



**UNIVERSIDADE DO ALGARVE**

**INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA - Departamento de Engenharia Alimentar**

**Conservação dos frutos de duas cultivares de framboesa  
(Sevillana e Maravilla) em fresco e em doce**

**Ana Cristina da Silva Pacheco**

DISSERTAÇÃO

(dissertação para obtenção do grau de mestre em Tecnologia de Alimentos)

Faro 2012



*O presente trabalho é da inteira responsabilidade do/ autor/a:*

---

*(Ana Cristina da Silva Pacheco)*

Faro, 18 de Maio de 2012



*Universidade do Algarve*

**Departamento:** Instituto Superior de Engenharia - Departamento Engenharia  
Alimentar

**Mestrado em Tecnologia de Alimentos (Ano lectivo 2010/2011)**

**Conservação dos frutos de duas cultivares de framboesa (Sevillana e  
Maravilla) em fresco e em doce**

**Orientado por:** Prof. Maria Graça Miguel, Prof. Auxiliar c/ Agregação, FCT  
Prof. Maria Dulce Antunes, Prof. Auxiliar, FCT

**Júri:**

**Presidente:** Doutora Maria Margarida Cortês Vieira, Professora Coordenadora do  
Instituto Superior de Engenharia da Universidade do Algarve.

**Vogais:** Doutora Maria da Graça Costa Miguel, Professora Auxiliar com agregação da  
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve.

Doutora Paula Maria Nunes Alberto Carrasquinho Pires Cabral, Professora  
Adjunta do Instituto Superior de Engenharia da Universidade do Algarve.

Doutora Maria Dulce Carlos Antunes, Professora Auxiliar da Faculdade de  
Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve.

**Nome:** Ana Cristina da Silva Pacheco, nº 26160

**Data:** 18 de Maio de 2012



## Resumo

Associado ao consumo cada vez mais frequente de alimentos industrializados surgiu um maior interesse da qualidade dos produtos que têm vindo a ser consumidos frescos e processados. Tornou-se cada vez mais importante verificar a influência desse processamento nos compostos benéficos que estão presentes nos alimentos *in natura*, nomeadamente nos frutos vermelhos. O estudo efetuado pode ser de grande utilidade para os produtores e comerciantes dos frutos vermelhos na otimização dos atributos de qualidade durante as alterações das condições de armazenamento de modo a aumentar o tempo de vida dos frutos, bem como aumentar a qualidade do produto final.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do armazenamento refrigerado na qualidade das framboesas frescas e o efeito do processamento térmico na qualidade do produto final. Foram analisadas neste estudo duas cultivares de framboesas a ‘Maravilla’ e a ‘Sevillana’, que foram adquiridas diretamente ao produtor no Algarve.

Para avaliar a capacidade de armazenamento de frutos frescos, estes foram acondicionados em cuvetes logo após a colheita e armazenados a 0°, 3° e 6 °C e 95 ± 2% de humidade relativa durante 21 dias para ambas as cultivares. Para a avaliação do efeito do processamento, a fruta fresca foi congelada até ser submetida ao processamento térmico para a produção de doce por dois tratamentos diferentes (método tradicional e método com adição de ácido cítrico e pectina). O produto das framboesas processado foi armazenado à temperatura ambiente ≈23 °C durante 6 meses. Foram determinados os atributos de qualidade das framboesas frescas e processadas, tais como, a cor, a firmeza, o °Brix e a perda de peso; os compostos bioativos, incluindo fenóis totais, antocianinas totais, taninos e a capacidade antioxidante pelos métodos ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) e pelo método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) e a capacidade de captar radicais livres de oxigénio (Oxigénio Singlete). As amostras das framboesas frescas e processadas foram ainda sujeitas a avaliação das propriedades organoléticas, através de uma análise sensorial e nas amostras do doce foi ainda avaliada a presença de microrganismos patogénicos ao longo do tempo de armazenamento.

Os frutos da cultivar Maravilla apresentaram melhor comportamento em termos qualitativos (cor, textura, °Brix e perda de peso) durante o armazenamento, tendo sido também os frutos desta cultivar a preferência dos provadores. A temperatura que melhor preservou os parâmetros de qualidade foi 0 °C. No entanto os frutos da cultivar Sevillana apresentaram valores superiores de compostos bioativos e capacidade antioxidante aos da cultivar Maravilla, nas temperaturas de 3° e 6 °C. Verificou-se também que os compostos bioativos, bem como a capacidade antioxidante, aumentaram significativamente nas duas cultivares de framboesa e foram fortemente influenciados pelas diferentes cultivares e principalmente pelas temperaturas e o tempo de armazenamento.

Relativamente ao produto processado, o painel de provadores preferiu o doce da cultivar Sevillana em que se adicionou ácido cítrico e pectina. Verificou-se, neste estudo, que com o processamento, os valores do parâmetro cor foram afetados apresentando valores muito baixos consistentes com o aumento significativo do seu conteúdo de compostos bioativos e de acumulação de açúcares dos doces de framboesa. A capacidade antioxidante também aumentou significativamente nas duas cultivares. O equilíbrio entre a pectina, açúcar e ácido cítrico revelou-se muito importante para o controlo microbiológico, bem como para a qualidade do doce, uma vez que os doces com este tratamento apresentaram valores mais baixos de microrganismos aeróbios mesófilos, bolores e leveduras. O doce da cultivar Sevillana pelo método de adição de ácido cítrico e pectina revelou ser o doce com melhor qualidade nas condições deste ensaio.

**Palavras-chave:** Actividade Antioxidante, Framboesas, Armazenamento, Processamento Térmico, Atributos Físico-Químicos.

## Abstract

Associated with more frequent consumption of processed foods came a greater interest in the quality of fresh and processed fruit products. It has become increasingly important to verify the influence of processing on the beneficial compounds that are present in fresh food, particularly in red fruits. It has been of escalating importance for producers and traders the optimization of red fruit quality attributes during storage as well as enhancing the quality in the final product.

The aim of this study was to evaluate the effects of cold storage on the quality of fresh raspberries and the effect of thermal processing on the quality of the final product. Two cultivars of raspberries were analyzed in this study, 'Maravilla' and 'Sevillana', which were acquired directly to the producer in Algarve.

To evaluate the storage capacity of fresh fruits, these were placed in trays immediately after harvest and stored at 0, 3 and 6 °C and  $95 \pm 2\%$  relative humidity for 21 days for both cultivars. To evaluate the effect of processing the fresh fruit was frozen till to be subjected to thermal processing for the production of jam by two different procedures (traditional and method with the addition of citric acid and pectin). The processed product of the raspberries was stored at room temperature  $\approx 23$  °C for 6 months. Quality attributes of fresh raspberries and jam were determined, such as color, firmness, °Brix and weight loss, the bioactive compounds, including phenols, anthocyanins, tannins and antioxidant capacity by the methods ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) and the method TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) and the ability to capture free radicals of oxygen (singlet oxygen). Samples of fresh and processed raspberries were also subjected to evaluation of organoleptic properties, and samples were also evaluated for the presence of pathogenic microorganisms during the storage time.

The fruits of the cultivar Maravilla presented the best results in terms of quality (color, texture, °Brix and weight loss) during storage and were also the preferred by panelists. The temperature that better preserved quality was 0 °C. However the fruits of cultivar Sevillana showed higher values of bioactive compounds and antioxidant

capacity than cultivar Maravilla, at temperatures of 3 ° and 6 °C. It was also found that the bioactive compounds and antioxidant capacity increased significantly in both cultivars of raspberry and were strongly influenced by temperature and storage time.

For the processed product, the taste panel preferred the cultivar Sevillana in which were added citric acid and pectin. It was found in this study, that processing affected color parameters showing very low values consistent with the significant increase in its content of bioactive compounds and accumulation of sugars in jam. The antioxidant capacity also increased significantly in both cultivars. The balance between pectin, sugar and citric acid has proved to be very important for microbiological control, as well as the quality of the jam, since this treatment showed lower values of aerobic mesophilic microorganisms, yeasts and fungi. The cultivar Sevillana's jam by the method of addition of citric acid and pectin was found to be the one with the best quality in the conditions of this experiment.

**Keywords:** Antioxidant activity, Raspberries, Storage, Thermal Processing, Physicochemical Attributes.

# Índice

## Resumo

Abstract

Índice

Índice de Tabelas

Índice de Figuras

<b>Capítulo 1 - Introdução</b> .....	24
<b>Capítulo 2 – Revisão Literária</b> .....	27
2.1. <i>Visão global das framboesas</i> .....	27
2.1.1. História e classificação botânica e morfológica das framboesas .....	27
2.1.2. Produção de framboesas.....	28
2.1.3. Fisiologia das framboesas .....	30
2.2. <i>Composição química das framboesas</i> .....	30
2.2.1. Hidratos de carbono.....	33
2.2.2. Vitaminas e minerais .....	33
2.3. <i>Conteúdo fenólico</i> .....	35
2.4. <i>Capacidade antioxidante</i> .....	37
2.5. <i>Oxidação e radicais livres</i> .....	40
2.6. <i>Extração</i> .....	42
2.7. <i>Pigmentos naturais nas framboesas</i> .....	43
2.7.1. Antocianinas e outros pigmentos nas framboesas .....	43
2.7.2. Mudanças nos pigmentos das framboesas durante o processamento e armazenamento .....	47
2.7.2.1. Mudanças no amadurecimento das frutas durante a colheita e armazenamento das frutas frescas .....	48
2.7.2.2. Processamento e armazenamento .....	49
2.7.2.3. Processamento térmico .....	50
2.7.2.4. Preservação e armazenamento dos doces .....	51
2.8. <i>Os princípios do processamento dos doces</i> .....	52

2.8.1. Os ingredientes essenciais no doce .....	52
2.8.2. Concentração do açúcar e o controlo da atividade da água.....	52
2.8.3. A concentração de açúcar e o crescimento microbiano .....	53
2.8.4. Maceração do açúcar como pré-tratamento .....	54
2.8.5. Pectina.....	55
2.8.6. Ácidos .....	56
<b>Capítulo 3 – Materiais e Métodos .....</b>	<b>57</b>
3.1. <i>Framboesas</i> .....	57
3.2. <i>Processamento térmico (Elaboração do doce de framboesa)</i> .....	59
3.3. <i>Determinação dos atributos físico-químicos das framboesas e dos doces de framboesa</i> .....	60
3.3.1. Cor.....	60
3.3.2. Textura .....	62
3.3.3. °Brix .....	62
3.3.4. Perda de Peso .....	62
3.4. <i>Avaliação das propriedades químicas das framboesas e dos doces de framboesa</i> .....	63
3.4.1. Fenóis totais .....	63
3.4.2. Antocianinas totais.....	64
3.4.3. Taninos .....	66
3.4.4. Ácido Ascórbico.....	67
3.4.5. Carotenoides .....	67
3.4.6. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) .....	69
3.4.7. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).....	71
3.4.8. Oxigénio Singlete .....	73
3.5. <i>Nutrientes</i> .....	74
3.5.1. Determinação do azoto total.....	74
3.5.2. Determinação de minerais.....	76
3.5.2.1. Determinação do Sódio e do Potássio .....	76
3.5.2.2. Determinação do Fósforo Total.....	78

3.6. Açúcares .....	79
3.7. Análise Microbiológica.....	83
3.8. Análise Sensorial .....	83
3.9. Análise Estatística .....	84
<b>Capítulo 4 – Resultados e Discussão .....</b>	<b>85</b>
4.1. <i>Conservação das Framboesas em Fresco</i> .....	85
4.1.1. Nutrientes.....	85
4.1.2. Atributos físico-químicos das framboesas .....	86
4.1.2.1. Cor.....	86
4.1.2.2. Textura .....	93
4.1.2.3. °Brix.....	94
4.1.2.4. Perda de Peso.....	95
4.1.3. Avaliação das propriedades químicas das framboesas .....	96
4.1.3.1. Fenóis totais .....	96
4.1.3.2. Antocianinas totais.....	98
4.1.3.3. Taninos .....	100
4.1.3.4. Ácido ascórbico .....	102
4.1.3.5. Carotenoides .....	104
4.1.3.6. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).....	105
4.1.3.7. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).....	109
4.1.3.8. Oxigênio Siglete .....	113
4.1.4. Açúcares.....	117
4.1.4.1. Glucose.....	117
4.1.4.2. Frutose .....	118
4.1.5. Análise Sensorial.....	120
4.1.5.1. Aparência do fruto.....	121
4.1.5.2. Aparência da polpa .....	122
4.1.5.3. Aroma .....	123
4.1.5.4. Textura.....	124
4.1.5.5. Doçura .....	125
4.1.5.6. Acidez.....	126

