruto e Colheita

Ao falar-se de Pós-Colheita imediatamente tem de se fazer referência à maturação do fruto, ou seja a maturação é a componente integral de qualidade. Existem três tipos de maturação: a Maturação fisiológica (estado particular do desenvolvimento da planta ou órgão da planta); Maturação comercial (estado de desenvolvimento da planta ou do órgão da planta tal como é requerido pelo mercado); Maturação organoléptica (estado do produto tal como é apreciado pelo consumidor e que resulta da sensação proveniente da interacção dos sentidos humanos ao consumirem o produto, sobretudo aspecto, sabor, cheiro e textura) (Antunes, 2010).

O estágio de maturação no momento da colheita é de extrema importância para a qualidade pós-colheita dos produtos e deve ser avaliada de acordo com critérios, designados índices de maturação, estabelecidos para cada produto.

A ponderação dos critérios para determinar a data de colheita varia com a cultura e com o sistema de produção. Os critérios que influenciam a decisão de colher são os seguintes (Domingos Almeida, 2005):

- Índices de maturação;
- Produtividade;
- Preços antecipados pelo produtor;
- Condições climáticas no campo.

A qualidade é influenciada pelas operações de colheita devido a:

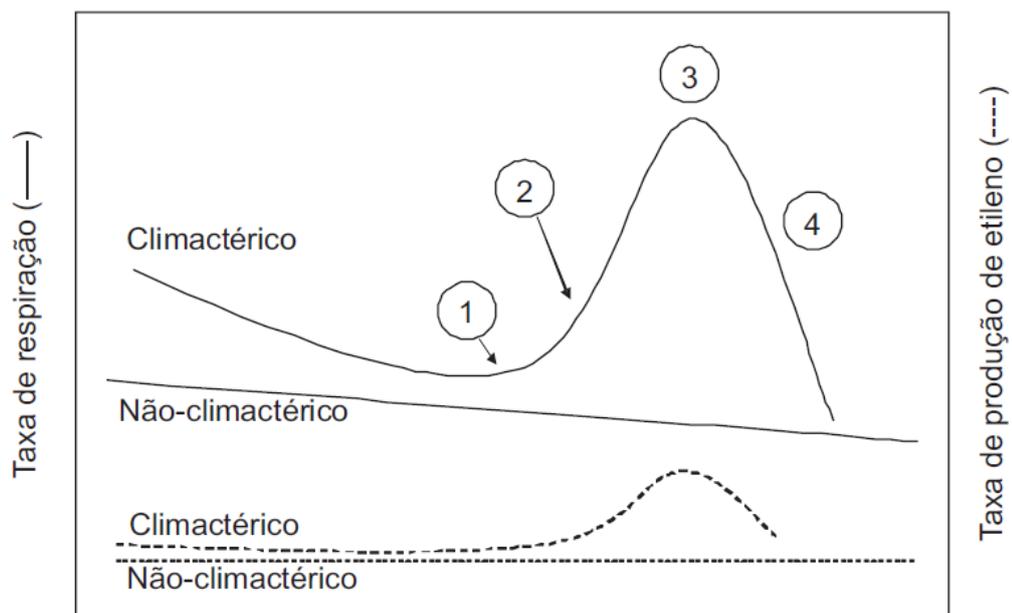
- Ocorrência e severidade dos danos mecânicos e outros stresses físicos;
- Eficiência na selecção de frutas e hortaliças (aceitáveis e não-aceitáveis);
- Temperatura da polpa dos produtos no momento da colheita;
- Tempo que antecede o arrefecimento.

2.3. Fisiologia pós-colheita de hortofrutícolas

Os hortofrutícolas possuem uma elevada perecibilidade e, conseqüentemente, uma vida pós-colheita muito curta. Esta característica, aliada ao manuseio inadequado durante a colheita, transporte e comercialização, provoca perdas acentuadas, decrescendo assim a quantidade e a qualidade do produto que chega ao consumidor.

As células vegetais dos produtos hortofrutícolas continuam vivas após a colheita, produzindo/consumindo energia durante algum tempo. Neste contexto, os processos respiratórios definem o tipo/intensidade dos principais processos fisiológicos pós-colheita, determinando a respectiva longevidade, porque promovem modificações profundas nos padrões de proteínas, glúcidos, lípidos, ácidos orgânicos, vitaminas, minerais e componentes da parede celular (nomeadamente, em hemiceluloses e pectinas). Assim, o controlo da respiração torna-se relevante na conservação de matérias-primas de origem vegetal, porque as mudanças químicas que ocorrem no fruto, na fase pós-colheita, estão directa ou indirectamente, relacionadas com actividades oxidativas e fermentativas (emergindo assim padrões de actividade respiratória específicas) (Eskin 1997).

De acordo com a fisiologia pós-colheita, a fruta pode integrar dois grupos distintos – frutos não-climactéricos e frutos climactéricos. Os frutos climactéricos possuem um rápido aumento de respiração e produção de etileno (autocatálise) numa fase inicial da maturação. Os frutos não-climactéricos não apresentam nenhum aumento na respiração durante o amadurecimento, excepto em situações de stresse (Fig.8). Nos frutos climactéricos o pico de dióxido de carbono (CO_2) é acompanhado do pico de etileno. Numa fase inicial o fruto é pequeno, à medida que atinge um tamanho maior diminui a respiração – pré climactérico. Depois vai ganhando tamanho e está-se perante o aumento climactérico. Por fim existe um pico climactérico no qual ocorre a produção máxima de etileno. Nos não climactéricos não há picos (Lindon, 2008).



Fonte:(Domingos Almeida, 2005)

Figura. 8: Padrão respiratório e evolução da taxa de produção de etileno em órgãos climactéricos e não-climactéricos

2.4. Armazenamento

Segundo Domingos Almeida (2005) num sistema de manuseamento pós-colheita de produtos hortofrutícolas, os produtos são armazenados durante um período variável, que pode ser de algumas horas ou de vários meses. O período de armazenamento depende do produto, das condições de armazenamento, do circuito de comercialização e das oportunidades de mercado.

De forma geral distingue-se:

- Armazenamento de muito curto prazo: horas a dias. O armazenamento é efectuado em câmaras de elevada rotação de produtos, com abertura frequente de portas e conseqüente dificuldade de manter a temperatura óptima. Ocorre em situações de armazenamento doméstico, restauração, retalho, sistemas de *just-in-time*, e centrais de compras e distribuição;
- Armazenamento de curta duração: dias a semanas;
- Armazenamento prolongado: vários meses. Neste caso é possível estabilizar a temperatura da câmara e, num sistema bem dimensionado e operado, manter a temperatura a níveis óptimos (Domingos Almeida, 2005).

A operação de armazenamento, mais ou menos prolongado, está incluída em praticamente todas as cadeias de abastecimento de produtos hortofrutícolas. O armazenamento permite:

- Equilibrar os volumes colhidos e os volumes vendidos;
- Prolongar o período de comercialização;
- Retardar a venda para obter preços superiores;
- Regularizar os mercados, permitindo uma distribuição mais uniforme ao nível do retalho;
- Reduzir a frequência de compra pelo consumidor, empresa de restauração ou intermediários (Domingos Almeida, 2005).

Um produto deve dispor de uma qualidade inicial que lhe permita a vida prevista em armazenamento e ainda uma vida em prateleira compatível com a sua subsequente distribuição e consumo. A vida pós-colheita depende da qualidade do produto, temperatura, humidade relativa, composição da atmosfera e de tratamentos adequados ao produto em causa (Domingos Almeida, 2005).

2.4.1. Conservação pelo frio – Refrigeração

Temperaturas baixas são normalmente desejáveis para o armazenamento dos produtos hortofrutícolas. No entanto, se a temperatura descer abaixo do limite, muitos

produtos deterioram-se devido a alterações fisiológicas causadas pelo frio e que se traduzem no aparecimento de manchas e decomposição dos tecidos. Estas temperaturas mínimas são variáveis consoante o produto e devem ser tidas em atenção quando se colocam os produtos em armazenamento (Antunes, 2010).

A conservação pelo frio (temperaturas próximas e abaixo de 0°C) permite controlar a proliferação microbiológica (retardando ou impedindo-a), assim como reacções químicas e enzimáticas (nos alimentos e microrganismos).

A refrigeração é uma operação que mantém a temperatura do produto entre -1ºe 8°C, reduzindo a velocidade das transformações microbianas e bioquímicas. Neste caso, os impactos sobre as propriedades nutricionais e sensoriais é limitado, contudo os tempos de conservação são, comparativamente à congelação, menores (Lindon, 2008).

2.4.2. Atmosfera modificada

Na atmosfera modificada os produtos hortofrutícolas são fechados em filmes plásticos, recipientes, contentores ou câmaras que apresentam uma determinada permeabilidade aos gases. A alteração da composição da atmosfera é determinada pela taxa de respiração e pela permeabilidade das barreiras (filmes) não sendo monitorizada nem controlada enquanto o produto se encontra no recipiente. A modificação da atmosfera pode ser acelerada introduzindo no contentor ou embalagem uma mistura de gases ou substituindo parte da atmosfera por azoto (Domingos Almeida, 2005).

2.5. Parâmetros gerais de qualidade

Podem existir factores de qualidade que sejam relativamente mais importantes para um grupo de consumidores do que para outro, dependendo por exemplo da nacionalidade, da idade, dos hábitos alimentares, etc. Na qualidade, para além dos factores característicos dos próprios frutos (Tabela 2), podem, eventualmente, intervir a apresentação e aspecto dos frutos no local de venda, assim como a embalagem e os rótulos utilizados.

As características dos frutos mais importantes em termos de qualidade são a aparência, textura, odor e sabor, valor nutritivo e segurança.

Tabela.2: Factores de qualidade (Fonte: Silva *et.al.* 2000)

Factor	Componentes
Aparência Visual	Tamanho: dimensões, peso e volume Forma e aspecto: irregularidade e uniformidade Cor: intensidade uniformidade Brilho: natural ou de cera Defeitos: externos/ internos Morfológicos Físicos e Mecânicos Fisiológicos Patológicos Entomológicos
Textura	Firmeza Estaladiço Fibroso Dureza
Sabor (aroma e paladar)	Aromas Maus sabores e Maus odores Doçura Acidez Adstringência Amargo
Valor nutritivo	Vitaminas Minerais Hidratos de Carbono (incluído as fibras dietéticas) Proteínas Gorduras
Segurança	Componentes tóxicos naturais Contaminantes: resíduos químicos de pesticidas e de metais pesados ou produtos de limpeza Micotoxinas Contaminação microbiana

Os factores de qualidade mais relevantes dependem do fruto em questão e do destino final (para consumo em fresco ou processamento) dos frutos. (Silva *et.al.* 2000)

2.6. Geleia

As geleias são misturas semi-sólidas de sumos de fruta e de açúcar, suficientemente firmes para manterem a sua forma. (Anónimo 2011a)

As compotas e geleias foram elaboradas ao longo do tempo com o intuito de preservar a fruta. (Anónimo 2011a)

O efeito protector deve-se à própria acidez das frutas e ao açúcar. As condições de cozedura da mistura de frutas ácidas e açúcar levam à formação de um gel. Na base desse processo de gelificação estão as pectinas. Estes polímeros são componentes naturais dos vegetais e especialmente das frutas. Há frutas mais ricas em pectinas do que outras, assim como há frutas mais ácidas do que outras. Estas características devem ser tidas em conta no momento de decidir a forma de preparação das geleias e conservas. (Anónimo 2011a)

2.6.1. Conservação

O princípio básico da conservação química reside na inibição da reacção de oxidação dos componentes alimentares que são passíveis dessa reacção em presença do oxigénio (principalmente os lípidos). Claro que o método mais eficaz é o da remoção do oxigénio do contentor do alimento, tendo a desvantagem de o produto ter de ser consumido logo após a abertura da embalagem; por exemplo, sumo de fruta “natural”, alguns vegetais embalados, conservas enlatadas (Anónimo, 2011b).

2.6.1.1. Conservação tradicional

A melhor maneira de conservar a fruta é cozê-la com muito açúcar (normalmente 50% em peso de cada). Deste modo a pectina (polímero saturado) é extraída das células da fruta, e adsorve água. Se existir uma grande quantidade de açúcar na solução as moléculas de água passam a ter uma interacção maior com as de açúcar (higroscópico) do que com a pectina a qual forma uma rede polimérica que compacta tipo gel (gelifica). Este gel ao arrefecer “aprisiona” os restantes ingredientes da solução (água+açúcar) conferindo uma consistência semi-sólida a sólida (anónimo, 2011c).

São parâmetros importantes no fabrico de um doce: a qualidade da fruta – na fruta muito madura a pectina já hidrolisou a ácido péctico, que não gelifica; o tempo de cozedura – se não for suficiente, a pectina não é extraída, se o açúcar estiver em

excesso pode caramelizar (quebram-se e formam-se algumas ligações nas moléculas de sacáridos que passam a ter propriedades químicas diferentes); a quantidade de açúcar e ácido – se não existe açúcar ou ácido suficientes, não se dá a gelificação e o resultado é a formação de um xarope em vez de um doce ou geleia. (Anónimo, 2011c).

Os doces e geleias conservam-se muito bem durante tempos longos porque qualquer bactéria que entre neste ambiente de alta concentração em açúcares (até 60-65%) morre rapidamente por desidratação; a água do citoplasma passa muito rapidamente para o exterior da parede celular por osmose. O princípio é o mesmo no processo de conservação por salga ou salmoura de peixes (bacalhau), carnes (porco), vegetais (chucrute). (Anónimo, 2011c).

No entanto, se o recipiente não estiver bem cheio, a água retida no interior do gel pode difundir e evaporar. Ao condensar na superfície a percentagem de açúcar nessa água é muito baixa e pode permitir o desenvolvimento de fungos. Deve, portanto, encher-se ao máximo os recipientes do doce, diminuindo a quantidade de vapor em equilíbrio com a água do gel. (Anónimo, 2011c).

A procura de produtos “com baixo teor calórico” levou à diminuição do uso de açúcar neste e noutros produtos tradicionais, passando a usar-se adoçantes. Estes substitutos do açúcar são doces ao paladar (com metabolização sem influência no ciclo da insulina) mas enquanto alguns deles são igualmente higroscópicos (álcoois como xilitol, manitol, sorbitol), e, portanto, apresentam propriedades semelhantes ao açúcar do ponto de vista da gelificação, outros (sacarina, ciclamato, aspartame) são apenas medianamente higroscópicos, diminuindo o seu poder gelificador (Anónimo, 2011c).

2.6.1.2. *Ácido Cítrico*

O ácido cítrico, à semelhança de outros ácidos carboxílicos, pode ser utilizado como aditivo alimentar (antioxidante, agente sinérgico de outros antioxidantes, acidificante e regulador de acidez).

O ácido cítrico é frequentemente utilizado como aditivo alimentar em inúmeros géneros alimentícios. Destacam-se os caramelos, sumos de frutas, néctares e refrigerantes, gelados, marmeladas, doces de fruta, geleias, conservas de frutos e de produtos hortícolas, produtos lácteos, óleos e gorduras, peixes, moluscos e crustáceos não transformados, batatas descascadas, salsichas, produtos de peixe congelado e alimentos para beber (Lidon, 2008).

2.6.1.3. *Efeito da pectina*

As substâncias pécticas pertencem ao grupo dos poli-holósidos heterogénios com ácidos urónicos e podem apresentar-se sob uma forma solúvel, as pectinas, ou sob uma forma insolúvel, as propectinas.

As substâncias pécticas dos sumos das frutas são convertidas facilmente em pectinas, solúveis na água, após aquecimento com ácidos diluídos.

As pectinas, para além da viscosidade que originam nas soluções aquosas, que está relacionada com o peso molecular e com o grau de estratificação, caracterizam-se por originarem um gel. Este depende da temperatura, da adição de ácidos, sais, sacarose, etc., pelo que o controlo do poder gelificante tem que ser feito em condições bem padronizadas. (Proença da Cunha, 2010)

2.7. Actividade antioxidante

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que quando presentes nos alimentos a determinadas concentrações retardam ou inibem a oxidação de substratos oxidáveis. (Halliwell, 2001).

A oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração dos alimentos podendo ser prevenida pela adição de antioxidantes. Sendo o responsável pelo cheiro e sabor a ranço, com a conseqüente diminuição da qualidade nutricional e da segurança, devido à formação de compostos secundários potencialmente tóxicos (Chevolleau *et al*, 1992).

Os antioxidantes também desempenham um papel fundamental na defesa do organismo contra os radicais livres, espécies reactivas oxigenadas, associadas a várias doenças como problemas cardiovasculares, cancro e doenças neurodegenerativas (Kaliora e Dedoussis, 2007).

Segundo Pokorný *et al* (1991), os antioxidantes podem ser agrupados segundo os seus mecanismos de acção (quadro 3):

Quadro 3 - Mecanismos de acção dos antioxidantes

Tipo de Antioxidante	Mecanismo de Acção	Ex. de Antioxidantes
Antioxidante	Inactivam radicais livres lipídicos	Compostos fenólicos
Estabilizadores de Hidroperóxidos	Previnem a decomposição de hidroperóxidos em radicais livres	Compostos fenólicos
Sinergistas	Promovem a actividade dos antioxidantes	Ácido cítrico, ácido ascórbico
Inactivadores metálicos	Ligam metais pesados tornando-os inactivos	Ácido fosfórico, compostos de Maillard, ácido cítrico
Desactivadores de oxigénio singuleto	Transformam oxigénio singuleto em oxigénio tripleto	Carotenóides
Substancias que reduzem hidroperóxido	Reduzem hidroperóxidos por vias não radicais	Proteínas, aminoácidos

A acção das substâncias adicionadas é condicionada por diversos factores como a composição lipídica, a concentração, a temperatura, a pressão de oxigénio e a presença de outros antioxidantes e componentes habituais dos alimentos, por exemplo, proteínas e água (Pokorný *et al*, 1991).

As substâncias naturais inicialmente utilizadas foram rapidamente substituídas por substâncias sintéticas mais baratas, de pureza controlada e com uma capacidade antioxidante mais uniforme (Pokorný et al, 1991).

Segundo Alarcão-e-Silva et al., (2001) os frutos de *Arbutus unedo L* demonstram uma forte actividade antioxidante, uma razão suficientemente válida para a sua utilização na alimentação. Na Figura 9 são mostrados os principais metabolitos antioxidantes identificados.

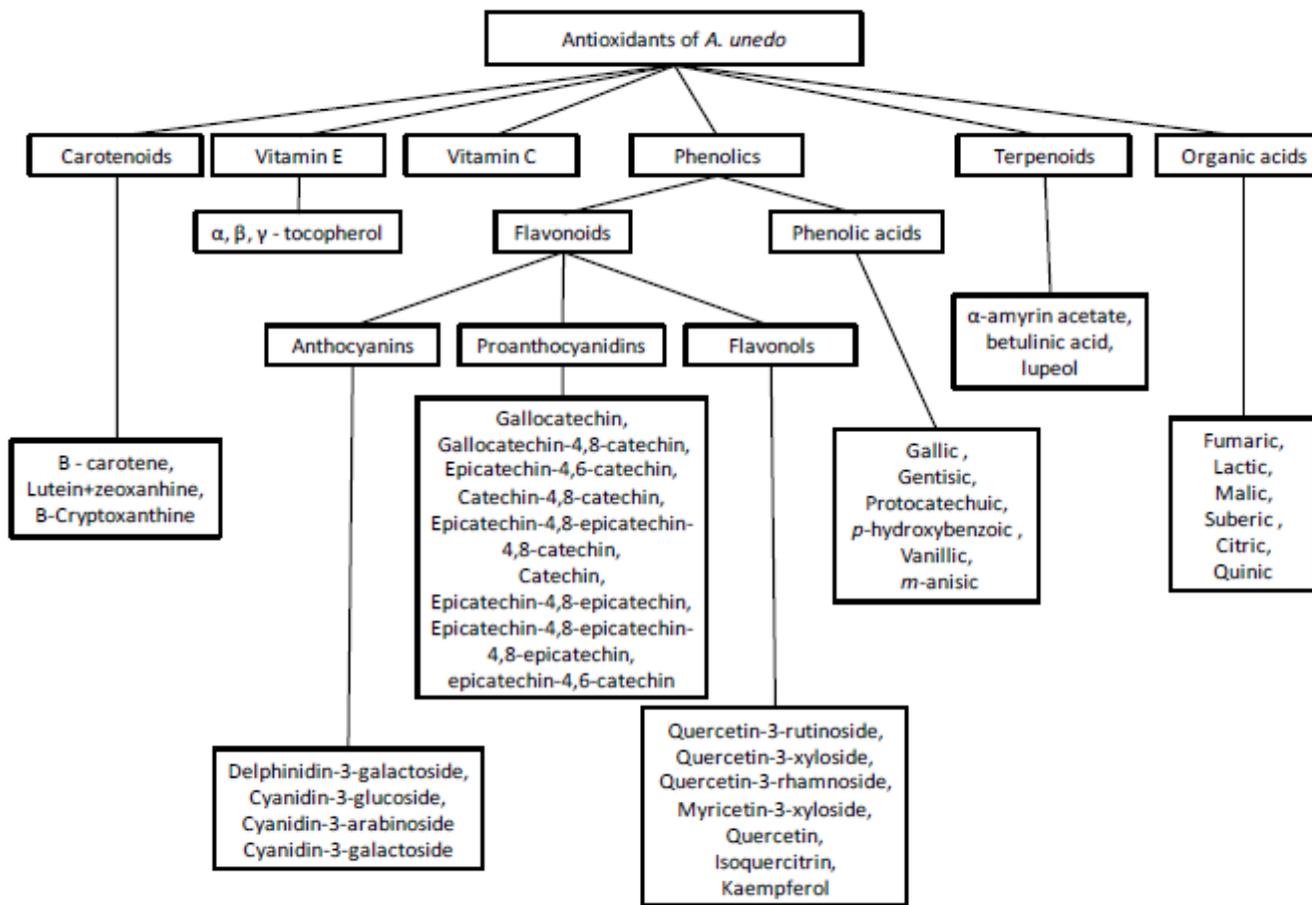


Figura.9: Componentes antioxidantes presentes no medronheiro (*Arbutus unedo L.*) (Oliveira, 2010a)

3. Material e Métodos

3.1. Material vegetal e preparação das amostras

Para o estudo do fruto foram utilizadas amostras homogêneas de medronhos (*Arbutus unedo. L*), em que o estado de maturação foi definido pela coloração e pela firmeza apresentada, aquando da colheita. Realizaram-se duas colheitas, em meados de Outubro (1ºEnsaio) e no final de Novembro (2ºEnsaio), ambas tiveram proveniência em arbustos da Serra do Caldeirão, freguesia de Alte.

Seguidamente os frutos foram armazenados em cuvetes de poliestireno expandido (21.5cm x 13.5cm) cobertas por dois tipos de película, uma de polietileno linear de baixa densidade com 10 µm de espessura e uma película de polietileno perfurada com 10 mm de diâmetro, cada cuvette continha 8 frutos. Por fim, as cuvetes foram armazenadas em câmaras de refrigeração a 0°C, 3°C e 6°C.

Ao fim de 0, 3, 7 e 10 dias (1ºEnsaio) e 0, 4, 10 e 15 dias (2ºEnsaio) as cuvetes foram retiradas das câmaras de frio, e foram determinadas as características físico-químicas dos frutos. Na determinação das características físicas foram utilizados 6 frutos de cada cuvette, e os restantes foram congelados em azoto líquido e armazenados a -80°C para a realização das análises químicas.

No caso da geleia, também, foram utilizadas amostras homogêneas de medronhos (*Arbutus unedo. L*), colhidos maduros. A colheita foi realizada no início de Dezembro, sendo proveniente do mesmo local dos frutos para fresco.

Para o processo de fabrico da geleia foi utilizado 1 kg de Medronho, 500mL de água e 1 kg de açúcar branco, sendo esta a geleia feita de forma tradicional. Fez-se outra geleia com adição de 1 grama de ácido cítrico (0.1%)e 10 g de “Pectigel” (1 %). Após a transformação, a geleia foi armazenada em frascos de vidro selados, e procedeu-se à sua pasteurização cobrindo os frascos com água e fervendo durante 1 minuto. Após o seu arrefecimento foram armazenadas à temperatura ambiente e a 6 °C.

Após 0, 2, 4 e 6 meses, a geleia foi retirada e procedeu-se à análise microbiológica e determinação das características físicas, a restante geleia foi armazenada a -20°C para realização das análises químicas.

Em todos os ensaios foi efectuado pelo menos um painel de provadores, neste caso foram utilizados parâmetros subjectivos a cada indivíduo que realizou a prova, tais como aparência, textura, aroma, acidez, doçura e sabor.

3.2. Parâmetros Gerais de Qualidade

3.2.1. Cor

A cor dos frutos foi determinada através de um colorímetro Minolta Meter CR-300. Este aparelho é utilizado para analisar a coloração de frutos e legumes, classificando a cor numericamente quanto ao brilho, cor e saturação. Para o estudo realizado o aparelho foi calibrado previamente numa superfície branca de acordo com padrões pré-estabelecidos ($Y = 93.0$; $x = 0.3133$; $y = 0.3193$), na escala de classificação CIELab a^* , b^* e L^* (Figura 9). O valor de a^* caracteriza deste verde ($-a^*$) ao vermelho ($+a^*$), o valor de b^* indica as alterações na coloração entre o azul ($-b^*$) e o amarelo ($+b^*$). O valor L^* representa o grau de luminosidade, variando do branco ($L^*=100$) ao preto ($L^*=0$) (Antunes, 2010).

As leituras foram efectuadas em três regiões aleatórias do fruto inteiro e da geleia. Posteriormente foi calculado o Chroma (C^*) que representa a saturação da cor ou intensidade e o ângulo Hue (h°), que foram calculados a partir dos valores de a^* e b^* , através das fórmulas:

$$Hue(h^*) = SE(a^* > 0; \arctan(b^*/a^*) \times \frac{180}{3,1416}; \arctan(b^*/a^*) \times \frac{180}{3,1416} + 180$$

$$Croma(C^*) = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

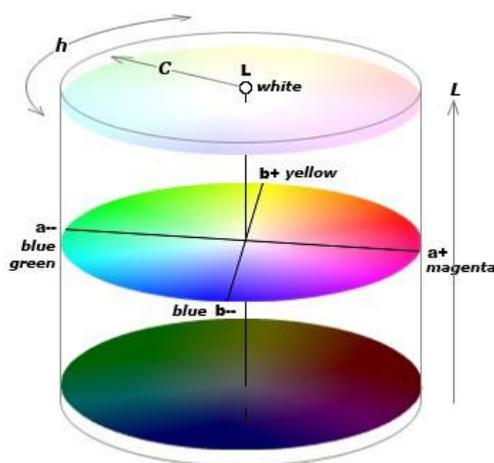


Figura 10- Sistema de cores CIELab (Anónimo, 2011d).

3.2.2. Firmeza

A firmeza dá-nos a dureza e resistência de fruto, com base na força necessária para perfurá-lo.

No fruto a firmeza foi determinada através de um penetrómetro Chatillon TCD200, com êmbolo cilíndrico de 11 mm de diâmetro a uma profundidade de 7 mm. A firmeza foi determinada apenas de um lado do fruto e os resultados foram expressos em Newton (N).

Na geleia a firmeza foi determinada através de um penetrómetro Chatillon TCD200, com êmbolo cilíndrico de 25 mm de diâmetro a uma profundidade de 7 mm. Os resultados foram expressos em Newton (N).

3.2.3. °Brix

O °Brix é uma escala numérica que mede a quantidade de sólidos solúveis numa solução de sacarose. Como tal recorreu-se à utilização do refractómetro digital PR1 ATAGO Co LTD.

Para podermos efectuar esta análise, e após a determinação do parâmetro referido, os medronhos e a geleia foram pesados e adicionou-se o mesmo peso de água (p/v), em seguida foram triturados com uma varinha mágica tradicional e filtrados para se obter sumo, e assim efectuar a quantificação do °Brix. Neste caso o valor final apresentado no refractómetro foi multiplicado por dois.

3.2.4. Perda de Peso

A perda de peso mostra-nos a percentagem de água perdida ao longo do tempo pelas amostras. Neste caso pesamos as mesmas amostras ao longo do tempo, sendo que cada amostra continha 15 frutos, e foram pesadas no tempo 0, 7 e 10 dias (1ºEnsaio) e 0, 4, 10 e 15 dias (2ºEnsaio). O cálculo da perda de peso foi efectuado através da fórmula:

$$\text{Perda Peso} = \frac{\text{Peso}_{\text{inicial}} - \text{Peso}_{\text{final}}}{\text{Peso}_{\text{inicial}}} \times 100$$

3.2.5. Painel de Provedores

O painel de provedores foi formado por um grupo (entre 15 a 20 elementos) de pessoas semi-treinadas, em que foram avaliados vários parâmetros, tais como aparência, textura, aroma, acidez, doçura e sabor, sendo que cada parâmetro poderia obter uma classificação de 1-Mau a 5-Excelente.

O painel de provedores foi efectuado nos dois ensaios e na geleia. No primeiro ensaio apenas foi realizado no tempo inicial, por outro lado, no segundo ensaio foi realizado no tempo inicial e aos 10 dias. No caso da geleia o painel de provedores foi efectuado em todos os tempos (0, 2, 4 e 6 meses).

3.3. Compostos Fenólicos

3.3.1. Antocianinas

Extracção de antocianinas:

As antocianinas do fruto e da geleia foram extraídas utilizando uma solução de extracção constituída por etanol 96%, água destilada e HCl (1700mL de etanol, 300mL de água destilada e 2,5 mL de ácido clorídrico da Riedel de Haën). A 5g de amostra adicionou-se 30 mL de solução de extracção, e deixou-se em repouso no frio (~6°C) durante 12 horas. Em seguida procedeu-se à sonicação (Sonicador Vibracell da Lab Norma) das amostras, três vezes durante 1 minuto. No final, as amostras foram centrifugadas (Hittich-Universal 320) durante 5 minutos a 5000 rpm. Ao sobrenadante adicionou-se solução de extracção até perfazer 30 mL e guardou-se o extracto etanólico a -20°C até ser analisado.

Quantificação das Antocianinas

A quantificação das antocianinas foi determinada segundo o método descrito por Lee *et al.* (2005), modificado.

Para a realização deste método foi necessário preparar uma solução de pH 1.0 com 0.025 Molar. Num tubo colocou-se 10 mL do extracto etanólico e adicionou-se 40 mL da solução de pH 1.0. Aguardou-se 20 minutos e fez-se a leitura da absorvância por espectrofotometria em dois comprimentos de onda, 520nm e 700nm.

As antocianinas foram expressas em miligramas de Cianidin-3-glucósido por 100 gramas de amostra, e para o seu cálculo recorreu-se à seguinte fórmula:

$$\frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times 1}$$

Em que:

A = ($A_{520nm} - A_{700nm}$) pH1.0

MW = 449.2 g/mol \Rightarrow valor do peso molecular da Cianidin-3-glucósido

DF = Factor de diluição

ϵ = 26900 Coeficiente molar para a Cianidin-3-glucósido

No caso da geleia não foram apresentados resultados, uma vez que segundo Araceli Castañeda-Ovando *et al* (2008), as antocianinas na presença de calor degradam-se, tal ficou comprovado aquando da realização desta determinação nalgumas amostras e em que os resultados obtidos foram de zero mg de Cianidina-3-glucósido/100g de amostra ou muito próximos de zero.

3.3.2. Fenóis Totais e taninos

Extracção de fenóis e taninos

Os fenóis e taninos do fruto e da geleia foram extraídos utilizando uma solução de metanol puro (Sigma – Alodrich): água destilada (1:1). Macerou-se, por duas vezes, com 20mL de solução de extracção, para 5g de amostra. Para a maceração recorreu-se à utilização de uma almofariz e pilão de porcelana. Colocou-se a fase líquida num tubo de Falcon e procedeu-se à sua centrifugação (Hittich-Universal 320) durante 5 minutos a 5000 rpm. Em seguida dividiu-se o sobrenadante por dois tubos de Falcon de 15 mL e conservou-se os extractos metanólicos a -20°C até serem analisados.

Quantificação dos fenóis totais

Os fenóis totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu modificado (Julkunen-Titto, 1985; Wang *et al.*, 1997).

Para a realização deste método foi necessário preparar uma solução de Folin-Ciocalteu numa proporção de 1:10 (10 mL Folin-Ciocalteu : 100 mL de etanol a 75%) e uma solução de carbonato de sódio (7,5 g :100mL de água destilada). Num tubo colocou-se 0,8 mL de carbonato de sódio, 0,2 mL de amostra e 1 mL de solução de Folin (1:10). Homogeneizou-se a mistura num vórtex e incubou-se durante 20 minutos à temperatura ambiente. Ao fim dos 20 minutos centrifugou-se durante 5 minutos a

5000 rpm, e fez-se a leitura da absorvância por espectrofotometria num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a 765 nm.

Na preparação dos padrões, juntou-se num tubo 0,8 mL de carbonato de sódio, 0,2 mL padrão e 1 mL de solução de Folin (1:10). Homogeneizou-se a mistura num vórtex e repousou durante 20 minutos à temperatura ambiente. Ao fim de 20 minutos centrifugou-se (centrifuga Hittich-Universal 320) durante 5 minutos a 5000 rpm, e fez-se a leitura da absorvância por espectrofotometria num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a 765 nm. O intervalo de concentrações do ácido gálgico, usado como padrão, para a elaboração da recta de calibração variou entre 0,5; 0,250; 0,125; 0,0625 e 0,0325 mg/mL. A Figura 11 mostra a recta de calibração. Sempre que necessário as amostras foram diluídas de modo a estarem dentro do intervalo de valores encontrados na recta de calibração.

Os Fenóis Totais foram expressos em equivalentes de ácido gálgico (em miligramas) por 100 gramas de amostra, e para o seu cálculo recorreu-se a fórmula da resultante da recta padrão.

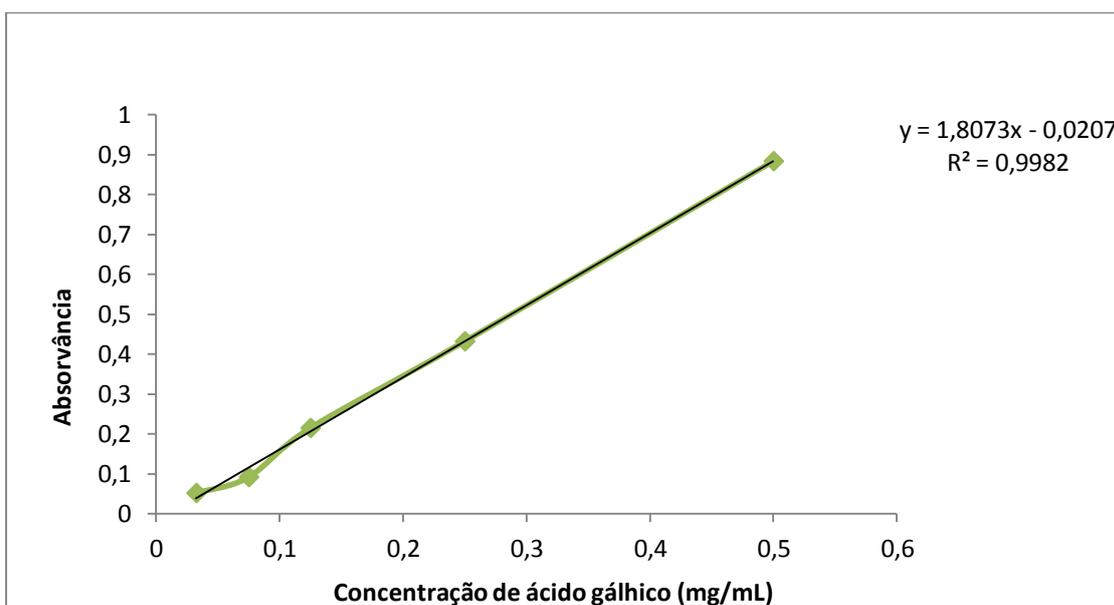


Figura.11: Curva padrão determinada para os Fenóis Totais

Quantificação dos Taninos

Os taninos foram determinados pelo método descrito por Rey.D et al. (2000).

Num tubo foram adicionados 100µL da solução de gelatina (1% de gelatina em 10% de NaCl) e 5mL de extracto metanólico, incubou-se durante 15 minutos e centrifugou-se 5 minutos a 5000rpm (Hittich-Universal 320). A partir do sobrenadante

resultante da reacção anterior utilizou-se o método da Folin-Ciocalteu, tal como descrito anteriormente.

Antes da adição da gelatina, determinou-se o teor em fenóis totais da amostra e da diferença obtida nesta determinação e daquela que se obteve após a adição de gelatina, obtém-se o teor em taninos presentes na amostra.

No caso da geleia o teor em taninos não foi efectuado.

3.4. Actividade Antioxidante

3.4.1. Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

O TEAC foi determinado pelo método adaptado de RE, R et al (1999).

No presente trabalho, avaliou-se a actividade antioxidante de três extractos: etanólico, metanólico e em hexano.

Para esta análise iniciou-se a preparação da Solução de ABTS (2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid) oxidada com uma concentração de 7mM. A esta solução juntou-se persulfato de potássio de modo a obter uma concentração final de persulfato de potássio (99.0% da Agros Organics) de 2,45mM. Deixou-se repousar no escuro, à temperatura ambiente, durante 12-16horas. No momento da análise, diluiu-se a solução de ABTS, em etanol, de modo a ter uma leitura de absorvância entre os 0,7 e 0,8 a 735nm (aprox. 1ml em 60ml), criando assim a solução de leitura.

O procedimento desta análise consiste na colocação de 990 µL de solução de Solução de leitura na cuvette e regista-se o valor da absorvância, de seguida adiciona-se 10 µL de solução padrão ou de amostra, agita-se, e regista-se o valor da absorvância, decorridos 6min.

A curva padrão é feita com o padrão chamado Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico, solução "stock" de 2,5 mM), o qual foi armazenado a -20°C para a posterior preparação das diferentes concentrações. A gama de concentrações utilizadas para construir a recta de calibração variou entre 500, 1000, 1500, 2000 e 2500 µM. No presente trabalho, foram criadas duas curvas padrão uma para o extracto metanólico/etanólico (Figura. 12) e outra para o extracto de hexano (Figura. 13). Para a curva em extracto de hexano utilizou-se o β-caroteno.

Com a fórmula indicada conhece-se a % de inibição da absorvância, é este valor que será utilizado na fórmula da recta para calcular a capacidade antioxidante das amostras, em µM.TE/100g de amostra

$$\%Inibição\ da\ absorvância = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

A₀= valor de absorvância da solução de leitura

A₁= valor de absorvância da solução de leitura com amostra ou padrão decorridos 6minutos.