4.1.5.7. Sabor.....	126
<b>4.2. Conservação dos doces de Framboesa .....</b>	<b>128</b>
4.2.1. Atributos físico-químicos dos doces de framboesa.....	128
4.2.1.1. Cor.....	128
4.2.1.2. Textura .....	135
4.2.1.3. °Brix.....	137
4.2.2. Avaliação das propriedades químicas dos doces de framboesa .....	138
4.2.2.1. Fenóis totais .....	138
4.2.2.2. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) .....	140
4.2.2.3. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).....	141
4.2.2.4. Oxigênio Siglete .....	142
4.2.3. Açúcares.....	143
4.2.3.1. Glucose.....	143
4.2.3.2. Frutose .....	144
4.2.4. Análise Microbiológica.....	146
4.2.4.1. Microrganismos aeróbios mesófilos.....	146
4.2.4.2. Bolores/Leveduras .....	146
4.2.5. Análise Sensorial.....	148
4.2.5.1. Aparência do doce.....	148
4.2.5.2. Aroma .....	149
4.2.5.3. Textura.....	150
4.2.5.4. Acidez.....	150
4.2.5.5. Doçura .....	151
4.2.5.6. Sabor.....	152
<b>Capítulo 5 – Conclusão .....</b>	<b>154</b>
5.1. <i>Conclusão para os frutos de framboesa.....</i>	<i>154</i>
5.2. <i>Conclusão para os doces de framboesa.....</i>	<i>155</i>
5.3. <i>Perspetivas Futuras .....</i>	<i>157</i>
<b>Capítulo 6 – Referências Bibliográficas.....</b>	<b>158</b>

## **Anexos**

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b> – Composição nutricional de framboesas vermelhas frescas (adaptado de Rao <i>et al.</i> , 2010) .....	32
<b>Tabela 2</b> - Composição de hidratos de carbono nas framboesas frescas (100g), (adaptado de Rao <i>et al.</i> , 2010) .....	33
<b>Tabela 3</b> - Composição das vitaminas nas framboesas frescas (100g), (adaptado de Rao <i>et al.</i> , 2010) .....	34
<b>Tabela 4</b> - Composição dos minerais nas framboesas frescas (100g), (adaptado de Rao, A., <i>et al.</i> , 2010) .....	34
<b>Tabela 5</b> - Características físicas e físico-químicas de algumas cultivares de framboesas vermelhas da Espanha (Fonte: Ancos <i>et al.</i> , 2000).....	50
<b>Tabela 6</b> - Comparação dos valores obtidos para os nutrientes das duas cultivares de framboesas Sevillana e Maravilla, com os valores dos nutrientes referenciados em Rao <i>et al.</i> , 2010.....	85

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> – Morfologia da Framboesa (adaptado de Sousa <i>et al.</i> , 2007a) .....	27
<b>Figura 2</b> – Tonalidades da Framboesa vermelha (adaptado de Sousa <i>et al.</i> , 2007a).....	28
<b>Figura 3</b> – Estrutura das antocianinas comumente encontradas nos frutos vermelhos (adaptado de Monica <i>et al.</i> , 2007) .....	45
<b>Figura 4</b> – Açúcares típicos encontrados nas antocianinas das framboesas (Fonte: Monica <i>et al.</i> , 2007).....	46
<b>Figura 5</b> – Ácidos fenólicos e alifáticos que podem esterificar as antocianinas nos frutos vermelhos (Fonte: Monica <i>et al.</i> , 2007) .....	46
<b>Figura 6</b> – Diagrama experimental da tese.....	58
<b>Figura 7</b> – Plano tridimensional Policromático: Sistema de cores CIELab a*, b*e L*, mostrando h <sub>ab</sub> (ângulo hue), C * (cromaticidade) e L * (luminosidade) (adaptado de Jordheim, 2007) .....	61
<b>Figura 8</b> – Plano de tonalidades em função de h°ab, adaptado de Machado <i>et al.</i> , 1997.....	61
<b>Figura 9</b> - Curva padrão e a respectiva equação da recta, utilizada para estimar o conteúdo fenólico dos frutos frescos e das amostras de doce.....	64

<b>Figura 10</b> - Curva padrão do $\beta$ -caroteno e a respetiva equação da reta utilizada para estimar a quantidade de carotenoides presente nas amostras.....	68
<b>Figura 11</b> Curva padrão Trolox e a respetiva equação da reta, utilizada para estimar a capacidade antioxidante dos frutos frescos e das amostras de doce pelo método TEAC, utilizando como solvente o etanol.....	70
<b>Figura 12</b> - Curva padrão $\beta$ -caroteno e a respetiva equação da reta, utilizada para estimar a capacidade antioxidante dos frutos frescos pelo método TEAC, utilizando como solvente o hexano. ....	70
<b>Figura 13</b> - Recta de calibração do padrão Trolox com a respetiva equação, utilizada para determinar a capacidade antioxidante pelo método ORAC.....	72
<b>Figura 14</b> - Reta de calibração do padrão Potássio com a respetiva equação da reta para determinar a quantidade de potássio (ppm) presente nas amostras.....	77
<b>Figura 15</b> - Recta de calibração do padrão de Sódio com a respetiva equação da reta, utilizada para determinar a quantidade de sódio (ppm) presente nas amostras.....	77
<b>Figura 16</b> - Reta de calibração do padrão de Fósforo com a respetiva equação da reta, utilizada para determinar a quantidade de fósforo (ppm) presente nas amostras.....	79
<b>Figura 17</b> – Evolução da Luminosidade da cor ( $L^*$ ) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão.....	86
<b>Figura 18</b> – Evolução do parâmetro cor ( $a^*$ ) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6°C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	87
<b>Figura 19</b> – Evolução do parâmetro cor ( $b^*$ ) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6°C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	89
<b>Figura 20</b> – Evolução da saturação da cor pelo parâmetro $C^*$ das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 ° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	90

<b>Figura 21</b> – Evolução do ângulo Hue (h*) que descreve a tonalidade das cores das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 ° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	91
<b>Figura 22</b> – Evolução da firmeza das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	93
<b>Figura 23</b> – Evolução do °Brix das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	94
<b>Figura 24</b> – Evolução da perda de peso das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6°C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	95
<b>Figura 25</b> – Evolução do conteúdo fenólico total das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	97
<b>Figura 26</b> – Evolução do teor de antocianinas monoméricas das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	99
<b>Figura 27</b> – Evolução do conteúdo de taninos das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6°C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	101
<b>Figura 28</b> – Evolução da quantidade de ácido ascórbico das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	103
<b>Figura 29</b> – Evolução da quantidade de β-caroteno das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	105

<b>Figura 30</b> – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método TEAC de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em etanol ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	106
<b>Figura 31</b> – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método TEAC de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	107
<b>Figura 32</b> – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método TEAC de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em hexano ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	108
<b>Figura 33</b> – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método ORAC, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em etanol, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	109
<b>Figura 34</b> – Evolução da capacidade de antioxidante determinada pelo método ORAC, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	110
<b>Figura 35</b> – Evolução da percentagem captação de Oxigénio Singlete, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em etanol, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão. ....	113
<b>Figura 36</b> - Evolução da percentagem de captação de Oxigénio Singlete, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão.....	115
<b>Figura 37</b> – Evolução da percentagem de captação de Oxigénio Singlete, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em hexano, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão.....	116

<b>Figura 38</b> – Evolução do teor de glucose das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6°C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	117
<b>Figura 39</b> – Evolução do teor de frutose das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6°C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes ± desvio padrão .....	119
<b>Figura 40</b> - Evolução da aparência dos frutos das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efectuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores .....	121
<b>Figura 41</b> - Evolução da aparência da polpa das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efectuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores. ....	122
<b>Figura 42</b> - Evolução do aroma das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efectuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.....	123
<b>Figura 43</b> - Evolução da textura das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efectuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.....	124
<b>Figura 44</b> - Evolução da doçura das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efectuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.....	125
<b>Figura 45</b> - Evolução da acidez das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efectuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.....	126
<b>Figura 46</b> - Evolução do sabor das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efectuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.....	126

<b>Figura 47</b> – Evolução da Luminosidade da cor ( $L^*$ ), de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	129
<b>Figura 48</b> – Evolução do parâmetro cor ( $a^*$ ) de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	130
<b>Figura 49</b> – Evolução do parâmetro cor ( $b^*$ ) de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	131
<b>Figura 50</b> – Evolução da saturação da cor pelo parâmetro $C^*$ de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	132
<b>Figura 51</b> – Evolução do ângulo Hue ( $h^*$ ) que descreve a tonalidade das cores de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão.....	133
<b>Figura 52</b> – Evolução da textura de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão.....	135
<b>Figura 53</b> – Evolução do °Brix de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	137
<b>Figura 54</b> – Evolução do conteúdo fenólico total de amostras dos doces produzidos por dois (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	138
<b>Figura 55</b> – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método TEAC de amostras dos doces produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	140

<b>Figura 56</b> – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método ORAC de amostras dos doces produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	141
<b>Figura 57</b> – Evolução da percentagem de inibição dos radicais livres (Oxigénio Singlete), de amostras dos doces produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol, ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	143
<b>Figura 58</b> – Evolução do teor de glucose dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	144
<b>Figura 59</b> – Evolução do teor de frutose dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	145
<b>Figura 60</b> – Avaliação da qualidade microbiológica dos doces produzidos das duas cultivares Sevillana e Maravilla, pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), pela determinação da contagem de microrganismos aeróbios mesofílicos efetuada ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	146
<b>Figura 61</b> – Avaliação da qualidade microbiológica dos doces produzidos das duas cultivares Sevillana e Maravilla, pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), pela determinação da contagem de bolores e leveduras efetuada ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes $\pm$ desvio padrão .....	147
<b>Figura 62</b> - Evolução da aparência dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses) por apreciação de um painel de provadores .....	148
<b>Figura 63</b> - Evolução do aroma dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses) por apreciação de um painel de provadores.....	149

<b>Figura 64</b> - Evolução da textura dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses) por apreciação de um painel de provadores.....	150
<b>Figura 65</b> - Evolução da acidez dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses) por apreciação de um painel de provadores.....	150
<b>Figura 66</b> - Evolução da doçura dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses) por apreciação de um painel de provadores.....	151
<b>Figura 67</b> - Evolução do sabor dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses) por apreciação de um painel de provadores.....	152

## Capítulo 1 – Introdução

Os frutos vermelhos são ricos em hidratos de carbono, fibra alimentar, vitaminas, sais minerais, compostos fenólicos, incluindo antocianinas, taninos e flavonoides. Estudos epidemiológicos têm mostrado que o consumo de frutos vermelhos numa dieta regular previne determinadas doenças crónicas (Wu *et al.*, 2010).

Entre as culturas mais populares dos frutos vermelhos, encontram-se as framboesas vermelhas (*Rubus idaeus L.*). São ricas em antocianinas, ácido elágico e outros metabólitos secundários cujas concentrações variam com os diferentes génotipos, clima, época de colheita, localização e condições de cultivo (Malowicki, 2007; Wang *et al.*, 2007).

O subgénero *Idaeobatus*, onde estão incluídas as framboesas, surge nos cinco continentes, mas tem a sua distribuição centrada fundamentalmente no hemisfério norte, com especial incidência na Ásia, Europa e América do Norte. Como espécies de framboesa mais importantes do ponto de vista frutícola destacam-se: a framboesa vermelha europeia, *Rubus idaeus* subsp. *vulgatus* Arrhen.; a framboesa vermelha norte-americana *Rubus idaeus* subsp. *strigosus* Michx. (Oliveira *et al.*, 2007a).

A procura crescente de framboesas deve-se à sua frescura, aparência, sabor e aroma agradáveis e ao seu valor nutritivo, que permite inovar e recriar formas de utilização. No entanto, as framboesas frescas são frutos frágeis e facilmente feridas por manuseio após a colheita devido ao seu tecido mole. Além disso, as framboesas são extremamente perecíveis, com apenas 3 a 5 dias de vida de prateleira a -0,5 - 0 °C com 90-95% de humidade relativa (Sousa *et al.*, 2007a).

Com o amadurecimento das framboesas verificam-se alterações das propriedades físico-químicas e nutricionais. Durante o armazenamento há perda de humidade, danos mecânicos, respiração dos frutos e contaminação microbiológica (Sousa *et al.*, 2007a). Assim, várias tecnologias têm sido empregues para preservar, por períodos mais longos, as framboesas frescas. Por exemplo, o processamento térmico visa destruir microrganismos patogénicos, inativar enzimas, e eventualmente, eliminar o

oxigênio nos produtos finais. Além da extensão do prazo de validade, as aplicações de tecnologias de processamento de pós-colheita permitem diversificar os tipos de produtos que derivam das framboesas, como exemplo, os doces, compotas, sumos, e concentrados que contêm framboesas (Wang *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2010).

Nos doces feitos a partir dos frutos utilizam-se também substâncias de pectina, açúcar e um ácido orgânico, normalmente ácido cítrico, para o controle da acidez para se obter o pH desejado na formação do gel. Os doces devem ser translúcidos, com pouca polpa ou nenhuma, formando uma estrutura de gel contínua e firme (Figuerola, 2007).

Os frutos vermelhos são de todos os frutos os mais adequados para a transformação em compotas, geleias e doces, devido à sua qualidade, acidez, cor, normalmente com alto conteúdo de pectina, sabor e aroma (Figuerola, 2007).

Apesar dos doces e compotas serem produtos alimentares com uma humidade intermédia, não impede o desenvolvimento de bolores e leveduras. Estes dois tipos de microrganismos têm de ser controlados com conservantes químicos ou usando um recipiente hermeticamente fechado sob vácuo e refrigeração após o recipiente ser aberto. Os produtos com menor teor de açúcar normalmente têm que ser tratados termicamente para prevenir o crescimento bacteriano, um processo conhecido como "pasteurização" (Figuerola, 2007).

O consumo cada vez mais frequente de alimentos industrializados tem despertado o interesse na qualidade dos produtos que estão a ser consumidos frescos e em que a influência do seu processamento ainda é pouco estudada (Hager *et al.*, 2008b). Por isso a importância em verificar a influência desse processamento nos compostos benéficos que estão presentes nos alimentos *in natura*, nomeadamente nos frutos vermelhos. A informação estudada pode ser utilizada por investigadores para desenvolver novos procedimentos ou pode ser uma ajuda útil para os produtores da indústria de frutos vermelhos na otimização dos atributos de qualidade dos frutos durante as alterações das condições de armazenamento e de modo a aumentar o seu tempo de prateleira, bem como aumentar a qualidade do produto final (Wu *et al.*, 2010).

Do exposto, os impactos da pós-colheita no armazenamento para a preservação da qualidade do produto sem perdas nutricionais é muito importante para os consumidores cada vez mais exigentes quer na qualidade quer na segurança alimentar (Plessi *et al.*, 2007).

No produtor *Madre Fruta* foram adquiridas as duas cultivares de framboesas vermelhas Driscoll Maravilla e Driscoll Sevillana que foram a base do presente estudo. Devido à constituição fenólica dos frutos e, em particular, das framboesas há um grande interesse em avaliar a sua capacidade antioxidante através de diversos métodos: ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) e capacidade de captação de espécies reativas oxigenadas.

Os objetivos deste estudo incluem:

- Avaliar os efeitos do armazenamento na qualidade das framboesas cultivares Driscoll Maravilla e Driscoll Sevillana frescas;

- Avaliar os efeitos do processamento térmico (transformação em doce de framboesa das cultivares Driscoll Maravilla e Driscoll Sevillana) na qualidade do produto final;

- Avaliar se as cultivares estudadas respondem de modo diverso às condições de armazenamento e de processamento, isto é, se a qualidade quer do fruto quer do doce dependem das cultivares.

## Capítulo 2 – Revisão Literária

### 2.1. Visão global das framboesas

#### 2.1.1 História e classificação botânica e morfológica das framboesas

A framboesa pertence à família das *Rosaceae*, género *Rubus*, e subgénero *Idaeobatus*. Este subgénero engloba cerca de 200 espécies, que se distinguem pela facilidade com que os seus frutos maduros se separam do recetáculo (Figura 1). Muitas destas espécies têm sido melhoradas, mas apenas as framboesas vermelhas e pretas têm sido produzidas em larga escala (Sousa *et al.*, 2007a).

A espécie mais comum no continente europeu é *Rubus idaeus L.* Esta espécie ainda é atualmente abundante em algumas regiões da Europa (Sousa *et al.*, 2007a).

A framboesa é um fruto múltiplo de drupas (drupéolas) estreitamente unidas à volta do recetáculo (Figura 1). Apresenta em geral forma cónica arredondada, sendo cada drupéola, constituída por uma semente dura envolvida por polpa (Sousa *et al.*, 2007a).

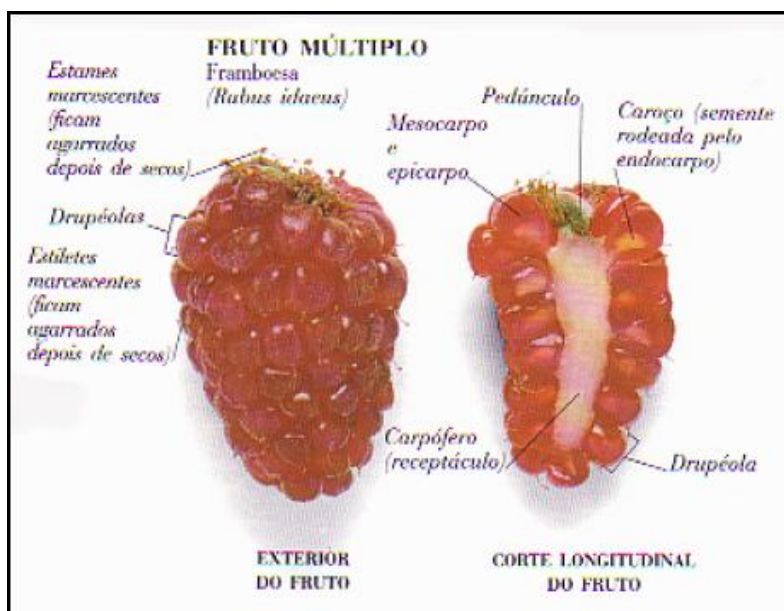


Figura 1 – Morfologia da framboesa (adaptado de Sousa *et al.*, 2007a).

De acordo com as espécies e as cultivares, a coloração dos frutos varia do amarelo ao preto, incluindo os tons alaranjado, rosa, vermelho claro e intenso e púrpura (Figura 2).



Figura 2 – Tonalidades da framboesa vermelha (adaptado de Sousa *et al.*, 2007a).

As cultivares mais generalizadas e cultivadas em Portugal são as de fruto vermelho, de sabor agridoce, aroma agradável, polpa com pequenas sementes e textura granulada (Sousa *et al.*, 2007a).

### **2.1.2. Produção de framboesas**

As framboesas vermelhas são as mais cultivadas a nível mundial. A Europa é responsável pela maior parte da área plantada de framboesa vermelha. Sérvia e Montenegro (40% da área) e Polónia (34%) são juntamente os maiores produtores de framboesa vermelha na Europa, produzindo mais de 161.500 toneladas em 2005, principalmente para o processamento. Outros países produtores de framboesas vermelhas na Europa são o Reino Unido (4%), França (3%), Hungria (3%), Espanha (3%), Bulgária (3%), Alemanha (3%) e Bélgica, Croácia, República Checa, Estónia, Finlândia, Noruega, Portugal, Roménia, Suíça, Suécia, Eslováquia, Holanda, Itália, Irlanda e Dinamarca. Os países com maior incremento da cultura foram a Finlândia e a Espanha (Strik, 2007). O aumento de área plantada em Espanha encontra-se ligado a cultura protegida, sendo este país o maior concorrente de Portugal na produção precoce de primavera. A cultura da framboesa em Portugal é encarada apenas numa perspetiva de exportação dado ao baixo consumo no mercado português (Oliveira *et al.*, 2007b).

Mais de 60% da produção total na maioria dos países da Europa Ocidental é comercializada fresca. A Ásia responde por cerca de 40% da área cultivada do mundo, porém, a maioria (81%) da produção da Ásia está na Federação Russa. Outros países na Ásia, com área plantada de framboesa vermelha são a Ucrânia, Coreia, a República do

Azerbaijão, República da Moldávia e China. O Chile é o único país na América do Sul, com área plantada de framboesa vermelha significativa. Apenas 7% da produção chilena é para uso doméstico, o resto é exportado, principalmente como produto processado (Oliveira *et al.*, 2007b). Os mercados preferenciais são os Estados Unidos da América e a Europa com 2.383 e 557 toneladas, respetivamente. A restante produção de framboesas vermelhas do Chile é exportada sob a forma de produto congelado para a Europa, Estados Unidos, Canadá e Austrália (Strik, 2007).

Portugal, embora com uma área muito reduzida de produção, possui regiões com condições edafo-climáticas que o podem tornar líder europeu na produção de framboesas. As perspetivas atuais de desenvolvimento da cultura da framboesa e de outros pequenos frutos no nosso País são muito promissoras, dado terem-se instalado em diversas zonas do País empresas europeias e americanas líderes de mercado que possibilitam a incorporação no tecido produtivo nacional de novas tecnologias de produção e de novos mercados de exportação (Oliveira *et al.*, 2007b).

A cultura da framboesa encontra-se concentrada nos países do norte e leste da Europa. Nestes países a produção concentra-se nos meses de junho a setembro, repartida entre a framboesa remontante e não remontante. A falta de oferta justifica o recurso à importação durante o período de outubro a maio, para fazer face à procura crescente, uma vez que esta não tem uma sazonalidade tão marcada como a da produção. O alargamento da União Europeia aos países do leste europeu, com grande tradição no consumo de pequenos frutos, constitui também um fator promissor na expansão do mercado de exportação de framboesas frescas fora do período normal de produção (Oliveira *et al.*, 2007b).

A comercialização de framboesas provenientes da cultura de ar livre no continente português (junho a setembro) encontra-se muito limitada, dado o baixo consumo nacional e os reduzidos preços na exportação. A venda local dos frutos ou a sua transformação poderá ser uma alternativa pontual para pequenas explorações familiares (Oliveira *et al.*, 2007b).

Em Portugal, a framboesa pode ser cultivada em diferentes épocas recorrendo a diversas tecnologias. A cultura ao ar livre não se adapta à maioria das regiões do

continente português, se excluirmos a região de Entre - Douro e Minho, devido às altas temperaturas e a baixa humidade relativa durante o período de verão. Os fatores determinantes da produtividade são as condições de clima do inverno ameno e também o longo período de temperaturas favoráveis ao crescimento (baixa eco dormência) e ainda o reduzido número de horas com temperaturas baixas durante o inverno para a quebra da endo-dormência das plantas de framboesa (Oliveira *et al.*, 2007b).

### **2.1.3. Fisiologia das framboesas**

Após o desenvolvimento máximo das framboesas ocorre a maturação, manifestada pelo progressivo aparecimento de características típicas de sabor, cor, textura, diminuição de acidez e desaparecimento da adstringência (Sousa *et al.*, 2007a). Neste processo fisiológico, ocorrem alterações hidrolíticas responsáveis pela formação de açúcares. Os frutos com o mesmo teor em açúcares totais e em ácidos podem ser mais ou menos doces consoante os níveis relativos de sacarose, glucose e frutose que são os três principais hidratos de carbono. Estes açúcares acumulados durante a maturação resultam num maior teor de sólidos solúveis ou °Brix (Talcott, 2007).

A perda de turgescência e o abrandamento dos tecidos são processos complexos, dependentes de diversos fatores, nomeadamente da cultivar, condições de crescimento, dimensões, estágio de maturação e senescência, os quais podem ser retardados. A maioria dos processos de armazenamento e acondicionamento visam atrasar estas fases (Sousa *et al.*, 2007a).