Figura.12: Curva padrão determinada para TEAC a partir do extracto metanólico e etanólico

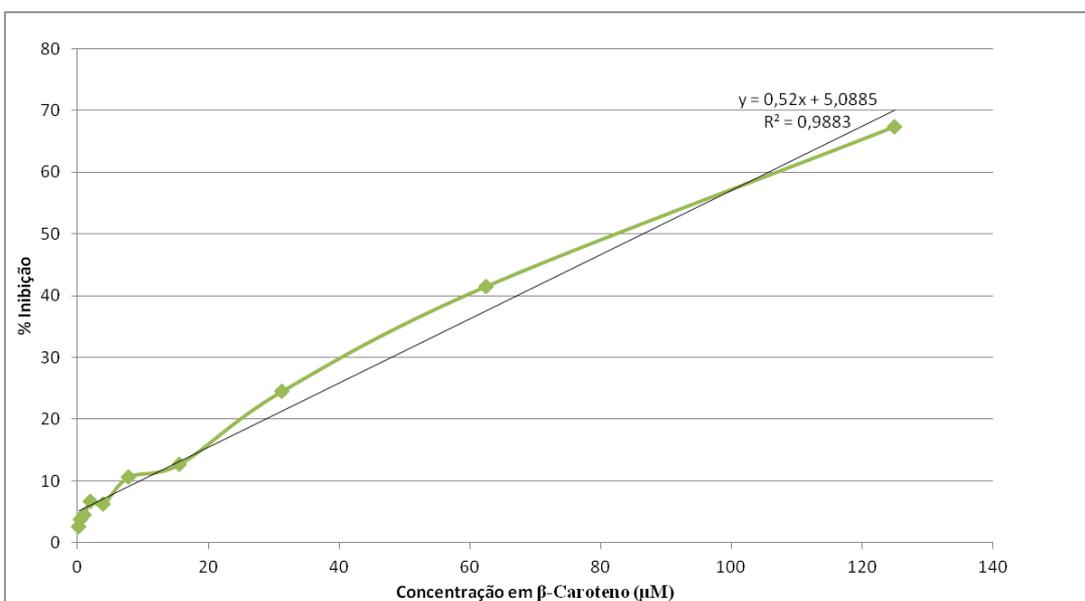
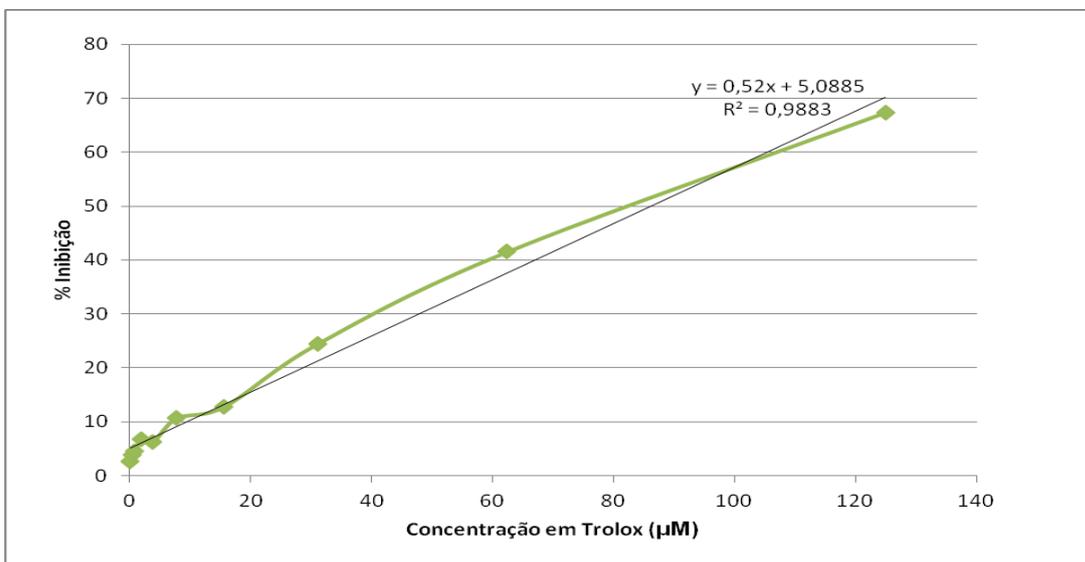


Figura.13: Curva padrão determinada para TEAC a partir do extracto hexânico

3.4.2. Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

O ORAC foi determinado pelo método adaptado de Dejian Huang et al. 2002.

Preparação das amostras

As amostras utilizadas foram provenientes de extractos etanólicos e metanólicos, no entanto, para efectuar esta quantificação foi necessário concentrar as amostras ao calor (40°C) na estufa.

Após concentradas, foram ressuspensas em tampão fosfato 0,075 M, pH 7,4. Filtrou-se a solução com o sistema Millipore, utilizando um filtro de \varnothing 47mm e porosidade de 0,45 μ m e colocou-se num frasco escuro.

Quantificação

As análises foram realizadas no aparelho Biotek Synergie 4 através da fluorescência, com um comprimento de onda de excitação em 485 nm e de emissão em 528 nm.

Foram utilizadas microplacas pretas de 96 poços, onde se colocou as amostras, um controlo e um branco. O controlo (Assay Control) utilizado foi a fluoresceína (Sal sódio da Sigma – Alodrich), neste caso começou-se por preparar a solução com 1 mM, em seguida foi feita uma solução stock com 0.4 mL de solução mãe para 10mL de tampão fosfato e a partir da solução stock foi feita uma solução intermédia com 0.4mL de solução stock para 10mL de tampão fosfato. Foi a partir desta última solução que foi feita a solução diária utilizada em cada microplaca.

O branco (Blank) utilizado foi o ABAP (2, 2 – Azobis(methyl-propionamidine-dihydrochloride) a 98% da Agros Organics) feito diariamente com 1g para 10mL de tampão fosfato.

Cada microplaca era composta por 3 poços com o controlo (Assay Control), em que se colocou 150 μ L de fluoresceína mais 50 μ L de tampão fosfato; 6 poços com ABAP sendo composto por 150 μ L fluoresceína, 25 μ L de tampão fosfato e 25 μ L ABAP. A restante da microplaca foi preenchida pelas amostras, neste caso colocando 150 μ L fluoresceína , 25 μ L amostra e 25 μ L ABAP.

Após preenchida a placa, esta foi colocada no leitor de placas do aparelho Synergie 4 da Biotek, e cada placa foi lida durante 1h30m tendo-se efectuado leituras de 30 em 30 segundos.

Para os padrões o procedimento é igual ao utilizado para preparar as amostras, no entanto, a quantidade de amostra é substituída pelas diferentes concentrações de padrão. Como padrão utilizou-se o antioxidante Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico, solução “stock” de 0,02 M), o qual foi armazenado a -20°C para a posterior preparação das diferentes concentrações. A gama de concentrações utilizadas para construir a recta de calibração foi de 100, 50; 25, 12,5, 6,25 e 3,125 μM . A recta de calibração foi utilizada para determinar a capacidade antioxidante presente e os resultados foram expressos em $\mu\text{M.TE}/100\text{g}$ de amostra na Figura 14.

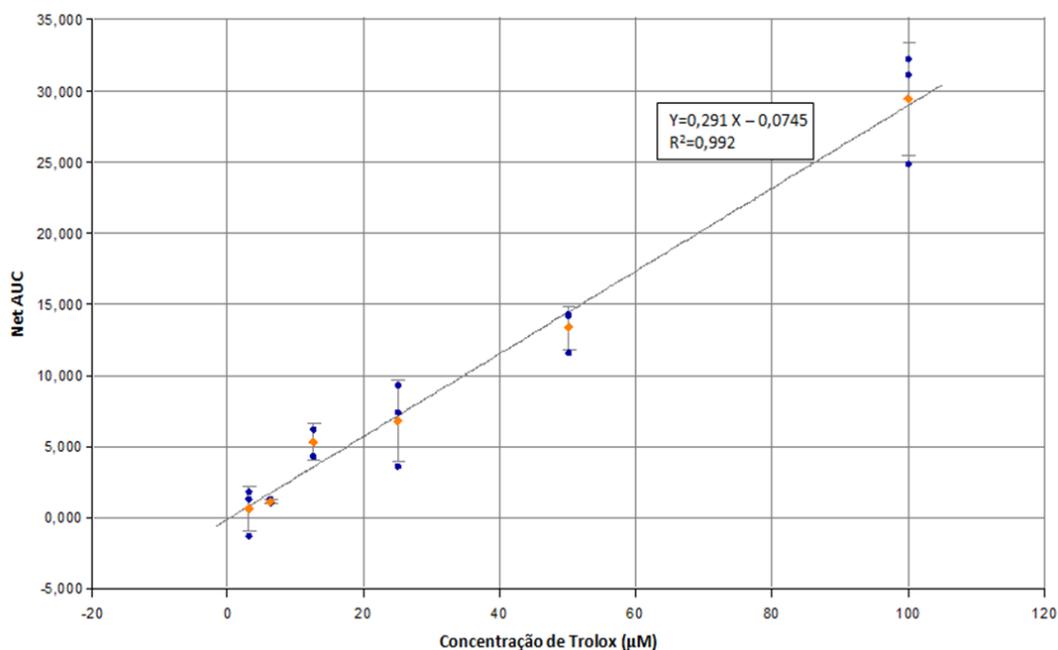


Figura.14: Curva padrão determinada para ORAC

3.4.3. Oxigénio Singuleto

O oxigénio singuleto foi determinado pelo método adaptado de Chandrasekara (2011)

Preparação das amostras

As amostras utilizadas foram provenientes de extractos etanolicos, metanolicos e hexano, no entanto para efectuar esta quantificação foi necessário evaporar os extractos de hexano numa estufa a 40°C . Em seguida procedeu-se à sua ressuspenção em água destilada e etanol (1:1).

Quantificação da % de inibição

A determinação foi feita em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4. O passo seguinte foi preparar a solução de histidina (L-Histidina a 99% da Merck) com 0,1551 g para 10 mL de tampão fosfato e uma solução de DPN (N,N-Dimethyl-4-nitrosiniline a 99% da Agros Organics) (200 µM) em tampão fosfato. Por fim, uma solução de hipoclorito de sódio a 5% em solução tampão e de uma solução de peróxido de hidrogénio a 30% em tampão fosfato.

Num tubo colocou-se 0,4 mL de amostra, 0,5 mL DPN diluído, 0,2 mL de histidina, 0,2 mL de hipoclorito, 0,2 mL de peróxido e 0,5 mL de tampão fosfato. A ordem de colocação dos reagentes não deve ser alterada. Homogeneizou-se a mistura num vórtex e incubou-se durante 30 minutos no banho a 40°C. Ao fim dos 30 minutos retirou-se do banho e fez-se a leitura da absorvância por espectrofotometria num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a 440 nm.

Neste caso foi necessário fazer um controlo e para tal utilizou-se o método acima referido, substituindo a amostra por tampão fosfato.

$$\%Inibição da absorvância = \frac{A_1 - A_0}{A_1} \times 100$$

A_0 = valor de absorvância da solução de leitura

A_1 = valor de absorvância da solução de leitura com amostra ou padrão decorridos 30 minutos.

3.5. Ácido Ascórbico

Extracção do Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico foi extraído do fruto utilizando uma solução de ácido Cítrico 3%, (PRONALAB). Para 500mg de amostra macerou-se com 50 mL de solução de Ácido Cítrico 3%, para a maceração recorreu-se à utilização de uma almofariz e pilão de porcelana. Colocou-se a fase líquida num tubo e procedeu-se à sua centrifugação durante 5 minutos a 5000 rpm, colocou-se o sobrenadante em tubos e guardaram-se os extractos a -20°C até serem analisados.

Quantificação do Ácido Ascórbico

A quantificação do ácido ascórbico foi determinada pelo método de Oliveira *et al.* (2009).

Utilizou-se como padrão uma solução de ácido ascórbico, com 10 mg de ácido ascórbico, Merck) em 100mL de solução de ácido cítrico 3%. A bureta foi cheia com ácido ascórbico e num Erlenmeyer foram colocados 2mL de solução Indofenol e 18 mL de água destilada, em seguida procedeu-se à titulação até ficar incolor, o valor obtido é necessário para a fórmula de cálculo.

No caso do extracto, foi feita uma titulação invertida em que na bureta foram colocados 30mL de extracto e como titulante 2mL de solução Indofenol e 18 mL de água destilada. A titulação foi feita até que a solução titulante obtivesse a mesma cor que a solução titulada, sendo este o ponto de equilíbrio.

O ácido ascórbico foi expresso em miligramas por 100 gramas de amostra, e para o seu cálculo recorreu-se à fórmula:

$$C = \left(\frac{p \times c \times 50}{V \times m} \right) \times 100$$

Em que:

C= a quantidade de ácido ascórbico (mg) presente em 100 g de amostra

p = o volume (mL) gasto de solução padrão de ácido ascórbico

c = volume (mg.mL⁻¹) utilizado na padronização

V = o volume (mL) de extracto de amostra utilizado durante a titulação

m = quantidade de amostra utilizada na extracção

3.6. β -Caroteno

Extracção do β -Caroteno

O fruto foi extraído utilizando uma solução de extracção constituída por acetona pura (ABSOLVE), etanol a 96% (1:1) e 200mg de BHT (2,6-Di-*terc*-butil-*p*-cresol da Fluka Chemic). Macerou-se 1g de amostra com 10mL de solução de extracção, filtrou-se com filtro da VWR \varnothing 125mm/retenção de partículas de 12-15 μ m. Para a maceração recorreu-se à utilização de uma almofariz e pilão de porcelana. Colocou-se o filtrado num tubo e repetiu-se o passo anterior. Conservou-se os extractos a -20°C até serem analisados.

Quantificação do β -Caroteno

A quantificação do β -Caroteno foi determinada pelo método modificado de Rodriguez (2001).

Para a quantificação do β -Caroteno, foram adicionados ao extracto, 10 mL de hexano (98.4% da VWR Internacional), homogeneizou-se a mistura num vórtex e incubou-se durante 15 minutos à temperatura ambiente. Em seguida foram adicionados 5 mL de água destilada e voltou-se a homogeneizar a solução e aguardou-se até surgirem duas fases distintas na solução. A partir sobre- nadante da amostra fez-se leitura da absorvância por espectrofotometria num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a 470 nm. Por fim retirou-se o sobre- nadante e conservou-se os extractos de hexano a -20°C.

Na preparação da recta de calibração, utilizou-se o β -caroteno type II sintético da Sigma-Aldrich, nas concentrações 0,05; 0,0250; 0,0125; 0,00625 e 0,003125 mg/mL. (Figura 15)

O β -Caroteno foi expresso em miligramas por 100 gramas de amostra, e para o seu cálculo recorreu-se à fórmula da recta da Figura 12.

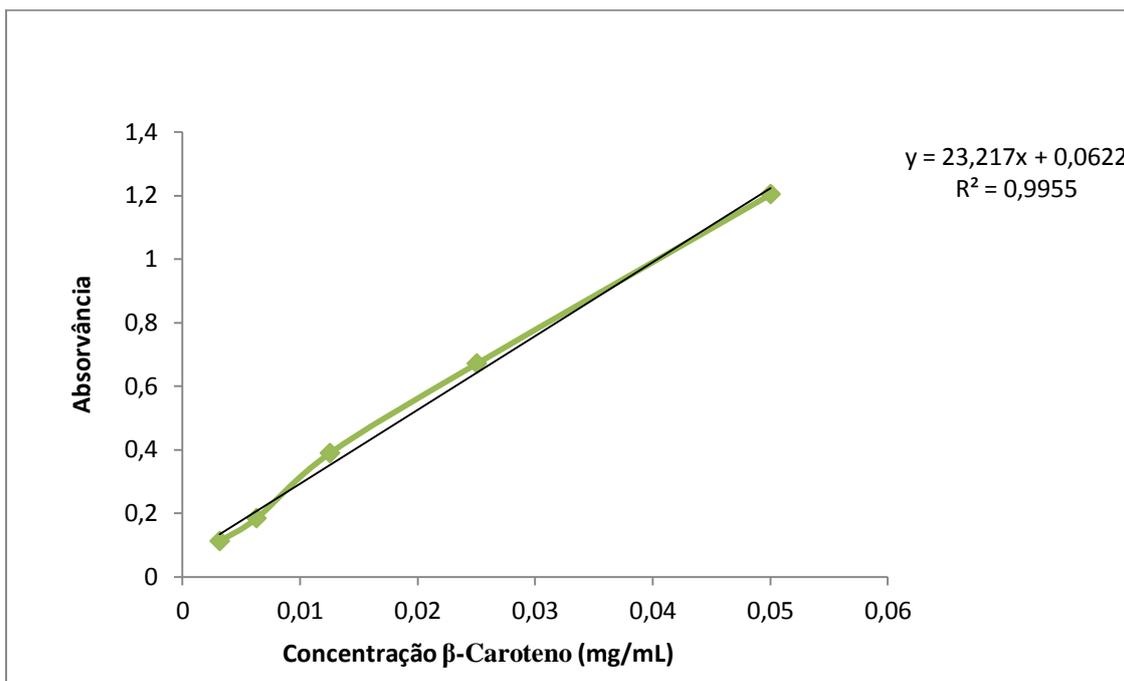


Figura.15: Curva padrão para o β -Caroteno

3.7. Açúcares (Glucose e Frutose)

Para a quantificação dos açúcares (Glucose e Frutose) existente nas amostras recorreu-se a um kit da Megazyme (K- FRGLQR 07/10) específico para a determinação da D-Glucose e D-Frutose, como tal todo o método foi baseado no referido kit e foi determinado para o fruto e para a geleia.

Extracção de açúcares (Glucose e Frutose)

No caso do fruto, a extracção foi feita a partir de 150 mg de amostra em 1 mL de etanol a 80%, a 80°C durante 15 minutos retirar extracto alcoólico (açúcares solúveis e aminoácidos) para um tubo e repetir o procedimento anterior quatro vezes no total.

No caso da geleia a extracção foi feita a partir de 200mg de amostra em 5 mL de etanol a 80%, a 80 °C durante 15 minutos. Retirou-se o extracto alcoólico (açúcares solúveis e aminoácidos) para um tubo.

Ambos os extractos foram armazenados a -20°C até serem analisados.

Quantificação da glucose e frutose

Para a determinação da glucose e frutose recorreu-se à utilização de microplacas e ao aparelho de Synergie 4 da Biotek

Na determinação das amostras colocamos em cada poço, 0.160mL de água MilliQ, 0.003mL de extracto, 0.040mL da reagente 1, misturou-se e deixou-se a incubar durante 1 hora e fez-se leitura da absorvância por espectrofotometria a 340 nm, correspondendo este valor ao A1. Adicionou-se o reagente 2, misturou-se, deixou-se a incubar durante 1 hora e fez-se leitura da absorvância por espectrofotometria a 340 nm, correspondendo este valor ao A2. Finalmente adicionou-se o reagente 3 misturou-se e deixou-se a incubar durante 1 hora e fez-se leitura da absorvância por espectrofotometria a 340 nm, este valor obtido corresponde ao A3.

Aquando da determinação, fizeram-se as leituras em duplicado e as amostras também foram colocadas em duplicados na placa, para assegurar uma maior fiabilidade nos valores obtidos.

A glucose e frutose foram expressas em miligramas por 100 gramas de amostra, e para o seu cálculo recorreu-se às fórmulas:

D-Glucose

$$D - Glucose = \frac{(1 \times (A_2 - A_1) \times V \times 100 \times F \times 1000)}{(6,22 \times 1000 \times 0,003)} \times (180,16/100000) \text{ (g /L)}$$

Em que:

V= volume final presente na cuvette (0.223 mL)

F= Factor de diluição

D-Frutose

$$D - Frutose = \frac{(1 \times (A_3 - A_2) \times V \times 100 \times F \times 1000)}{(6,22 \times 1000 \times 0,003)} \times (180,16/100000) \text{ (g /L)}$$

Em que:

V= volume final presente na cuvette (0.243 mL)

F= Factor de diluição

3.8. Etanol

Para a quantificação do etanol existente nas amostras recorreu-se a um kit da Megazyme (K-ETOH 02/11) específico para a determinação do etanol, como tal todo o método foi baseado no referido kit. O etanol apenas foi determinado para o fruto.

Extracção do etanol

No fruto, o etanol foi extraído utilizando água MilliQ. Para 2,5g de amostra adicionou-se 30mL de água MilliQ, e procedeu-se à sua maceração. Colocou-se o macerado num tubo. Isolou-se o tubo com o auxílio de parafilme e colocou-se no banho durante 15 minutos a 60°C, de seguida centrifugou-se (Hittich-Universal 320) durante 3 minutos a 5000 rpm. Colocou-se o sobrenadante num balão de 100mL e adicionou-se água MilliQ até à marca e conservou-se os extractos a -20°C até ser analisados.

Quantificação do etanol

Para a quantificação do etanol, iniciou-se com a determinação do valor do Branco (este valor é necessário para a formula de cálculo), neste caso foram colocados numa cuvette de 1 cm com tampa, 1,05 mL de água MilliQ, 0,100 mL da solução 1 (tampão pirofosfato), 0,100mL solução 2 (NAD⁺) e 0,010 mL da suspensão 3 (aldeído dihidrogenase). De seguida misturou-se e deixou-se a incubar durante 2 minutos e fez-se leitura da absorvância por espectrofotometria num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a 340 nm, este valor obtido corresponde ao A₁. Na mesma cuvette adicionou-se 0,010mL da suspensão 4 (álcool dihidrogenase) misturou-se, deixou-se a incubar durante 5 minutos e fez-se leitura da absorvância por espectrofotometria num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a 340 nm, correspondendo o valor obtido ao A₂.

Na determinação do etanol as amostras foram colocadas numa cuvette de 1 cm com tampa, 1,0mL de água MilliQ, 0,05mL de extracto, 0,100mL da solução 1 (tampão pirofosfato), 0,100mL solução 2(NAD⁺) e 0,010mL da suspensão 3 (aldeído dihidrogenase) misturou-se e deixou-se a incubar durante 2 minutos e fez-se leitura da absorvância por espectrofotometria num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a 340 nm, este valor obtido corresponde ao A₁. Na mesma cuvette adicionou-se 0,010mL da suspensão 4 (álcool dihidrogenase) misturou-se e deixou-se a incubar durante 5

minutos, após o que se fez a leitura da absorvância por espectrofotometria num espectrofotómetro Shimadzu UV/Visível (UV -160-A) a 340 nm. O valor obtido corresponde ao A_2 . As leituras das absorvâncias foram feitas contra o ar.

O etanol foi expresso em gramas por 100 gramas de amostra, e para o seu cálculo recorreu-se à fórmula:

$$C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 2} \times \Delta A \quad (g/L)$$

Em que:

V= volume final presente na cuvete (1,27 mL)

MW= 46,07 g/mol \Rightarrow valor da massa molecular do etanol

ϵ = 6300(1xmol⁻¹x cm⁻¹) Coeficiente extinção para NADH a 340nm

d= cuvete (1cm)

v= volume de amostra (0,05 mL)

ΔA = $(A_2 - A_1)_{amostra} - (A_2 - A_1)_{branco}$

$$Quantidade\ de\ etanol = \frac{C\ etanol(g/L)}{P\ amostra\ (g/L)} \quad (g/100g)$$

Em que:

$C\ etanol(g/L)$ = valor na formula anterior

$P\ amostra\ (g/L)$ = 40(g/L)

3.9. Análise Microbiológica

Na aplicação da metodologia a seguir descrita, utilizou-se a referência normativa NP 2079.

A análise microbiológica apenas foi utilizada para a geleia e iniciámos com a preparação da suspensão mãe (10^{-1}) e respectivas diluições. Para tal pesámos 10 g de amostra para um saco de Stomacher e adicionámos 90 ml de água tamponada peptonada (Biokar Diagnostics) previamente autoclavada. Este procedimento foi efectuado numa câmara de fluxo laminar. Homogeneizou-se a amostra no Stomacher durante 30 segundos.

A partir da solução anterior preparou-se uma série de diluições sucessivas, previamente estipuladas, para analisar (0,5 ml em 4,5 ml de soluto de Ringer (Biokar Diagnostics), neste caso foram feitas as diluições de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} .

Após prepararmos as diluições estas foram divididas e repartidas por três grupos de microrganismos. Nos aeróbios totais (Bactérias mesófilas e psicrófilas, Fungos e Leveduras), em que o inóculo foi duplicado, colocado por espalhamento de 100 μ l de cada diluição em PCA (Plante Count Agar) (Biokar Diagnostics); no caso dos microrganismos psicrófilos as placas foram incubadas a 6 °C durante 72 horas (3 dias), e apenas utilizámos amostras de geleia que esteve conservada no frio. De seguida preparámos os microrganismos mesófilos, inoculando em duplicado por espalhamento 100 μ L de cada diluição em PCA (Plante Count Agar) e incubamos a 30 °C durante 24 horas. Por fim preparamos os fungos e leveduras inoculando em duplicado por espalhamento 100 μ L de cada diluição em meio Sabouraud com cloranfenicol (Biokar Diagnostics) e incubámos a 30 °C durante 120 horas (5 dias).

As análises microbiológicas foram expressas em unidades formadoras de colónias por grama (UFD/g).

4. Resultados e Discussão

4.1. Fruto

4.1.1. Parâmetros gerais de qualidade

4.1.1.1. Luminosidade (L^*)

As Figuras 16a e 16b representam a luminosidade (L^*) nos dois ensaios ao longo do tempo e nas diferentes temperaturas e películas utilizadas no armazenamento. Tal como esperado o L^* vai diminuindo ao longo do tempo nos 2 ensaios, ou seja quanto menor o L^* mais escuro é o fruto, o que se confirma com o que foi visualizado. No primeiro ensaio o valor inicial foi de 43.89 enquanto que no segundo ensaio o valor inicial foi de 41.10 (Anexo 1 e 40). Alarcão-e-Silva *et. al* (2001) verificaram para o medronho que os valores de L^* vão diminuindo à medida que o fruto fica maduro, obtendo valores médios na ordem dos 59.82 para frutos maduros. O mesmo se verificou no presente estudo, ou seja, os frutos foram escurecendo ao longo do tempo de armazenamento em ambos os ensaios que foram feitos com 1 mês de intervalo. Esta diminuição do valor de L^* pode ser explicada devido ao facto de alguns compostos presentes nos frutos, tais como os aminoácidos e os compostos fenólicos, estarem relacionados com o escurecimento enzimático e com a redução dos valores L^* da escala de cores CIELab, visto os compostos fenólicos serem oxidados em quinonas altamente instáveis, as quais são posteriormente polimerizadas em pigmentos castanhos, vermelhos e pretos (Oliveira, 2009). No entanto, esta diminuição foi mínima pelo que não afectou o aspecto exterior do fruto.

Verificou-se que na temperatura de 0 °C a diminuição foi menor em relação às restantes temperaturas. Isto é mais notório no segundo ensaio mostrando que a 0°C a preservação da cor foi melhor.

No caso das películas, verificou-se que à temperatura 6°C na película de polietileno linear (PPL) a diminuição dos valores de L^* , ao longo do tempo de armazenamento, é maior. Por outro lado, nas restantes temperaturas, os valores de L^* não apresentam diferenças significativas entre si.

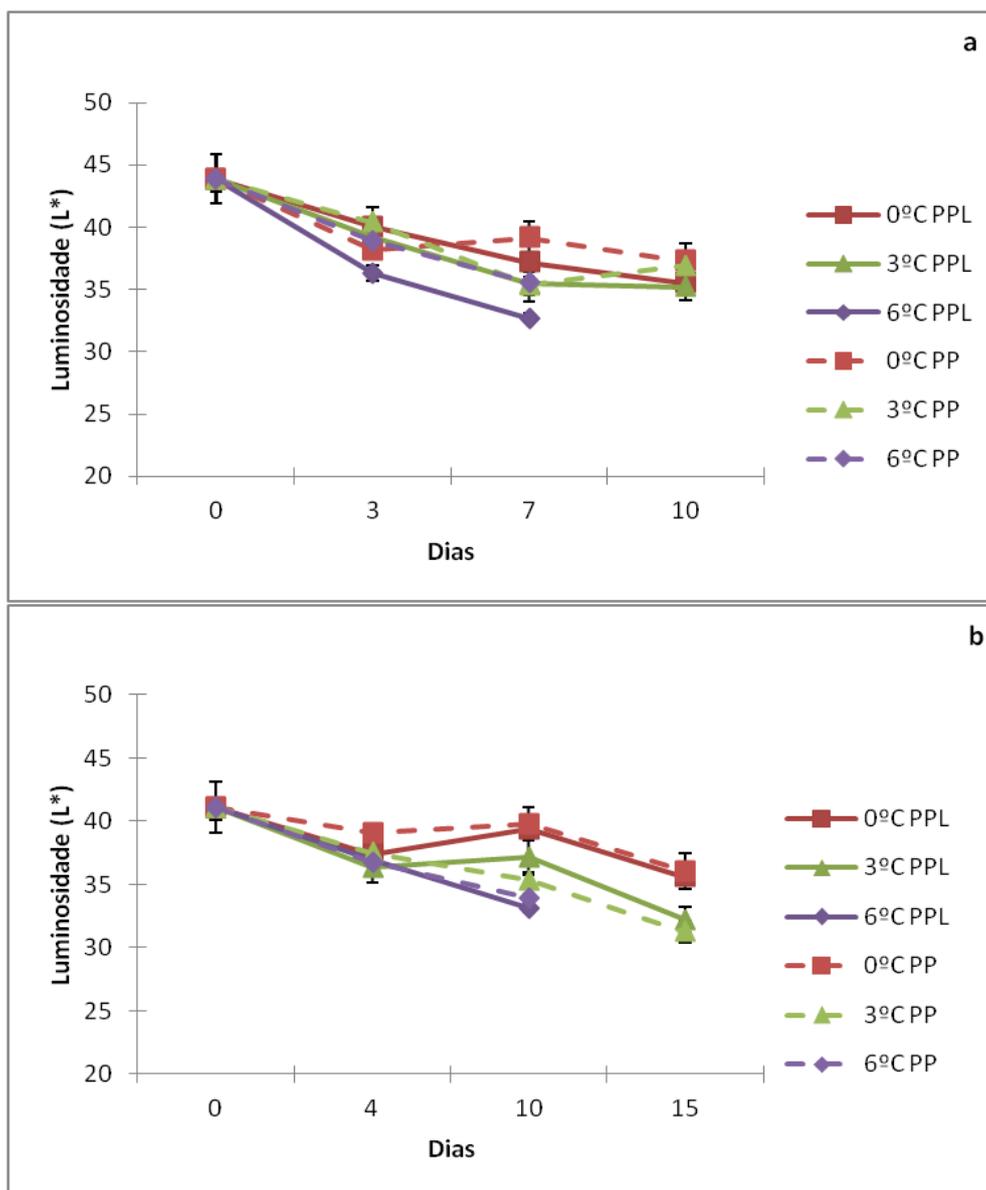
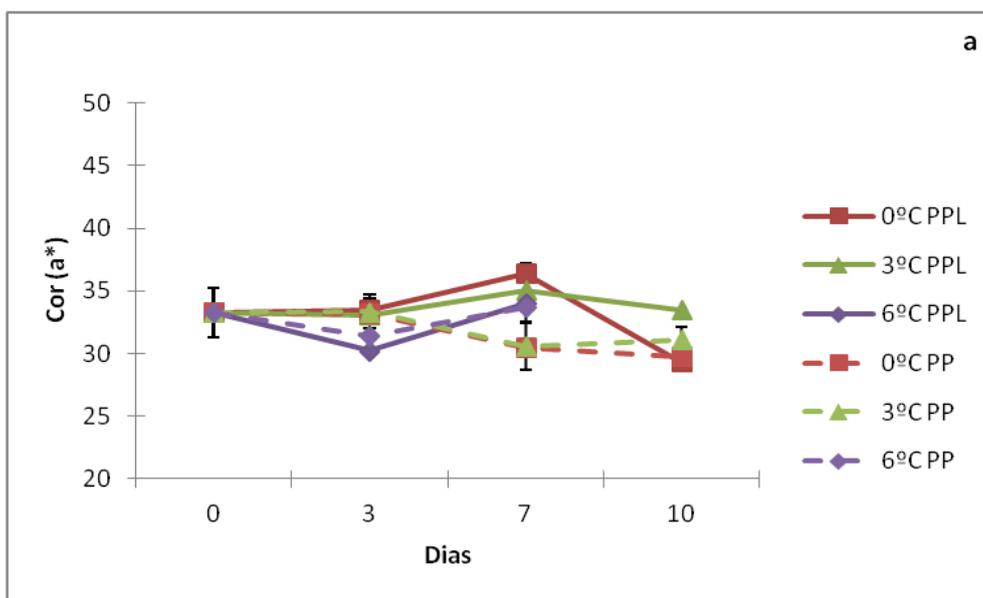


Figura.16: Luminosidade (L*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no medronho. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições. PPL – película de polietileno linear; PP – película perfurada

4.1.1.2. Parâmetro de cor a*

O parâmetro a* é caracterizado pela coloração na região entre o verde (-a*) ao vermelho (+a*), ou seja quanto maior o valor de a* mais próximo do vermelho se está, neste caso é esperado que o valor de a* se mantenha ao longo do tempo. O parâmetro a* apresenta diferenças significativas entre ensaios (P <0,05), ou seja, no primeiro ensaio o valor inicial foi de 33.31 e o final foi de 29.32, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 38.02 e o valor final foi de 30.55 (Figura17a e 17b) (Anexo 2 e 40). O facto de os valores do 2º ensaio serem mais altos reflecte o facto de serem colhidos mais tarde e por isso mais vermelhos.

Segundo Alarcão-e-Silva *et. al* (2001), os valores obtidos de a* para o medronho são de 18.75, no presente estudo os valores de a* são muito superiores, isto evidencia um estado de maturação mais avançado, do que aquele analisado no estudo referenciado. Neste caso verificou-se que de um modo geral o parâmetro a* se mantém ao longo do tempo de armazenamento. Embora se verifique uma maior diminuição deste valor no segundo ensaio, não existem diferenças significativas entre as temperaturas e películas utilizadas no presente estudo.



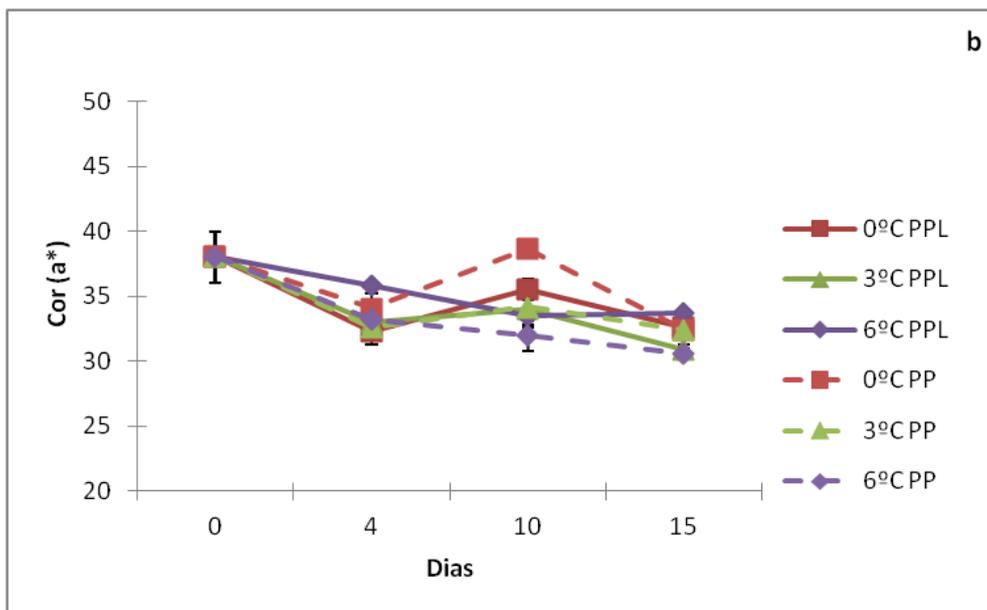


Figura.17: Cor (a*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

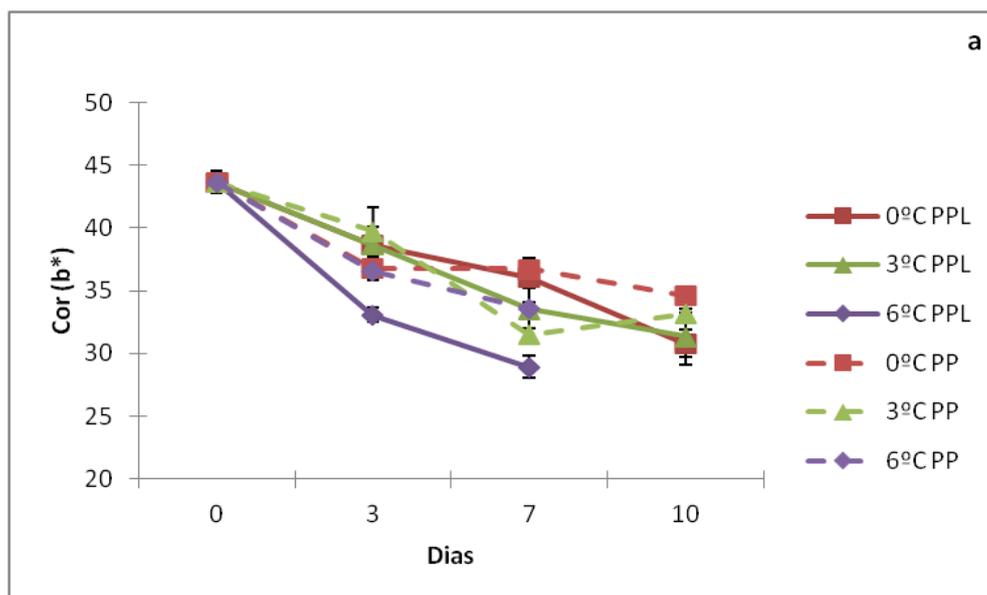
4.1.1.3. Parâmetro de cor b^*

O parâmetro b^* é caracterizado pela coloração na região entre o azul ($-b^*$) e o amarelo ($+b^*$), ou seja, quanto maior o valor de b^* mais próximo do amarelo está. Neste caso é esperado que o valor de b^* diminua ao longo do tempo. O parâmetro b^* apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0,05$), ou seja, no primeiro ensaio o valor inicial foi de 43.677 e o final foi de 30.794, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 40.461 e o valor final foi de 23.865 (Figura 18a e 18b) (Anexo 3 e 40). Isto indica que os frutos colhidos em Outubro tinham uma cor mais intensa do que em Novembro.

Em ambos os ensaios, é possível verificar que na temperatura 0°C a diminuição foi menor em relação às restantes temperaturas, mais visível no 2º ensaio em que há diferenças significativas a partir dos 4 dias de armazenamento.

No caso das películas, verificou-se uma diminuição mais acentuada dos valores de b^* na PPL, sendo mais significativo na temperatura 6°C do primeiro ensaio. Por outro lado, verificou-se que a PP a 0°C sofre a menor diminuição de b^* .

Segundo Alarcao-e-Silva *et. al* (2001), os valores obtidos de b^* para o medronho são de 38.11, semelhantes aos do presente estudo. Quanto maior for o tempo de armazenamento menor será o valor de b^* , tal como se pode observar nos gráficos, com principal ênfase o gráfico do segundo ensaio, em que o tempo de armazenamento é superior e o valor final de b^* é inferior.