## **2.2. Composição química das framboesas**

Os frutos vermelhos, incluindo as framboesas, são universalmente reconhecidos como tendo na sua composição química básica determinados componentes que acentuam o seu sabor, o aroma frutado e diversas propriedades biológicas que são apreciadas por diferentes sociedades em todo o mundo. Os frutos vermelhos variam entre a cor vermelha para o azul ou preto. São uma boa fonte de vitaminas e minerais e têm diversas composições fitoquímicas que relacionam a satisfação e a saúde do consumidor (Beattie *et al.*, 2005).

A composição química e os valores nutricionais das framboesas são influenciados não só pelo cultivar, mas também por outros fatores como as condições de crescimento local, o solo, o clima, práticas agrícolas, qualidade da água de irrigação, estágio de maturação, colheita e posteriores condições de armazenamento (Plessi *et al.*, 2007; Talcott, 2007).

As condições ambientais de crescimento podem ser um fator importante que afeta a qualidade do fruto. Apesar dos numerosos parâmetros químicos relacionados com a qualidade das framboesas, identificar os fatores de qualidade para além do teor de açúcares simples é difícil porque há inúmeros fatores que se relacionam com a aceitação do consumidor. No entanto, a visão global da qualidade de muitos dos frutos vermelhos, incluindo as framboesas, é atribuída à colheita no nível máximo de maturação quando os frutos têm o seu valor mais alto de açúcar e aroma. Como outros fatores temos o próprio açúcar dos frutos, equilíbrio ácido, textura firme, perfil de aroma volátil e as suas cores derivadas das antocianinas, que dizem respeito à perceção da qualidade pelos consumidores. Uma vez consumidos, os benefícios nutricionais dos frutos vermelhos, provêm dos seus hidratos de carbono, vitaminas, minerais, fibra alimentar e das concentrações dos polifenóis (Beattie *et al.*, 2005; Talcott, 2007).

As diferentes cultivares dos frutos vermelhos apresentam concentrações muito diferentes de ácido ascórbico, ácido fólico, carotenoides e uma grande variedade de polifenóis, que tem um impacto na cor, sabor e nutrição. Os frutos vermelhos apresentam geralmente baixos valores em calorias, no entanto, são ricos em fibras dietéticas e contêm pequenas quantidades de gordura e proteínas (Tabela 1) (Sousa *et al.*, 2007b).

Tabela 1 – Composição nutricional de framboesas vermelhas frescas (adaptado de Rao *et al.*, 2010).

<b>Nutrientes</b>	<b>Framboesa Vermelha (100 g p.f.)</b>
Água (g)	86,75
Energia (kcal)	52,00
Proteínas (g)	1,20
Lípidos totais (g)	0,65
Hidratos de carbono (g)	11,94
Fibra dietética (g)	6,50
Açúcares (g)	4,42

O consumo de framboesas tem sido amplamente associado à diminuição de doenças crónicas, incluindo as doenças coronárias e cancro. Assim, compreender os fatores que influenciam a perceção do consumidor na qualidade das framboesas é importante para a seleção de novas cultivares, ou mesmo o melhoramento das cultivares existentes, no desenvolvimento de formulações de novos alimentos com frutas ou sabores de frutas (Oliveira *et al.*, 2007b).

O estado de maturação adequado à colheita, o controlo da temperatura adequada e as variações do ambiente no armazenamento, bem como a atmosfera controlada/modificada e humidade relativa são fatores que determinam a qualidade final do fruto. Estas condições podem influenciar nas numerosas alterações bioquímicas que afetam a qualidade dos frutos no seu geral. O grau de maturação dos frutos não é só devido à sua cor, sabor, mas também manter a sua qualidade na pós-colheita (Oliveira *et al.*, 2007a; Sousa *et al.*, 2007b).

Algumas mudanças nas framboesas durante a sua maturação são visíveis, tais como o desenvolvimento de metabolitos secundários que influenciam a cor, a produção de compostos voláteis, responsáveis pelo aroma. No entanto, podem ocorrer ainda mais mudanças durante o desenvolvimento dos frutos e manuseio pós-colheita, tais como mudanças no equilíbrio dos açúcares e ácidos, alteração química das paredes celulares, que influenciam a perceção do consumidor relativamente à textura e suculência (Plessi *et al.*, 2007).

Quando o fruto atinge o ponto ideal é fundamental uma análise cuidadosa de colheita e condições de manipulação para a qualidade dos frutos. Após a colheita, se as framboesas forem armazenadas num ambiente de alta humidade relativa evitar-se-á a perda de humidade excessiva, a decomposição lenta e diminui a atividade das enzimas ativas presentes nas paredes celulares que causam a sua rápida deterioração (Talcott, 2007).

Apesar das muitas propriedades benéficas dos frutos com base nas suas concentrações de vitaminas, minerais, fibras e polifenóis antioxidantes se a qualidade das framboesas estiver abaixo da aceitação do consumidor para a compra, os seus efeitos benéficos não serão comprovados (Rao *et al.*, 2010).

### **2.2.1. Hidratos de carbono**

Depois da água, os hidratos de carbono são os componentes mais abundantes nas framboesas. Eles são o elemento essencial que oferece aos consumidores o atributo sensorial fundamental de doçura na maioria dos frutos. O amadurecimento das framboesas, na verdade é o processo de acumulação de açúcares e redução de ácidos. Os teores dos açúcares redutores e da sacarose em 100 g de framboesas frescas estão representados na Tabela 2 (Talcott, 2007; Rao *et al.*, 2010).

Tabela 2 - Composição de hidratos de carbono nas framboesas frescas (100 g) (adaptado de Rao *et al.*, 2010).

<b>Hidratos de Carbono (g)</b>	<b>Açúcares Totais (g)</b>	<b>Sacarose (g)</b>	<b>Glucose (g)</b>	<b>Frutose (g)</b>
11,9	4,42	0,2	1,86	2,35

### **2.2.2. Vitaminas e minerais**

Os frutos vermelhos, incluindo as framboesas, contêm uma grande diversidade de nutrientes com reconhecidas atividades biológicas que possuem efeitos benéficos na saúde humana (Beattie *et al.*, 2005). O conteúdo e diversidade de vitaminas (Tabela 3), minerais (Tabela 4), e fibras alimentares são frequentemente a base para promover o

aumento da ingestão diária de frutas e legumes. As framboesas contêm grandes concentrações de folatos, vitaminas B como a niacina, tocoferóis, e vitamina K, que são importantes para a saúde humana. Os principais minerais nas framboesas incluem fósforo, potássio, cálcio e magnésio (Rao *et al.*, 2010). Muitos frutos vermelhos, incluindo as framboesas, são conhecidos pelo seu elevado teor de ácido ascórbico, que varia entre as diferentes cultivares e entre genótipos, bem como a sua diversidade de polifenóis, que são os principais contribuintes para a capacidade antioxidante total (Talcott, 2007; Rao *et al.*, 2010).

Tabela 3 - Composição das vitaminas nas framboesas frescas (100 g) (adaptado de Rao *et al.*, 2010).

<b>Vitaminas</b>	<b>Framboesas Vermelhas (100 g p.f.)</b>
Vitamina C (mg)	26,20
Tiamina (mg)	0,032
Riboflavina (mg)	0,038
Niacinina (mg)	0,598
Viamina B6 (mg)	0,055
Folato ( $\mu$ g)	21,00
Ácido pantonénico (mg)	0,329

Tabela 4 - Composição dos minerais nas framboesas frescas (100 g) (adaptado de Rao *et al.*, 2010).

<b>Minerais</b>	<b>Framboesas Vermelhas (100 g p.f.)</b>
Cálcio (mg)	25,0
Ferro (mg)	0,69
Magnésio (mg)	22,0
Fósforo (mg)	29,0
Potássio (mg)	151
Sódio (mg)	1,00
Zinco (mg)	0,42

### **2.3. Conteúdo fenólico**

Os frutos vermelhos têm cores atraentes, transmitidas pelos pigmentos das antocianinas que variam do vermelho ao roxo e do roxo ao preto, além dos sabores únicos e aromas característicos. Tem havido um grande interesse no estudo destes frutos devido à presença na sua constituição de compostos bioativos naturais (Mertz *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos são o maior grupo de fitoquímicos, que se encontram presentes nas framboesas. Eles intervêm nas mais diversas funções biológicas, incluindo no crescimento, no desenvolvimento e nos mecanismos de defesa (Beattie *et al.*, 2005).

Os compostos fenólicos têm propriedades antimicrobianas, protegem contra as radiações UV, formam complexos com metais pesados tóxicos e propriedades antioxidantes, entre outras atividades (Apak *et al.*, 2007).

São quatro as classes principais de polifenóis: os flavonoides, ácidos fenólicos, linhanos e taninos. A diversidade estrutural dentro dos fenóis depende dos tipos e níveis de oxidação do(s) seu(s) anel(is), dos seus padrões de hidroxilação, de glicosilação pelos vários açúcares, e/ou por acilação com ácidos orgânicos e da conjugação para formar polímeros (Rao *et al.*, 2010).

Os perfis fenólicos dos frutos vermelhos são bastante diversificados e, portanto, espera-se terem diferentes atividades biológicas. Os polifenóis da framboesa consistem principalmente em antocianinas e taninos hidrolisáveis. Mais especificamente, eles são uma fonte particularmente rica de cianidina glicosídica e são únicos, entre os frutos, pelo seu alto conteúdo de elagitaninos (González-Barrio *et al.*, 2010).

A ampla gama de valores descritos para as várias classes de compostos fenólicos nos frutos vermelhos reflete as diferenças na genética, práticas culturais, condições ambientais de crescimento e, possivelmente, de maturação. Além disso, os valores são afetados por diferenças nas condições de extração, análise, procedimentos e padrões utilizados para a quantificação (Mertz *et al.*, 2007).

O método comum para determinar a quantidade de fenóis totais nas framboesas é baseado no reagente Folin Ciocalteu (FC), com o valor total de compostos fenólicos expressos como equivalentes de ácido gálgico. Sendo que os níveis de fenóis totais em vários estudos vão de 192-512 mg/100 g peso fresco (p.f.) nas framboesas vermelhas (Howard *et al.*, 2007).

As antocianinas são os principais compostos fenólicos presentes nas framboesas pretas, com níveis que variam de 464-627 mg/100 g (p.f.). As framboesas pretas também contêm níveis apreciáveis de ácido elágico total. Por outro lado, as framboesas vermelhas contêm níveis muito mais baixos de antocianinas que as framboesas pretas, com valores que variam de 19-89 mg/100 g (p.f.) (Howard *et al.*, 2007).

Os taninos são polifenóis que podem reagir com proteínas e outras moléculas, proporcionando adstringência nos frutos e vegetais. Estes são tradicionalmente divididos em taninos hidrolisáveis e taninos condensados com base nas variações estruturais. Os taninos hidrolisáveis resultam da esterificação entre ácido gálgico, ácido penta-hidroxil-difenólico ou ácido elágico com hidratos de carbono, geralmente, glucose (Moyer *et al.*, 2002; Hager *et al.*, 2008a).

Os elagitaninos e taninos hidrolisáveis, parecem ser os principais compostos fenólicos nas framboesas vermelhas, com o teor de ácido elágico total variando de 38 a 270 mg/100 g (p.f.) em framboesas vermelhas. As sementes de framboesas vermelhas e pretas são uma fonte rica de elagitaninos, contendo 870 e 670 mg/100 g de ácido elágico total, respetivamente. As framboesas vermelhas contêm ainda níveis apreciáveis de procianidinas total de 30 mg/100 g (p.f.) (Howard *et al.*, 2007).

Os flavonóis são componentes fenólicos que se encontram em menor quantidade nas framboesas, independentemente da cor, com valores que variam de 1 a 19 mg/100 g (p.f.). Foram efetuados diferentes estudos que mediram a quantidade de classes de diferentes fenóis nas framboesas vermelhas com os dados expressos em peso seco (p.s.) como base e verificou-se que os elagitaninos (1717 mg/100 g, p.s.) e antocianinas (230 mg/100 g, p.s.) foram os compostos fenólicos predominantes, com níveis muito inferiores de flavonóis (23 mg/100 g, p.s.), tendo-se registando ainda a presença de ácidos hidroxicinâmicos (25 mg/100 g, p.s.), e ácidos hidroxibenzóico (24 mg/100 g,

p.s.) presentes nos frutos. Segundo Howard *et al.* (2007), os elagitaninos e as antocianinas foram os compostos fenólicos mais importantes nas framboesas vermelhas, representando 51% e 31%, respectivamente, de fenóis totais, determinados por espectrofotometria. Procianidinas e ácido elágico livre representaram 8% e 9%, respectivamente, de fenóis totais, enquanto flavonóis representaram menos de 1%. (Howard *et al.*, 2007).

## **2.4. Capacidade Antioxidante**

Os organismos vivos têm um sistema de redução-oxidação (redox) que permite manter a vida com um balanço saudável, sendo os radicais livres necessários para os diferentes estados de vida das células e dos organismos (Monica *et al.*, 2007).

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos leva ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos. Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células (Monica *et al.*, 2007).

Uma ampla definição de antioxidante é "qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada com a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz" (Vedana, 2008).

Os mecanismos de atuação dos antioxidantes podem ser diferenciados. Os seus efeitos consistem na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos para produtos incapazes de formar radicais livres e produtos de decomposição (Liu *et al.*, 2002; Fortalezas *et al.*, 2010).

No decurso da eficiência parcial do sistema antioxidante endógeno do organismo humano, torna-se necessário a contribuição de antioxidantes exógenos, obtidos através da dieta que se encontram presentes naturalmente em muitas frutas e legumes (Dai *et al.*, 2009; Fortalezas *et al.*, 2010).

O interesse no papel dos antioxidantes na saúde humana levou à investigação nos domínios da ciência da horticultura e nos alimentos para avaliar a atividade antioxidante de frutas e legumes. Ácido ascórbico, carotenoides, tocoferóis e compostos fenólicos são exemplos de compostos com atividade antioxidante. Tal propriedade pode ser mantida ou mesmo melhorada através do desenvolvimento de cultivares, práticas de produção, armazenamento pós-colheita e processamento de alimentos. As frutas são boas fontes de compostos fenólicos e ácido ascórbico, e uma vez que as frutas são muitas vezes consumidas frescas, a capacidade antioxidante não é perdida devido a eventuais efeitos nocivos do calor e oxidação durante o processamento (Kalt *et al.*, 1999).

Tem havido um interesse nas propriedades antioxidantes naturalmente encontradas em frutos para uso na saúde, a fim de substituí-los pelos antioxidantes sintéticos, os quais têm uso restrito devido aos seus efeitos colaterais, tais como cancro e doenças do coração, além disso, os antioxidantes naturais possuem a capacidade de melhorar a qualidade e a estabilidade dos alimentos, ao agirem como nutracêuticos e proporcionarem, ainda, benefícios adicionais à saúde dos consumidores (Wada *et al.*, 2002).

Os antioxidantes naturais encontram-se em todas as partes das plantas. Estes antioxidantes incluem ácido ascórbico, carotenoides, tocoferóis e compostos fenólicos que são capazes de restringir a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas pelos radicais livres. Tem sido demonstrado que a ingestão de compostos que tenham atividade antioxidante é muito importante, e vários métodos químicos, biológicos e eletroquímicos têm sido propostos para avaliar o poder antioxidante de compostos como os polifenóis (Wang *et al.*, 2000b; Howard *et al.*, 2007).

As framboesas estão entre as frutas que contém os mais altos níveis de antioxidantes. Além da vitamina C, a atividade antioxidante de framboesas é principalmente constituída por duas classes de compostos: antocianinas e elagitaninos. As antocianinas intervêm na proteção contra doenças de coração e alguns tipos de cancro. Além de propriedades de vaso-relaxamento, os elagitaninos têm sido descritos por terem efeitos antioxidantes gerais. As framboesas podem, portanto, ser consideradas

como uma fonte de frutas modelo para uma variedade de compostos potencialmente saudáveis (Beekwilder *et al.*, 2005).

Muitos métodos têm sido desenvolvidos e revistos para determinar a atividade antioxidante (Huang *et al.*, 2002) e relacionar os níveis de compostos fenólicos totais, as antocianinas e a capacidade antioxidante. Em vários estudos tem sido possível demonstrar que o conteúdo fenólico é o maior grupo de antioxidantes hidrofílicos presentes dos frutos (Howard *et al.*, 2007).

O método da capacidade de absorção do radical de oxigénio (ORAC) tem sido um dos métodos escolhido para determinar a capacidade antioxidante contra radicais livres induzidos por ABAP (2'-azobis (2'-metil- propionamidine) dihidroclorado), a uma temperatura de 37 °C. Utiliza-se como sonda sintética, a fluoresceína, cuja fluorescência decai na presença de radicais livres. Assim, a determinação do poder antioxidante pelo método ORAC, baseia-se na medida da redução da concentração de um substrato oxidável (fluoresceína) ao longo do tempo. A atividade antioxidante é expressa em micromoles de Trolox Equivalentes (TE) por volume ou massa de amostra (Wang *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2005). Os valores relatados para a capacidade antioxidante das framboesas vermelhas, medidos pelo método de ORAC, variam entre 37,4 - 57,9  $\mu\text{mol TE / g (p.f.)}$ , dependendo do método de extração (Howard *et al.*, 2007).

Outro método utilizado para medir a capacidade antioxidante é o método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Este método consiste em determinar a redução do catião radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , resultante da oxidação do ABTS por adição de uma amostra contendo antioxidantes. A quantidade de  $\text{ABTS}^+$  consumido é determinada pela reação deste com os fenóis existentes na amostra. O ABTS absorve na região dos 600-750 nm, podendo ser facilmente determinado por espectrofotometria. Na ausência de compostos fenólicos, o ABTS é estável, no entanto, reage facilmente com uma espécie dadora de eletrões, sendo então convertido na forma incolor de ABTS (Deighton, *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2005).

A quantidade de ABTS consumido é expressa em micromoles de Trolox equivalentes (unidade de concentração) por volume ou massa de amostra e designa-se TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Os valores relatados para a

capacidade antioxidante das framboesas vermelhas medido pelo método TEAC, variam entre 1260-1910  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente por 100 g (p.f.) (Huang *et al.*, 2005).

## **2.5. Oxidação e radicais livres**

Sabe-se que os seres humanos dependem da oxidação biológica como fonte de energia para a sobrevivência e atividade, contudo, a ação do oxigênio é ambígua. As espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como o radical anião superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e radical hidroxilo ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) podem causar danos funcionais ao ser humano, apesar de serem constantemente formadas no corpo humano (Wang *et al.*, 2000a; Liu, 2007).

As moléculas orgânicas, inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não emparelhados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres. Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com uma vida curtíssima e quimicamente muito reativas. A presença dos radicais é crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (Liu, 2007).

Os termos, radical livre, agente oxidante, espécie radicalar, espécie ativada e espécie reativa são frequentemente utilizados para designar, de forma genérica, todas as espécies reativas do oxigênio de importância biológica e que podem ser definidas como qualquer espécie química capaz de existir independentemente de outras espécies e que possui um ou mais elétrons não emparelhados (Wang *et al.*, 2000a; Liu, 2007).

As espécies reativas de oxigênio podem ser geradas por fontes endógenas ou exógenas. Com fontes endógenas, temos certos processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo, tais como: redução de flavinas e tióis; resultado da atividade de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons. Esta geração de radicais livres envolve vários organelos celulares, como mitocôndrias, lisossomas, peroxissomas, núcleo, retículo endoplasmático e membranas. As fontes

exógenas geradoras de radicais livres incluem tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiações (Chandrasekara *et al.*, 2011).

O envelhecimento das células, dos tecidos e do organismo como um todo, é uma ação dos radicais livres, que por possuírem alguns elétrons livres na última camada são muito instáveis e reativos. Para se estabilizarem podem ganhar elétrons (reação de redução) ou perder elétrons (reação de oxidação). Os seus efeitos sobre o organismo são, de uma maneira geral, nocivos e estão relacionados com cerca de 60 condições clínicas, entre elas a catarata, a aterosclerose, o cancro e doenças cardiovasculares, alterações no sistema nervoso, entre outras. O papel das reações dos radicais livres nas doenças humanas, biologia, toxicologia, e na deterioração de alimentos tornou-se uma área de intenso interesse (Vedana, 2008).

Em destaque, a reação de peroxidação dos lípidos é um ponto importante na indústria alimentar, onde a oxidação é minimizada nos alimentos que contêm lípidos através do uso de antioxidantes (Vedana, 2008).

As espécies reativas de oxigénio podem atuar em sistemas biológicos bem como nos alimentos, uma vez que os ácidos gordos polinsaturados, constituintes fundamentais das membranas celulares e de diversos tipos de alimentos, principalmente os industrializados, são altamente vulneráveis ao ataque dos radicais livres (Liu, 2007; Vedana, 2008).

Os radicais do oxigénio tais como alcoxilo ( $RO^{\bullet}$ ), peroxilo ( $ROO^{\bullet}$ ), oxigénio singlete ( $^1O_2$ ), entre outros, são formados nos processos biológicos e causam alterações nas células, agindo diretamente sobre alguns componentes celulares. Desencadeiam reações de oxidação nos ácidos gordos polinsaturados da membrana lipoproteica denominadas de lipoperoxidação, que afetam a integridade estrutural e funcional da membrana celular, alterando a sua fluidez e permeabilidade. Tais reações de oxidação estão associadas às doenças degenerativas, como cancro, doenças cardiovasculares, diminuição do sistema imunológico, disfunções cerebrais, cataratas, entre outras, devido aos danos oxidativos que estes provocam no ADN, proteínas e outras macromoléculas que se acumulam ao longo do tempo (Wang *et al.*, 2000a; Liu, 2007).

Os danos oxidativos nos tecidos biológicos são modulados por muitos fatores, incluindo a composição do substrato, concentração de oxigênio e pró-oxidantes. Os sistemas biológicos controlam estes fatores oxidativos por via de diversos mecanismos antioxidantes que restringem a reatividade dos radicais livres. Muitos componentes da dieta, essenciais ou não, podem contribuir para estes sistemas de defesa antioxidante (Chandrasekara *et al.*, 2011).

## **2.6. Extração**

Existem diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes em vegetais, conhecidos também como substâncias bioativas. Entre esses, podem ser citados os tradicionais métodos de extração utilizando solventes orgânicos (etanol, éter e metanol) e/ou água (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

Segundo Vedana (2008) sob o ponto de vista químico não há como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração dos compostos antioxidantes pois podem sofrer a influência de diversos fatores, como por exemplo, a natureza do material vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração.

A natureza química desses compostos nos alimentos varia do simples ao altamente polimerizado, há uma grande variedade de compostos bioativos nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos) e presentes em diferentes quantidades, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com os hidratos de carbono, proteínas e outros componentes dos alimentos. Alguns desses complexos, assim como alguns fenóis com alto peso molecular, são altamente insolúveis em água. Entretanto, os extratos sempre contêm mistura de substâncias fenólicas de diferentes classes que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido. Extrações adicionais podem ser necessárias para purificar o composto ou compostos pretendidos (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

O tempo também tem influência na extração dos compostos fenólicos. Realizaram-se estudos com resíduos de frutos vermelhos, onde os extratos foram preparados com etanol, metanol e água e tempos de extração de 1, 12 e 24 horas. Comparando-se os resultados, o conteúdo de polifenóis diminuiu no extrato aquoso com maior tempo de extração, enquanto nos extratos metanólicos e etanólicos houve acréscimo no conteúdo de fenóis com o aumento do tempo (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

A temperatura é outro fator que durante a extração pode afetar os compostos bioativos de diferentes maneiras. O conteúdo total de fenóis diminui com o aumento da temperatura, assim como o conteúdo de proantocianidina nas mesmas condições (Sablani *et al.*, 2009).

## **2.7. Pigmentos naturais nas framboesas**

### **2.7.1. Antocianinas e outros pigmentos nas framboesas**

A maior parte das cores presentes nos frutos silvestres, variam do vermelho ao azul devido à presença do maior grupo de pigmentos naturais denominados antocianinas (Kähkönen *et al.*, 2001).

As antocianidinas (forma não conjugada com açúcares) são raramente encontradas em plantas, ocorrendo mais vulgarmente sob a forma de heterósidos, o que estabiliza a molécula. Os heterósidos são solúveis em água e altamente instáveis a temperaturas relativamente elevadas (Monica *et al.*, 2007; Plessi *et al.*, 2007).