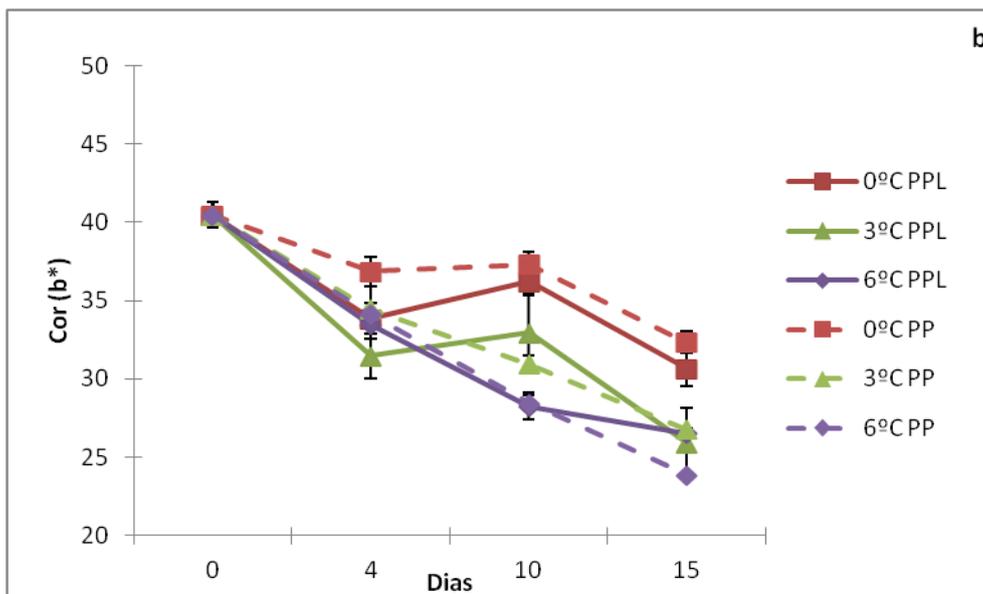


Figura.18: Cor (b*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

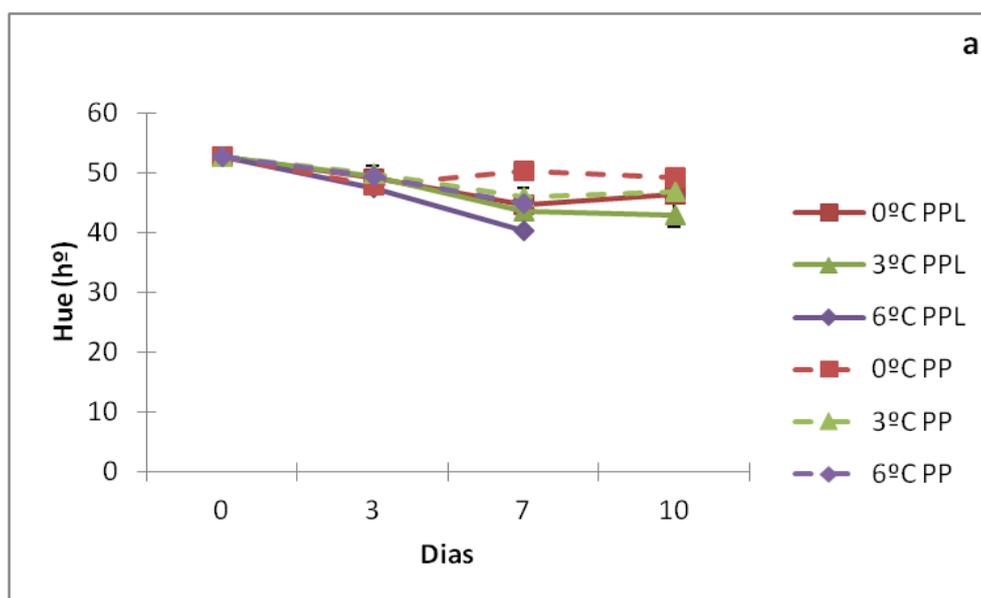
4.1.1.4. Hue (h°)

O parâmetro h° representa o ângulo hue, que é calculado a partir dos valores de a^* e b^* . Este parâmetro apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0,05$), ou seja que no primeiro ensaio o valor inicial foi de 52.73 enquanto que no segundo ensaio o valor inicial foi de 46.79 (Figura 19a e 19b) (Anexo 7 e 40).

No presente estudo o valor de hue sofreu uma pequena diminuição ao longo do tempo de conservação do medronho, mantendo-se a cor amarelo-laranja com ligeiro aumento para laranja com o tempo de acordo com CIELAB color space (Antunes, 2010).

Segundo Alarcão-e-Silva *et. al* (2001), os valores obtidos de h° para o medronho são de 63.80, referente a frutos mais amarelos que os do presente estudo.

Em relação às películas utilizadas, não se verificou diferenças entre si, pelo que o parâmetro hue não é afectado pelas diferentes películas.



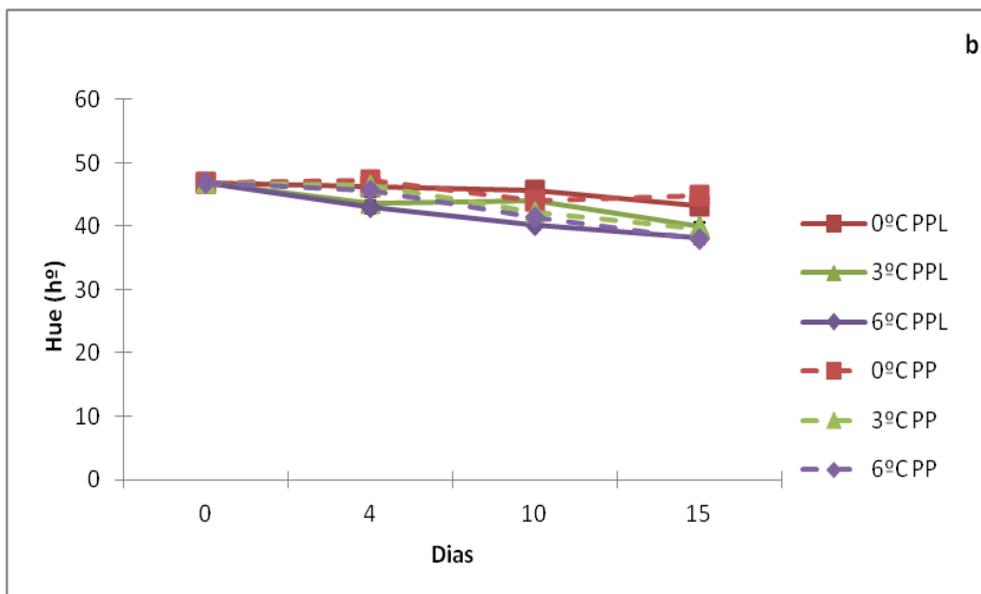


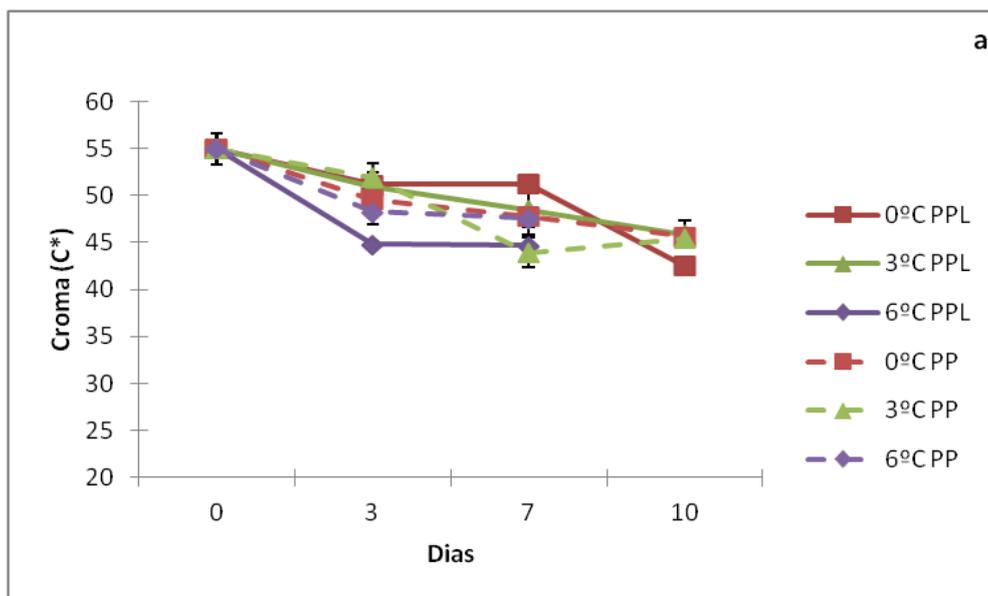
Figura.19: Cor (h°) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.1.5. Cromo (C^*)

O parâmetro Cromo (C^*) representa a saturação ou intensidade da cor. Este parâmetro não apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P > 0,05$) (Figura 20a e 20b) (Anexo 8 e 40). Ou seja, a intensidade da cor era superior na altura da colheita em Novembro, mas o seu decréscimo superior em relação a Outubro (1º ensaio). No presente estudo verificou-se uma ligeira diminuição dos valores ao longo do tempo de conservação, mais acentuada nas temperaturas mais altas.

Segundo Alarcão-e-Silva et. al (2001), os valores obtidos de C^* para o medronho são de 42.47, semelhantes aos do presente estudo.

Tal como no parâmetro anterior, não se observou diferenças nos resultados obtidos com as películas utilizadas.



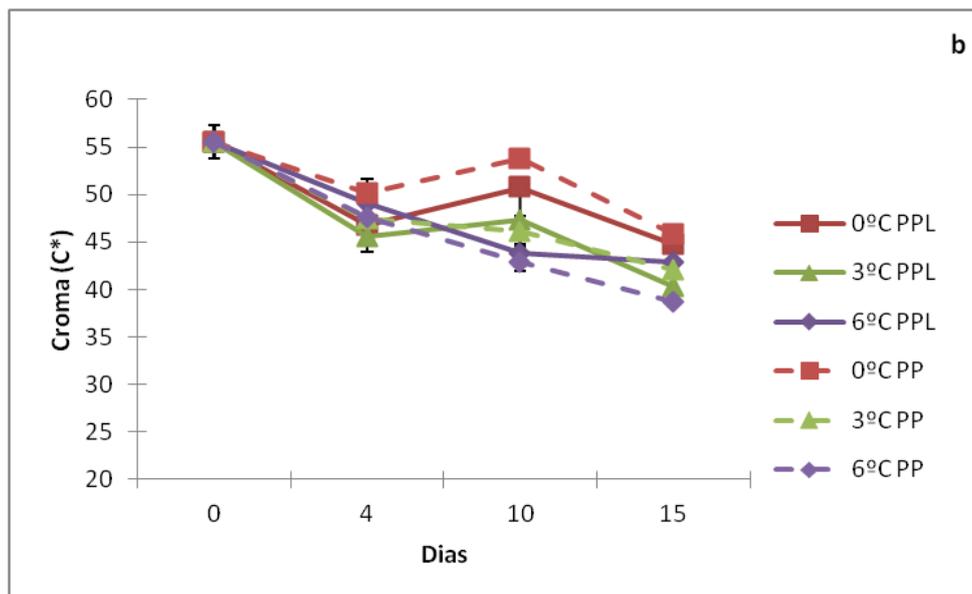


Figura.20: Cor (C*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.1.6. Firmeza

A firmeza dá informação sobre a dureza e resistência do fruto, com base na força necessária para perfurá-lo. Este parâmetro não apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P > 0,05$), com valores superiores no 1º ensaio (Figura 21a e 21b) (Anexo 4 e 40).

A redução da firmeza está relacionada com o avanço na maturação e/ou senescência dos frutos (Eskin, 1990). Neste estudo os frutos do 1º ensaio (Outubro) eram mais firmes do que os do 2º ensaio (Novembro), tal como esperado. A perda de firmeza está relacionada com a decomposição enzimática da lamela média e da parede celular, que com a maturação, as substâncias pécticas vão sendo solubilizadas, ocasionando o amolecimento dos tecidos das frutas (Rodrigues, 2006). Também pode ser o resultado da perda excessiva de água e diminuição da pressão de turgescência das células, quando o fruto é conservado em atmosfera com humidade relativa baixa. A perda da firmeza da polpa ocorre devido à expansão celular ocasionada principalmente pela bioconversão de hidratos de carbono, complexos da parede celular, como as substâncias pécticas, celulose e hemicelulose, ou do amido, acumulado em amiloplastos, juntamente com a participação de um sistema enzimático envolvendo essencialmente enzimas como a poligalacturonases e pelas pectinametilesterases. Com o avanço do amadurecimento ocorre libertação do cálcio que estava preso aos grupos carboxílicos ácidos (pectato de cálcio) que formavam a protopectina, pela solubilização da protopectina das paredes celulares. Modificando assim a textura e por consequência a firmeza, que diminui gradualmente com o progresso da maturação. (Rodrigues, 2006).

Segundo os resultados obtidos verificou-se que quanto maior a temperatura de armazenamento, mais rapidamente o valor da firmeza diminui, embora passados 10 dias de armazenamento os valores da firmeza sejam similares em todos os tratamentos, indicando um estado mais avançado da maturação. Em relação às películas utilizadas não se verificam diferenças significativas, entre si, ao longo do tempo de armazenamento.

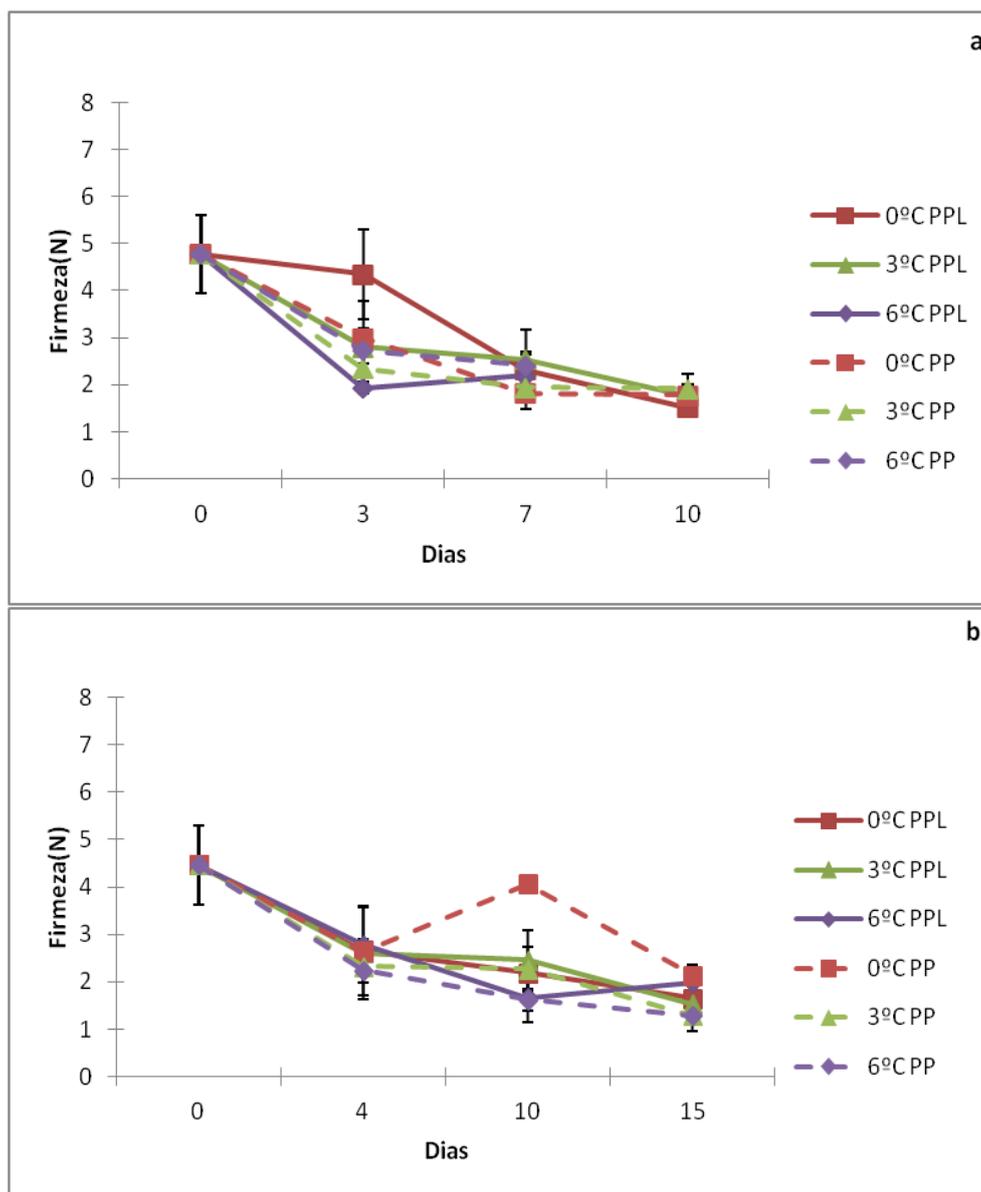


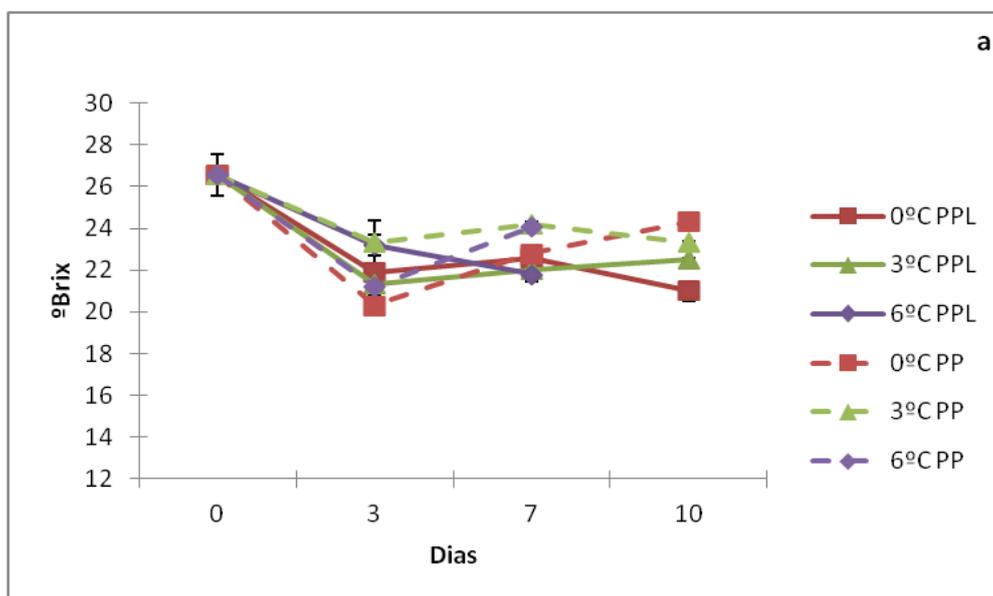
Figura.21: Firmeza (N) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.1.7. °Brix

O °Brix representa o teor de sólidos solúveis e é uma medida indirecta do teor de açúcar. No presente trabalho apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0,05$), ou seja que no primeiro ensaio o valor inicial foi de 26.58 e o valor final mínimo foi de 21.00, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 22.27 e o valor final mínimo foi de 23.80 (Figura 22a e 22b) (Anexo 5 e 40).

Com o avanço da maturação, os ácidos transformam-se em açúcares, assim, elevando o teor de sólidos solúveis (Rodrigues, 2006), o que se confirma com os resultados obtidos no segundo ensaio. O mesmo não se verifica nos valores obtidos no primeiro ensaio, embora o valor inicial seja elevado a partir do tempo 3 dias este valor diminui ficando estável a partir de 3 dias até ao fim do tempo de armazenamento. Isto sugere que os frutos colhidos no 1º ensaio já estavam completamente maduros à colheita. Cavaco (2006) obteve valores na ordem dos 23.5 para o medronho, sendo os resultados obtidos no presente ensaio semelhantes.

No primeiro ensaio verificou-se que os resultados obtidos são superiores no caso da PP, e com maior expressão na temperatura 0°C. No entanto no segundo ensaio não se verificam diferenças significativas entre temperaturas e películas.



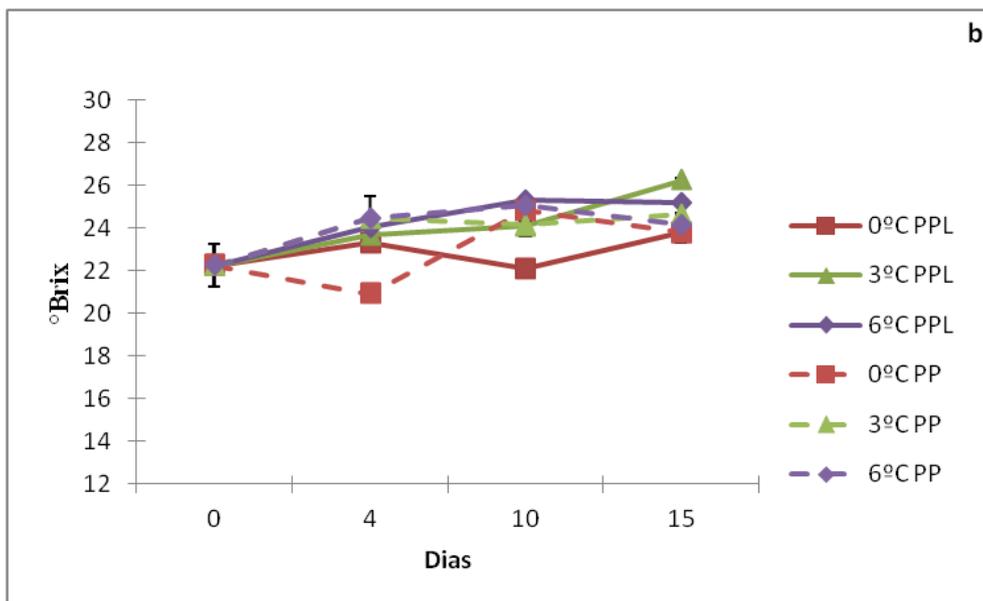
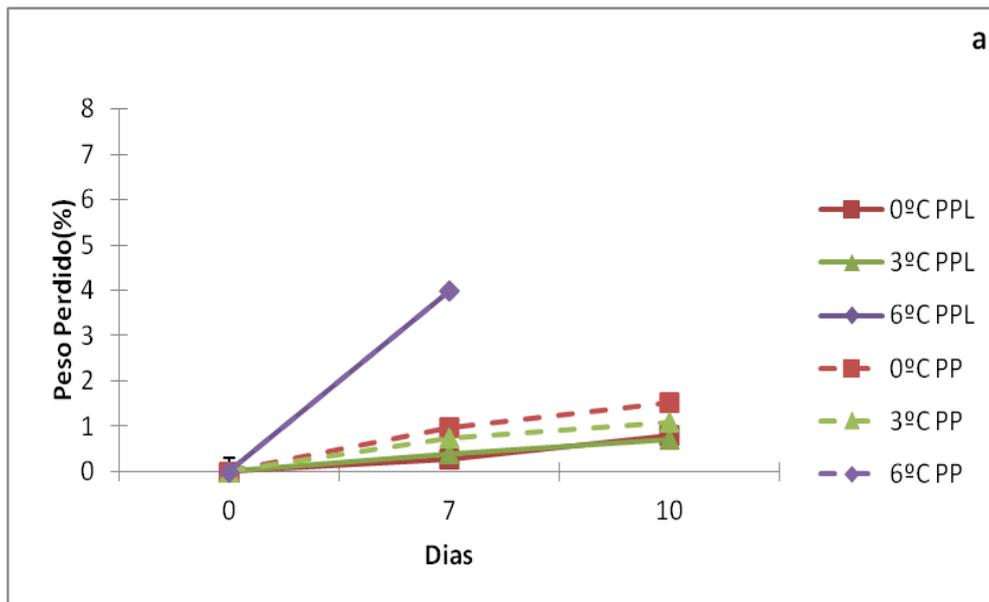


Figura.22: Sólidos solúveis totais (°Brix) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.1.8. Perda de peso

A perda de peso é indicativa da percentagem de água perdida ao longo do tempo de armazenamento, pelas amostras. Este parâmetro apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0,05$), em que no primeiro ensaio o valor final foi de 0.43%, enquanto que no segundo ensaio o valor final foi de 0.70% (Figura 23a e 23b) (Anexo 6).

Neste caso, é possível verificar que as amostras vão perdendo peso ao longo do tempo, sendo que quanto maior a temperatura de armazenamento maior é a perda de peso, com diferenças muito significativas de 3 para 6°C. Também se verifica uma maior perda de peso nas amostras em que foi utilizada película perfurada. Este facto é resultado de uma maior permeabilidade com o exterior, permitindo ao fruto uma maior perda de água.



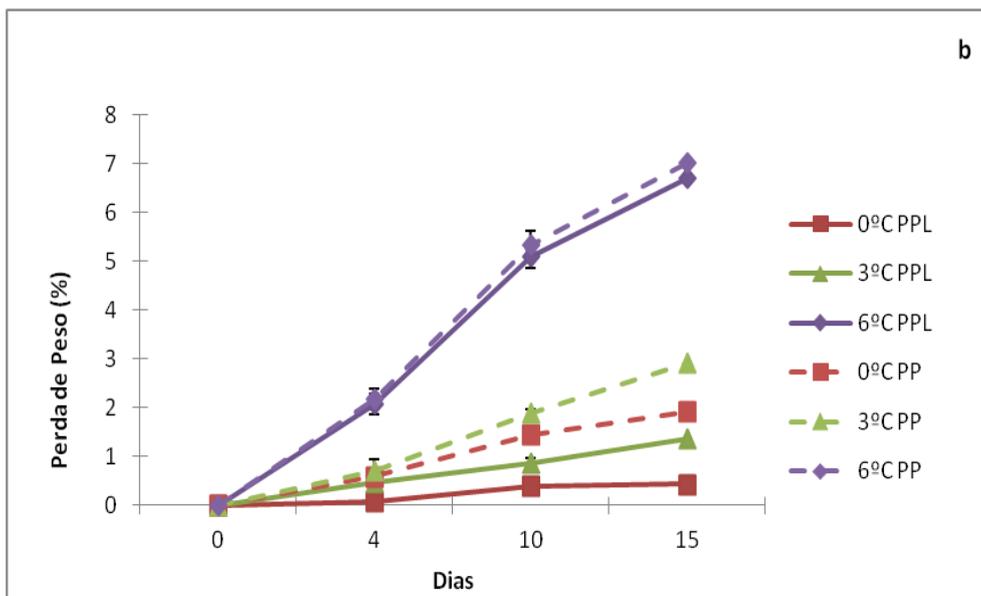


Figura.23: Perda de Peso (% peso perdido) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.2. Compostos Fenólicos

4.1.2.1. Fenóis Totais

O método utilizado para quantificar os fenóis totais nas amostras em estudo, foi o de Folin-Ciocalteu modificado (Julkunen-Titto, 1985; Wang *et al.*, 1997). É um método sensível e muito utilizado, que se baseia numa reacção de oxidação-redução, na qual, em condições alcalinas, ocorre a oxidação do ião fenolato, e a redução do complexo fosfomolibdico-túngstico a um composto corado de azul (Watermann e Mole, 1994).

Este parâmetro não apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P > 0,05$), (Figura 24a e 24b) (Anexo 9 e 40).

Neste caso, e em ambos os ensaios é possível verificar que na generalidade o teor de fenóis aumenta até aos 7 e 10 dias, respectivamente, e depois sofre uma ligeira diminuição. No entanto é possível verificar que na maioria dos casos a quantidade de fenóis é instável ao longo do tempo de armazenamento. No primeiro ensaio verifica-se que para a película PPL a 3 e 6 °C os valores são significativamente superiores após 7 dias. A 0°C não há diferenças significativas entre as 2 películas e após 10 dias todos os valores são semelhantes. Também é possível verificar que a quantidade de fenóis ao longo do tempo é mais estável no 2º ensaio. Os compostos fenólicos presentes nos frutos do medronheiro incluem classes químicas diversas, tais como antocianinas, taninos, flavonóides e derivados do ácido gálico (Pawlowska, 2005 ; Maleš, 2006).

Por outro lado, os ferimentos mecânicos (como os cortes nas folhas *in vitro*, o processo de secura), as agressões por agentes patogénicos ou por herbívoros, as condições ambientais e sazonais, a fase do desenvolvimento vegetativo da planta (como a floração, a frutificação ou o desenvolvimento de sementes) são exemplos de factores que estimulam a biossíntese destes fitoconstituintes (Purves *et al.*, 1998).

Os fenóis totais para o medronho foram quantificados por Rodriguez, (2010) e indicam 1656 mg por 100 g de peso fresco. Embora na bibliografia sejam referidos vários valores de fenóis totais, no presente estudo os valores são próximos dos referidos por Rodriguez, (2010). Tal confirma o referido por alguns autores (Rodriguez, 2010), em que referem que a quantidade e a composição dos compostos fenólicos presentes nos alimentos são influenciados pelo genótipo, procedimento de extracção, e condições ambientais, entre outros factores.

Em comparação com estudo efectuado por Ayala-Zavala (2004), que determinou a quantidade de fenóis totais presente no morango ao longo do tempo de armazenamento, verificou-se que contrariamente ao medronho que mantém os valores

nas diferentes temperaturas e ao longo do tempo de armazenamento, no morango verifica-se que quanto maior a temperatura de armazenamento maior é a quantidade de fenóis.

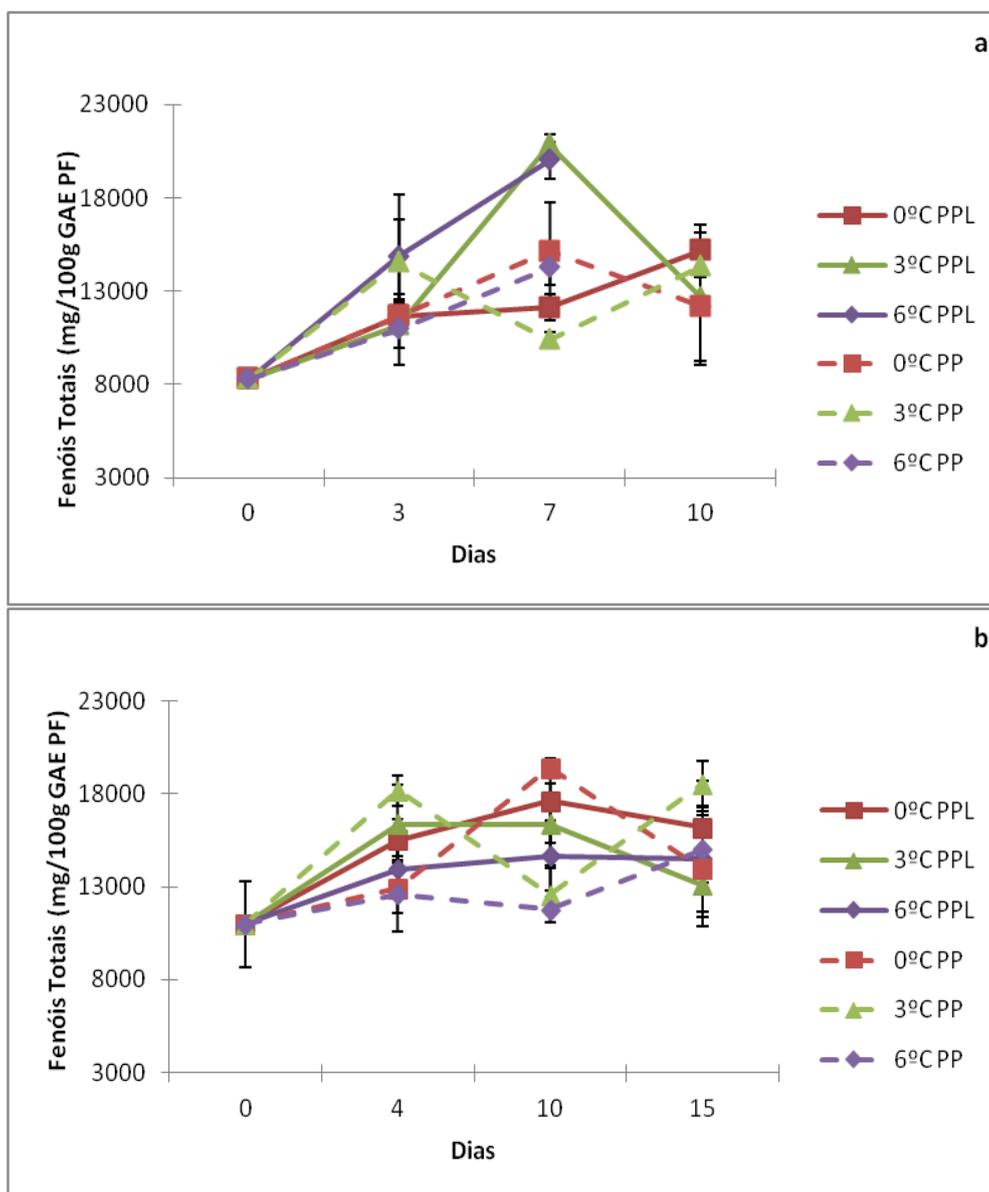


Figura.24: Fenóis Totais (mg/ 100g GAE) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

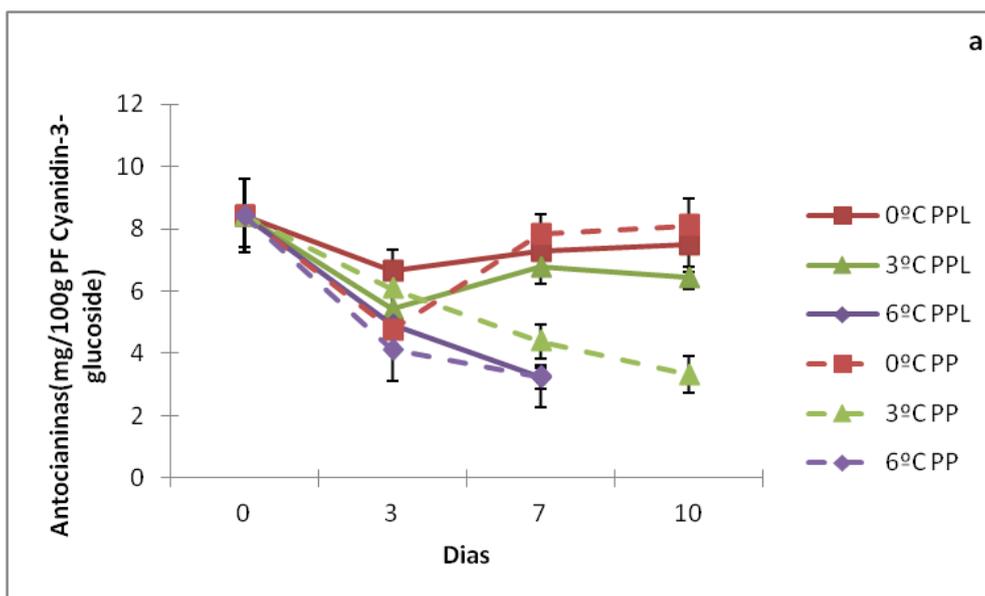
4.1.2.2. Antocianinas

As antocianinas são importantes para a qualidade dos alimentos devido à sua contribuição para a cor e aparência. Existe um interesse crescente no teor de antocianinas dos alimentos nutracêuticos devido aos possíveis benefícios para a saúde (Lee *et al.* 2005).

Neste caso é bem visível a influência da temperatura de armazenamento na quantidade de antocianinas, ou seja, quanto maior a temperatura de armazenamento menor a quantidade de antocianinas. A temperatura 0°C apresenta maiores quantidades de antocianinas, em relação às restantes temperaturas, demonstrando que à temperatura mais baixa há menor redução de antocianinas durante o armazenamento. Por outro lado, à temperatura de 6°C a quantidade antocianinas vai diminuindo ao longo do tempo de armazenamento demonstrando assim, que a temperaturas mais altas estas devem sofrer transformações mais rapidamente (Figura 25a e 25b) (Anexo 10 e 40).

Verifica-se, principalmente para 3 °C, que a PPL mantém melhor o teor de antocianinas durante o armazenamento.

A quantidade destes compostos no medronho foi quantificada como descrito por Pawlowska (2005), que obteve valores médios de 0.39 mg/ 100g de peso fresco de cyanidin 3-O-glucoside. No presente estudo os valores são superiores aos referidos por Pawlowska (2005).



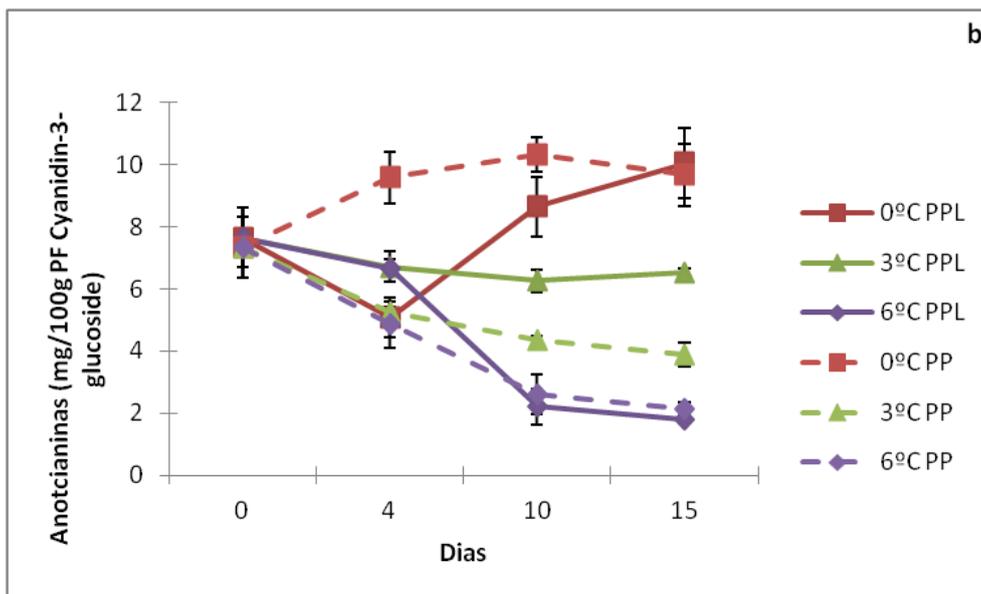


Figura.25: Antocianinas (mg/ 100g Cyanidin-3-glucoside) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.2.3. *Taninos*

Segundo Proença da Cunha (2010) que cita Bate-Smith e Swain que definiram taninos como “compostos fenólicos hidrossolúveis, com pesos moleculares entre 500 e 3000, que dão reacções comuns ao fenóis e que precipitam alcalóides, gelatina e outras proteínas”.

As interacções hidrófobas e as ligações hidrogénio entre os grupos fenólicos dos taninos e algumas macromoléculas, como as proteínas, explicam a adstringência característica dos taninos e a formação de complexos com as fibras do colagénio da pele, conferindo-lhe resistência à água e ao calor. (Proença da Cunha, 2010)

No presente trabalho verificamos, que a época da colheita é factor relevante na quantidade de taninos existentes no fruto, assim sendo, no primeiro ensaio verificou-se que o fruto tem menor quantidade de taninos, quer no início (1132 mg/100g peso fresco) quer no fim (1314 mg/100g peso fresco) do tempo de armazenamento. Por outro lado, no segundo ensaio existe uma maior quantidade de taninos iniciais (4564 mg/100g peso fresco) do que finais. Assim sendo a época de colheita é um factor a ter em conta quando o que se pretende é uma quantidade de taninos baixa. (Figura 26a e 26b) (Anexo 11 e 40)

A temperatura de armazenamento, embora não seja o factor que mais influencia na quantidade de taninos existentes no fruto, deverá ser tido em atenção. Verifica-se em ambos os ensaios que a PPL a 0 e 3 °C mantém os valores de taninos ao longo do tempo.

A temperatura de 6°C mostra um aumento de taninos no 1º ensaio e uma diminuição no 2º. No entanto deve-se ter em atenção o facto de os taninos se oxidarem facilmente durante o método utilizado (Proença da Cunha, 2010), o que poderá explicar as grandes oscilações que os resultados apresentam.

Segundo Tempel (1982) que nos diz que os resultados obtidos através da utilização da gelatina visando a precipitação das proteínas, são variáveis, isto poderá dever-se ao facto da proteína da gelatina diferir da proteína encontrada na saliva, que nós dá o sabor adstringente característico dos taninos. Por outro lado, Tempel (1982), afirma que a gelatina precipita outros fenóis que não taninos, como por exemplo hidroquinonas e o ácido gálgico. No caso do medronho é possível verificar através do estudo de Pawlowska (2006) a existência de um grande número de derivados o ácido gálgico, o que poderá explicar os valores elevados dos taninos.