O termo antocianina significa “flor azul” (do grego *Anthocyanins*: *anthos* = flores; *kianos* = azul). Embora o termo tenha sido dado primeiramente por Marquart em 1935 para designar os pigmentos azuis em flores, desde então o termo antocianinas também é responsável pela pigmentação vermelha, púrpura, violeta da maioria das espécies do reino vegetal (Vedana, 2008; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

As antocianinas desempenham um papel importante na taxonomia vegetal e nos sistemas bioquímicos como marcadores químicos nas plantas e nos produtos vegetais.

Em certas espécies, as antocianinas estão associadas à resistência aos patógenos, à regulação da fotossíntese bem como à filtração das radiações ultravioletas nas folhas (Monica *et al.*, 2007).

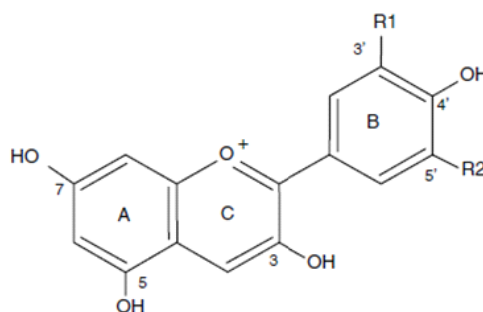
Os produtores dos alimentos estão cada vez mais interessados nas antocianinas como alternativas naturais para o uso de corantes sintéticos. O interesse nos pigmentos vegetais naturais, tais como antocianinas intensificou-se na última década devido à sua capacidade antioxidante e possíveis benefícios na saúde (Plessi *et al.*, 2007).

As concentrações de antocianinas determinadas para os frutos variam muito entre diferentes famílias e espécies. Mesmo dentro da mesma espécie, o teor de antocianina pode variar com a cultivar, o estágio de desenvolvimento e as condições de crescimento (Ancos *et al.*, 2000; Moyer *et al.*, 2002).

Quando uma nova cultivar de fruta é desenvolvida, a cor é uma das características mais desejáveis e que os criadores tentam monitorizar durante o processo de seleção. Por exemplo, os morangos com uma cor vermelha escura são os preferidos no mercado de fruta fresca. Da mesma forma as bagas com uma cor brilhante profunda parecem ser mais saborosas para os consumidores. Estes tipos de bagas têm concentrações de antocianinas muito altas. Em contraste, algumas bagas que contêm poucas antocianinas têm apenas uma coloração rosa devido as baixas concentrações desses pigmentos (Monica *et al.*, 2007).

Os dados relatados sobre as concentrações de antocianinas nos frutos também depende muito da metodologia utilizada para quantificar os pigmentos, bem como os métodos de extração. As concentrações de antocianinas de groselha preta quantificadas por diferentes investigadores variam entre 165-412 mg / g (p.f.). Essas diferenças podem ser atribuídas à variabilidade inerente ao material vegetal, devido a fatores como a localização e as condições de crescimento. No entanto, outras fontes de variabilidade dos dados disponíveis na literatura podem ser devido a diferenças na metodologia utilizada para quantificação. Como diferentes métodos de quantificação, podem considerar-se os métodos cromatográficos, incluindo o HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ou métodos mais simples como o método espectrofotométrico (Kähkönen *et al.*, 2001; Monica *et al.*, 2007).

As antocianinas pertencem à classe dos compostos flavonoides, comumente conhecidos como polifenóis, que compartilham a estrutura básica de um esqueleto de carbono C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Figura 3) (Monica *et al.*, 2007).



Antocianinas	Substitutos		$\lambda_{\max}$ (nm) espectro visível	Peso molecular
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>		
Pelagordinina	H	H	494 (laranja)	271
Ciadinina	OH	H	506 (laranja-vermelho)	287
Delfinidina	OH	OH	508(vermelho)	303
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H	506 (laranja-vermelho)	301
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH	508(vermelho)	317
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	510(azul-vermelho)	331

Figura 3 – Estrutura das antocianinas comumente encontradas nos frutos vermelhos (adaptado: Monica *et al.*, 2007).

As antocianidinas são muito instáveis e são raramente encontradas, nos tecidos das plantas, na sua forma livre. As antocianidinas ocorrem principalmente nas formas glicosiladas, e o número de unidades de açúcar aumenta a sua estabilidade e solubilidade. Os açúcares mais comuns encontrados nas frutas são a glicose, galactose, arabinose, xilose, sofrorose, rutinose e sambubiose, como mono- e diglicosilados (Figura 4), e a antocianina mais difundida na natureza é cianidina 3-glucosídeo. A posição 3-hidroxilo é o lugar mais comum para a glicosilação e as antocianinas monoglicosiladas terão o açúcar nessa posição. Se a antocianina é di-ou triglicosilada então os açúcares adicionais podem aparecer na posição 3 ou 5 da aglicona e são frequentemente menos encontrados em glicosilação na posição 7. Embora os padrões de glicosilação nas antocianinas tenham sido relatados, tais como glicosilação no anel  $\beta$  das antocianinas (Figura 4), estes glicosilados não foram encontrados nos frutos até hoje (Kähkönen *et al.*, 2001; Monica *et al.*, 2007; Castañedo-Ovando *et al.*, 2009).

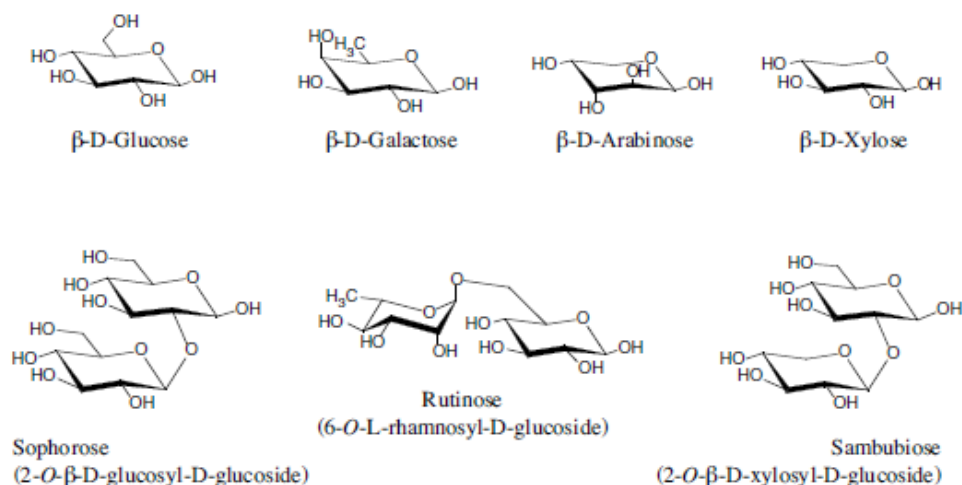


Figura 4 – Açúcares típicos encontrados nas antocianinas das framboesas (Fonte: Monica *et al.*, 2007).

Embora pouco comum nos frutos vermelhos algumas antocianinas podem ser aciladas com ácidos aromáticos, tais como os ácidos *p*-cumárico e cafeico ou ácidos alifáticos, tais como ácido malónico (Figura 5). Foram identificadas na natureza cerca de 600 antocianinas estruturalmente distintas (Monica *et al.*, 2007).

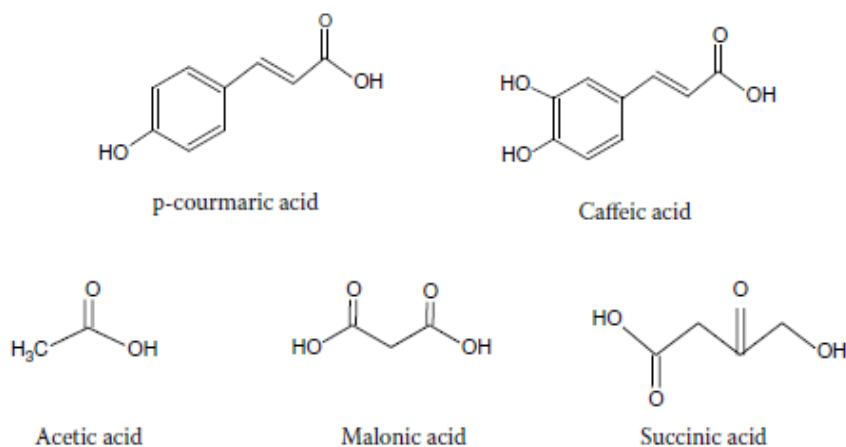


Figura 5 – Ácidos fenólicos e alifáticos que podem esterificar as antocianinas nos frutos vermelhos (Fonte: Monica *et al.*, 2007).

A composição das antocianinas nos frutos vermelhos é muito diferente entre as espécies, mas muito semelhante dentro da mesma espécie. Por esta razão, os perfis de antocianinas podem ser consideradas como impressões digitais de um determinado material vegetal (Monica *et al.*, 2007).

As novas técnicas de análise têm permitido a caracterização e quantificação de componentes em quantidades quase vestigiais, outrora não identificados. O acoplamento de HPLC em fase reversa e espectrometria de massa (MS) permite que as moléculas sejam caracterizadas por tempo de retenção, leitura da absorvância por espectrofotometria UV-Visível e pela informação espectral de massa para os componentes individuais e fragmentos, mesmo quando os compostos estão presentes em baixa concentrações (Amakura *et al.*, 2000; Ancos *et al.*, 2000).

Esta poderosa técnica ganhou popularidade nos últimos anos e pode explicar por que os dados da composição de antocianinas têm aumentado na última década. Os métodos de análise e as condições de cultura podem causar uma ligeira diferença de perfis das antocianinas da mesma espécie de frutos (Amakura *et al.*, 2000; Kähkönen *et al.*, 2001).

As antocianinas são responsáveis pela cor da maioria dos frutos. No entanto, dependendo da espécie dos frutos, outras classes de pigmentos também podem desempenhar um papel importante na cor dos frutos vermelhos. Os flavonoides, clorofila, carotenoides, e até mesmo betalaínas foram encontrados nos diversos frutos vermelhos como contribuintes para a aparência característica. Os flavonoides, clorofila, carotenoides, entre outros, também são conhecidos por coexistirem com as antocianinas (Monica *et al.*, 2007; Castañedo-Ovando *et al.*, 2009).

### ***2.7.2. Mudanças nos pigmentos das framboesas durante o processamento e armazenamento***

Muitas mudanças ocorrem durante a maturação e o tratamento de pós-colheita dos frutos, incluindo mudanças na concentração dos pigmentos e nas suas composições. Em geral, a concentração de vitaminas diminui, enquanto outros pigmentos tornam-se mais proeminentes. As concentrações de carotenoides e antocianinas aumentam ou tornam-se mais evidentes, resultando em cores dos frutos vermelhos que vão do amarelo ao vermelho, roxo, azul, e quase preto. Os tipos de pigmentos produzidos e as suas concentrações dependem em grande parte do material genético, mas também são afetadas por muitos outros fatores, incluindo a luz, a temperatura e os nutrientes do solo.

Os carotenoides são estáveis e permanecem nos tecidos até a senescência, enquanto que as antocianinas estão presentes no interior das células e são suscetíveis à degradação por diferentes enzimas (Moyer *et al.*, 2002; Castañedo-Ovando *et al.*, 2009).

A cor é um dos principais atributos utilizados pelos consumidores para avaliar a qualidade de um fruto. Além disso, os pigmentos dos frutos vermelhos podem fornecer benefícios à saúde, por isso é provável que o conteúdo dos pigmentos se vá tornar cada vez mais importante para os consumidores e produtores no futuro. Portanto, as condições de colheita e processamento devem ser otimizadas para garantirem a qualidade da cor. Isso só é alcançado se os pigmentos se desenvolverem em tecidos sob condições que minimizem a sua degradação (Wu *et al.*, 2010).