Alarcão-e-Silva *et al.* (2001) quantificou os taninos nos medronhos com diferentes estádios de maturação. De acordo com estes autores, a quantidade de taninos diminui com o amadurecimento do fruto amadurecido: de 313 mg / 100g peso seco, quando o fruto é verde para 175 mg / 100g peso seco, quando a fruta é vermelha madura. No presente estudo a quantidade de taninos é muito elevada, em relação aos resultados descritos na bibliografia.

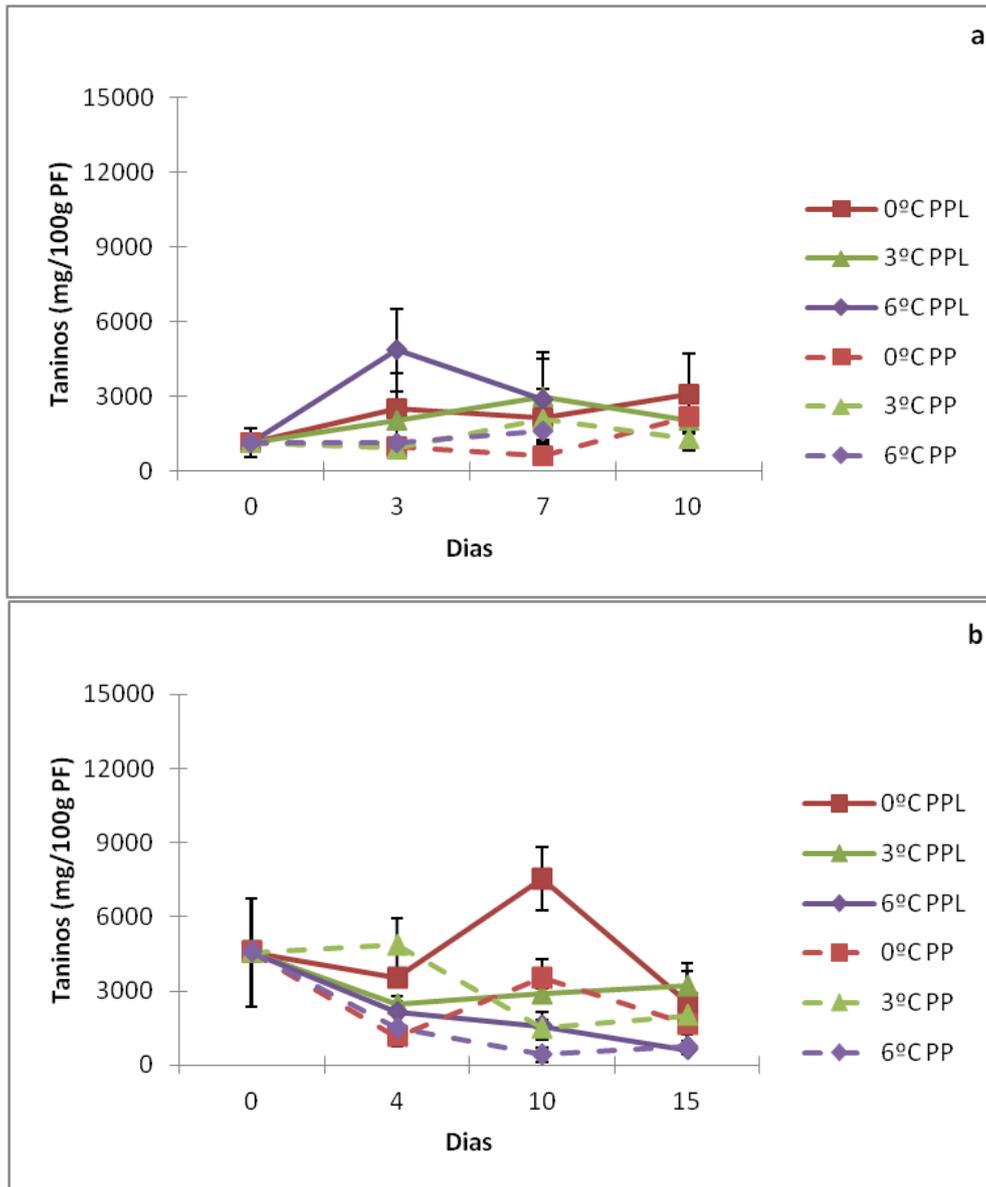


Figura.26: Taninos (mg/ 100g GAE) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

4.1.3. Actividade antioxidante

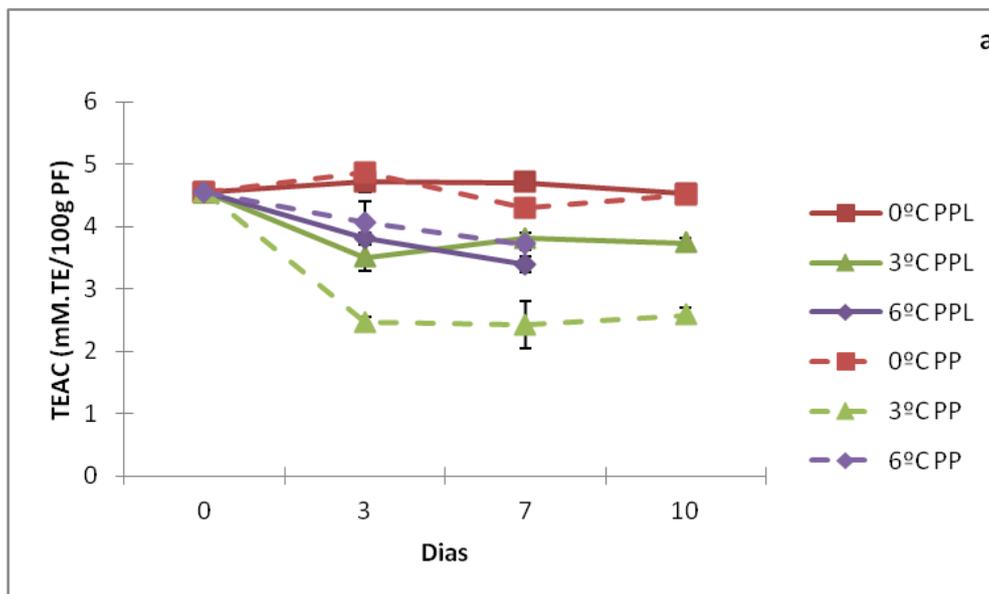
4.1.3.1. Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

4.1.3.1.1. Extracto Etanólico

A actividade antioxidante obtida a partir do método TEAC e em extracto etanólico não apresentou diferenças significativas entre ensaios ($P > 0,05$) (Figura 27a e 27b) (Anexo 16 e 40).

A partir das Figuras 31a e 31b, verifica-se que em ambos os ensaios à temperatura de 0°C os valores da actividade antioxidante mantêm-se ao longo do tempo, independentemente do tipo de película. Nas temperaturas 3 e 6°C regista-se uma diminuição significativa da actividade antioxidante nos primeiros 3-4 dias de armazenamento, mas em seguida estes valores mantêm-se ao longo do tempo.

Pabuçuoğlu (2008) obteve valores para o medronho em extracto etanólico de 2.25 mM TE/ 100g peso fresco. Observando os valores obtidos verifica-se que as amostras analisadas ao longo do tempo apresentam valores superiores aos referidos por aquele autor.



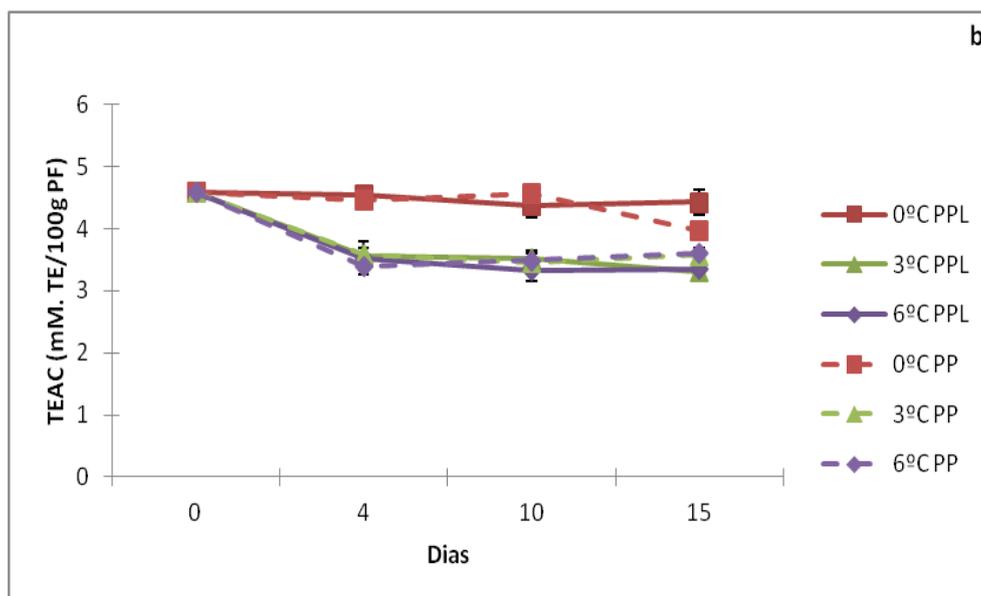


Figura.27: Actividade antioxidante determinada a partir do método TEAC em extracto etanólico (mM TE/100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

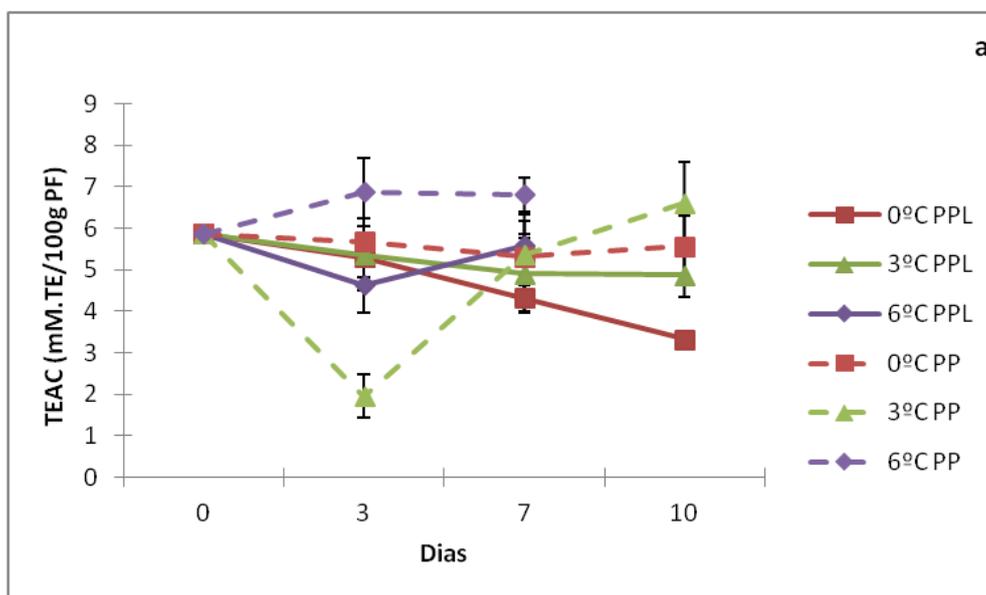
4.1.3.1.2. Extracto Metanólico

A actividade antioxidante obtida a partir do método TEAC e em extracto metanólico apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0,05$). No primeiro ensaio o valor inicial foi de 5.86 mM TE /100g peso fresco e o valor final mínimo foi de 3.32 mM TE /100g peso fresco, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 4.69 mM TE /100g peso fresco e o valor final mínimo foi de 3.79 mM TE /100g peso fresco (Figura 28a e 28b) (Anexo 17 e 40).

Os valores de TEAC no extracto metanólico não são tão claros como os do extracto etanólico.

Verifica-se que no primeiro ensaio à temperatura 0°C os valores registados mantêm-se praticamente constantes ao longo do tempo, excepto aos 10 dias em que no 1º ensaio as amostras com PPL, a actividade diminui e no 2º ensaio a actividade das amostras com película com furos (PF) aumenta. Em ambos os ensaios os medronhos a 3°C em PPL são os que melhor mantêm os valores de actividade antioxidante (TEAC) ao longo do tempo.

Pabuçuoğlu (2008) obteve valores para o medronho de 1.71 mM TE/ 100g peso fresco, inferiores aos obtidos no nosso ensaio.



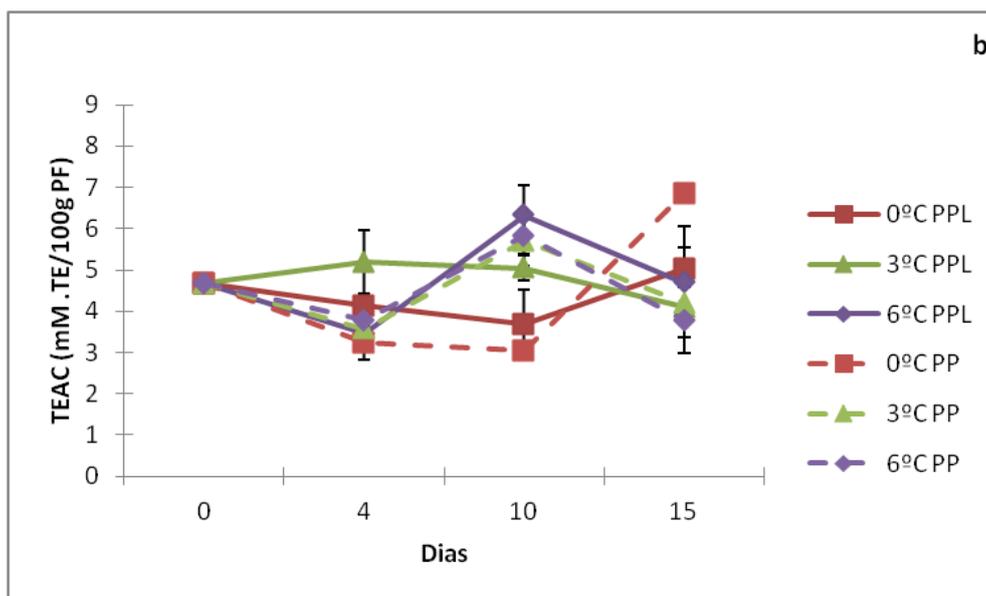


Figura.28: Actividade antioxidante determinada a partir do método TEAC em extracto metanólico (mM TE/100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.3.1.3. Extracto obtido com Hexano

A actividade antioxidante obtida a partir do método TEAC e em extracto obtido com hexano não apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P > 0,05$). No primeiro ensaio o valor inicial foi de 0.30 mM TE /100g peso fresco e o valor final mínimo foi de 0.25 mM TE /100g peso fresco, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 0.29 mM TE /100g peso fresco e o valor final mínimo foi de 0.24 mM TE /100g peso fresco (Figura 29a e 29b) (Anexo 18 e 40).

No primeiro ensaio verificou-se que à temperatura 0°C a actividade antioxidante nos frutos mantém-se até ao final do período de armazenamento, embora a PF tenha um ligeiro decréscimo. Por outro lado, as amostras mantidas nas restantes temperaturas sofrem um decréscimo aos 3 dias, voltam a subir no tempo 7 dias e aos 10 dias apresentam valores próximos entre si.

No segundo ensaio verificou-se que aos 4 dias há uma diminuição da actividade antioxidante nos frutos. No tempo seguinte (7dias), nos frutos colocados a 3 e 6°C em PPL, verificou-se um aumento da actividade antioxidante, contrariamente aos restantes tratamentos que registam uma diminuição. No final do tempo de armazenamento (10 dias) os valores finais da actividade antioxidante são semelhantes entre si, à excepção das amostras colocadas a 6°C em película com furos, e neste caso o valor continua a diminuir, demonstrando que a temperatura elevada associada à película perfurada condiciona os valores de actividade antioxidante.

Também se verifica que o extracto com hexano é menos eficiente que o etanólico. No entanto, este confirma que a temperatura de 0°C é a que melhor preserva a actividade antioxidante medida pelo método TEAC e a película não tem efeito significativo.

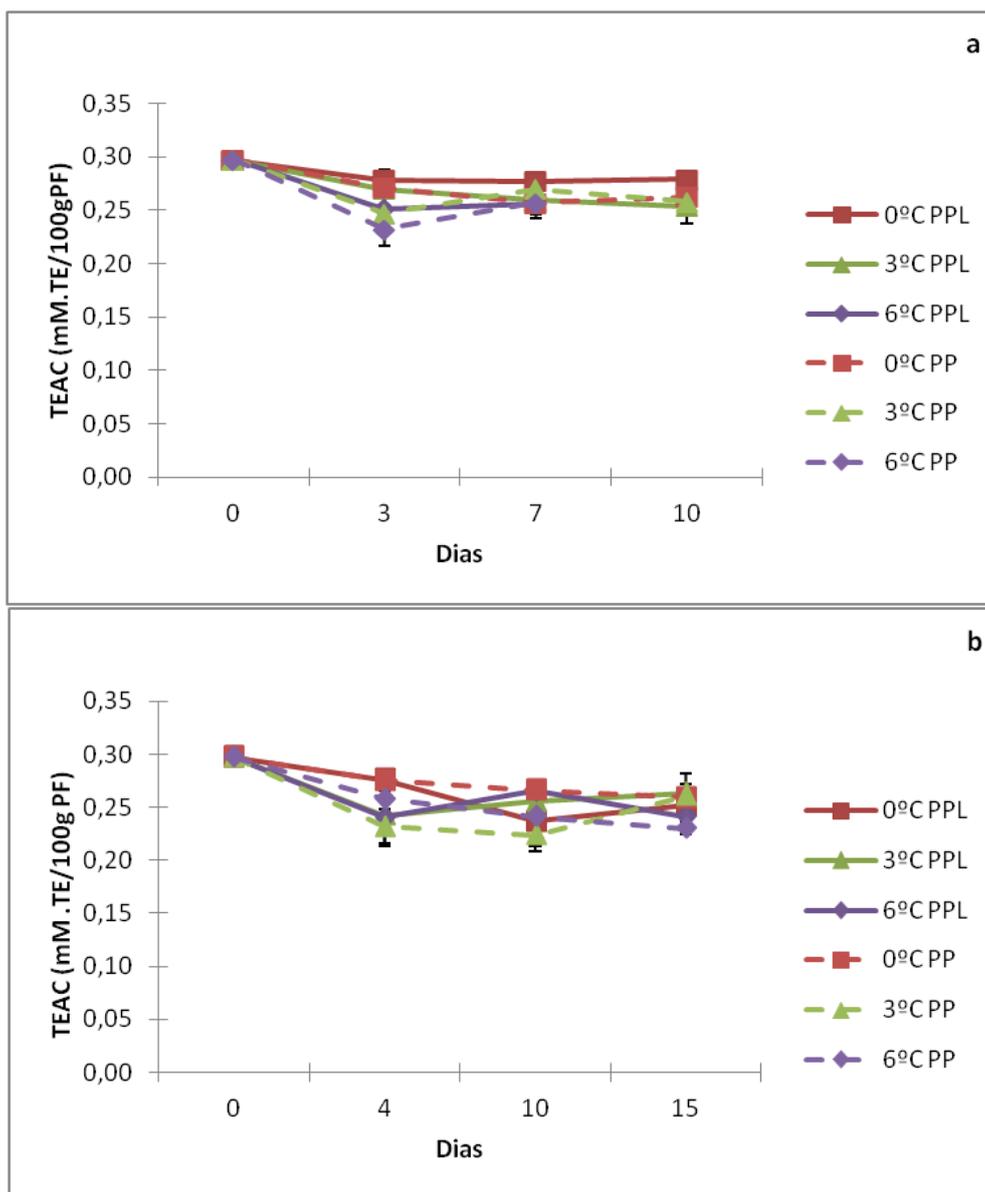


Figura.29: Actividade antioxidante determinada a partir do método TEAC em extracto hexanico (mM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

4.1.3.2. Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

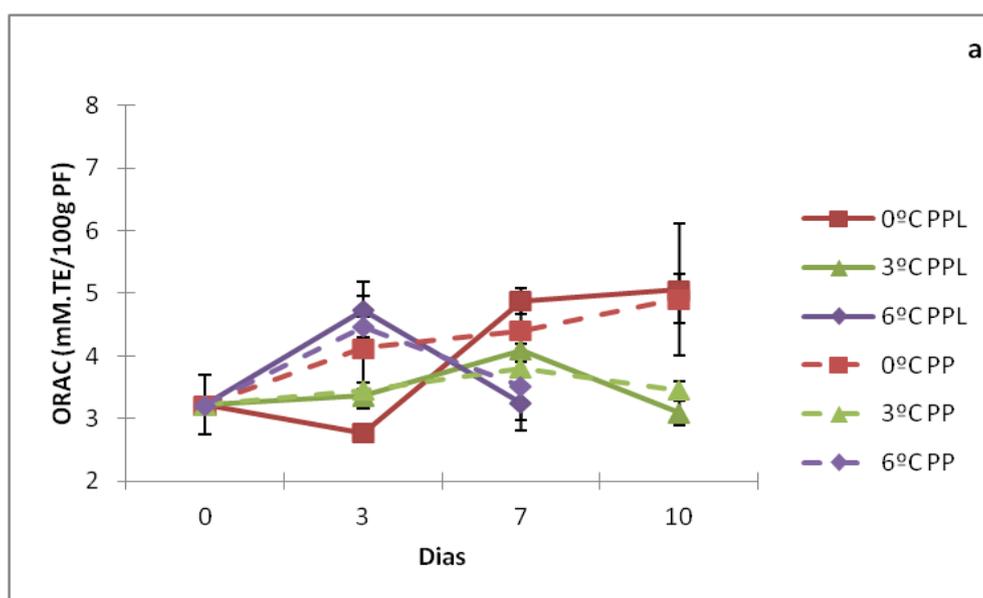
4.1.3.2.1. Extracto Etanólico

A actividade antioxidante dos extractos etanólicos obtida a partir do método ORAC apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0,05$). No primeiro ensaio o valor inicial foi de 3.22 mM TE /100g peso fresco e o valor final mínimo foi de 3.09 mM TE /100g peso fresco, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 4.06 mM TE /100g peso fresco e o valor final mínimo foi de 3.38 mM TE /100g peso fresco (Figura 30a e 30b) (Anexo 19 e 40).

No primeiro ensaio, de um modo geral, a actividade antioxidante das amostras aumenta ao longo do tempo de armazenamento. Contudo, após 10 dias de armazenamento os valores da actividade antioxidante são significativamente superiores a 0 °C do que a 3 °C, independentemente do tipo de película utilizado.

No segundo ensaio, apesar de algumas variações nos resultados, constata-se um aumento de actividade antioxidante ao longo do tempo de armazenamento, a 0°C e a sua manutenção para as outras temperaturas.

Fortaleza (2010) obteve para o mesmo fruto um valor de 11.66 ± 2.01 mM TE/100 g de peso seco, valor mais elevado que o encontrados no presente trabalho, contudo, pode ser explicado pelo facto destes resultados serem apresentados em peso fresco, ao passo que os do autor Fortaleza (2010) são apresentados em peso seco.



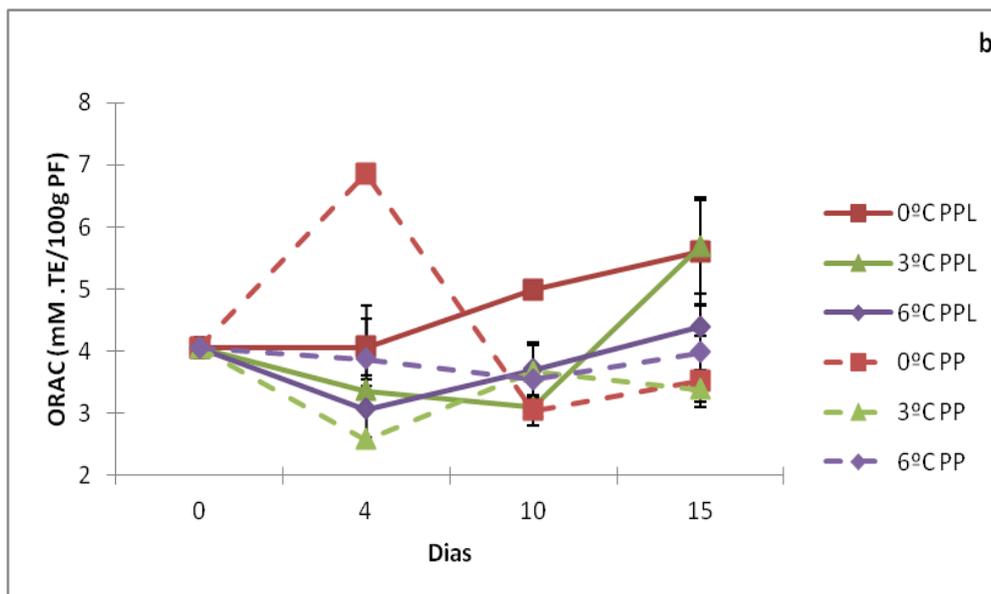


Figura.30: Actividade antioxidante dos extractos etanólico determinada usando o método ORAC (mM TE/100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.3.2.2. Extracto Metanólico

Os resultados obtidos a partir do extracto metanólico remete-nos para o ponto de colheita, no qual se verifica que existe uma grande discrepância nos valores iniciais obtidos, ou seja no primeiro ensaio, os valores iniciais são superiores aos registados no segundo ensaio.

A actividade antioxidante dos extractos metanólico obtidos a partir do método ORAC apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0.05$). No primeiro ensaio o valor inicial foi de 7.94 mM TE /100g peso fresco e o valor final mínimo foi de 4.74 mM TE /100g peso fresco, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 4.012 mM TE /100g peso fresco e o valor final mínimo foi de 3.47 mM TE /100g peso fresco (Figura 31a e 31b) (Anexo 20 e 40).

No primeiro ensaio, os valores vão diminuindo ligeiramente ao longo do tempo, contrariamente ao segundo ensaio, em que os valores vão aumentado ligeiramente ao longo do tempo de armazenamento.

É interessante verificar que neste extracto e no 1º ensaio, apesar de nos primeiros 7 dias ser a 0°C que se verifica a maior actividade antioxidante, no fim de 10 dias os valores são superiores a 3°C em PPL. No 2º ensaio os valores são sempre superiores a 3°C em PF sendo significativos ao fim de 15 dias.

Segundo Wang (2005) para o morango refere valores de 0.017 mM (TE)/ g peso fresco, e como se pode verificar pelos resultados obtidos no presente trabalho, o medronho apresenta valores superiores nos diferentes tratamentos e ao longo do tempo de conservação.

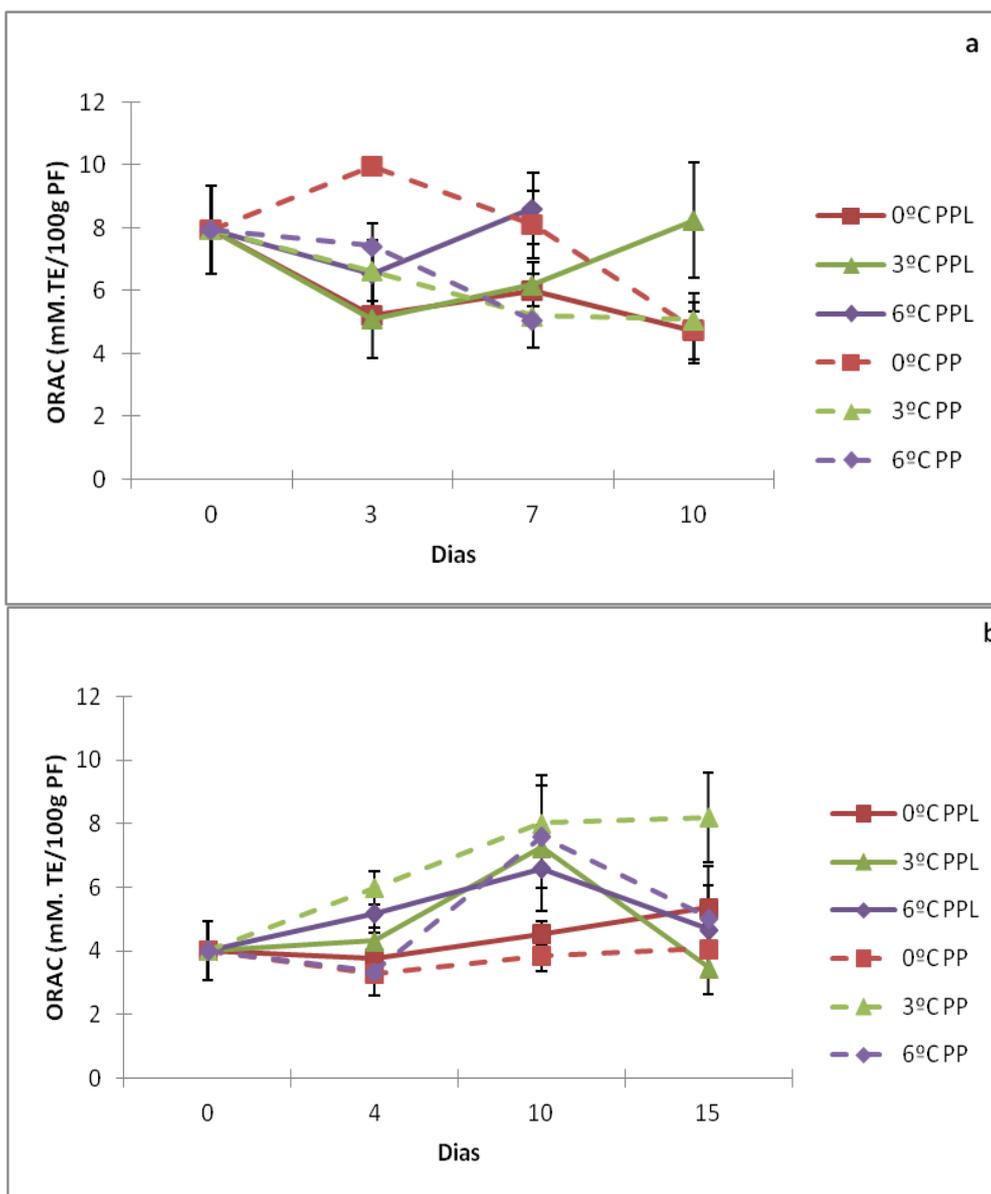


Figura.31: Actividade antioxidante dos extractos metanólico determinada usando o método ORAC (mM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.3.3. Oxigénio Singuleto

4.1.3.3.1. Extracto Etanólico

O oxigénio singuleto e em extracto etanólico não apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0.05$) (Figura 32a e 32b) (Anexo 21 e 40).

Em ambos os ensaios verificou-se que a percentagem de captação vai aumentando ao longo do tempo de armazenamento. Observa-se que a temperatura 0°C apresenta valores inferiores às restantes temperaturas, nos dois ensaios e nas duas películas, enquanto que a 3 e 6°C os valores para além de superiores são semelhantes entre si.

Segundo Wang (2005) para a framboesa refere valores de percentagem de inibição de 15.8%.

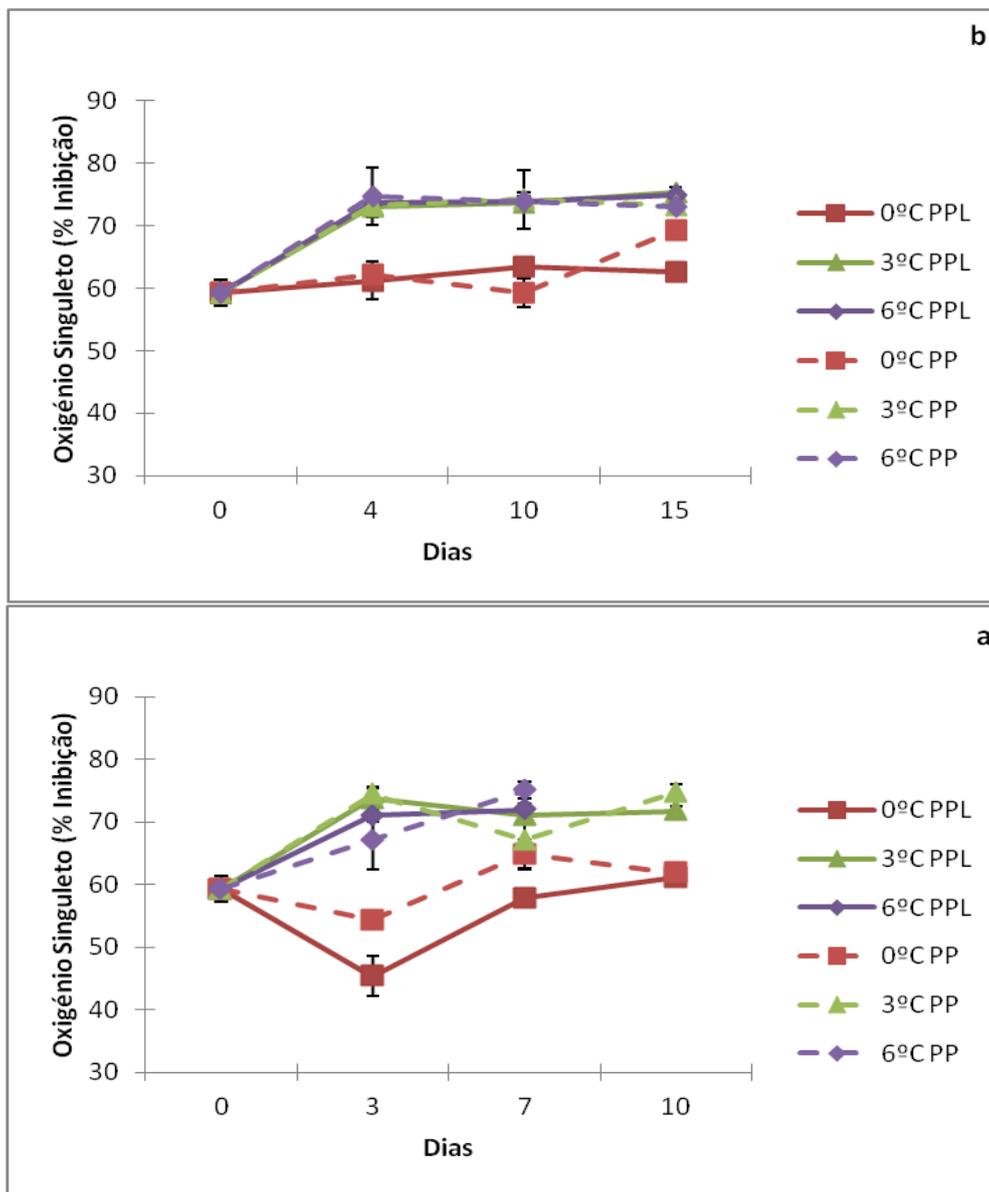


Figura.32: Oxigénio Singuleto em extracto etanólico (% inibição) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

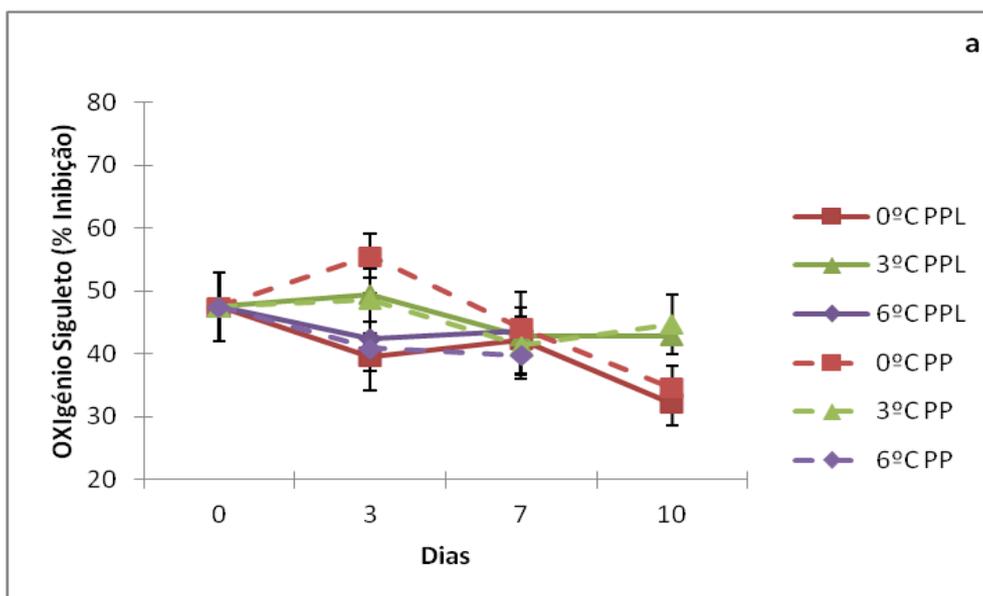
4.1.3.3.2. Extracto Metanólico

O oxigénio singuleto e em extracto metanólico não apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0.05$), com valores superiores no 1º ensaio em relação ao segundo. (Figura 33a e 33b) (Anexo 22 e 40).

Neste caso verificou-se que os valores obtidos no primeiro ensaio vão diminuindo ao longo do tempo de armazenamento, sendo que ao fim de 10 dias os valores a 0 °C são significativamente inferiores a 3 °C independentemente da película usada.

Por outro lado, no segundo ensaio os valores são praticamente constantes ao longo do tempo excepto a 0 °C que aumenta dos 10 para os 15 dias de armazenamento, apresentando no fim valores significativamente superiores na película PPL.

No segundo ensaio observou-se uma ligeira oscilação dos valores obtidos nas temperaturas 0 e 3°C, ou seja, no tempo 4 dias os valores aumentam e em seguida, no tempo 10 dias, os valores obtidos diminuem, voltando a subir a 0°C.



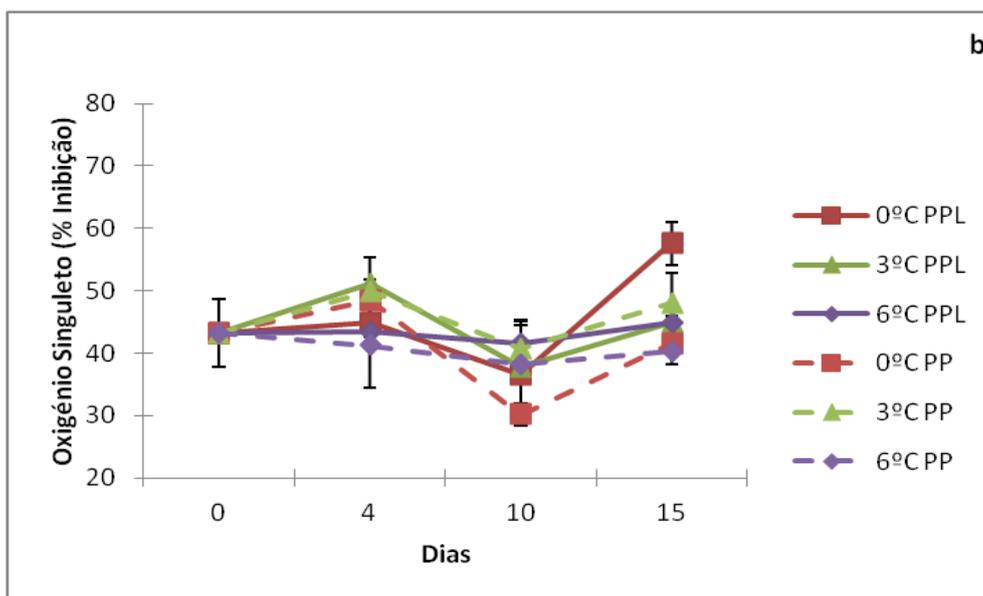


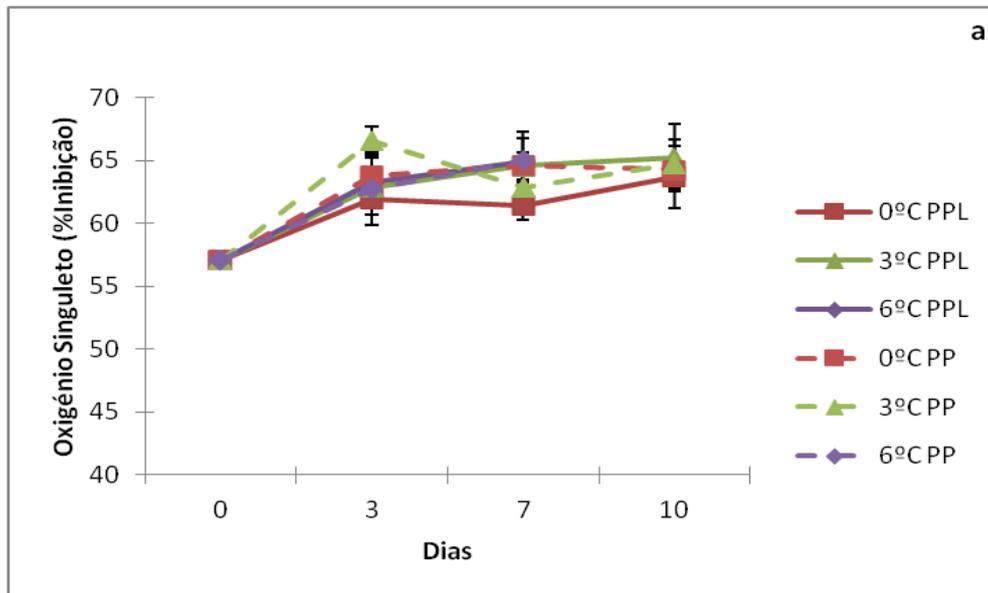
Figura.33: Oxigénio Singuleto em extracto metanólico (% inibição) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.3.3.3. Extracto com hexano

O oxigénio singuleto e em extracto com hexano não apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0.05$) (Figura 34a e 34b) (Anexo 23 e 40).

No presente parâmetro observou-se que os ensaios apresentam valores semelhantes, registando-se um aumento da percentagem de inibição nos primeiros 3-4 dias de armazenamento que se mantiveram mais ou menos estáveis ao longo do tempo. É possível verificar que a temperatura e as películas, não afectaram significativamente os resultados, excepto no 2º ensaio e a 0°C que os valores se mantiveram sempre significativamente mais baixos.

Segundo Wang (2005) para o morango refere valores de 17.4 % de inibição, neste caso as amostras de medronho apresentam valores superiores aos observados no morango.



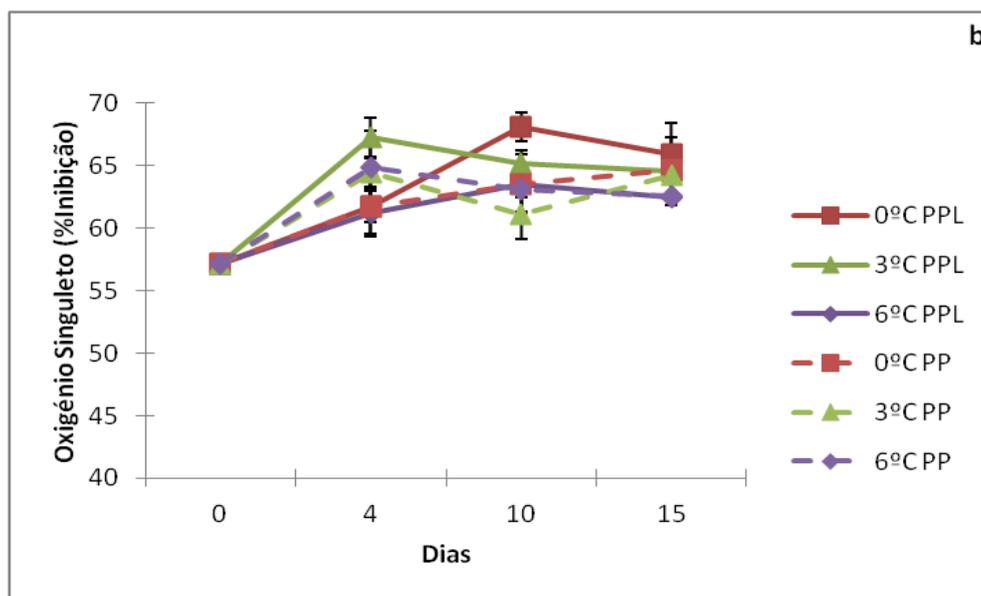


Figura.34: Oxigênio Singuleto em extracto com hexano (% inibição) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.4. Ácido Ascórbico

A importância nutricional de vitamina C (hidrossolúvel) como uma vitamina essencial está bem estabelecida: o ácido ascórbico (AA) é um cofactor em várias reacções fisiológicas, e tem também um elevado potencial redox, quer sozinho quer acoplado a outros antioxidantes. O interesse nutricional de ácido ascórbico (AA) vem não só da sua actividade como vitamina C, em conjunto com sua forma oxidada, o ácido dehidroascórbico (DHAA), mas também porque é um antioxidante, quer em alimentos quer nos organismos vivos, por ser capaz de captar algumas espécies de oxigénio reactivas (Rodriguez, 2010).

Frutos e vegetais são fontes importantes de vitaminas necessárias na dieta humana. As vitaminas são susceptíveis de sofrerem alterações e perdas particularmente após a colheita. As mudanças qualitativas e quantitativas das vitaminas estão relacionadas com o seu papel no metabolismo das plantas pelo que é importante conhecer estes factores para desenvolver as condições óptimas de armazenamento. O aumento de temperatura, de uma maneira geral, aumenta as perdas de vitaminas (Antunes, 2010).

O ácido ascórbico apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0,05$), ou seja no primeiro ensaio o valor inicial foi de 185.731mg/100g de peso fresco e o valor final mínimo foi de 123.609 mg/100g de peso fresco, e no segundo ensaio o valor foi superior, inicialmente 214.333 mg/100g de peso fresco e o valor final mínimo foi de 215.273 mg/100g de peso fresco. (Figura 35a e 35b) (Anexo 12 e 40)

No segundo ensaio, a quantidade de ácido ascórbico não foi influenciado pela temperatura de armazenamento, películas ou tempo de armazenamento. No entanto no 1º ensaio a temperatura de 3°C foi a que manteve melhor o teor em ácido ascórbico, tendo descido ligeiramente a 0 °C dos 7 para os 10 dias, independentemente da película usada.

O trabalho de Rodriguez (2010) diz-nos que tem 182 mg/ 100g de peso fresco. Tal como podemos observar, os resultados obtidos estão de acordo com os resultados descritos na bibliografia.

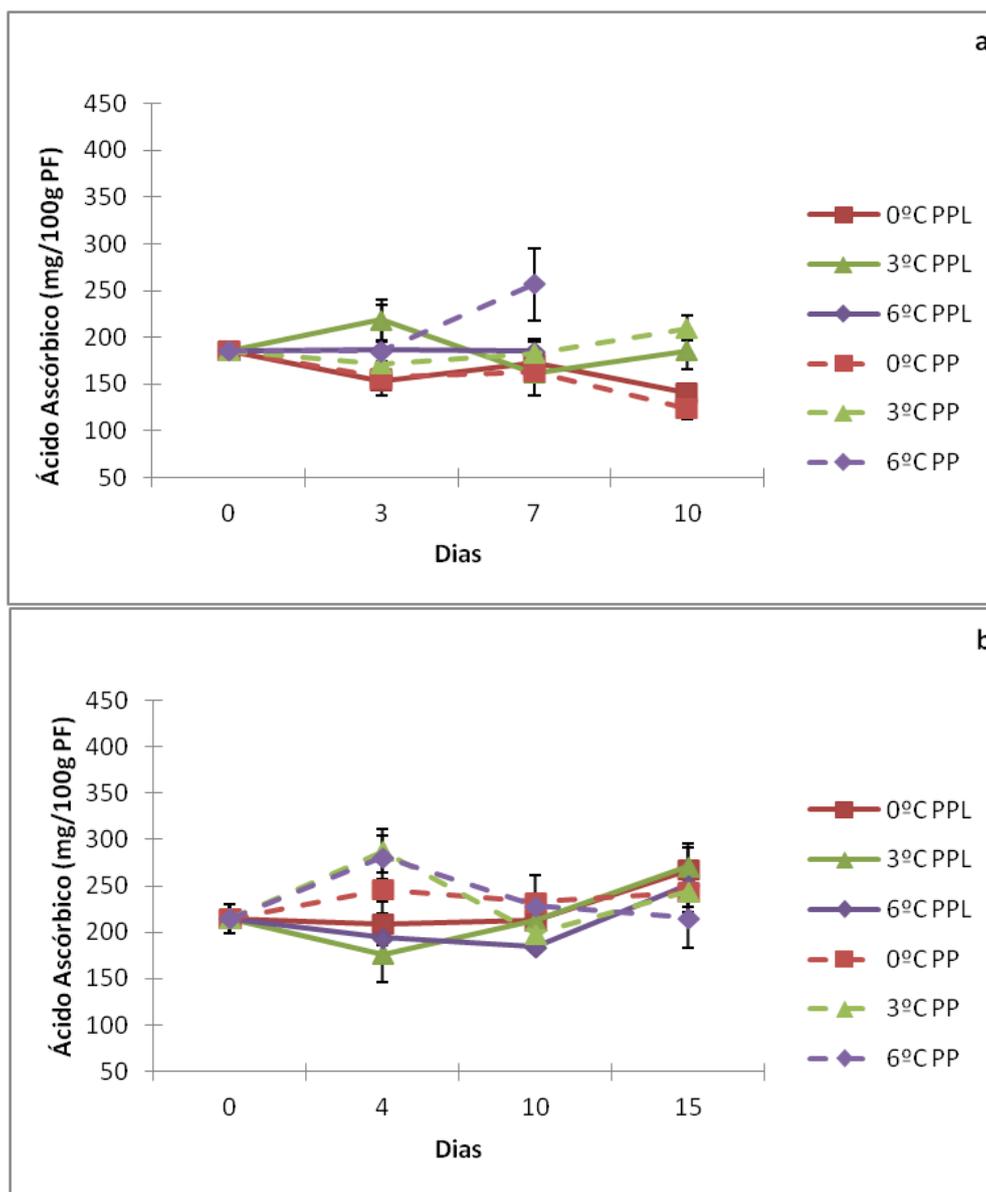


Figura.35: Vitamina C – Ácido Ascórbico (mg/ 100g Acido Ascórbico) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

4.1.5. Carotenóides

4.1.5.1. β -Caroteno

O β -caroteno, que é um precursor da vitamina A é um dos responsáveis pela coloração amarela/laranja na polpa do medronho (Alarcão-e-Silva *et al.* 2001).

O β -caroteno apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0.05$). No primeiro ensaio o valor inicial foi de 18.11 mg/100g de peso fresco e o valor final mínimo foi de 10.70 mg/100g de peso fresco, e no segundo ensaio, mais elevado o valor inicial foi de 21.87 mg/100g de peso fresco e o valor final mínimo foi de 14.72 mg/100g de peso fresco (Figura 36a e 36b) (Anexo 13 e 40), mostrando que os frutos do 2º ensaio estavam mais maduros (Alarcão-e-Silva *et al.*, 2001).

Neste caso, os valores de β -caroteno vão diminuindo ao longo do tempo, embora no 2º ensaio na PP tenha subido a 0 e 6°C, ficando com o valor mais alto no final de 15 dias. Em todos os casos observamos oscilações nas quantidades de β -caroteno.

Os carotenóides totais no medronho foram quantificados por Pallauf *et al.* (2008), que relatou a quantidade destes compostos, sendo os valores de β -caroteno de 0.025 mg/100 g de amostra. O conteúdo deste carotenóide nesta fruta também é apresentado por Barros *et al.* (2010), Alarcão-e-Silva *et al.* (2001) e Rodriguez (2010). Os primeiros autores referem-se 1.07 mg/100 g de peso seco, à quantidade de β -caroteno, que está presente no medronho, enquanto Alarcão-e-Silva *et al.* (2001) referem-se a mudanças na quantidade de β -caroteno com o amadurecimento dos frutos, começando com 38.1 mg/100 g de matéria seca, quando o fruto é verde, para 70.9 mg/100 g de matéria seca, quando o fruto é vermelho maduro; já Rodriguez (2010) apresenta-nos 0.520 mg/100g de peso fresco. Nos ensaios realizados verifica-se que a quantidade de β -caroteno é superior à encontrada na bibliografia.

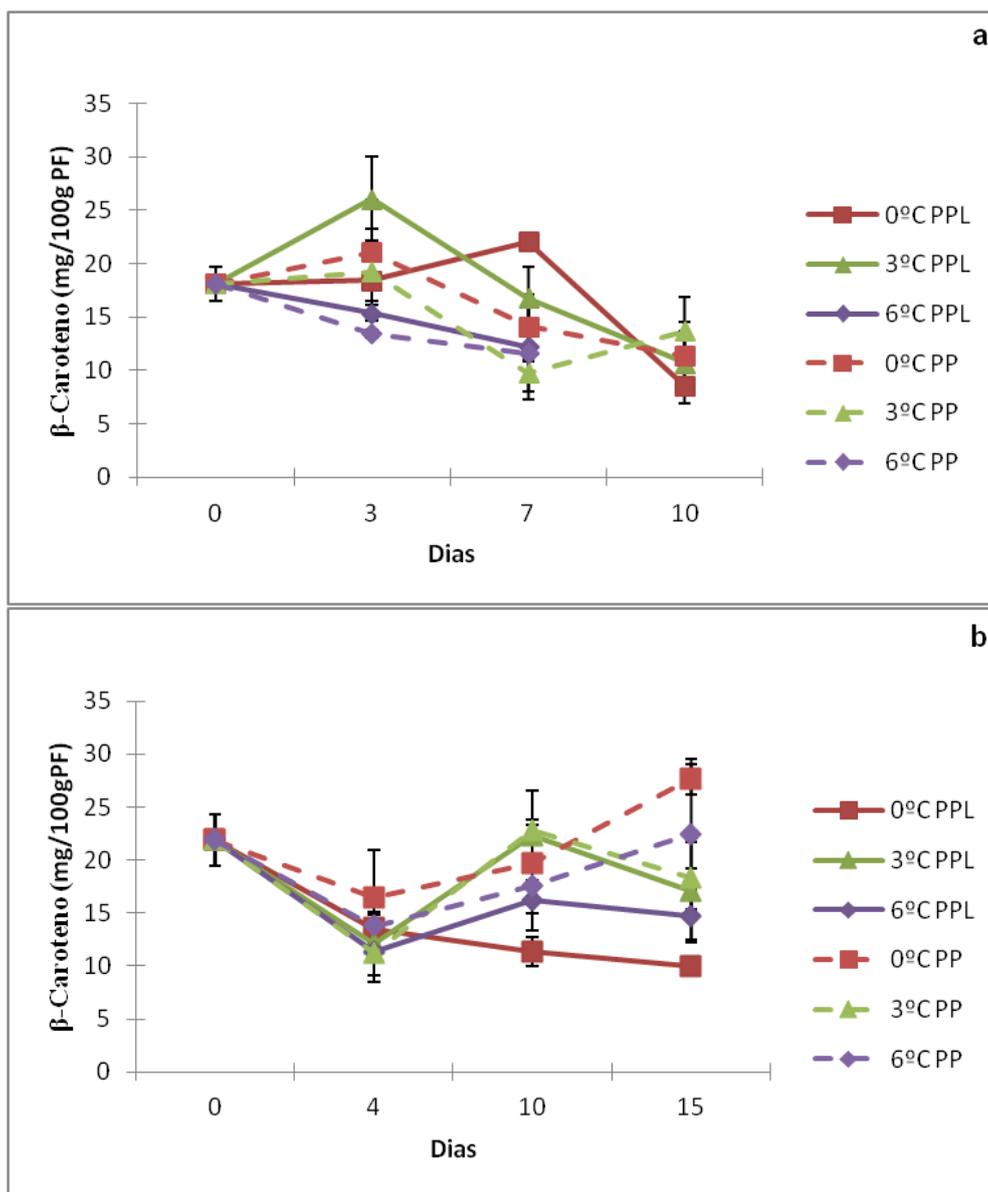


Figura.36: β-caroteno (mg/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

4.1.6. Açúcares

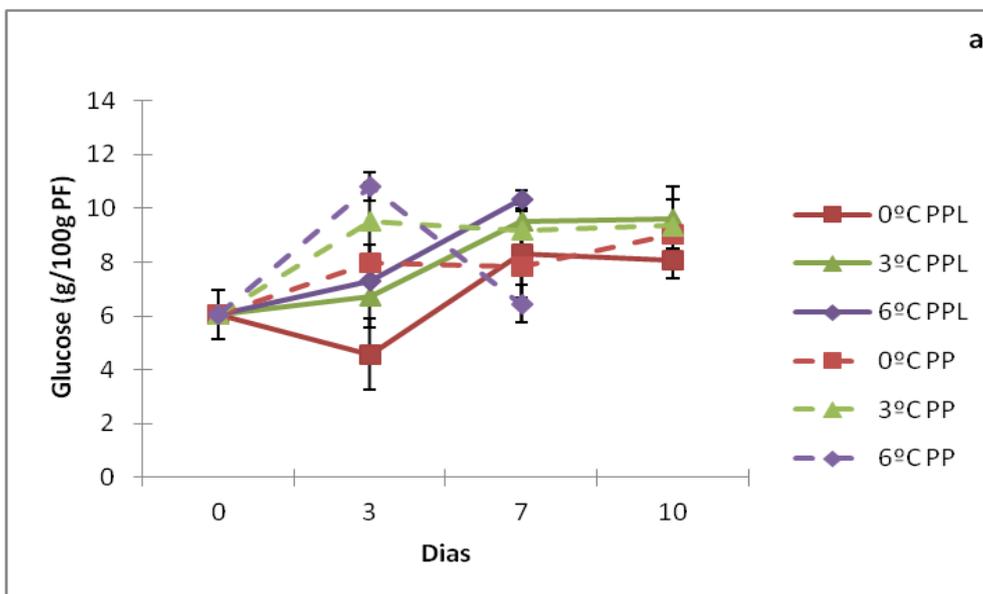
4.1.6.1. Glucose

A glucose não apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0.05$). No primeiro ensaio o valor inicial foi de 6.05 g/100g e o valor final mínimo foi de 8.07 g/100g, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 9.98 g/100g e o valor final mínimo foi de 7.61 g/100g. (Figura 37a e 37b) (Anexo 14 e 40)

No primeiro ensaio observou-se que em todos os tratamentos, o teor da glucose nas amostras aumentou, estabilizando a quantidade de glucose a partir do 3 dias, excepto a 6 °C na PP que diminuiu. Na PPL os valores aumentaram dos 3 para os 7 dias.

No segundo ensaio verificou-se que os valores de glucose apresentaram no final do tempo de conservação valores semelhantes ao inicial, mostrando que estes frutos estavam mais maduros que os do 1º ensaio.

A quantidade de glucose presente no medronho é referida por Barros et al. (2010) e Alarcão-e-Silva *et al.* (2001). Os primeiros autores referem-se 5.51 g/100 g de peso fresco, enquanto que Alarcão-e-Silva *et al.* (2001) refere 12.14 %. O presente ensaio apresenta valores semelhantes aos descritos na bibliografia.



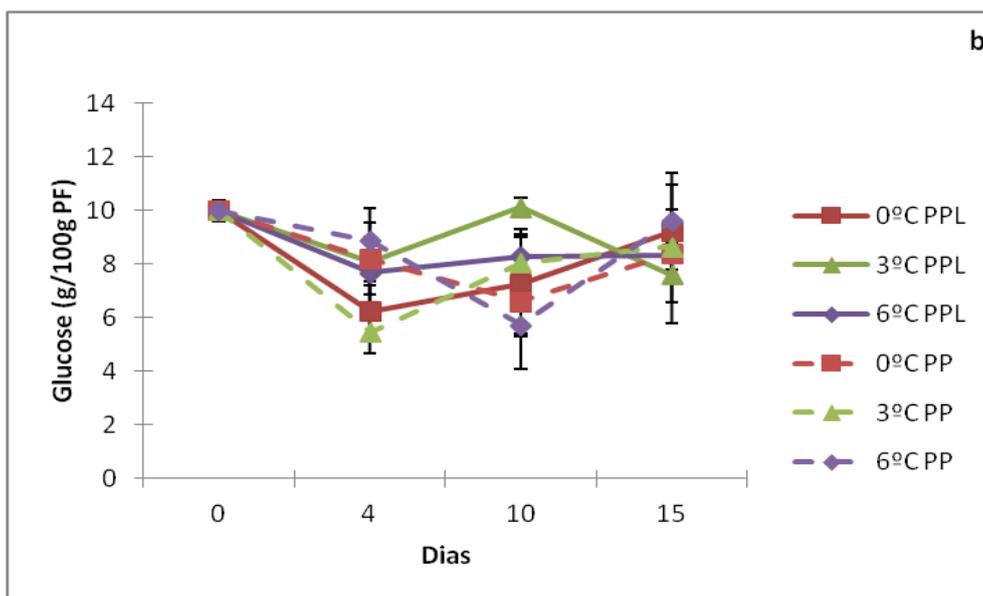


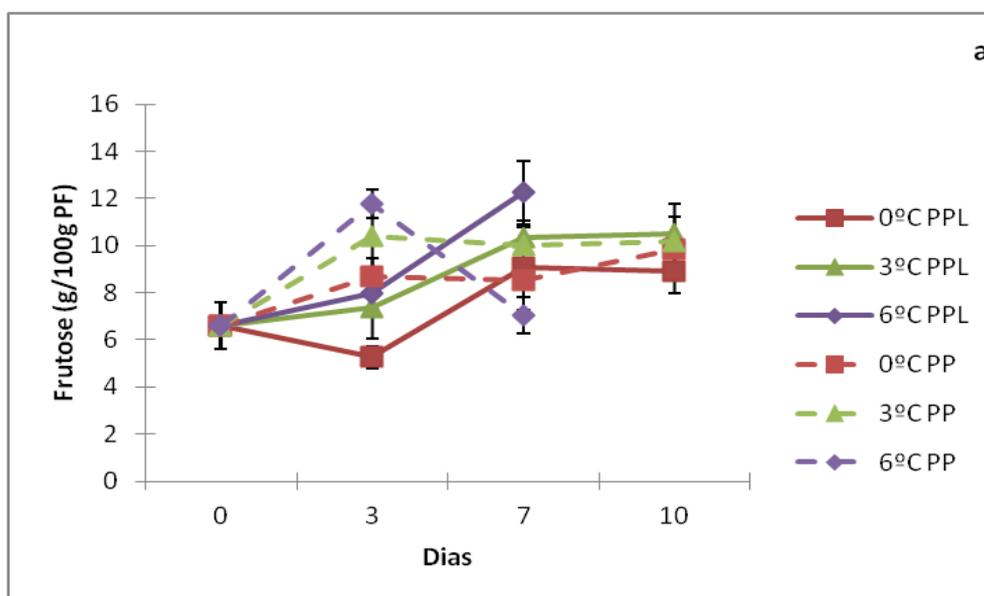
Figura.37: Glucose (g/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.6.2. Frutose

A frutose apresenta diferenças significativas entre ensaios ($P < 0.05$). No primeiro ensaio o valor inicial foi de 6.59 g/100g e o valor final mínimo foi de 8.89 g/100g, e no segundo ensaio o valor inicial foi de 10,878 g/100g e o valor final mínimo foi de 8.30 g/100g. (Figura 38a e 38b) (Anexo 15 e 40).

No primeiro e segundo ensaios o padrão de comportamento do teor de frutose foi semelhante ao da glicose, sugerindo frutos mais doces e mais maduros no 2º ensaio.

A quantidade de frutose presente no medronho é referida por Barros et al. (2010) e Alarcão-e-Silva et al. (2001). Os primeiros autores referem 10.36 g/100 g de peso fresco, enquanto que Alarcão-e-Silva *et al.* (2001) refere 24.21 %. O presente ensaio apresenta valores semelhantes aos descritos na bibliografia.



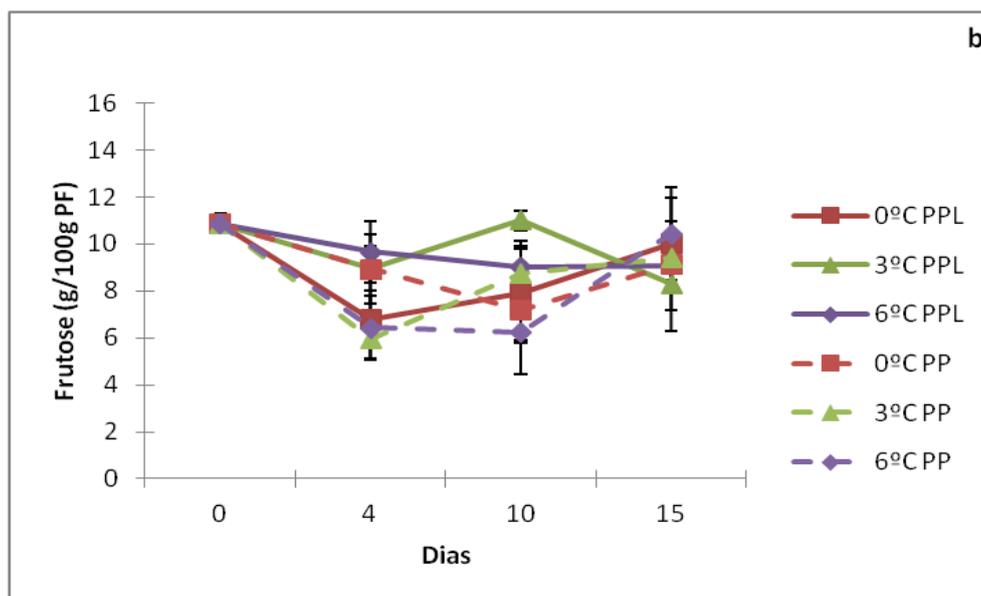
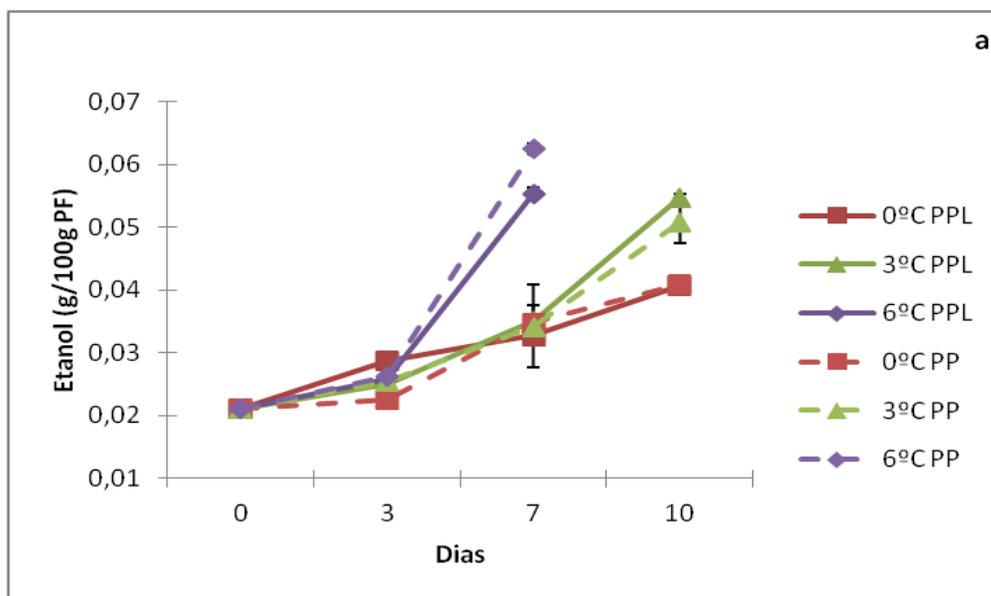


Figura.38: Frutose (g/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.7. Etanol

O etanol é um dos aspectos mais importantes, no caso dos frutos para consumo em fresco. No presente estudo verifica-se que a quantidade de etanol vai aumentando ao longo do tempo de armazenamento. Também se constata que quanto maior for a temperatura de armazenamento maior é a produção de etanol. No entanto, esta diferença, apenas é visível a partir do terceiro dia no primeiro ensaio e quarto dia no segundo ensaio. À temperatura de 6°C, o fruto aumenta exponencialmente a quantidade de etanol produzida. No caso das temperaturas 0°C e 3°C, a diferença entre estas apenas é visível a partir do sétimo dia no primeiro ensaio e décimo dia no segundo ensaio. A quantidade de etanol produzido pelos frutos, não está directamente ligada com época de colheita, embora os ensaios sejam diferentes significativamente ($P < 0,05$) (Figura 39a e 39b) (Anexo 24 e 40).

Em comparação com estudo efectuado por Antunes e Sfakiotakis (1997), que determinou a quantidade de etanol presente no kiwi ao longo do tempo de armazenamento, verificou-se a mesma tendência crescente no medronho.



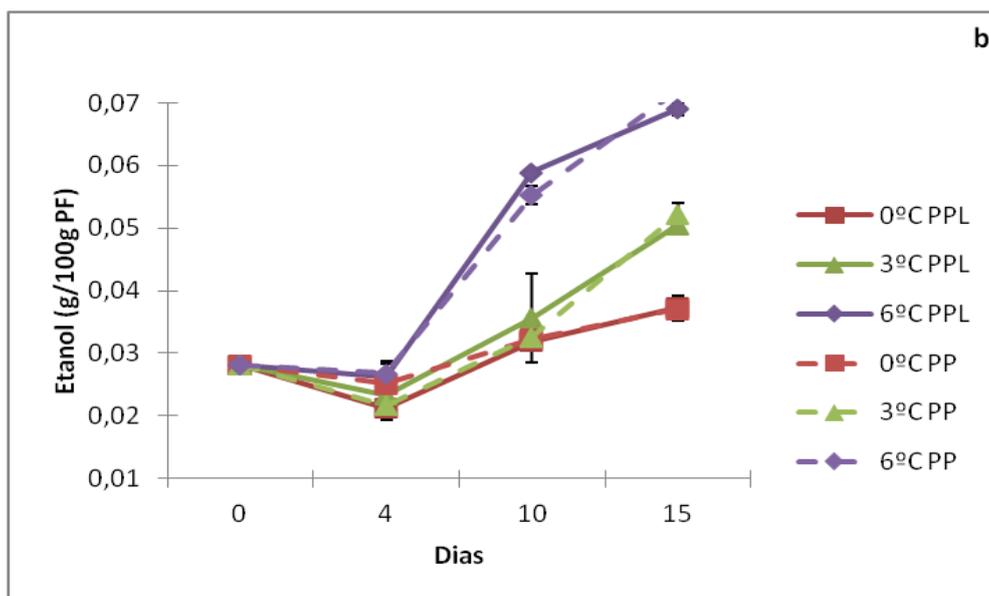


Figura.39: Etanol (g/100g peso fresco) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.1.8. Análise Sensorial - Painel de Provadores

4.1.8.1. 1ºEnsaio

No primeiro ensaio a análise sensorial apenas foi efectuada no tempo inicial. De um modo geral os itens de apreciação sensorial apresentam valores razoáveis próximos do bom, com excepção do aroma e da doçura, que apresentam valores abaixo do nível médio, talvez por os provadores não estarem muito habituados a este fruto ou este ainda não estar bem maduro (Fig. 40).

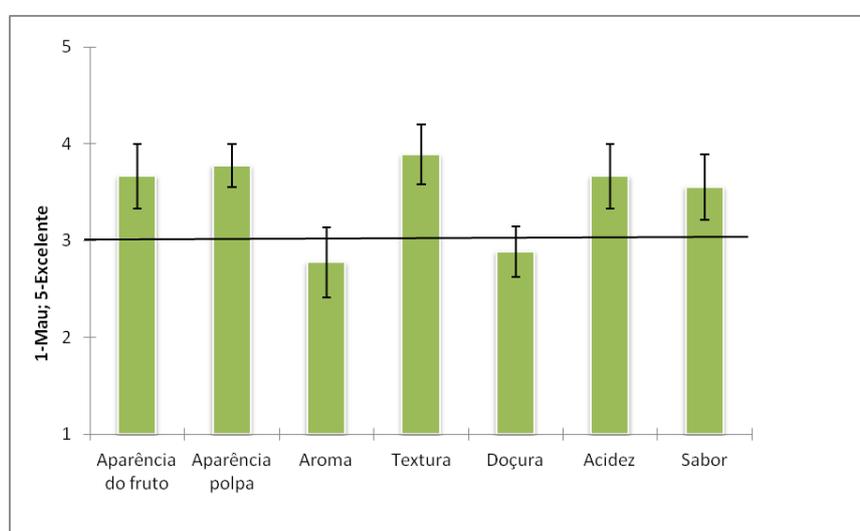


Figura.40: Painel de Provadores efectuado no tempo inicial, registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.

4.1.8.2. 2ºEnsaio

No segundo ensaio foram realizadas duas análises sensoriais, durante o decorrer do ensaio, uma delas no tempo inicial e outra após 10 dias de armazenamento.

4.1.8.2.1. Aparência do fruto

Em relação à aparência do fruto verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação de boa (Fig. 41).

Por outro lado, no tempo 10 dias, verifica-se uma diminuição, em geral, da classificação obtida na aparência do fruto. Neste caso observa-se que a 0 °C apenas sofreu uma ligeira diminuição da classificação, sendo que a diminuição da classificação acentua-se à medida que a temperatura aumenta, ou seja, quanto maior a temperatura de armazenamento mais rapidamente o fruto se degrada e como tal a aparência exterior do fruto diminui. Também se observa que na PP e no tempo 10 dias, a classificação apresenta uma ligeira diminuição. É possível, pois, concluir que a aparência do fruto ao longo do tempo de armazenamento está directamente ligada à temperatura de armazenamento e um pouco à película.

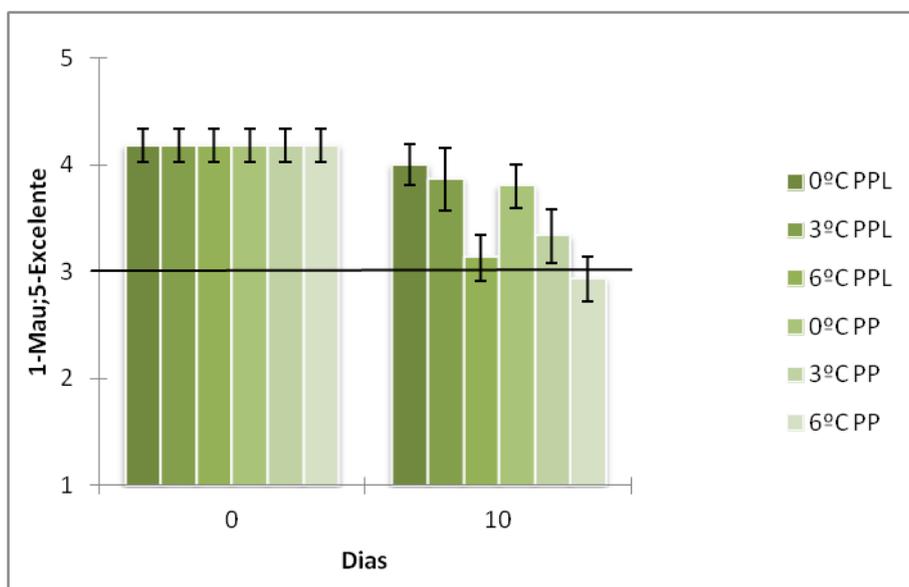


Figura.41: Painel de Provedores referente à aparência do fruto registada durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.

4.1.8.2.2. Aparência da polpa

Em relação à aparência da polpa verifica-se que no tempo inicial os frutos obtiveram uma classificação de boa (Fig. 42).

Por outro lado, no tempo 10 dias verifica-se uma diminuição, em geral, da classificação obtida na aparência da polpa, com excepção da temperatura 0°C em ambas as películas e a 3°C na PP. Neste caso observa-se que a 0°C não houve diminuição da classificação. Sendo que a diminuição da classificação acentua-se à medida que aumenta a temperatura, ou seja quanto maior a temperatura de armazenamento mais rapidamente o fruto se degrada e como tal a aparência interior do fruto diminui. Também se observa que na película polietileno linear e no tempo 10 dias a classificação apresenta uma diminuição significativa. Pode então concluir-se que a aparência da polpa ao longo do tempo de armazenamento está directamente ligada à temperatura de armazenamento e à película utilizada, embora contrariamente à aparência do fruto a película perfurada obtêm uma melhor classificação.

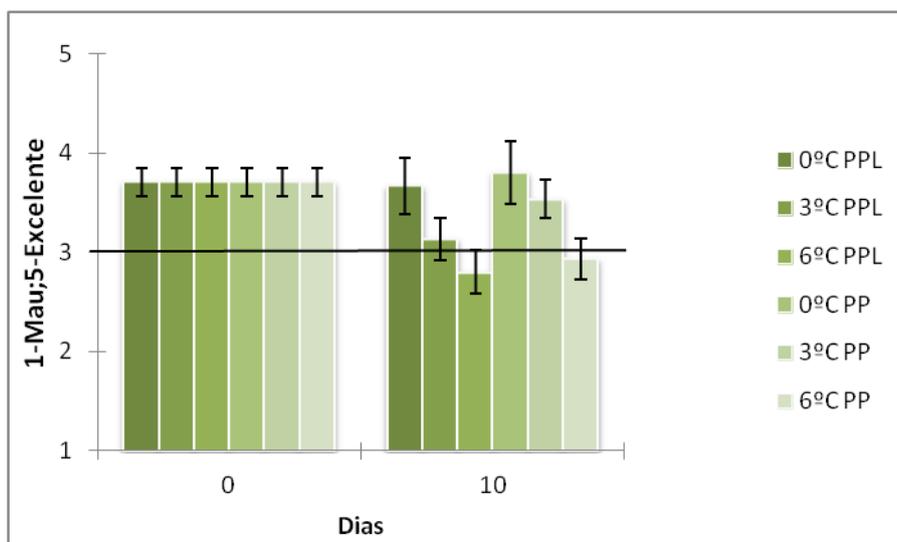


Figura.42: Painel de Provedores referente à aparência da polpa durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão

4.1.8.2.3. Aroma

Em relação ao aroma verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação boa (Fig. 43). Por outro lado, no tempo 10 dias verifica-se um ligeiro aumento, em geral, da classificação obtida no aroma do fruto, com excepção do tempo 3°C com PPL.

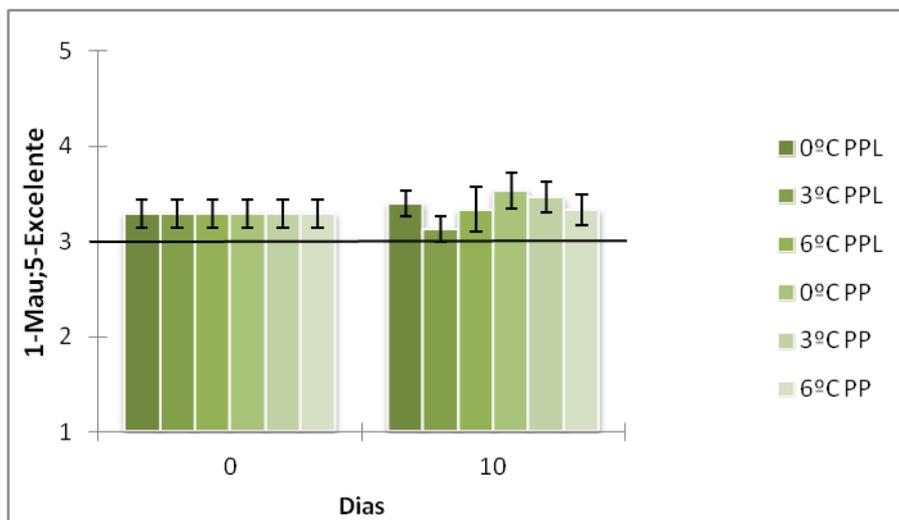


Figura.43: Painel de Provadores referente ao aroma registado durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão

4.1.8.2.4. Textura

Em relação à textura verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação boa, não existindo diferenças significativas entre as diferentes temperaturas e os diferentes tratamentos (Fig. 44).