#### ***2.7.2.1 Mudanças no amadurecimento das frutas, durante a colheita e armazenamento de frutas frescas***

A maturação dos frutos durante a colheita tem um grande impacto na qualidade do fruto, na sua cor e na composição do pigmento final. Durante o amadurecimento, as antocianinas acumulam-se no fruto, e podem resistir durante 3 a 6 dias em condições climáticas quentes ou visivelmente em períodos mais longos em temperaturas frias. A síntese de antocianinas depende de muitos fatores ecológicos e fisiológicos, mas também do tipo de espécie e de cultivar. Em algumas cultivares de framboesa, a biossíntese das antocianinas ocorre uniformemente com o amadurecimento, no entanto, outras cultivares mostram picos de concentração máxima (Monica *et al.*, 2007). Deste modo, as mudanças de cor nos frutos podem ser atribuídas à síntese dos pigmentos e às mudanças de acidez do fruto. Os frutos que tenham sido colhidos antes do seu amadurecimento podem sintetizar pigmentos durante o seu armazenamento em condições favoráveis. A limpeza e o embalamento dos frutos vermelhos precisam ser feitos com um cuidado especial para evitar contusões que podem resultar numa perda da cor e do pigmento ao redor das áreas afetadas (Rao *et al.*, 2010).

### **2.7.2.2. Processamento e armazenamento**

O processamento e o armazenamento podem ter efeitos marcantes no conteúdo fenólico dos frutos que de certo modo irão afetar as propriedades benéficas para a saúde (Zafrilla *et al.*, 2001).

A temperatura e as condições de armazenamento afetam a degradação dos pigmentos. O tratamento com etileno pode aumentar a produção de antocianina e o desenvolvimento da cor, especialmente se os frutos forem expostos à luz. No entanto, um aumento da temperatura a 5 °C encurta a vida útil dos frutos quase para metade, tornando a temperatura de armazenamento um fator chave para a qualidade destes frutos (Monica *et al.*, 2007).

A temperatura de armazenamento é um de muitos fatores responsáveis pela perda de antocianinas (Yuksel *et al.*, 2008).

O armazenamento em atmosfera controlada protege a integridade do fruto, suprimindo o enraizamento e mantém o conteúdo de pigmentos relativamente inalterado durante o armazenamento. As framboesas vermelhas armazenadas em atmosfera normal e controlada mostraram uma variedade de cores, sendo que as framboesas armazenadas em atmosfera normal apresentaram cores mais escuras, com níveis crescentes de pigmentos após 7 dias. Em contraste, o armazenamento na mesma temperatura e tempo, mas sob atmosfera controlada (10% de oxigénio, 15% a 31% de dióxido de carbono), impediu alterações de cor durante o armazenamento (Wang *et al.*, 2007; Rao *et al.*, 2010).

As framboesas podem ser muito bem-sucedidas no mercado fresco porque as suas características organolépticas são geralmente preferidas pelos consumidores (Hager *et al.*, 2008b). Pode verificar-se pela tabela 5 alguns valores de características físicas e físico-químicas de algumas cultivares de framboesas vermelhas da Espanha. A sua vida útil é geralmente curta, no entanto, muito esforço tem sido investido para se conseguir prolongar a sua vida de prateleira. Além disso, não são só consumidas cruas, mas também numa variedade de formas como os produtos transformados (sumos, concentrados, doces e compotas). As técnicas utilizadas para o tratamento das

framboesas variam e os seus efeitos de processamento e armazenamento na qualidade de pigmentos das framboesas têm sido extensivamente estudadas. Os fatores que favorecem a estabilidade das antocianinas são valores baixos de pH e de temperatura (Ancos *et al.*, 2000; Monica *et al.*, 2007).

Tabela 5 – Características físicas e físico-químicas de algumas cultivares de framboesas vermelhas da Espanha (Fonte: Ancos *et al.*, 2000).

Características	Cultivares de framboesas			
	Autumn Bliss	Heritage	Zeva	Rubi
Peso do fruto (g)	3.08 ± 0.59 <sup>a</sup>	2.08±0.29b	3.02±1.14a	2.53±0.65 <sup>a</sup>
Cor				
L	25.89 ± 2.04 <sup>a</sup>	25.80±1.52 <sup>a</sup>	18.29±0.42b	21.26±0.58ab
a*	35.03 ± 0.70 <sup>a</sup>	34.98±0.58 <sup>a</sup>	33.03±0.50b	35.10±0.40a
b*	19.05 ± 1.87 <sup>a</sup>	18.34±2.42 <sup>a</sup>	17.78±1.40a	18.63±2.73 <sup>a</sup>
pH	3.65±0.1 <sup>a</sup>	3.87±0.02b	2.88±0.02c	2.65±0.01d
Acidez titulável (g de ácido cítrico/100 g de p.f.)	1.67±0.01 <sup>a</sup>	1.76±0.01 <sup>a</sup>	1.75±0.05a	2.32±0.12b
Sólidos solúveis (°Brix a 20°)	9.26±0.14 <sup>a</sup>	9.50±0.06b	10.54±0.05c	10.00±0.09b
Conteúdo de humidade (g/100 g de p.f.)	84.77±0.11 <sup>a</sup>	85.31±0.63 <sup>a</sup>	83.67±1.53b	82.02±3.01c
Sólidos totais (g/100 g de p.f.)	15.23±0.02 <sup>a</sup>	14.69±0.11 <sup>a</sup>	16.33±0.30b	17.98±0.66c

<sup>a</sup> os valores são a média de três determinações independentes ± desvio padrão. As diferentes letras na mesma linha indicam diferentes significados ( $p \leq 0,05$ ).

### 2.7.2.3 Processamento térmico

A cor, o sabor e a textura dos frutos são todos afetados pelo processamento térmico. O calor é uma das variáveis mais destrutiva do processamento dos frutos e as condições de processamento devem ser projetadas para minimizar as perdas de qualidade, garantindo assim, a sua segurança (Ancos *et al.*, 2000).

Os pigmentos em geral podem ser negativamente afetados pelo calor. Os carotenoides são convertidos em epóxidos e as antocianinas podem ser degradadas desde uma série incolor e laranja aos derivados de castanho. No entanto, o calor também pode ajudar a inativar as enzimas oxidantes que poderiam destruir os pigmentos presentes na fruta. O controlo, portanto, cuidadoso das condições de temperatura pode realmente beneficiar a cor do produto final (Monica *et al.*, 2007).

A estrutura química das antocianinas tem um efeito na sua resistência à sua degradação. Em geral, os pigmentos acilados são mais estáveis do que os seus homólogos. Também, as antocianinas com substituições mais glicosídicas, foram encontradas por possuir uma maior estabilidade. Além disso, a maior concentração de pigmentos e copigmentação com outros fenóis presentes na matriz podem contribuir para uma maior estabilidade das antocianinas (Howard *et al.*, 2010).

#### **2.7.2.4. Preservação e armazenamento dos doces**

As condições de processamento para a produção de compota/doce de frutos vermelhos podem ter consequências drásticas nas antocianinas e levar a uma perda relativamente elevada do rendimento percentual (20% a 50%) dos pigmentos das antocianinas (Plessi *et al.*, 2007).

O método de preparação dos doces e o congelamento da fruta por longos períodos antes do processamento dos frutos são fatores que afetam a concentração de antocianinas finais no doce (Ancos *et al.*, 2000).

O uso de aditivos para prolongar a vida de prateleira dos doces pode ter um impacto sobre a estabilidade das antocianinas. O ácido ascórbico pode acelerar a degradação de antocianinas, e o pH do produto poderá ter um impacto sobre a cor e características de estabilidade (Howard *et al.*, 2010).

As temperaturas de armazenamento dos doces também podem ter um impacto sobre a estabilidade da cor e dos pigmentos. Os doces de frutos vermelhos armazenados a 37°C apresentam uma degradação de pigmentos 98% após 3 meses de armazenamento. O mesmo produto armazenado a 20°C mostrou degradações semelhantes após seis meses. No entanto, a degradação da cor não é tão drástica como a degradação dos pigmentos, sugerindo que os pigmentos polimerizados e a copigmentação são importantes para a cor do produto durante o armazenamento (Monica *et al.*, 2007).

## **2.8. Os princípios do processamento dos doces**

### **2.8.1. Os ingredientes essenciais no doce**

Os doces são produtos baseados na formação de textura. Eles são caracterizados pela formação de uma estrutura viscosa especial, e as suas propriedades são desenvolvidas pela interação do açúcar, substâncias peptídicas e acidez (pH). Nos doces, a viscosidade é o resultado de uma interação entre o açúcar e pectina na presença de um alto teor de fibras. Todos os materiais da parede celular estão presentes no produto e os efeitos da celulose e hemicelulose das moléculas não permitem a formação de um gel contínuo. A formação de gel e a sua estabilidade são controladas pelo pH, deste modo, a acidez é um fator determinante das propriedades reológicas do doce. Quase todos os frutos vermelhos têm uma acidez adequada, mas às vezes é necessário adicionar outros ácidos orgânicos, a fim de melhorar a qualidade do produto, especialmente com fruta muito madura (Figuerola, 2007).

A qualidade dos doces depende do equilíbrio entre os três ingredientes essenciais: açúcares, pectina e ácidos. Quando o açúcar é reduzido ou eliminado, a pectina ou outras substâncias gelificantes devem ser incluídas para compensar a falta de açúcar (Figuerola, 2007).

### **2.8.2. Concentração do açúcar e o controle da atividade da água**

A atividade da água depende fortemente da concentração do soluto adicionado a uma solução. O teor de açúcar da fruta depende da espécie de fruta e do seu estado de maturação (Figuerola, 2007).

Os tipos e concentrações de açúcar são responsáveis por alguns dos sabores nos doces, a adição de açúcar, normalmente sacarose, não tem o mesmo efeito sobre esse fator de qualidade importante (Figuerola, 2007).

A sacarose protege as antocianinas da degradação durante o armazenamento sobre refrigeração e também previne o escurecimento e a formação de pigmentos poliméricos, bem como a probabilidade de inibição das reações enzimáticas ou o impedimento de diferentes reações de condensação pela sacarose. Também a redução da

atividade da água pelos açúcares pode proteger as antocianinas contra a sua degradação (Nikkhah *et al.*, 2007).

A atividade da água nos doces está na faixa dos chamados produtos intermediários, 0,80-0,85. Estes produtos não são auto-preservedos porque os valores de atividade da água não são baixos o suficiente para que se consiga controlar o crescimento microbiano ou as reações químicas. Os principais problemas microbiológicos não são as bactérias mas sim os bolores e as leveduras. Nestes casos, os conservantes químicos, tais como sorbato e sais de benzoato podem ser usados. Caso estes conservantes não sejam usados, a atividade de água pode ser complementada pelo uso de recipientes hermeticamente fechados (de vidro à prova de gás ou recipientes de plástico) e recomendações de refrigeração uma vez que os recipientes são abertos.

A maioria dos doces tem uma vida útil de 18 a 36 meses, quando são preparados com açúcar. O açúcar é um bom depressor da atividade da água. Existem também outros componentes de ligação à água que têm uma contribuição na diminuição da atividade da mesma nos produtos processados (Figuerola, 2007).

### ***2.8.3. A concentração de açúcar e o crescimento microbiano***

O açúcar é um importante dispersor da atividade da água nos doces. Normalmente, o teor de açúcar total de doces é mais do que 50%, deste modo o efeito do teor de açúcar na redução da atividade da água é muito significativo. Este efeito é responsável pelo comportamento de humidade intermediária desses produtos. Um dos efeitos dessa força osmótica causada pela diminuição da água livre é o controlo dos processos biológicos, como a multiplicação das bactérias e formação de esporos de fungos. Se a polpa do fruto é aquecida, após o processo o teor de açúcar aumenta, o efeito da temperatura irá agir sinergicamente sobre os microrganismos, impedindo a sua multiplicação, a formação de esporos e formação de toxinas. O ponto final do doce produzido à pressão normal e uma temperatura que pode atingir 104 °C com um °Brix final de 65°. As altas concentrações de açúcar adicionadas à polpa do fruto também podem produzir alguma desidratação osmótica nos microrganismos, que pode afetar as suas funções biológicas (Figuerola, 2007).

A tolerância osmótica dos microrganismos depende em grande parte das condições do meio, do pH, da temperatura à qual o produto é preparado, do conteúdo ácido, de algumas inibições naturais e da atividade da água, que são os fatores mais importantes que afetam o comportamento das bactérias, bolores e leveduras. Os frutos vermelhos possuem normalmente elevada acidez. Quando os doces são preparados com uma atividade de água baixa, os microrganismos não encontram as condições adequadas para sobreviver.