Por outro lado, no tempo 10 dias verifica-se uma diminuição, em geral, da classificação obtida na textura do fruto. Neste caso observa-se que a 0°C apenas sofreu uma ligeira diminuição da classificação. Sendo que a diminuição da classificação acentua-se à medida que aumenta a temperatura, ou seja quanto maior a temperatura de armazenamento mais rapidamente o fruto se degrada e diminui a firmeza, logo a textura piora. Também se observa que na PP e no tempo 10 dias textura é ligeiramente superior do que na PPL em todas as temperaturas.

Pode-se então concluir que a textura ao longo do tempo de armazenamento está directamente ligada à temperatura de armazenamento e à película utilizada.

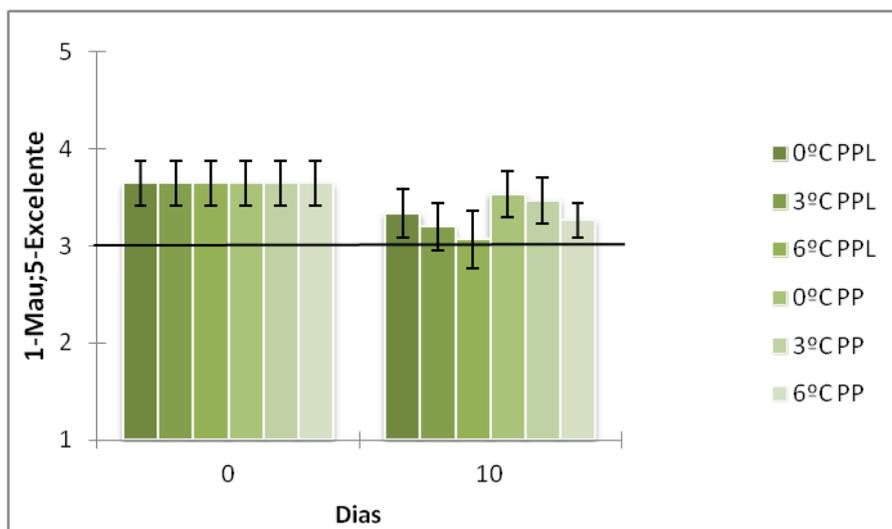


Figura.44: Painel de Provadores referente à textura registada durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.

4.1.8.2.5. Doçura

Em relação à doçura verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação boa, não existindo diferenças significativas entre as diferentes temperaturas e os diferentes tratamentos (Fig. 45).

Por outro lado, no tempo 10 dias verifica-se um ligeiro aumento, em geral, da classificação obtida na doçura do fruto, com excepção da temperatura de 6°C. Neste caso observa-se que não existem diferenças significativas nas temperaturas 0 e 3°C assim como nas películas utilizadas a estas temperaturas. Por outro lado, na temperatura 6°C verifica-se uma diminuição da classificação obtida na doçura, sendo mais acentuada na PPL.

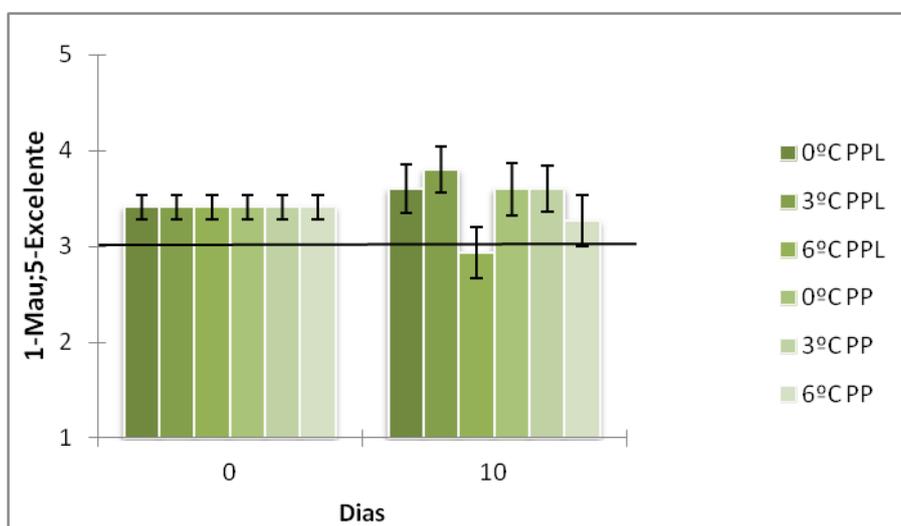


Figura.45: Painel de Provadores referente à doçura registada durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão

4.1.8.2.6. Acidez

Em relação à acidez verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação boa (Fig. 46).

Por outro lado, no tempo 10 dias verifica-se uma ligeira diminuição, apenas a 6°C e mais acentuada na PPL.

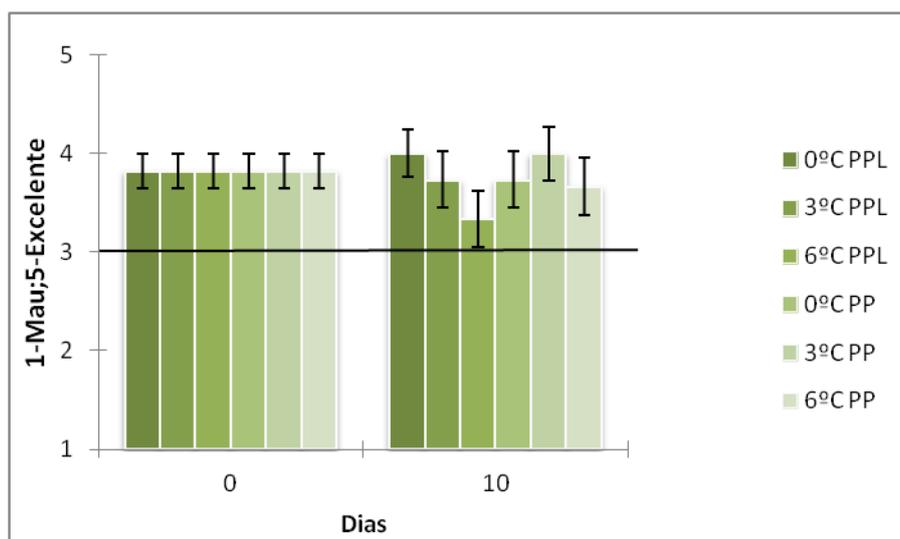


Figura.46: Painel de Provadores referente à acidez registada durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média \pm erro padrão.

4.1.8.2.7. Sabor

Em relação ao sabor do fruto verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação de boa (Fig. 47). Por outro lado, no tempo 10 dias verifica-se uma ligeira diminuição, em geral, da classificação obtida no sabor do fruto. Neste caso observa-se que à temperatura 0°C apenas sofreu uma ligeira diminuição da classificação, sendo que a diminuição da classificação acentua-se à medida que aumentamos a temperatura de armazenamento porque o fruto se degrada e como tal o sabor do fruto diminui. No entanto não houve diferenças entre 0 e 3 °C na PP.

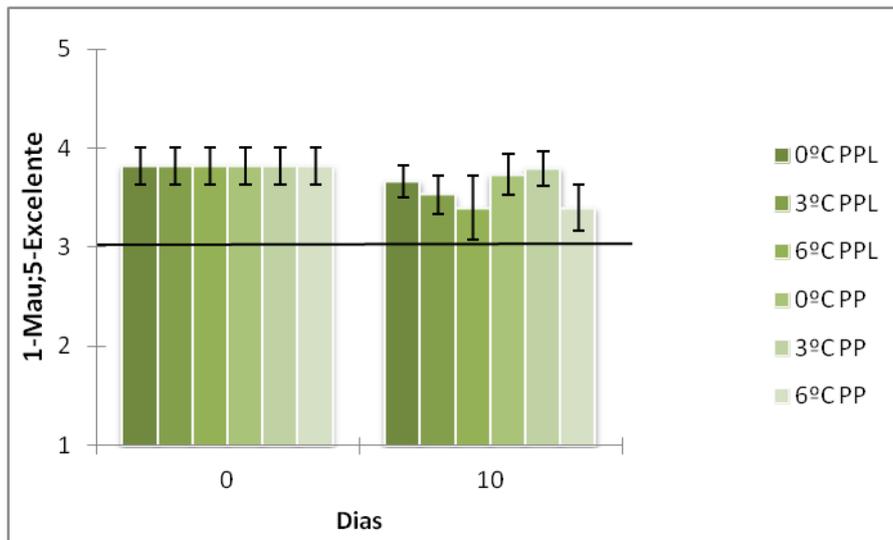


Figura.47: Painel de Provadores referente ao sabor registado durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão.

4.2. Geleia

4.2.1. Parâmetros gerais de qualidade

4.2.1.1. Luminosidade L^*

A Figura 48 representa a luminosidade (L^*) da geleia ao longo do tempo e nas diferentes temperatura e tratamentos. Verifica-se que após a feitura,, a geleia com ácido cítrico e pectina (ACP) apresentava valores mais altos de luminosidade e portanto era mais clara em relação à geleia feita de modo tradicional. Posteriormente os valores de L^* na geleia tradicional subiram significativamente até 2 meses de armazenamento e mantiveram-se durante 6 meses, sem diferenças significativas entre as temperaturas (Fig. 48; anexo 25).

Por outro lado, na geleia com ACP verificou-se uma diminuição significativa do valor de L^* nos primeiros 2 meses, voltando a aumentar dos 4 para os 6 meses, atingindo valores próximos da geleia tradicional, excepto a geleia ACP a 6 °C que se apresentava significativamente mais clara (valores de L^* mais altos).

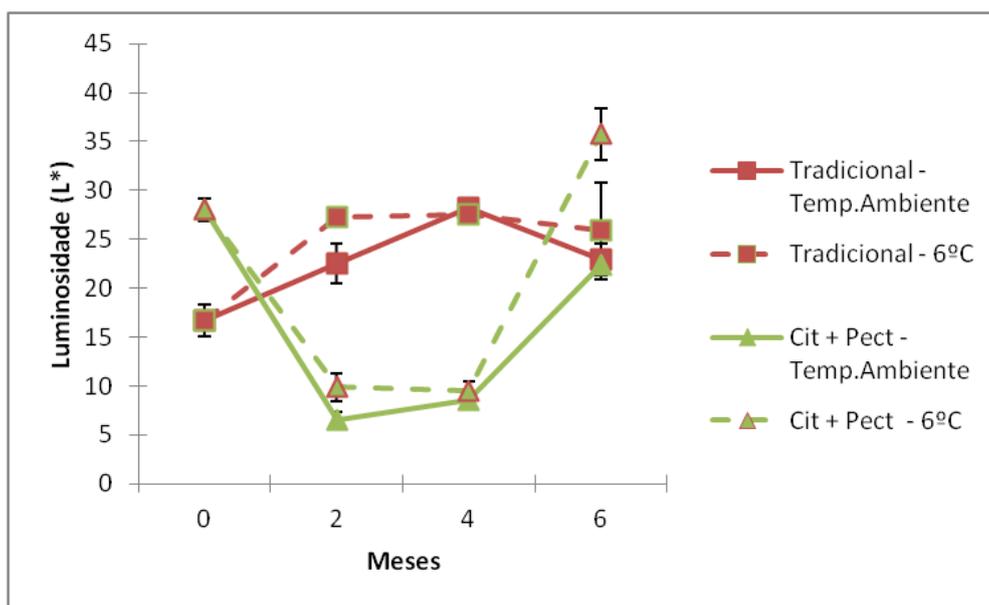


Figura.48: Luminosidade (L^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.1.2. Parâmetro de cor a*

No presente ensaio observou-se que até aos 4 meses os valores de a* apresentaram valores significativamente mais altos na geleia com ACP do que na geleia feita de modo tradicional até aos 4 meses de armazenamento independentemente da temperatura (Fig. 49 e Anexo 26). A geleia com ACP manteve a cor a* durante os 6 meses de armazenamento enquanto a geleia tradicional intensificou a cor vermelha, aumentando o valor de a* de 4 para 6 meses de armazenamento independentemente da temperatura.

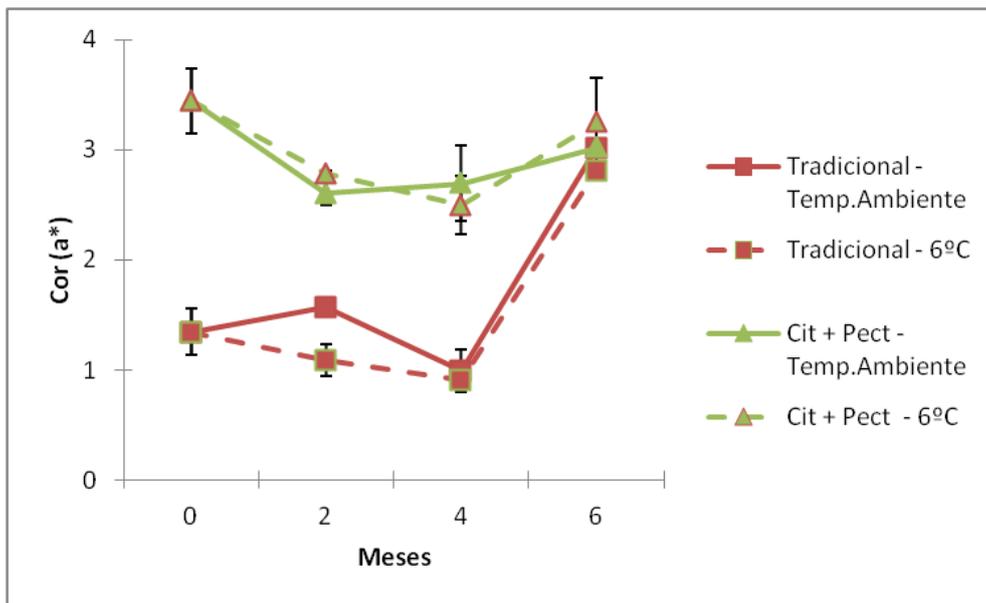


Figura.49: Cor (a*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

4.2.1.3. Parâmetro de cor b^*

A partir da Figura 50, verifica-se que no tempo inicial os valores de b^* da geleia confeccionada com ACP são superiores aos registados na geleia tradicional. Verifica-se que no caso da geleia com ácido cítrico e pectina estes valores vão descendo até aos 4 meses, e em seguida voltam a aumentar, ficando próximos do valor inicial. No caso da geleia tradicional observou-se que os valores se mantêm ao longo do tempo de armazenamento até aos 4 meses, sofrendo em seguida um aumento, mas ficando com valores significativamente inferiores aos da ACP ao fim de 6 meses (Fig. 50) (Anexo 27).

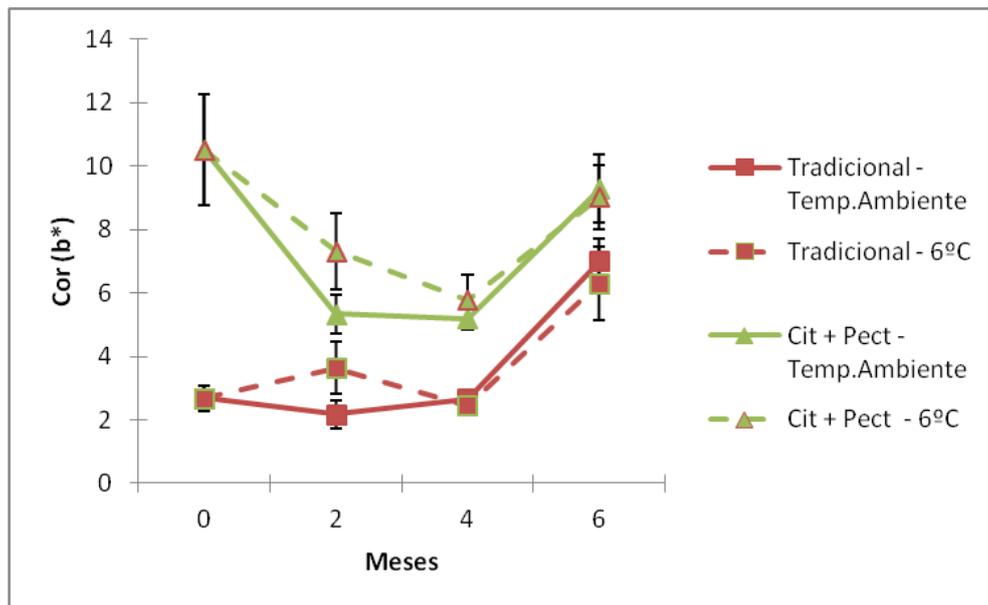


Figura.50: Cor (b^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.1.4. Hue (h°)

Na geleia o parâmetro h° apresenta valores estáveis ao longo do tempo, com excepção do valor da geleia tradicional conservada à temperatura ambiente e no tempo 2 meses, com valores significativamente mais baixos (Fig. 51). (Anexo 28).

Em comparação com o fruto fresco em que se observa uma pequena diminuição ao longo do tempo de conservação do medronho, neste caso os valores obtidos são ligeiramente superiores e mantêm-se constantes ao longo do tempo de conservação.

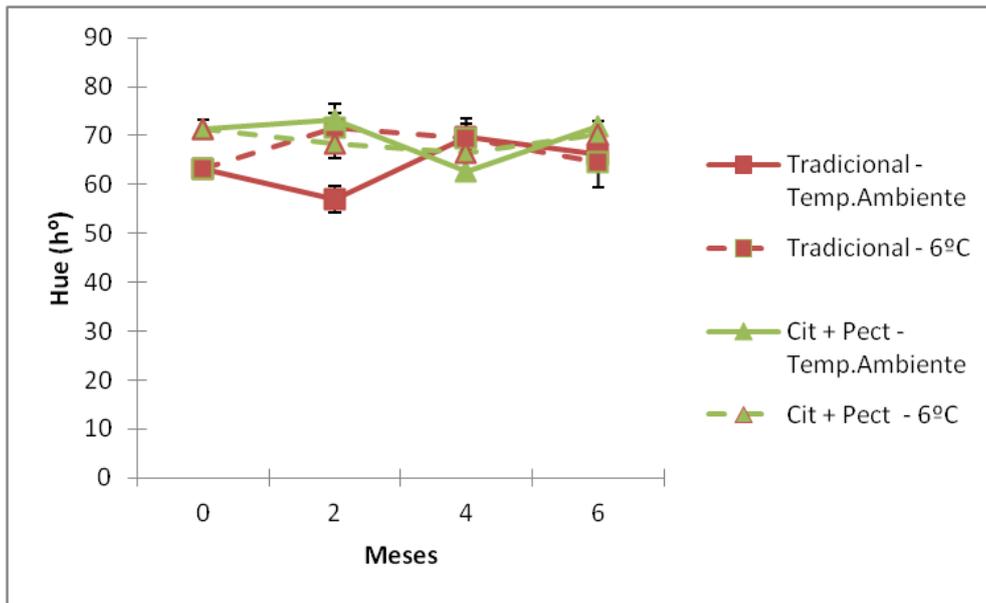


Figura.51: Cor (h°) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.1.5. Cromo (C^*)

O parâmetro C^* (Chroma) refere-se à intensidade da cor. Verifica-se que no tempo inicial os valores de C^* da geleia com ácido cítrico e pectina são superiores aos registados na geleia tradicional. Verifica-se que no caso da geleia com ACP estes valores vão descendo até aos 4 meses, e em seguida voltam a aumentar, ficando próximos do valor inicial. No caso da geleia tradicional observou-se que a intensidade da cor se mantém ao longo do tempo de armazenamento até aos 4 meses, sofrendo em seguida um aumento (Fig. 47) (Anexo 29). Os valores mais altos no final do ensaio foram na ACP.

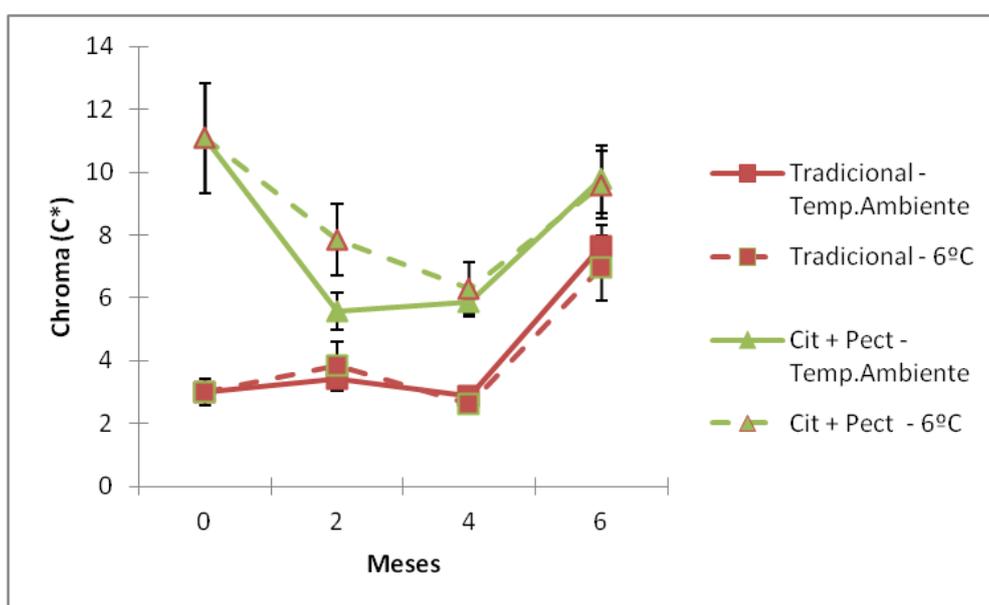


Figura.52: Cor (C^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.1.6. Firmeza

No caso da firmeza observa-se uma grande discrepância entre os valores obtidos utilizando os dois métodos de conservação (Fig. 53). Verifica-se que a geleia tradicional é muito mais firme do que a geleia com ACP. No caso da geleia tradicional conservada à temperatura ambiente o valor mantém-se estável ao longo do tempo de conservação, enquanto que, a geleia tradicional conservada à temperatura 6°C aumenta a firmeza até aos 4 meses, acabando por sofrer uma descida significativa dos 4 para os 6 meses.

Por outro lado a geleia com ACP apresenta valores muito inferiores à geleia tradicional. Contudo, a geleia com ACP apresenta valores estáveis ao longo do tempo de conservação. (Fig. 53). (Anexo 30)

Segundo Rababah (2011a) para a geleia de morango obteve valores de firmeza de 0.64 N à temperatura ambiente, neste caso se comparamos com a geleia tradicional os valores referidos na bibliografia encontram-se muito abaixo, porém em comparação com a geleia com ACP os resultados citados são semelhantes.

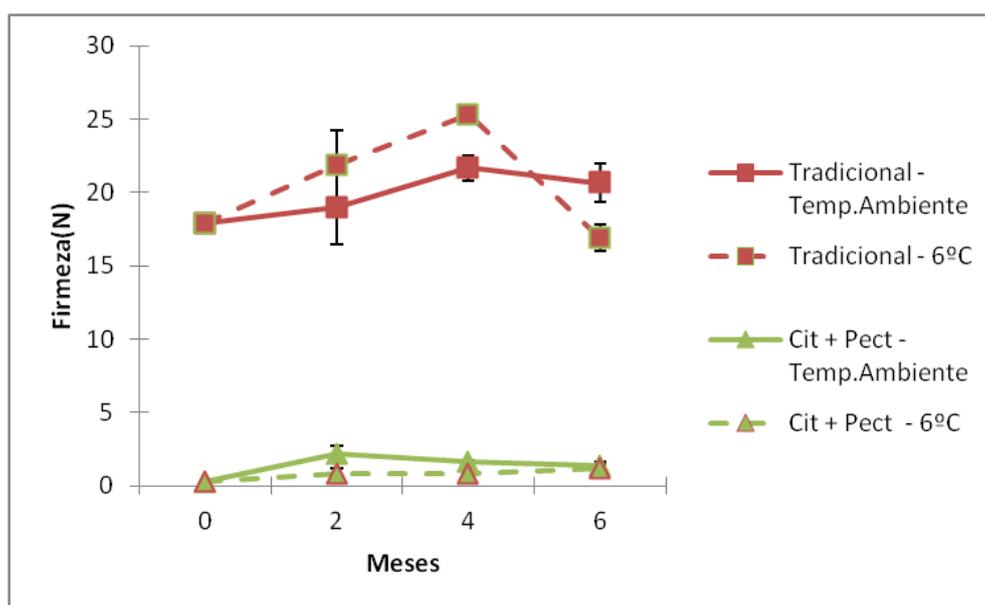


Figura.53: Firmeza (N) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.1.7. °Brix

Segundo a Figura 54 verifica-se que a geleia com ACP inicialmente tem um valor inferior à geleia tradicional. No entanto, observa-se que o valor do °Brix aumenta logo nos primeiros 2 meses de armazenamento, acabando por se obter valores semelhantes à geleia tradicional ao longo do tempo e sem diferenças significativas entre temperaturas. (Fig. 54) (Anexo 31)

Por outro lado na geleia tradicional, para além de se verificarem valores superiores de °Brix, os valores vão diminuindo na geleia tradicional, enquanto que na geleia com ACP os valores de °Brix aumentaram.

Segundo Rababah (2011a) para a geleia de morango obteve valores de °Brix de 70.13 à temperatura ambiente, no presente estudo, obtiveram-se valores ligeiramente inferiores aos citados por este autor.

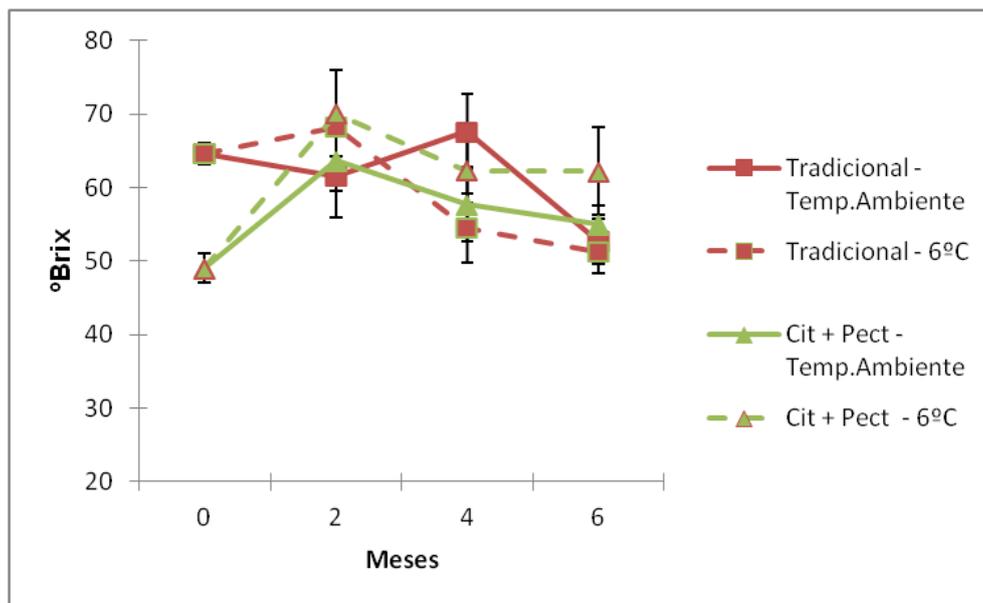


Figura.54: Sólidos solúveis totais(°Brix) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.2. Compostos Fenólicos

4.2.2.1. Fenóis Totais

Em relação aos compostos fenólicos constata-se que na geleia tradicional os valores obtidos são inferiores à geleia com ACP (Fig.55). No caso da geleia tradicional à temperatura ambiente, observa-se que nos dois primeiros meses os valores mantêm-se estáveis, aumentando aos 4 meses e voltando a diminuir aos 6 meses. A geleia tradicional a 6°C apresenta valores estáveis ao longo do tempo de conservação. (Fig.55) (Anexo 32)

A geleia com ACP conservada à temperatura ambiente, apresenta aos 2 meses um decréscimo acentuado dos valores obtidos voltando a subir para valores próximos dos iniciais aos 4 meses de armazenamento mantendo-se até final (6 meses). Na geleia com ACP conservada a 6°C observa-se uma descida nos valores de fenóis totais, dos 2 aos 4 meses, voltando a aumentar e tornando-se próximos dos valores obtido na geleia conservada à temperatura ambiente.

No fruto observa-se valores entre os 8306 mg/100g GAE a 20873mg/100g GAE, como se pode observar a geleia apresenta de um modo geral valores inferiores ao fruto.

Segundo Rababah (2011b) para a geleia de morango, cereja, figo e damasco, tal como no nosso caso o teor de fenóis foi significativamente mais baixo do que no fruto. Os mesmos autores verificaram que o teor de fenóis diminuiu nas geleias de morango, figo e damasco ao longo do período de armazenamento a 25°C, mas mantêm-se na geleia de cereja.

Os teores de fenóis nos vários doces de frutos referido por Rababah (2011b) variam entre 408,62 mg/100g, muito inferiores aos obtidos por nós no medronho (9000 a 15000 mg/100g).

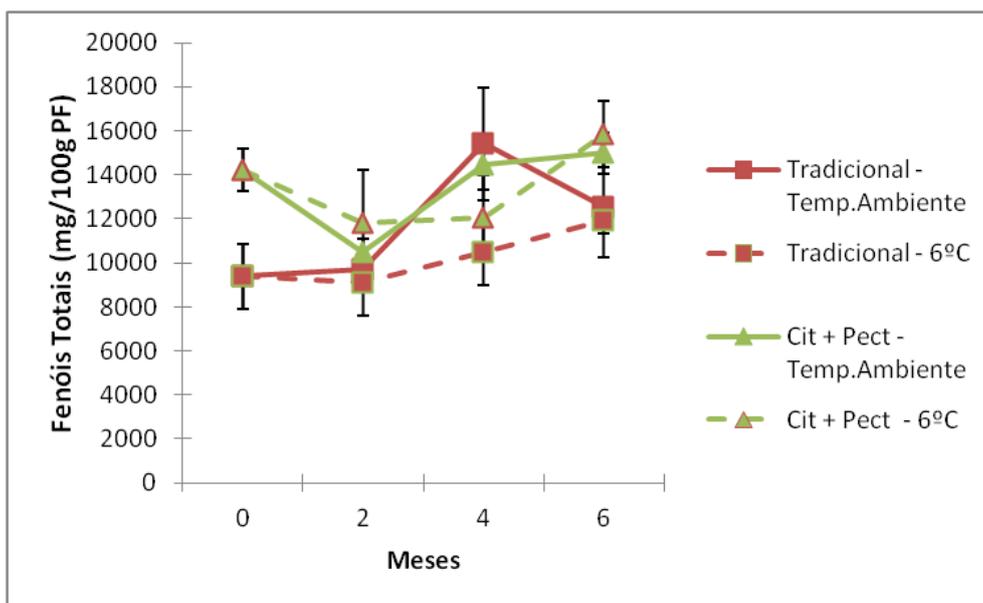


Figura.55: Fenóis Totais (mg/ 100g GAE) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.3. Actividade antioxidante

4.2.3.1. Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

A actividade antioxidante obtida, usando o método TEAC, foi feita em extracto metanólico. Esta apresentou valores iniciais semelhantes na geleia tradicional e na geleia com ACP (Fig. 56). Em ambos os casos, verifica-se que aos 2 meses, os valores de actividade antioxidante diminuem, voltando a aumentar no tempo seguinte. Contudo, na geleia com ACP a actividade antioxidante continua a diminuir e aumenta ficando no final com valores significativamente superiores aos outros tratamentos. A geleia tradicional a 6 °C mantém os valores de TEAC até 4 meses de armazenamento, descendo significativamente dos 4 aos 6 meses (Anexo 35)

Os valores obtidos de actividade antioxidante obtida a partir do TEAC no fruto são de 6,327 mM/100g peso fresco a 3,321 mM/100g peso fresco, muito superiores aos registados na geleia.

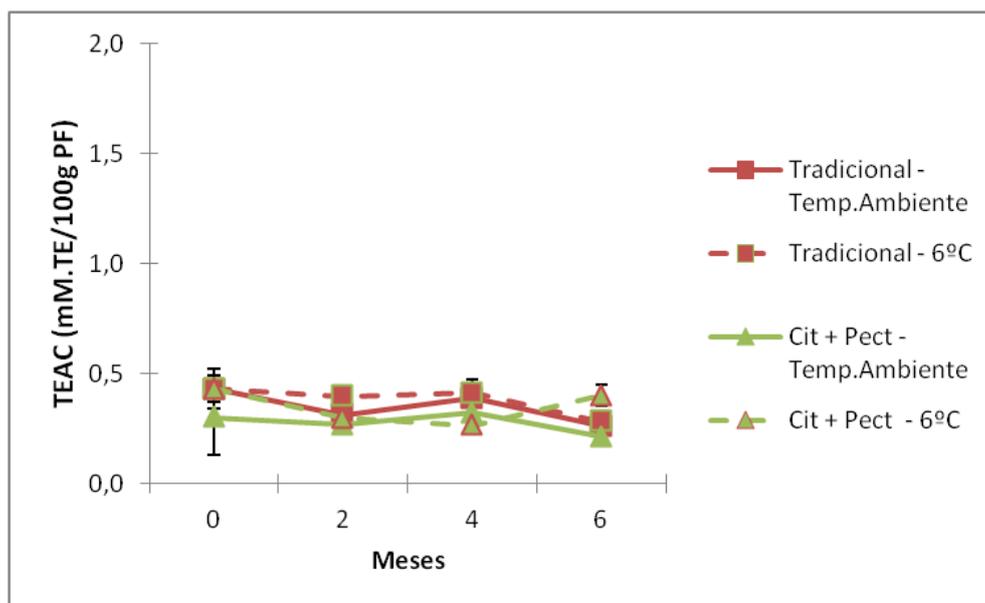


Figura.56: Actividade antioxidante determinada usando o método TEAC em extracto metanólico (mM TE/100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.3.2. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

A actividade antioxidante inicial dos extractos metanólicos das geleias usando o método ORAC é superior na geleia com ACP do que na geleia tradicional (Fig. 57). Até aos 2 meses, constata-se que a geleia tradicional e geleia com ACP conservada a 6°C mantêm os valores semelhantes em relação aos iniciais. Aos 4 meses, verifica-se um aumento da actividade antioxidante, e um decréscimo até aos 6 meses. (Anexo 36) O tratamento com ACP a temperatura ambiente diminui inicialmente, sobe aos 4 meses e desce novamente, A geleia tradicional a temperatura ambiente preserva os valores de ORAC ao longo do tempo. Embora os tratamentos a 6 °C tenham os valores mais altos de ORAC até aos 4 meses, aos 6 meses todos os tratamentos têm valores sem diferenças significativas.

No fruto observa-se valores de 7.94 mM/100g peso fresco a 3.47 mM/100g peso fresco, neste caso para a geleia constata-se que os valores são semelhantes aos obtidos no fruto ao longo do tempo de conservação. (Fig.35a e 35b).

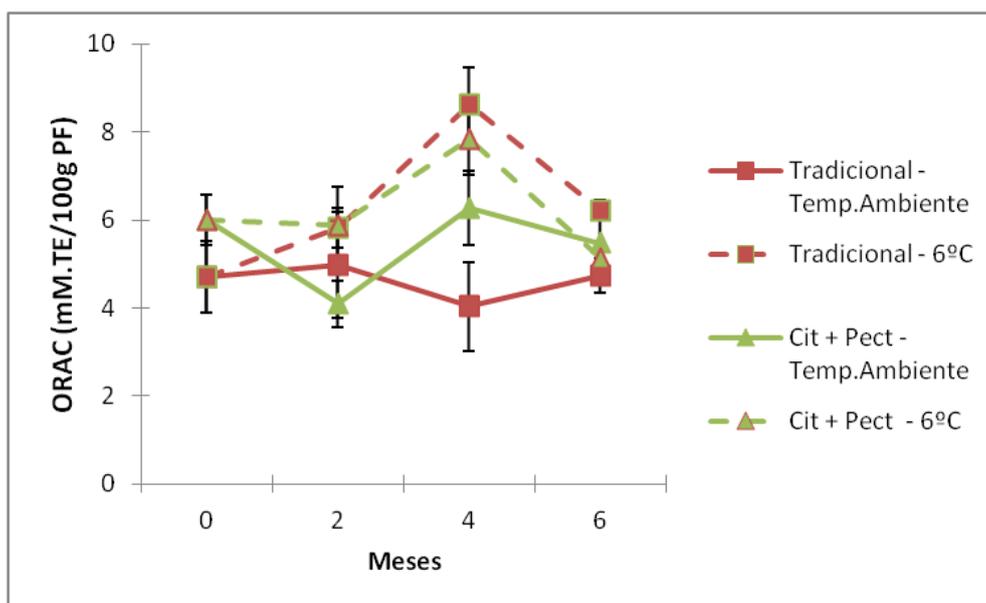


Figura.57: Actividade antioxidante determinada usando o método ORAC em extracto metanólico ($\mu\text{M TE}/100\text{g}$ peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.3.3. Oxigénio Singuleto

A actividade antioxidante medida pela capacidade de captação do Oxigénio Singuleto do extracto metanólico apresenta valores iniciais semelhantes na geleia tradicional e na geleia com ACP (Fig. 60). Em todos os tratamentos os valores obtidos mantêm-se ao longo do tempo de conservação sem diferenças significativas, verificando-se apenas que no tempo 2 meses a geleia tradicional conservada à temperatura ambiente apresenta uma diminuição significativa (Fig. 58; Anexo 37). Verifica-se uma ligeira tendência para a diminuição dos valores ao longo do tempo.

Verificou-se que no fruto os valores obtidos no primeiro ensaio vão diminuindo ao longo do tempo de armazenamento, por outro lado, no segundo ensaio os valores vão aumentando ao longo do tempo de armazenamento. Na geleia observa-se o mesmo comportamento registado no primeiro ensaio. No fruto obtiveram-se percentagens variando entre 32.1 a 57.6%, já na geleia obtiveram-se valores ligeiramente superiores (Fig. 37a e 37b).

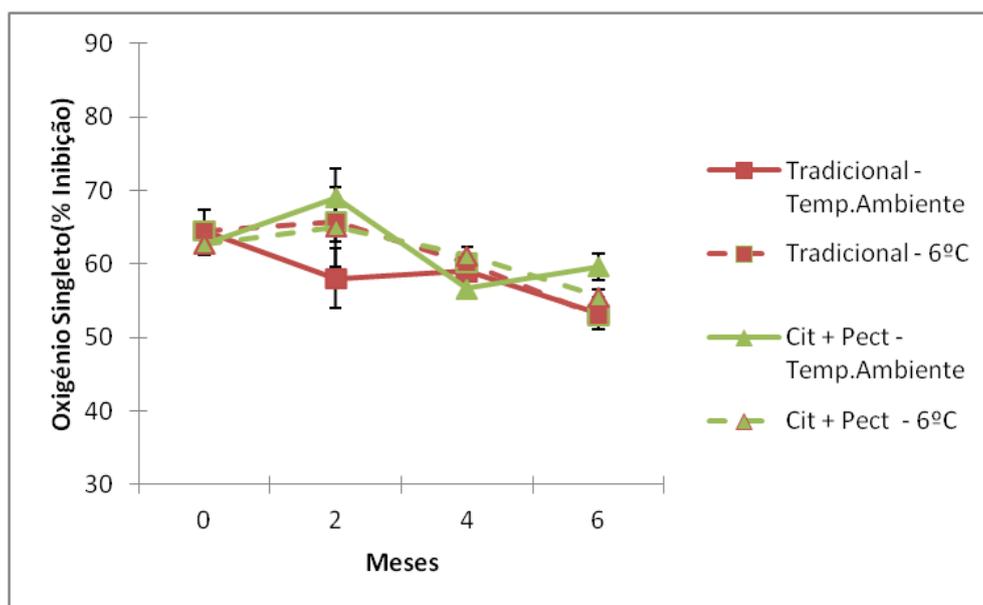


Figura.58: Oxigénio Singuleto em extracto metanólico (% inibição) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.4. Açúcares

4.2.4.1. Glucose

Os teores iniciais de glucose são inferiores na geleia tradicional do que na geleia confeccionada com ACP. No entanto na geleia tradicional a concentração da glucose ao longo do tempo permanece mais estável (Fig. 59). (Anexo 33)

Na geleia tradicional os valores de glucose são inferiores aos da geleia com ACP no tempo zero e após 4 meses de conservação independentemente da temperatura (Fig. 56). A geleia com ACP a 6°C é a que apresenta mais glucose até 4 meses, ficando sem diferenças significativas dos outros tratamentos após 6 meses excepto da geleia tradicional a 6°C. Esta última é a que apresenta valores mais baixos de glucose até final do armazenamento.

Tal como esperado, no fruto observam-se valores inferiores de glucose aos obtidos na geleia. Contudo enquanto na geleia a quantidade de glucose se mantém ao longo do tempo de armazenamento, no fruto a glucose vai aumentando.

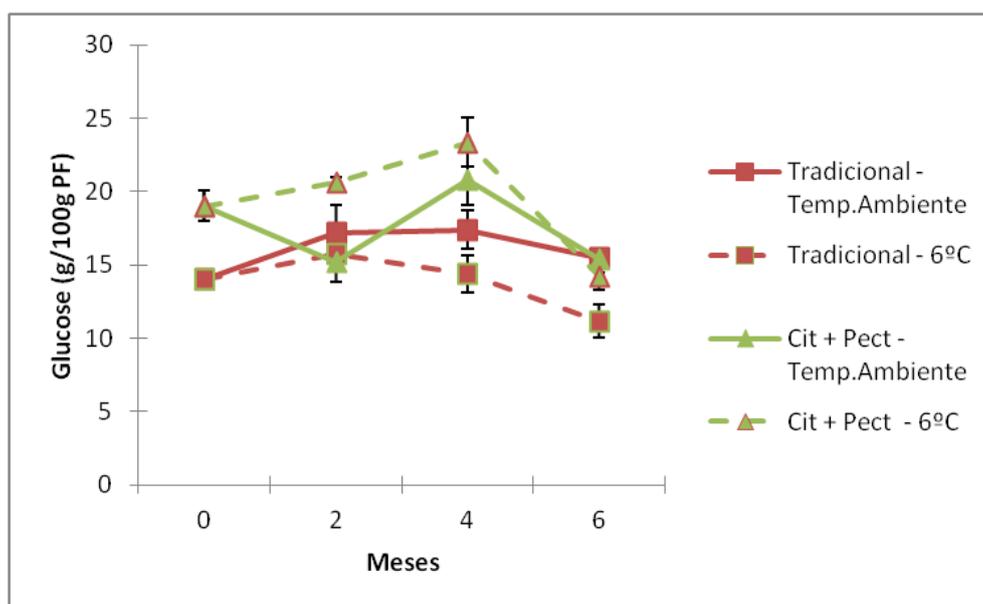


Figura.59: Glucose (g/ 100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.4.2. Frutose

Os teores iniciais de frutose são semelhantes na geleia tradicional e na geleia com ACP após a sua confecção (Fig. 60). (Anexo 34)

Na geleia tradicional conservada à temperatura ambiente os valores de frutose mantêm-se ao longo do tempo. Na geleia tradicional conservada a 6°C observa-se que a concentração da frutose baixa significativamente até aos 6 meses. No final do ensaio este tratamento apresenta valores de frutose significativamente inferiores aos dos outros tratamentos que não mostram diferenças significativas entre eles.

Tal como esperado, no fruto observam-se teores inferiores de frutose aos obtidos na geleia. Contudo, observa-se que na geleia a quantidade de frutose vai diminuindo ao longo do tempo de armazenamento, contrariamente ao registado no fruto, que vai aumentando.

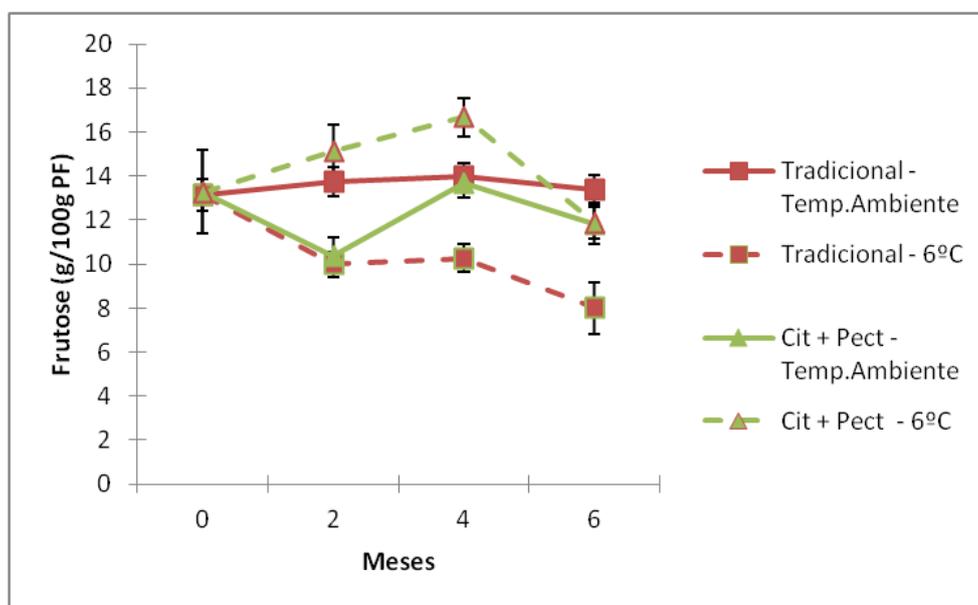


Figura.60: Frutose (g/ 100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

4.2.5. Análise Microbiológica

4.2.5.1. Mesófilos e Psicrófilos

Na avaliação quantitativa do grupo de microrganismos mesófilos, verificou-se uma grande variabilidade entre os resultados obtidos. Na geleia tradicional conservada à temperatura ambiente os valores mantêm-se nos dois primeiros meses (2.31 e 2.21 UFC/g) aumentando aos 4 meses (3.91 UFC/g) e voltando a estabilizar aos 6 meses (3.89 UFC/g). Na geleia tradicional conservada a 6°C os valores vão aumentando ao longo do tempo de conservação (Fig. 61) (Anexo 38).

No caso da geleia tratada com ácido cítrico (0,1%) e pectina conservada à temperatura ambiente verificou-se um aumento do número de unidades formadoras de colónias (UFC) até aos 4 meses de 3.48 UGF/g para 4.91 UFC/g, estabilizando aos 6 meses (4,88 UFC/g). Na geleia tratada com ácido cítrico (0,1%) e pectina mas conservada a 6°C, os valores mantêm-se nos dois primeiros meses (3.477 e 3.73 UFC/g), aumentando aos 4 meses (4.96 UFC) e voltando a estabilizar aos 6 meses (4,939 UFC/g) (Fig. 61).

Aos resultados obtidos está associado um elevado valor de erro padrão. Este facto pode estar associado a diferenças significativas na preparação das réplicas da geleia. Para a geleia de tomate preparada de acordo com o descrito por Tsuchiya (2009) valores de mesofilos foram inferiores a 100 UFC/g. Em comparação com os resultados obtidos no presente estudo, verifica-se que a geleia de medronho apresenta valores inferiores, aos obtidos por Tsuchiya (2009), em todos os tratamentos e temperaturas analisadas.

Na avaliação quantitativa do grupo de microrganismos psicrófilos, não se verificou actividade ao longo do tempo de armazenamento.

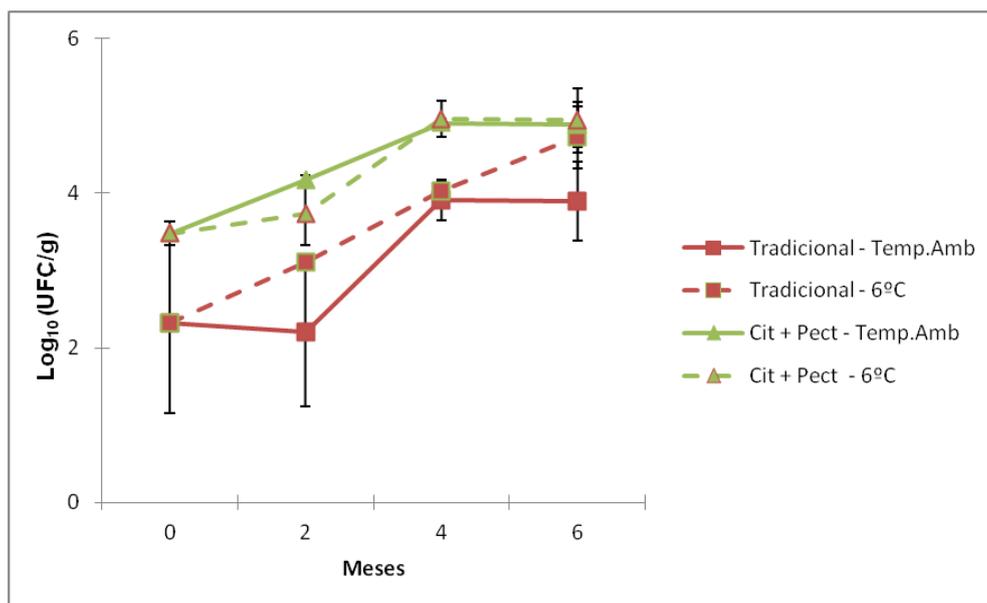


Figura.61: Determinação de microrganismos mesófilos (Log_{10} UFC/g) da geleia de medronho durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

4.2.5.2. Avaliação quantitativa de Fungos e Leveduras

Os resultados da avaliação quantitativa de fungos e leveduras na geleia de medronho durante o período de armazenamento indicam a existência de números reduzidos deste grupo de microrganismos. No caso da geleia tradicional conservada à temperatura ambiente não foi observado o crescimento de fungos e leveduras, enquanto que na geleia tradicional conservada a 6°C apenas se observou 333 unidades formadoras de colónia no tempo 2 meses. (Anexo 39)

Na geleia com ácido cítrico e pectina conservada à temperatura ambiente apenas se observou crescimento no tempo inicial (1000 UFC/g) e após 4 meses 667 UFC/g, por outro lado a geleia com ácido cítrico e pectina conservada a 6°C apresenta o maior de fungos e leveduras ao longo do tempo de conservação (1000 UFC/g, 667 UFC/g e 333 UFC/g), sendo que apenas no tempo 4 meses é que não apresenta valores (Figura 61).

Tal como na determinação de microrganismos mesófilos também na avaliação do número de fungos e leveduras se observou um elevado valor de erro padrão. Este facto pode estar associado a diferenças significativas na preparação das réplicas da geleia.

No estudo conduzido por Tsuchiya (2009) com geleia de tomate o número de fungos e leveduras foi menor que 10000 UFC/g. Por comparação com os resultados

obtidos no presente trabalho, a geleia de medronho apresenta valores inferiores, em todos os tratamentos e temperaturas analisadas.

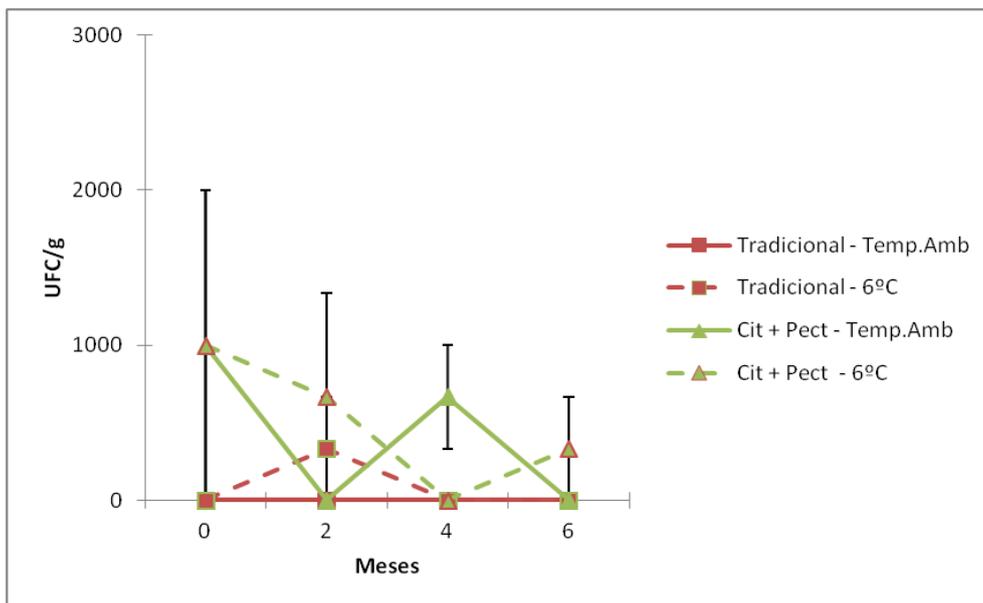


Figura.62: Determinação do número de fungos e leveduras (UFC/g) em geleia de medronho durante o tempo de armazenamento. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 repetições.

4.2.6. Painel de Provadores

4.2.6.1. Aparência

Em relação à aparência da geleia verifica-se que no tempo inicial todos os tipos de geleia obtiveram uma classificação de boa, não existindo diferenças significativas entre os diferentes modos de preparação (Fig. 63).

No tempo 2 meses (T1), verificou-se uma diminuição da classificação obtida na aparência Para a geleia com ACP.

No tempo 4 meses (T2), continua a menor classificação para a geleia com ACP independentemente da temperatura.

No tempo 6 meses (T3), verifica-se que a aparência é ligeiramente melhor nas geleias à temperatura ambiente do que a 6 °C e a diferença entre geleia tradicional e com ACP é menor. De um modo geral, observa-se que a geleia tradicional à temperatura ambiente obtém valores melhores de aparência e estáveis ao longo do tempo de conservação.

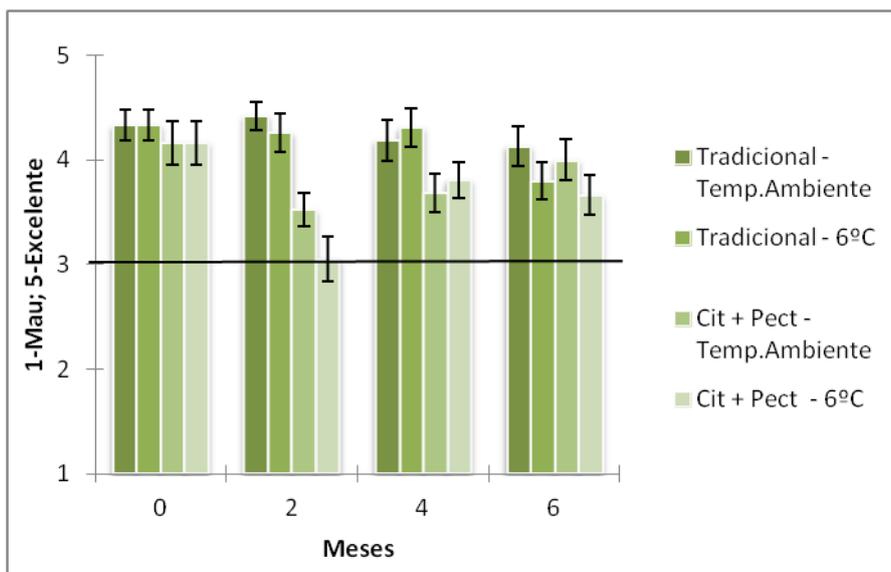


Figura.63: Painel de Provadores referente à aparência para a geleia. Os valores representam a média ± erro padrão.

4.2.6.2. Aroma

Em relação ao aroma da geleia verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação de boa, não existindo diferenças significativas entre os diferentes tratamentos (Fig. 64).

No tempo 2 meses (T1) verificou-se uma diminuição da classificação obtida no aroma, verificou-se ainda que a geleia com ACP apresenta a maior diminuição na classificação do aroma, passando todas a obter um resultado razoável.

No tempo 4 meses (T2) verificou-se um aumento da classificação obtida no aroma. Neste caso verificou-se ainda que a geleia com ACP a 6°C apresenta o maior aumento na classificação do aroma. No tempo 6 meses (T3), verificou-se uma tendência semelhante.

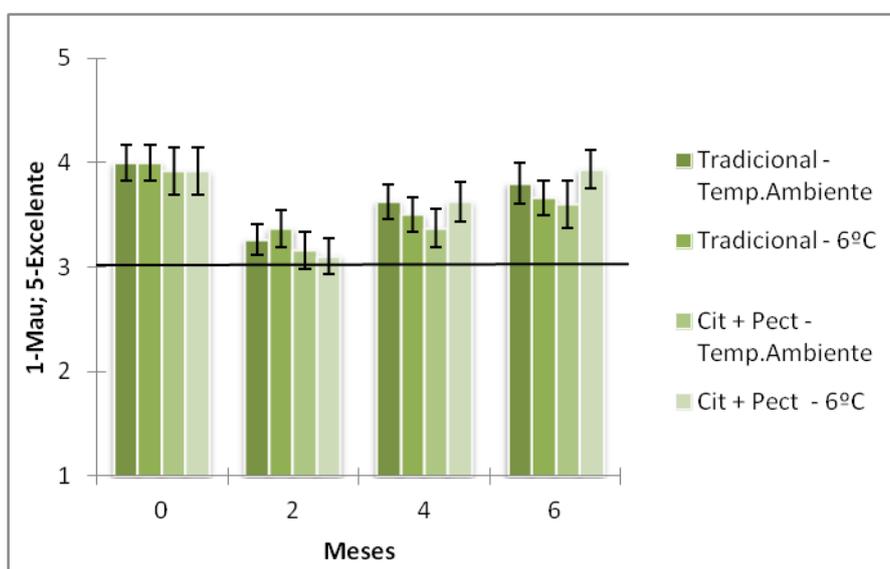


Figura.64: Painel de Provadores referente ao aroma para a geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.

4.2.6.3. Textura

Em relação à textura da geleia verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação de boa, embora a geleia tradicional apresente valores superiores (Fig. 65).

Neste parâmetro de avaliação sensorial verifica-se que para a geleia tradicional à temperatura ambiente os valores mantêm-se ao longo do tempo de conservação, sofrendo pequenas oscilações, mas mantendo sempre a mesma classificação. Verifica-se que aos 2 e 4 meses a geleia com ACP apresenta valores mais baixos do que a geleia tradicional. No entanto ao fim de 6 meses a textura é pior para ambos os tratamentos a 6 °C.

De um modo geral, observa-se que a geleia tradicional à temperatura ambiente obtêm valores superiores e estáveis ao longo do tempo de conservação.

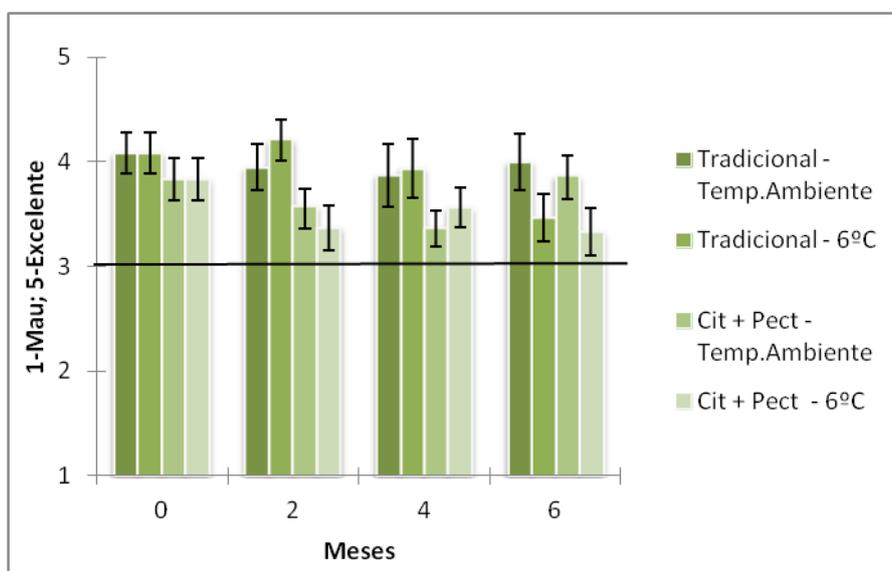


Figura.65: Painel de Provadores referente à textura para a geleia. Os valores representam a média ± erro padrão.

4.2.6.4. Doçura

Em relação à doçura da geleia verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação de boa, embora a geleia tradicional apresente valores superiores (Fig. 66).

Neste parâmetro de avaliação sensorial verifica-se que para a geleia tradicional à temperatura ambiente os valores mantêm-se ao longo do tempo de conservação, sofrendo pequenas oscilações, mas mantendo sempre a mesma classificação. Na geleia tradicional a 6°C verifica-se um ligeiro aumento nos tempos 2 meses (T1) e 4 meses (T2), porém os valores obtidos na classificação da doçura vão diminuindo no tempo 6 meses (T3), passando de uma classificação de bom para razoável.

No que diz respeito à geleia com ACP à temperatura ambiente os valores mantêm-se ao longo do tempo de conservação, sofrendo pequenas oscilações, mas mantendo sempre a mesma classificação. No caso da geleia com ACP a 6°C os valores mantêm-se no tempo 0 meses (T0) e 2 meses (T1), aumentando em seguida no tempo 4 meses (T2),mas voltando a diminuir no tempo 6 meses (T3).

De um modo geral, observa-se que a geleia tradicional à temperatura ambiente obtêm valores superiores e estáveis ao longo do tempo de conservação. No entanto, a geleia com ACP à temperatura ambiente apresenta resultados estáveis ao longo do tempo de conservação embora sejam embora os valores sejam menores do que na geleia tradicional à temperatura ambiente.

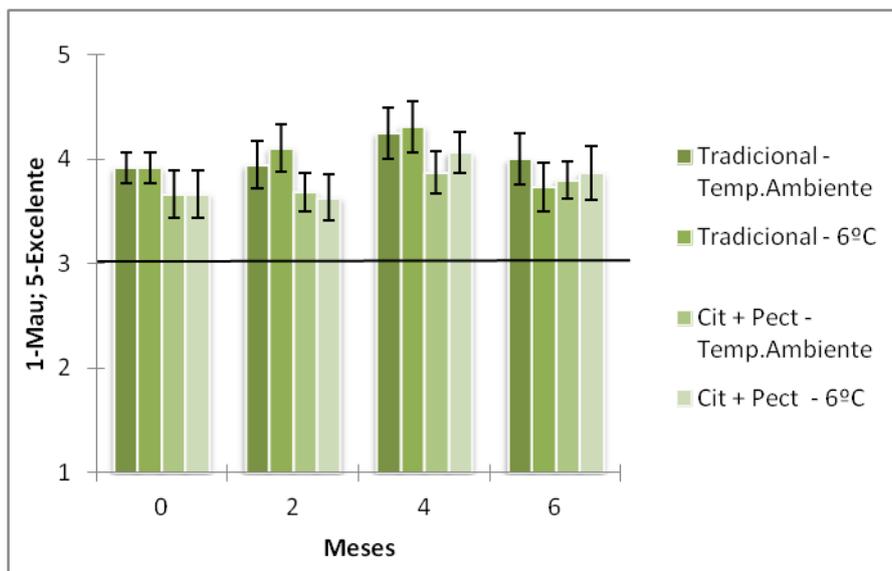


Figura.61: Painel de Provadores referente à doçura para a geleia. Os valores representam a média ± erro padrão.

4.2.6.5. Acidez

Em relação à acidez da geleia verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação de boa, não existindo diferenças significativas entre os diferentes tratamentos (Fig. 67).

No tempo 2 meses (T1) verificou-se uma diminuição da classificação obtida no aroma, verificou-se ainda que a geleia com ACP à temperatura ambiente apresenta a maior diminuição na classificação do aroma, passando todas a obter um resultado razoável.

No tempo 4 meses (T2) verificou-se um aumento da classificação obtida na acidez. Neste caso verificou-se ainda que a geleia tradicional à temperatura ambiente apresenta o maior aumento na classificação da acidez.

No tempo 6 meses (T3), verificou-se a manutenção da classificação obtida aos 4 meses.

De um modo geral, observa-se que a geleia tradicional à temperatura ambiente obtêm valores superiores e estáveis ao longo do tempo de conservação.

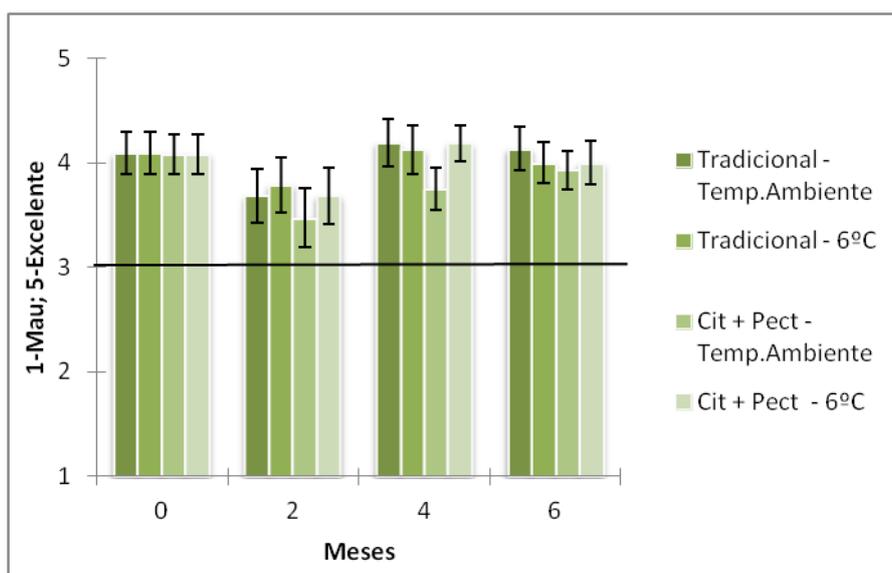


Figura.67: Painel de Provadores referente à acidez para a geleia. Os valores representam a média ± erro padrão.

4.2.6.6. Sabor

Em relação ao sabor da geleia verifica-se que no tempo inicial todos os tratamentos obtiveram uma classificação de boa, não existindo diferenças significativas entre os diferentes tratamentos (Figura 68).

Neste parâmetro de avaliação sensorial verifica-se que para a geleia tradicional os valores mantêm-se ao longo do tempo de conservação, sofrendo pequenas oscilações, mas mantendo sempre a mesma classificação.

Na geleia com ACP à verifica-se uma diminuição nos tempos 2 meses (T1) e 4 meses (T2). Porém os valores obtidos na classificação do sabor voltam a aumentar no tempo 6 meses (T3), ficando a geleia tradicional apenas com uma classificação ligeiramente superior. De um modo geral, observa-se que a geleia tradicional obtêm valores superiores e estáveis ao longo do tempo de conservação.

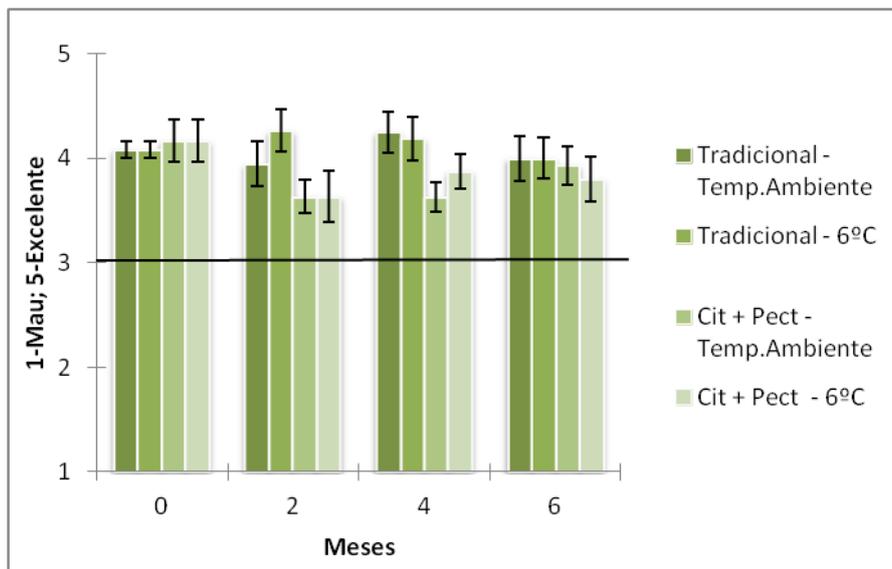


Figura.68: Painel de Provedores referente ao sabor para a geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão.

5. Conclusão e Perspectivas Futuras

No presente estudo, podemos concluir que a conservação do fruto em fresco até aos 15 dias, não evidenciou os efeitos da senescência, mantendo uma aparência apelativa. Tal também foi comprovado através da análise química do fruto, que apesar de se verificar varias oscilações nos resultados, ao longo do tempo de conservação, verifica-se a manutenção das propriedades qualitativas.

A cor amarelo-alaranjada característica do fruto era mais intensa em Novembro embora tenha perdido ligeiramente a intensidade e ficando mais escura mais rapidamente em armazenamento em relação a Outubro.

Em relação à temperatura de conservação verifica-se que a 0°C apresenta resultados nas análises físicas e químicas mais estáveis ao longo do tempo de conservação, podendo concluir-se que no caso do presente estudo a temperatura óptima de conservação é 0°C.

Quanto às películas utilizadas não se verificaram diferenças significativas entre ambas, tendo em atenção o tempo máximo de conservação do presente estudo (15 dias).

Os resultados obtidos mostram que o medronho é um fruto com potencial para ser uma fonte de antioxidantes. Nos vários métodos e extractos para a determinação da actividade antioxidante no fruto utilizados (TEAC, ORAC e oxigénio singlete), e em todos os casos o medronho obteve resultados elevados. O extrato etanólico mostrou ser o que dá valores mais consistente para a actividade antioxidante pelo método TEAC. A temperatura de 0°C é a que melhor preserva a actividade antioxidante medida pelo método TEAC e a película não tem efeito significativo.

Quanto à composição química o medronho apresenta uma quantidade razoável de vitaminas e carotenóides, e uma baixa quantidade de etanol, desmistificando a crença popular de que apenas se pode consumir uma pequena quantidade de frutos por terem elevado teor de etanol.

No caso da geleia de medronho, verifica-se que a geleia tradicional apresenta resultados nas análises físicas e químicas mais estáveis ao longo do tempo de conservação e não necessita ser armazenada no frio. Nesta situação a utilização de ácido cítrico e pectina não melhorou a conservação como esperado, com particular ênfase na análise microbiológica. Deste modo, a adição de pectina e ácido cítrico não se justifica.

A partir da análise microbiológica verificamos que podemos conservar em segurança a geleia de medronho por um período superior a 6 meses. Embora

obtenhamos um valor baixo de actividade microbiana seria necessário um estudo mais aprofundado e com uma maior duração para definirmos um prazo de validade real.

A utilização dos frutos, para fresco ou para transformação, apresenta-se como uma alternativa viável de rendimento em complementação à produção de aguardente de medronho. Esta possibilidade ainda não tinha sido explorada até ao momento, com o presente estudo podemos comprovar que o fruto tem propriedades nutricionais interessantes, que nos indicam ser um potencial para aumentar a rentabilidade dos produtores.

Existe ainda a possibilidade de aumentar o conhecimento sobre o valor desta arbusto, efectuando estudos semelhantes aos apresentados neste trabalho, usando como matéria-prima as folhas, raízes e cascas do medronheiro, já descritas como possuindo propriedades medicinais, e potencial planta para uso ornamental.

6. Bibliografia

ALARCÃO-E-SILVA, M., LEITÃO A., E., B., AZINHEIRA, H., G., LEITÃO, M., C., A. (2001). The Arbutus Berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *Journal of Food Compos Anal* 14:27-35.

ANÓNIMO(2011a)<http://www.icuc-iwmi.org>; <http://www.underutilized-species.org/default.asp>. Consultado a 05/05/2011

ANÓNIMO (2011b) http://www.cienciaviva.pt/projectos/scienceduc/scencmata_poiioivonne_compota1.pdf Consultado a 05/01/2011

ANÓNIMO (2011c) <http://www.cienciaviva.pt/docs/itqbconservantes.pdf> Consultado a 05/05/2011

ANÓNIMO (2011d) <http://cielab.com.au/?p=66> Consultado a 20/09/2011

ANTUNES, M.D.C. (2010). Apontamentos da unidade curricular Tecnologia Pós-Colheita. Universidade do Algarve. Faro

ANTUNES, M.D.C; SFAKIOTAKIS E. M. (1997) The effect of controlled atmosphere and ultra low oxygen on storage ability and quality of “Hayward” Kiwifruit; *Acta Hort* 444 Vol.2

AYALA-ZAVALA, J.F, Wang, S.Y., Wang C. Y., Aguilar, G.A.G. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 37 (2004) 687–695

AYAZ, F.A.; KUCUKISLAMOGLU, M.; REUNANEN, M. (2000); Sugar, Non-Volatile and phenolic acid composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits; *J. Food Compos. Anal.* Vol 13: 171-177.

BARROS, L. CARVALHO, A. MORAIS, J. FERREIRA, I. (2010); Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry*, 120, pp.247-254.

BURNIE, GEOFF (2004); *Botanica – The illustrated A-Z of over 10000 garden plants and how to cultivate them*; 4ª Edição; Könemann; p 105-106

CASTRO-DÍEZ, P.; MONTSERRAT-MARTÍ, G; CORNELISSEN, J. H. C. (2003); Trade-offs between phenology, relative growth rate, life form and seed mass among 22 Mediterranean woody species; *Plant Ecology*, 166; 117-129.

CARDOSO, A.V.P.R. (2004); *Historial Recente de Propagação Vegetativa do Medronheiro no Algarve – Contribuição para a criação de um futuro parque de pés-mãe*; Tese de Graduação; ISA-UTL.

CAVACO T. LONGUINHO C., QUINTAS C., CARVALHO, I. S., (2006), Chemical and microbial changes during the natural fermentation of strawberry tree (*arbutus unedo* l.) Fruits, *Journal of Food Biochemistry* 31 (2007) 7pp 15–725

- CELA, P. G, GAMARRA, R; VIÑAS, J. I. G (2003); Árboles y Arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares; 4ª Edição; Ediciones Jaguar S. A.
- CELIKEL, G., DEMIRSOY, L.; DEMIRSOY, H. (2008). The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Scientia Horticulture*, 118, 115–119.
- CHANDRASEKARA A.; SHAHIDI F., (2011), Inhibitory Activities of Soluble and Bound Millet Seed Phenolics on Free Radicals and Reactive Oxygen Species, *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59,pp 428–436
- CHEVOLLEAU, S.; DEBAL, A.; Ucciani, E. (1992); Détermination de l'activité antioxydante d'extraits végétaux. *Révue Française des CORPS GRAS*, 39^o année, n^o1/2 :3-8.
- CORREIA, P.; VARELA, J. (1996); Os Sistemas da Alfarrobeira e do Medronheiro no Algarve; *Revista Florestal*; Volume IX, n^o4; 28-35.
- CORREIA, A.V.; OLIVEIRA, Â.C. (2002); Principais Espécies Florestais com interesse para Portugal – Zonas de Influência Mediterrânica; 2ª Edição; Direção Geral das Florestas; p67-69.
- CUNHA .A . P, (2010), *Farmacognosia e Fitoquímica*, 3ª Edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa
- HUANG D., OU, B., WOODILL M. H. , FLANAGAN J.A. , PRIOR R. L. (2002). High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format, *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, pp 4437-4444
- DOMINGOS A. (2005). *Manuseamento de produtos hortofrutícolas*. SPI – Sociedade Portuguesa de Inovação. Porto
- ESKIN, N. A. M. ED. (1990). *Quality and preservation of fruits*. CRC Press, Florida, USA
- FERREIRA, A.G; GONÇALVES, A.C (2001); Plano Específico de Ordenamento Florestal para o Alentejo; Universidade de Évora; 53-55
- FERREIRA P. G., AZEVEDO A. M., REGO F. (2005); Carta da Tipologia Florestal de Portugal Continental; *Silva Lusitana*, 13: 1-34
- FORTALEZAS, S; TAVARES. L., PIMPÃO, R., TYAGI. M. , PONTES. V. , ALVES. P.M. , MCDUGALL G. , STEWART. D., FERREIRA. R. B., SANTOS. C. N. (2010); Antioxidant properties and neuroprotective capacity of strawberry tree fruit (*Arbutus unedo*). *Nutrients*, 2, pp.14-229.
- GONZÁLEZ, G. A. L (2006); *Los Árboles y Arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares*; 2ª Edição; Mundi-Prensa Libros.
- HALLIWELL, B. (2001) Free radicals and other reactive species in disease. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group.
- HANCOCK, J. F., BEAUDRY, R. M., LUBY, J. L. (1993). Fruits of the Ericaceae. In *Encyclopedia of Food Science, Food technology and Nutrition*; Academic Press, 3: 565- 599.

- HEYWOOD, V.H. (1979); Flowering Plants of the World; Oxford University Press, 124-127.
- JACINTO, R. A. (1996); Propagação Vegetativa e Preparação dos Elementos para Identificação de Variedades de Medronheiro (*Arbutus unedo* L.); Tese de Graduação; IPCB-ESA.
- JULKUNEN-TITTO, R. (1985); Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics; *J. Agric. Food Chem*, 33: 213-217
- KALIORA, A. C.; DEDOUSSIS, G. V.; (2007) Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD. *Pharmacological Research*, 56, 99-109.
- LEBRETON, P; BAYET, C (2002); The physiological and biochemical variability of the strawberry tree *Arbutus unedo* L. (*Ericaceae*); *Acta Pharma.*, 52; 83-90.
- LEE.J (2005) Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study, *JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 88, NO. 5*, pp 1269-1278
- LEGSSYER . A ; ZIYYAT, A. ; MEKHFI, H. ; BNOUHAM, M. ; HERRENKNECHT, C.; ROUMY, V. ; FOURNEAU, C.; LAURENS,A.; HOERTER, J.; FISCHMEISTER, R. (2004); Tannins and Catechin Gallate Mediate the Vasorelaxant Effect of *Arbutus unedo* on the Rat Isolated Aorta; *Phytotherapy Research*, 18: 889-894.
- LIDON F. (2008), *Conservação de Alimentos - Princípios e Metodologias*, Escolar Editora.
- MALES, Z., PLAZIBAT, M. , VUNDAC, V. B. , ZUNTA, I. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree – *Arbutus unedo* L. (*Ericaceae*). *Acta Pharmaceutica*, 56, 245-250.
- MARTÍNEZ-VILALTA, J , PRAT, E., OLIVERAS, I., PIÑOL, J. (2002); Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species; Springer- Verlag; *Oecologia*, 133: 19-29.
- MERETI, M , GRIGORIADOU, K, NANOS, G. D. (2002); Micropropagation of the strawberry tree, *Arbutus unedo* L.; *Scientia Horticulturae*, 93: 143-148.
- NEPPI, M. (2001); Alberi ed arbusti della flora mellifera della regione mediterranea. In: Piotto B, Noi A (eds) *Propagazione per seme di alberi e arbusti della flora mediterranea*, Dipartimento Prevenzione e Risanamento Ambientali, Manuale ANPA (Agenz. Naz. Per la Protezione dell' Ambiente), 44-49.
- NÚÑEZ, D. R; CASTRO, C. O.; (1991); *La Guia de Incafo de las Plantas Útiles y Venenosas de la Península Ibérica (Excluídas medicínales)*; 1ª Edição; Incafo S.A.; p508-511.
- OLIVEIRA R. G., GODOY H.T., PRADO M.A.(2009), Otimização de metodologia colorimétrica para a determinação de ácido ascórbico em geleias de frutas, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, ISSN 0101-2061
- OLIVEIRA, I., (2010), *Caracterização fitoquímica de folhas e frutos de Arbutus unedo L.*, Instituto politécnico de Bragança - Escola Superior Agrária, Bragança

- PABUÇCUOĞLU, A.; KIVÇAK, B.; BAS, M.; MERT, T. (2003); Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves; *Fitoterapia*, 74: 597-599
- PALLAUF K., RIVAS-GONZALO, J. C., CASTILLO, M. D., CANO M. P., PASCUAL-TERESA, S. (2008). Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *Journal of Food Composition Analysis*, 21, 273-281.
- PAWLOWSKA, A., M., DE LEO, M., BRACA, A. (2006). Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 10234–10238.
- PEDRO, J. (1994). Carta da distribuição de figueira e medronheiro – Notícia Explicativa. Ministério do Ambiente e Recursos Naturais, Direcção Geral do Ambiente. Lisboa.
- PIOTTO, B.; PICCINI, C.; ARCADU, P. (2001) La ripresa della vegetazione dopo gli incendi nella regione mediterranea. In: Piotta B, Noi A (eds) Propagazione per seme di alberi e arbusti della flora mediterranea, Dipartimento Prevenzione e Risanamento Ambientali, Manuale ANPA (Agenz. Naz. per la Protezione dell' Ambiente), 32-38.
- POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M.; (2005); Antioxidantes de los Alimentos, Aplicaciones prácticas, Editorial Acribia, S.A.,.
- PURVES. W (1998); *Life – The Science of Biology* – 5ª edição; Sinauer Associates
- RABABAH, T.M, AL-U'DATT M. H. , AL-MAHASNEH M.A. , FENG H., ALOTHMAN A. M. , ALMAJWAL A. , YANG W. , KILANI I. , ALHAMAD, M. N. , EREIFEJ, K. ,ABU-DARWISH, M. (2011a), Effect of storage on the physicochemical properties, total phenolic, anthocyanin, and antioxidant capacity of strawberry jam, *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.9 (2) : pp 101 – 105
- RABABAH, T.M, AL-U'DATT M. H. , AL-MAHASNEH M.A. , FENG H., ALOTHMAN A. M. , ALMAJWAL A. , YANG W. , KILANI I. , ALHAMAD, M. N. , EREIFEJ, K. ,ABU-DARWISH, M. (2011b), Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits , *Journal of Food, Agriculture & Environment*; 91: 1096–1102
- RE, R , PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A. , YANG M. , EVANS,C.R. (1999) Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation de colorzation assay, *Free radical biology & medicine*, v. 26, 1231-1237.
- REY.D David J.P., Martins, D., Pautou, M.P., Long, A., Marigo G. , Meyran, J.C. (2000); Role of vegetable tannins in habitat selection among mosquito communities from the Alpine hydrosystems; *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie / Life Sciences*
- RODRIGUEZ G.A., (2001), Extraction, Isolation, and Purification of Carotenoids, Prodemex Los Mochis, Sinaloa, Mexico
- RODRIGUEZ M.A.R, MORALES P., RUIZ V. F., MATA M.C. S., CÁMARA M., MARQUÉS C. D., SANTAYANA M. P., MOLINA M., TARDÍO J., (2010) Valorization of wild strawberry-tree

fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data, Food Research International.

RODRIGUES A.S (2006), Apontamentos da unidade curricular Tecnologia dos Produtos Hortícolas, DCPA- ESAPL

SAUER, J.D. (1993); Historical Geography of Crop Plants: A Select Roster; CRC Press; p53.

SILVA, J. S. ; (2007); Árvores e Florestas de Portugal – Do Castanheiro ao Teixo – As outras espécies florestais, 5; Público, Comunicação Social, SA, Fundação Luso- Americana para o Desenvolvimento.

SILVA. F. M., MORAIS. A.M. M.B., (2000), Boas práticas pós-colheita para frutos frescos, Associação para a Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica, Porto

TAPUM J. A. M. (1982); Breves notas sobre a cultura do Medronheiro na Serra Algarvia. Passado, presente e futuro; Revista do Instituto Geográfico e Cadastral; 13-27

TEMPEL . A. S. (1982); Tannin-measuring techniques: A Review; Journal of Chemical Ecology, Vol. 8, No. 10

TORRES, J. A; VALLE, F.; PINTO, C.; GARCIA-FUENTES, A.; SALAZAR, C.; CANO, E. (2002); *Arbutus unedo* L. communities in southern Iberian Peninsula mountains; Kluwer Academic Publishers; Plant Ecology, 160: 207-223

TSUCHIYA. A.C. (2009) Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de geléia de tomate, Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.11, n.2, p.165-170,

VITALE, M.; MANES, F. (2005); Role of Changing Environmental Parameters in Leaf Gas Exchange of *Arbutus unedo* L. Assessed by Field and Laboratory Measurements; Photosynthetica, 43: 99-106

WANG. S.Y. , (2005), Fruits with High Antioxidant Activity as Functional Foods, U.S. Department of Agriculture

WANG. C. K. , LEE. W.H. , PENG. C.H. (1997); Contents of phenolics and alkaloids in *Areca catechu* Linn. During maturation; J. Agric. Food Chem, 45: 1185-1188

WATERMANN, P. G.; MOLE, S. (1994); Extraction and chemical quantification. In: Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications; 80-84

WICKLUND, T. , ROSENFELDB, H. J. , MARTINSENC, B. K., SUNDFORB, M.W., LEA.P. , BRUUNA. T. , BLOMHOFFD. R. , HAFFNER. K., (2004), Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions, LWT 38 (2005) pp 387–391

ZIYYAT, A., BOUSSAIRI, E. (1998). Cardiovascular effects of *Arbutus unedo* L. in spontaneously hypertensive rats. Phytother Research. 12, 110-113.

ZIYYAT, A.; MEKHFI, H.; BNOUHAM, M. (2002); *Arbutus unedo* induces endothelium-dependent relaxation of the isolated rat aorta; Phytother Res; 16: 572-575.

7. Anexos

Anexo 1-Luminosidade (L^*) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1º Ensaio				2º Ensaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	43,888	40,013a	37,176b	35,514	41,099	37,419a	39,367a	35,601
Película	aA	A	AB	bA	aA	bA	bA	bA
3°C	43,888	39,207a	35,447b	35,211	41,099	36,363a	37,185a	32,243
Película	aA	A	AB	bA	aA	bA	bB	bB
6°C	43,888	36,315b	32,691b	n.d	41,099	36,922a	33,148b	30,568
Película	aA	B	B	n.d	aA	bA	B	bB
0°C	43,888	38,140a	39,147b	37,302	41,099	39,076a	39,802a	36,086
Pfuros	aA	AB	A	bA	aA	A	A	bA
3°C	43,888	40,412a	35,394b	36,901	41,099	37,520a	35,376a	31,256
Pfuros	aA	A	AB	bA	aA	bA	bB	bB
6°C	43,888	38,877a	35,559b	n.d	41,099	36,753b	33,971b	29,204
Pfuros	aA	AB	AB	n.d	aA	A	B	cB

Anexo 2 -Cor (a^*) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1º Ensaio				2º Ensaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	33,312a	33,473a	36,404a	29,324	38,019	32,297b	35,547a	32,583
película	bA	bA	A	bA	aA	A	A	bA
3°C	33,312a	33,067a	35,037a	33,452	38,019	33,007b	33,981b	30,893
película	A	A	A	aA	aA	AB	A	cA
6°C	33,312a	30,203a	34,038a	n.d	38,019	35,824a	33,487b	33,681
película	A	AB	AB	n.d	aA	bB	A	bA
0°C	33,312a	33,210a	30,471a	29,742	38,019	34,081b	38,685a	32,430
Pfuros	A	B	B	aA	aA	AB	A	bA
3°C	33,312a	33,323a	30,568a	31,062	38,019	32,643b	34,178a	32,378
Pfuros	A	B	B	aA	aA	AB	bA	bA
6°C	33,312a	31,421a	33,655a	n.d	38,019	33,248b	31,980b	30,552
Pfuros	A	AB	AB	n.d	aA	AB	A	bA

Anexo 3 - Cor (b^*) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por

letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan (P < 0.05).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C pelicula	43,677 aA	38,697 bA	36,062b A	30,794 cA	40,461 aA	33,844 bA	36,219c A	30,644 dA
3°C pelicula	43,677 aA	38,661 aA	33,519b AB	31,334 bA	40,461 aA	31,457 bA	32,951b B	25,923 cB
6°C pelicula	43,677 aA	33,071 bB	28,931c B	n.d	40,461 aA	33,460 bA	28,233c B	26,511 cB
0°C Pfuos	43,677 aA	36,778 aB	36,733a A	34,599 A	40,461 aA	36,874 aA	37,317a A	32,344 bA
3°C Pfuos	43,677 aA	39,750 bA	31,494c AB	33,134 cA	40,461 aA	34,445 bA	30,962b cB	26,754 cB
6°C Pfuos	43,677 aA	36,618 bB	33,607b AB	n.d	40,461 aA	34,131 bA	28,442c B	23,865 cB

Anexo 4 - Firmeza (N) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio , registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan (P < 0.05).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C pelicula	4,778a A	4,350aA	2,317b A	1,517b A	4,456a A	2,656b A	2,189b A	1,644b A
3°C pelicula	4,778a A	2,800bA B	2,533b A	1,767b A	4,456a A	2,611b A	2,456b A	1,533b A
6°C pelicula	4,778a A	1,933bB	2,189b A	n.d	4,456a A	2,778b A	1,656b A	1,978b A
0°C Pfuos	4,778a A	3,000ab A	1,822b A	1,778b A	4,456a A	2,633a A	4,056a A	2,133a A
3°C Pfuos	4,778a A	2,344bB	1,944b A	1,911b A	4,456a A	2,322b A	2,267b A	1,289b A
6°C Pfuos	4,778a A	2,733bA B	2,411b A	n.d	4,456a A	2,244b A	1,622c A	1,278c A

Anexo 5 - Sólidos solúveis totais (°Brix) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan (P < 0.05).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C pelicula	26,567 AaA	21,900 bAB	22,60 0bB	21,000 bA	22,267 aA	23,333 aA	22,133a A	23,800 aA
3°C pelicula	26,567 Aa	21,333 bAB	22,00 0bB	22,533 bB	22,267 aA	23,667 abA	24,133b AB	26,267 cB
6°C pelicula	26,567 aA	23,200 bA	21,80 0bA	n.d	22,267 aA	24,067 bA	25,333b BAB	25,200 bAB
0°C Pfuros	26,567 aA	20,300 bB	22,80 0bB	24,333 aC	22,267 abA	20,933 aB	24,867b AB	23,800 bA
3°C Pfuros	26,567 aA	23,333 bA	24,20 0bC	23,333 bBC	22,267 aA	24,467 bA	24,200b AB	24,667 bAB
6°C Pfuros	26,567 aA	21,200 aAB	24,06 7bC	n.d	22,267 aA	24,467 bA	25,067b B	24,200 bAB

Anexo 6 - Perda de Peso (% peso perdido) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan (P < 0.05).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio			2ºEnsaio			
	0	7	10	0	4	10	15
0°C pelicula	0,000a A	0,273b A	0,799cA	0,000a A	0,074aA	0,396b A	0,429bA
3°C pelicula	0,000a A	0,400b A	0,698b A	0,000a A	0,469bB	0,865cB	1,374dB
6°C pelicula	0,000a A	3,985b B	n.d	0,000a A	2,071b C	5,106c C	6,706d C
0°C Pfuros	0,000a A	0,970b A	1,522cB	0,000a A	0,587bB	1,451c D	1,920d D
3°C Pfuros	0,000a A	0,750b A	1,075cB	0,000a A	0,716b D	1,898cE	2,904dE
6°C Pfuros	0,000a A	3,985b B	n.d	0,000a A	2,179b C	5,349c C	7,013d C

Anexo 7 - Cor (h^0) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	52,73	49,136	44,729	46,363	46,79	46,311	45,583	43,24
película	5aA	aA	bA	bAB	4aA	bA	bA	1cA
3°C	52,73	49,475	43,631	43,000	46,79	43,602	44,106	40,00
película	5aA	aA	bAB	bA	4aA	bB	bA	4cB
6°C	52,73	47,587	40,348	n.d	46,79	43,032	40,116	38,21
película	5aA	bA	cB	n.d	4aA	abB	abB	5bB
0°C	52,73	47,935	50,309	49,306	46,79	47,247	43,950	44,90
Pfuros	5aA	bA	bC	bB	4aA	aA	bA	0bA
3°C	52,73	49,957	45,953	46,882	46,79	46,411	42,155	39,54
Pfuros	5aA	abA	bA	bAB	4aA	aA	bAB	7bB
6°C	52,73	49,400	44,986	n.d	46,79	45,699	41,472	37,96
Pfuros	5aA	aA	bA	n.d	4aA	aA	bB	9bB

Anexo 8 - Cor (C^*) para o primeiro ensaio (a) e para o segundo ensaio (b), registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	54,961	51,170	51,267a	42,532	55,527	46,796	50,765b	44,740
película	aA	aA	A	bA	aA	cA	AB	cA
3°C	54,961	50,923	48,504a	45,893	55,527	45,608	47,339b	40,333
película	aA	aA	bAB	bA	aA	bA	B	cB
6°C	54,961	44,793	44,674b	n.d	55,527	49,034	43,803c	42,878
película	aA	bB	B	n.d	aA	bA	C	cB
0°C	54,961	49,554	47,741b	45,628	55,527	50,213	53,753b	45,816
Pfuros	aA	bA	c	cA	aA	bA	A	cA
3°C	54,961	51,893	43,918b	45,430	55,527	47,476	46,120b	42,016
Pfuros	aA	aA	B	bA	aA	bA	B	cB
6°C	54,961	48,259	47,575b	n.d	55,527	47,658	42,843b	38,772
Pfuros	aA	bA	AB	n.d	aA	bA	cC	cB

Anexo 9 - Fenóis Totais (g/ 100g GAE) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores

na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C película	8,306 aA	11,678 bB	12,129 bB	15,172 cA	10,979 aA	15,525b AB	17,618 cA	16,190 cA
3°C película	8,306 aA	11,183 aB	20,873 cC	12,701 aA	10,979 aA	16,361c AB	16,354 cA	13,082 bA
6°C película	8,306 aA	14,843 abA	20,029 bC	n.d	10,979 aA	13,950b AB	14,648 bAB	14,494 bA
0°C Pfuros	8,306 aA	11,678 aB	15,143 bA	12,178 aA	10,979 aA	12,912a bAB	19,371 bA	13,950 abA
3°C Pfuros	8,306 aA	14,559 cA	10,388 bB	14,332 cA	10,979 aA	18,162b A	12,563 aB	18,536 bA
6°C Pfuros	8,306 aA	10,948 abB	14,251 cA	n.d	10,979 aA	12,611a B	11,767 aB	15,013 bA

Anexo 10 - Antocianinas (mg/ 100g Cyanidin-3-glucoside) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C película	8,425 aA	6,638c A	7,264 bA	7,484 bA	7,648 bA	5,090c B	8,650b A	10,053a A
3°C película	8,425 aA	5,427c A	6,759 bA	6,429 bA	7,648 aA	6,713a B	6,262a B	6,546a B
6°C película	8,425 aA	4,909a bA	3,223 cB	n.d	7,648 aA	6,663a B	2,204b D	1,787b D
0°C Pfuros	8,425 aA	4,759b A	7,826 aA	8,099 aA	7,348 aA	9,597b A	10,320b A	9,680b A
3°C Pfuros	8,425 aA	6,078b A	4,392 cB	3,323 dB	7,348 aA	5,243b B	4,358b C	3,891b C
6°C Pfuros	8,425 aA	4,108a bA	3,256 bB	n.d	7,348 aA	4,859a bB	2,605b CD	2,121b CD

Anexo 11 - Taninos (g/ 100g GAE) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a

média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	1,132	2,500b	2,142c	3,091d	4,564a	3,538ab	7,542a	2,521b
película	aA	AB	A	A	bA	AB	A	A
3°C	1,132	2,053b	2,978b	2,036b	4,564a	2,450bB	2,872b	3,208b
película	aA	AB	A	AB	A	C	B	A
6°C	1,132	4,866b	2,866a	n.d	4,564a	2,134ab	1,590a	0,624b
película	aA	A	A	n.d	A	BC	bC	B
0°C	1,132	0,986a	0,616a	2,191b	4,564a	1,152cC	3,533b	1,663c
Pfuros	aA	B	B	AB	A		B	A
3°C	1,132	0,902a	2,069b	1,314a	4,564a	4,861aA	1,485b	2,004a
Pfuros	aA	B	A	C	A		C	bA
6°C	1,132	1,119a	1,623a	n.d	4,564a	1,501ab	0,430b	0,762b
Pfuros	aA	B	AB	n.d	aA	C	D	B

Anexo 12 - Vitamina C (mg/ 100g Acido Ascórbico) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	185,73	152,82	172,40	140,23	214,33	209,30	212,85	267,05
película	1aA	8abA	1aA	6bA	3aA	4aAB	7aA	0aA
3°C	185,73	218,60	162,18	185,56	214,33	176,10	212,63	271,16
película	1aA	8aA	9aA	9aB	3abA	1bB	8abA	2aA
6°C	185,73	186,48	184,92	n.d	214,33	194,28	184,06	251,11
película	1aA	7aA	6aA	n.d	3aA	6aB	0aA	1aA
0°C	185,73	156,84	163,34	123,60	214,33	246,29	232,47	243,45
Pfuros	1aA	0abA	8abA	9bA	3aA	3aAB	9aA	7aA
3°C	185,73	171,35	183,16	209,93	214,33	287,44	198,21	244,00
Pfuros	1aA	6aA	5aA	5aB	3aA	0bA	1aA	0abA
6°C	185,73	184,91	256,75	n.d	214,33	281,19	228,19	215,27
Pfuros	1aA	4aA	1bB	n.d	3aA	1bA	3aA	3aA

Anexo 13 - β -Caroteno (mg/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na

mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan (P < 0.05).

		1ºEnsaio				2ºEnsaio			
Tempo(Dias)		0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	película	18,10 6bA	18,436b B	22,023 aA	8,541 cA	21,872 aA	13,51 6bA	11,334b C	9,941bD
3°C	película	18,10 6aA	26,070b A	16,775 aAB	10,70 2aA	21,872 aA	12,08 0bA	22,264a A	17,048a bBC
6°C	película	18,10 6aA	15,354a bBC	12,202 bAB	n.d	21,872 aA	11,37 7bA	16,158a bBC	14,722b C
0°C	Pfuros	18,10 6aA	21,054a AB	14,127 bAB	11,36 2bA	21,872 abA	16,47 4aA	19,684a bB	27,600a A
3°C	Pfuros	18,10 6aA	19,273a B	9,754b B	13,70 3bA	21,872 aA	11,20 4bA	22,819a A	18,305a bBC
6°C	Pfuros	18,10 6aA	13,473a bC	11,621 bB	n.d	21,872 aA	13,76 0cA	17,565b BC	22,446a B

Anexo 14 - Glucose (g/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan (P < 0.05).

		1ºEnsaio				2ºEnsaio			
Tempo(Dias)		0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	película	6,048 aA	4,579b C	8,316a A	8,074 aA	9,982 aA	6,226a AB	7,265a B	9,201 aA
3°C	película	6,048 aA	6,744a B	9,504b A	9,617 bA	9,982 aA	8,087a A	10,107 aA	7,613 aA
6°C	película	6,048 aA	7,299a B	10,333 bA	n.d	9,982 aA	7,674a A	8,285a B	8,346 aA
0°C	Pfuros	6,048 aA	7,972b B	7,839b A	9,046c A	9,982 aA	8,203a A	6,608a B	8,379 aA
3°C	Pfuros	6,048 aA	9,519b A	9,184b A	9,349 bA	9,982 aA	5,466b B	8,041a B	8,655 aA
6°C	Pfuros	6,048 aA	10,800 bA	6,448a B	n.d	9,982 aA	8,865a A	5,730b C	9,592 aA

Anexo 15 - Frutose (g/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes

representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan (P < 0.05).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	6,590	5,269a	9,062bA	8,885b	10,878	6,784	7,916b	10,026
película	aA	B	B	A	aA	bA	A	aA
3°C	6,590	7,349a	10,356b	10,479	10,878	8,940	11,013	8,296a
película	aA	AB	AB	bA	aA	aA	aA	A
6°C	6,590	7,954a	12,244b	n.d	10,878	9,660	9,028a	9,095a
película	aA	AB	A		aA	aA	A	A
0°C	6,590	8,687b	8,542bA	9,857b	10,878	8,938	7,201b	9,130a
Pfuros	aA	AB	B	A	aA	aA	A	A
3°C	6,590	10,373	10,008b	10,187	10,878	5,956	8,762a	9,431a
Pfuros	aA	bA	AB	bA	aA	bA	A	A
6°C	6,590	11,768	7,026aB	n.d	10,878	6,440	6,244b	10,452
Pfuros	aA	bA			aA	bA	A	aA

Anexo 16 - Actividade antioxidante determina a partir do método TEAC em extracto etanólico (µM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan (P < 0.05).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	4552,0	4715,2	4706,30	4532,8	4596,5	4537,2	4374,1	4427,52
película	87aA	04aA	7aA	09aA	73aA	58aA	41aA	5aA
3°C	4552,0	3502,2	3813,61	3739,4	4596,5	3558,5	3522,9	3300,53
película	87aA	06bB	2bBC	68bB	73aA	56bB	67bB	5bC
6°C	4552,0	3813,6	3389,50	n.d	4596,5	3522,9	3336,1	3353,91
película	87aA	12bB	7cC		73aA	67bB	24bB	8bC
0°C	4552,0	4857,5	4297,03	4501,6	4596,5	4466,0	4566,9	3963,72
Pfuros	87aA	6a1A	1aAB	69aA	73aA	80aA	16aA	5bB
3°C	4552,0	2463,9	2417,09	2577,0	4596,5	3576,3	3448,8	3573,38
Pfuros	87aA	68bC	7bD	65bB	73aA	51bB	23bB	5bBC
6°C	4552,0	4065,7	3715,74	n.d	4596,5	3389,5	3487,3	3597,11
Pfuros	87aA	02abB	2bBC		73aA	07bB	78bB	1bBC

Anexo 17 - Actividade antioxidante determina a partir do método TEAC em extracto metanólico (µM TE/ 100g peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média ± erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes

representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C pelicula	5864,1 97aA	5300,7 02bAB	4314,5 85cB	3321,0 54dB	4685,3 06aA	4121,8 11aAB	3672,0 03aAB	5016,48 3aAB
3°C pelicula	5864,1 97aA	5367,4 32aAB	4902,7 95aAB	4868,1 95aAB	4685,3 06aA	5194,4 29aA	5046,1 40aAB	4111,92 5aB
6°C pelicula	5864,1 97aA	4644,0 72aB	5579,9 78aAB	n.d	4685,3 06abA	3464,4 00bB	6327,4 58aA	4690,24 9abAB
0°C Pfuos	5864,1 97aA	5671,4 22aAB	5308,1 16aAB	5565,6 15aAB	4685,3 06cA	3241,9 67bB	3034,3 64bB	6855,25 6aA
3°C Pfuos	5864,1 97bA	1947,8 81dC	5362,4 89cAB	6608,1 09aA	4685,3 06abA	3573,1 44bB	5693,6 66aAB	4205,84 1aB
6°C Pfuos	5864,1 97bA	6884,9 14aA	6815,7 13aA	n.d	4685,3 06abA	3790,6 34bB	5828,2 21aAB	3790,63 4bB

Anexo 18 - Actividade antioxidante determina a partir do método TEAC em extracto hexânico ($\mu\text{M TE}/ 100\text{g}$ peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C pelicula	297,30 9aA	278,63 4bA	277,41 6bA	279,44 6bA	297,30 9aA	276,19 8bA	236,95 4dB	251,56 9cA
3°C pelicula	297,30 9aA	269,43 2bA	259,95 9bB	254,00 5bB	297,30 9aA	242,63 8bB	255,35 8bA	263,74 8abA
6°C pelicula	297,30 9aA	250,97 0bA	256,17 0bB	n.d	297,30 9aA	240,81 2bB	265,37 2abA	241,28 5bA
0°C Pfuos	297,30 9aA	270,92 0abA	256,82 5bB	262,12 4bB	297,30 9aA	275,38 6abA	266,18 4bA	258,87 7bA
3°C Pfuos	297,30 9aA	246,96 8bB	269,90 1abB	258,06 5bB	297,30 9aA	231,81 2bC	223,96 3bB	261,04 2abA
6°C Pfuos	297,30 9aA	232,36 7cB	256,71 1bB	n.d	297,30 9aA	257,79 4abB	241,28 5bB	229,91 7bA

Anexo 19 - Actividade antioxidante determina a partir do método ORAC em extracto etanólico ($\mu\text{M TE}/ 100\text{g}$ peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha

são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C pelicul a	3217,6 86bA	2766,5 88bB	4871,7 65aA	5054,5 88aA	4055,8 43aA	4067,7 65aB	4981,17 6aA	5607,0 59bA
3°C pelicul a	3217,6 86aA	3362,6 67aAB	4099,6 08bAB	3093,1 76aB	4055,8 43aA	3364,2 35aB	3092,70 6B	5683,5 29bA
6°C pelicul a	3217,6 86aA	4731,1 37bA	3250,5 88aB	n.d	4055,8 43abA	3067,3 73bB	3704,15 7abAB	4395,5 29aAB
0°C Pfuos	3217,6 86cA	4125,2 94bA	4399,6 08bAB	4911,0 59aA	4055,8 43bA	6858,9 80aA	3046,27 5cB	3525,8 82bcB
3°C Pfuos	3217,6 86aA	3446,8 24aAB	3798,7 06aAB	3460,6 27aB	4055,8 43aA	2575,5 29bB	3665,02 0aAB	3383,0 59abB
6°C Pfuos	3217,6 86bA	4465,8 82aA	3508,8 63bB	n.d	4055,8 43aA	3872,8 63aB	3544,23 5aAB	3978,7 45aAB

Anexo 20 - Actividade antioxidante determina a partir do método ORAC em extracto metanólico ($\mu\text{M TE}/ 100\text{g}$ peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C pelicul a	7942,5 88aA	5231,6 86aB	6014,4 31aAB	4738,8 24aB	4012,1 18aA	3768,3 66aBC	4540,6 01aAB	5356,62 7aAB
3°C pelicul a	7942,5 88aA	5100,1 57bB	6196,2 61bAB	8233,0 20aA	4012,1 18bA	4319,1 96bBC	7263,3 92aA	3471,86 3bA
6°C pelicul a	7942,5 88aA	6537,0 20aB	8617,7 60aA	n.d	4012,1 18bA	5182,7 65bAB	6594,3 27aA	4681,20 3bA
0°C Pfuos	7942,5 88abA	9957,3 33aA	8099,0 76abA	4791,7 04bB	4012,1 18aA	3294,4 05aC	3851,3 73aB	4079,13 7aA
3°C Pfuos	7942,5 88aA	6632,0 52aB	5200,8 89aB	5078,3 79aB	4012,1 18bA	5976,1 18abA	8027,6 47aA	8198,15 7aA
6°C Pfuos	7942,5 88aA	7435,5 29aAB	5056,8 10bB	n.d	4012,1 18abA	3354,6 47bC	7599,7 39aA	5035,66 0abAB

Anexo 21 - Oxigénio Singuleto em extracto etanólico (% inibição) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C película	59,331 aA	45,397 bA	57,849a A	61,169 aA	59,351 aA	61,238 aA	63,508 A	62,553 aC
3°C película	59,331 aA	73,668 aB	71,000b BC	71,756 bB	59,351 aA	73,085 bB	73,702b B	75,394 bA
6°C película	59,331 aA	71,000 bB	71,956b BC	n.d	59,351 aA	73,702 bB	73,883b B	75,030 bA
0°C Pfuros	59,331 aA	54,342 aB	64,887a B	61,850 aA	59,351 aA	62,286 aA	59,297a C	69,356 bB
3°C Pfuros	59,331 aA	74,452 bC	67,094a bB	74,813 bB	59,351 aA	73,204 bB	74,232b BC	73,226 bAB
6°C Pfuros	59,331 aA	67,094 bB	75,047c C	n.d	59,351 aA	74,716 bB	73,981b BC	73,094 bAB

Anexo 22 - Oxigénio Singuleto em extracto metanólico (% inibição) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C película	47,472 aA	39,527 abB	42,234 abA	32,095 bA	43,284 aA	44,964 aA	36,466 aA	57,569 bA
3°C película	47,472 aA	49,382 aAB	42,902 aA	42,784 aB	43,284 abA	51,215 aA	37,758 bA	44,909 abA
6°C película	47,472 aA	42,450 aB	43,684 aA	n.d	43,284 aA	43,389 aA	41,597 aA	44,909 aA
0°C Pfuros	47,472 abA	55,513 aA	44,088 abA	34,626 bA	43,284 abA	48,393 aA	30,159 bA	41,508 abA
3°C Pfuros	47,472 aA	48,574 aAB	41,287 bA	44,659 aB	43,284 aA	49,961 bA	40,699 aA	47,982 bA
6°C Pfuros	47,472 aA	40,880 bB	39,706 bA	n.d	43,284 aA	41,231 aA	38,143 aA	40,221 aA

Anexo 23 - Oxigênio Singuleto em extracto hexânico (% inibição) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	57,128	61,916	61,387	63,660	57,120	61,725	68,069	65,956
película	aA	abA	abA	bA	aA	bA	dA	cA
3°C	57,128	62,871	64,567	65,203	57,120	67,251	65,176	64,559
película	aA	abA	bA	bA	aA	bB	bAB	bA
6°C	57,128	63,282	64,948	n.d	57,120	61,237	63,561	62,484
película	aA	abA	bA	n.d	aA	abA	bB	bA
0°C	57,128	63,798	64,576	64,252	57,120	61,722	63,544	64,669
Pfuros	aA	bA	bA	bA	aA	bA	bB	bA
3°C	57,128	66,588	62,834	64,717	57,120	64,470	61,087	64,248
Pfuros	aA	cB	bA	bA	aA	bAB	abC	bA
6°C	57,128	62,803	64,992	n.d	57,120	64,864	63,122	62,591
Pfuros	aA	abA	bA	n.d	aA	bAB	bB	bA

Anexo 24 - Etanol (g/100g peso fresco) para o primeiro ensaio e para o segundo ensaio, registada durante o tempo de armazenamento, no fruto. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Dias)	1ºEnsaio				2ºEnsaio			
	0	3	7	10	0	4	10	15
0°C	0,021a	0,029b	0,033c	0,041d	0,028b	0,021c	0,032b	0,037a
película	A	A	A	A	A	A	A	A
3°C	0,021a	0,025b	0,035c	0,055d	0,028a	0,023a	0,036a	0,050b
película	A	A	A	B	A	A	B	B
6°C	0,021a	0,026b	0,055c	n.d	0,028a	0,026a	0,059b	0,069c
película	A	A	B	n.d	A	A	C	C
0°C Pfuros	0,021a	0,023a	0,035b	0,041c	0,028a	0,025a	0,032b	0,037c
	A	A	A	A	A	A	A	A
3°C Pfuros	0,021a	0,025b	0,034c	0,051d	0,028b	0,022a	0,033b	0,052c
	A	A	A	B	A	A	B	B
6°C Pfuros	0,021a	0,026b	0,063c	n.d	0,028a	0,027a	0,055b	0,072c
	A	A	B	n.d	A	A	C	C

Anexo 25 - Luminosidade (L^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	16,707aA	22,573bB	28,227cA	22,977bA
Tradicional - 6°C	16,707aA	27,247bC	27,567bA	25,883bA
Cit + Pect - Temp.Amb	28,043cB	6,540aA	8,543aB	22,437bA
Cit + Pect - 6°C	28,043bB	9,853aA	9,540aB	35,757cB

Anexo 26 - Cor (a^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	1,343aA	1,570bA	0,993aA	3,017bA
Tradicional - 6°C	1,343aA	1,083aC	0,907aA	2,810bA
Cit + Pect - Temp.Amb	3,447aB	2,605bB	2,697aB	3,020aA
Cit + Pect - 6°C	3,447aB	2,783aA	2,493aB	3,250aA

Anexo 27 - Cor (b^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	2,677aA	2,177aA	2,673aA	6,990bA
Tradicional - 6°C	2,677aA	3,643aAB	2,443aA	6,303bA
Cit + Pect - Temp.Amb	10,517aB	5,333bBC	5,190bB	9,287aA
Cit + Pect - 6°C	10,517aB	7,317abC	5,783aB	9,027abA

Anexo 28 - Cor (h^0) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados.

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional – Temp.Amb	63,273aA	47,894bA	69,647aA	66,263aA
Tradicional - 6°C	63,273aA	71,498aB	69,328aA	64,463aA
Cit + Pect - Temp.Amb	71,266aB	73,313aB	62,746bA	71,766aA
Cit + Pect - 6°C	71,266aB	68,323abB	66,501bA	70,180abA

Anexo 29 - Cor (C^*) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	2,998aA	3,443aA	2,865aA	7,623bA
Tradicional - 6°C	2,998aA	3,833aA	2,613aA	6,944bA
Cit + Pect - Temp.Amb	11,077aB	5,563bAB	5,855bB	9,769aA
Cit + Pect - 6°C	11,077aB	7,851abB	6,299bB	9,599abA

Anexo 30 - Firmeza (N) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	17,933aA	19,000aA	21,667aB	20,667aA
Tradicional - 6°C	17,933abA	21,867bcA	25,300cA	16,933aB
Cit + Pect - Temp.Amb	0,267aB	2,173bB	1,667bC	1,333abC
Cit + Pect - 6°C	0,267aB	0,800abB	0,867abC	1,200bC

Anexo 31 - Sólidos solúveis totais ($^{\circ}$ Brix) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	64,667abA	61,533abA	67,600bA	52,667aA
Tradicional - 6°C	64,667aA	68,200aA	54,467bA	51,267bA
Cit + Pect - Temp.Amb	49,000aB	63,667bA	57,667abA	54,933abA
Cit + Pect - 6°C	49,000aB	70,067bA	62,333abA	62,200abA

Anexo 32 - Fenóis Totais (g/ 100g GAE) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	9,382aA	9,722aA	15,403aA	12,519aA
Tradicional - 6°C	9,382aA	9,129aA	10,469aA	11,946aA
Cit + Pect - Temp.Amb	14,234aB	10,493bA	14,478aA	14,997aA
Cit + Pect - 6°C	14,234aB	11,828aA	12,060aA	15,866aA

Anexo 33 - Glucose (g/ 100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo(Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	14,014aA	17,210aAB	17,375aAB	15,460aA
Tradicional - 6°C	14,014abA	15,731aA	14,411abA	11,166bB
Cit + Pect - Temp.Amb	19,020abB	15,171aA	20,765bBC	15,406aA
Cit + Pect - 6°C	19,020bB	20,647bcB	23,333cC	14,194aA

Anexo 34 - Frutose (g/ 100g peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras

maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	13,131aA	13,755aA	14,000aB	13,403aA
Tradicional - 6°C	13,131aA	10,000bB	10,256bA	8,000bB
Cit + Pect - Temp.Amb	13,283aA	10,398aB	13,667aB	11,821aA
Cit + Pect - 6°C	13,283abA	15,101abA	16,667bC	11,882aA

Anexo 35 - Actividade antioxidante determina a partir do método TEAC em extracto metanólico ($\mu\text{M TE}/100\text{g}$ peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	430,543aA	312,622abA	387,826abAB	263,035bA
Tradicional - 6°C	430,543aA	396,591aA	411,787aB	282,680bA
Cit + Pect - Temp.Amb	429,555abA	265,116bA	321,542aA	214,866aB
Cit + Pect - 6°C	429,555aA	295,854aA	264,285aB	398,635aAB

Anexo 36 - Actividade antioxidante determina a partir do método ORAC em extracto metanólico ($\mu\text{M TE}/100\text{g}$ peso fresco) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e as valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	4714,603aA	4978,267abA	4036,666abA	4729,933bB
Tradicional - 6°C	4714,603aA	5820,998aA	8626,615aA	6219,444aA
Cit + Pect - Temp.Amb	6000,846aA	4094,745abA	6270,749abA	5474,763bAB
Cit + Pect - 6°C	6000,846aA	5887,461aA	7838,688aA	5125,412aAB

Anexo 37 - Oxigénio Singleto em extracto metanólico (% inibição) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	64,539aA	58,038aA	58,978aAB	53,227aA
Tradicional - 6°C	64,539aA	65,817aA	60,127aA	52,896bA
Cit + Pect - Temp.Amb	62,690aA	69,039aA	56,658aB	59,600aA
Cit + Pect - 6°C	62,690abA	65,009aA	61,197abA	55,597bA

Anexo 38 - Mesófilos (Log_{10} UFC/g) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	2,314aA	2,205aA	3,910bA	3,893bA
Tradicional - 6°C	2,314aA	3,100abAB	4,024bA	4,720bB
Cit + Pect - Temp.Amb	3,477aB	4,168bB	4,905bB	4,882bB
Cit + Pect - 6°C	3,477aB	3,734aAB	4,956bB	4,939bB

Anexo 39 - Fungos e Leveduras (UFC/g) registada durante o tempo de armazenamento, na geleia. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 replicados. Para cada parâmetro, os valores na mesma linha são representados por letras minúsculas (a, b, c), e os valores na mesma coluna são representados por letras maiúsculas (A, B, C). Letras diferentes representam valores significativamente diferentes, segundo o teste de Duncan ($P < 0.05$).

Tempo (Meses)	0	2	4	6
Tradicional - Temp.Amb	0,000aA	0,000aA	0,000aA	0,000aA
Tradicional - 6°C	0,000aA	333,333bB	0,000aA	0,000aA
Cit + Pect - Temp.Amb	1000CB	0,000aA	333,333bB	0,000aA
Cit + Pect - 6°C	1000dB	666,667cB	0,000aA	333,333bB

Anexo 40- Valores de significância entre ensaios.

	Parametros	P
Fruto	L*	0,002
	a*	0,000
	b*	0,000
	Hue	0,000
	Croma	0,448
	Primeza	0,533
	°Brix	0,043
	Perda de Peso	0,000
	Fenóis Totais	0,054
	Antocianinas	0,773
	Taninos	0,001
	TEAC - Extracto Etanólico	0,616
	TEAC - Extracto Metanólico	0,004
	TEAC - Extracto de Hexano	0,124
	ORAC - Extracto Etanólico	0,034
	ORAC - Extracto Metanólico	0,000
	Oxigénio Singleto- Extracto Etanólico	0,022
	Oxigénio Singleto - Extracto Metanólico	0,912
	Oxigénio Singleto - Extracto de Hexano	0,849
	Vitamina C	0,000
	β-Caroteno	0,000
	Glucose	0,089
	Frutose	0,032
Etanol	0,052	