Portanto, se os doces forem produzidos a partir de frutos sãos, a probabilidade dos microrganismos se desenvolverem no produto é muito improvável. O doce com um valor de sólidos solúveis de 65%, ou mais, guardado num recipiente com o seu conteúdo esterilizado ou guardado a quente encontra-se seguro até que seja aberto. Depois do recipiente ser aberto, deve-se manter o produto num ambiente refrigerado ou deve-se usar conservantes, tais como sorbato ou sais benzóicos (Figuerola, 2007).

#### ***2.8.4. Maceração do açúcar como pré-tratamento***

A preparação de doces de fruta inclui a mistura de frutas com uma quantidade de açúcar, por exemplo, um terço ou metade. O açúcar em contacto com as frutas inteiras ou cortadas produz uma espécie de desidratação osmótica, o que provoca a remoção de parte da água da fruta. A expansão nos tecidos das frutas e os movimentos dos solutos para a solução de açúcar externo permite o contacto entre açúcar e as invertase das frutas. Essa ação da invertase da sacarose ocorre a uma temperatura ambiente, produzindo uma quebra dos açúcares em glucose e frutose. Esta mudança química na mistura produz vários benefícios importantes em termos de qualidade do doce, incluindo brilho, realce de sabor das frutas, e evita a cristalização no caso de a concentração de açúcar ser mais elevado do que o normal. Nos doces, a maceração suaviza os pedaços de frutas e ajuda a homogeneizar a mistura. Esta solubilização de açúcar permite uma melhor distribuição do produto durante o aquecimento e concentração (Figuerola, 2007).

### **2.8.5. Pectina**

A pectina é uma molécula muito complexa formada pela polimerização do ácido D-galacturônico. O grau de metoxilação indica a capacidade que a pectina tem para formar um gel. O teor da pectina é dependente da qualidade das suas espécies, isto significa que as frutas têm diferentes quantidades e qualidades de pectina (Kopjar *et al.*, 2009).

A formação do gel produzido depende da relação entre a pectina, a água na fruta e o açúcar, sob um pH controlado. As pectinas de alta metoxilação, com um grau de esterificação superior a 55%, produzem gelificação pela ligação não covalente entre cadeias de polímeros (Figuerola, 2007).

As pectinas de alta metoxilação, com um grau de esterificação de 70%, não são suficientes para produzir gelificação, apesar das ligações de hidrogénio duplicarem a contribuição hidrofóbica. A participação do açúcar é essencial para ajudar na interação hidrofóbica entre os grupos de éster metílicos na pectina. As pectinas de alta metoxilação produzem gel em pH ácido (menor que 3,5) na presença de açúcar (Figuerola, 2007; Kopjar *et al.*, 2009).

As pectinas de baixa metoxilação, por outro lado, produzem gel com um valor de pH mais elevado na presença de alguns cátions bivalentes, dos quais o mais relevante é  $\text{Ca}^{2+}$  (Kopjar *et al.*, 2009).

Os géis são produzidos quando as cadeias poliméricas interagem para formar uma rede contínua de polímeros tridimensional tendo a água como solvente, o que significa que as pectinas de elevada metoxilação formarão uma estrutura de gel em condições ácidas, apenas quando o teor de açúcar é superior a 55% e as pectinas de baixa metoxilação (grau de esterificação 50% ou menos) irão formar gel com menor quantidade de açúcar (50% ou menos) podendo deste modo ser usado para formular doces com baixo teor de açúcar (Figuerola, 2007; Kopjar *et al.*, 2009).

Outra característica que é usada para classificar as pectinas é o tempo de configuração, que é muito importante para controlar as condições do processo. Os

tempos de configuração são diferentes entre pectinas em condições normais. O tempo de fixação é relacionado com o grau de esterificação da pectina. Dependendo da natureza do produto, pode ser necessário o uso de tempos de fixação diferentes. (Figuerola, 2007; Kopjar *et al.*, 2009).

### **2.8.6. Ácidos**

O terceiro componente essencial no doce é o ácido. Normalmente os frutos utilizados para fazer o doce possuem baixo valor de pH, com valores aproximados de pH de 4, e outros com pH menor que 3,5. A estabilização do ácido relaciona-se entre a pectina e o açúcar. A elevada acidez é representada por um pH de 3,2 a 3,4, o que irá permitir um aumento do número de grupos de carboxilos nas moléculas de pectina, reduzindo a repulsão eletrostática entre as cadeias de pectina (Nikkhah *et al.*, 2007; Kopjar *et al.*, 2009).

Os frutos vermelhos, incluindo as framboesas vermelhas, têm um baixo valor de pH pelo facto de conterem alguns dos ácidos orgânicos comuns, como o ácido ascórbico, cítrico, tartárico e ácido málico. Todos estes ácidos podem ser usados para aumentar a acidez dos doces. Os ácidos também ajudam a cisão de oligo-holósidos no início do processamento. Por exemplo, a sacarose é convertida em glucose e frutose, o que pode aumentar a qualidade dos produtos pelo aumento do brilho, cristalização reduzida e redução do sabor do açúcar nos produtos (Kopjar *et al.*, 2009).

Os doces não são considerados alimentos básicos, mas são um bom complemento para a dieta se estes forem ingeridos em quantidades corretas. Os doces contêm fibras alimentares solúveis, assim como vitamina C e sais minerais, e são alimentos de alta energia. Estes contêm também diversos compostos de alto valor biológico, tais como antocianinas e outros compostos fenólicos. A maioria destes compostos é preservada durante o processamento dos doces (Wu *et al.*, 2010).

## **Capítulo 3 – Materiais e Métodos**

### **3.1. Framboesas**

Foram adquiridas duas cultivares de framboesa vermelha ‘Driscoll Sevillana’ e ‘Driscoll Maravilla’ diretamente ao produtor *Madre Fruta* do Grupo Hubel (Pechão, Olhão) na região do Algarve, no final de novembro de 2010.

A fruta fresca adquirida foi armazenada em cusetes (13,5 x 21,5 cm) de poliestireno expandido, cobertas com uma película de polietileno linear de baixa densidade com 10 µm de espessura. Cada cusetete levou uma média de 20 framboesas. Estas cusetetes foram armazenadas em câmaras de refrigeração a diferentes temperaturas (0°, 3°, 6 °C) durante 7, 14 e 21 dias, para simular o tempo de prateleira nos postos de venda e frigoríficos dos consumidores (Figura 6). No final de cada um destes tempos, as embalagens foram retiradas das câmaras de refrigeração e foram determinados os atributos de qualidade dos frutos, tais como, a cor, a firmeza, o °Brix e a perda de peso. Também se procedeu à secagem de uma pequena quantidade da fruta previamente pesada, numa estufa, para posterior análise de alguns minerais.

Após a determinação destas propriedades foram retirados frutos das duas cultivares para serem sujeitos a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) por apreciação de um painel de provadores no qual foram avaliados alguns parâmetros do fruto tais como: a aparência do fruto e da polpa, textura, aroma e acidez (Anexo 1).

Foi separada uma quantidade de framboesas que foram congeladas em azoto líquido e de seguida armazenadas a -80 °C, para posterior avaliação de antocianinas, fenóis, taninos, TEAC, ORAC e oxigénio singlete. Ainda se analisou a quantidade de açúcares, ácido ascórbico e carotenoides.

Na preparação das amostras para o tempo zero, utilizaram-se frutos frescos, nos quais foram determinadas as características físico-químicas dos mesmos e procedeu-se à separação dos frutos para congelamento em azoto líquido e posterior armazenamento a -80 °C para a avaliação das propriedades químicas.

Foram feitas três repetições de cada tratamento para as duas cultivares incluindo o tempo zero.

Na preparação das amostras para o doce, as framboesas foram lavadas com água potável, de seguida o excesso de água foi removido com auxílio de papel absorvente e foram colocadas em sacos de congelamento e armazenadas numa câmara frigorífica a uma temperatura de 0-2 °C até a preparação do doce.

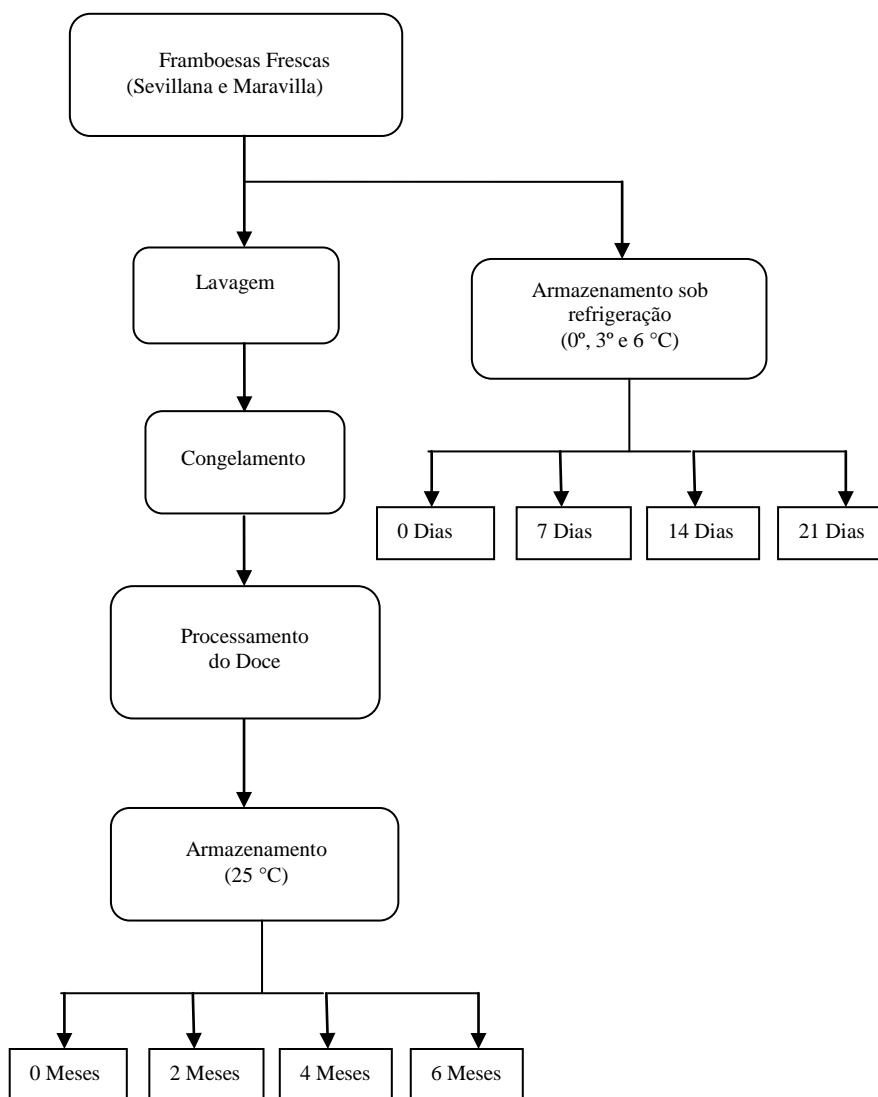


Figura 6 – Diagrama experimental da tese.

### **3.2. *Processamento térmico (Elaboração do doce de framboesa)***

Utilizaram-se dois métodos de preparação de doce de framboesa vermelha, quer para a cultivar Sevillana, quer para a cultivar Maravilla: o método tradicional e o método com adição de ácido cítrico e pectina.

Para a elaboração do doce de framboesa vermelha pelo método tradicional adicionou-se a 1 kg de framboesas congeladas, 1 kg de açúcar e 200 ml de água e deixou-se a aquecer cerca de 30 minutos até adquirir a estrutura desejada.

O doce de framboesas pelo método com adição de ácido cítrico e pectina foi feita em condições específicas, a 1 kg de framboesas congeladas adicionaram-se 15 g de Pectigel (Diese), 1 g de ácido cítrico (Pronolab), 1 kg de açúcar e 200 ml de água. As framboesas e o açúcar foram misturados com o ácido, a pectina e 200 ml de água e processados durante 30 minutos.

Para verificar se os doces estavam prontos foi-se retirando um pouco de doce durante o processamento para um prato e deixou-se arrefecer. Depois de arrefecer analisou-se a textura adquirida e quando atingida a textura desejada o doce considerou-se pronto.

Posteriormente encheram-se frascos de 250 ml com doce e de seguida, os frascos foram resfriados a temperatura ambiente e mantidos no escuro durante 2, 4 e 6 meses para simular o tempo de prateleira das despensas dos consumidores (Figura 6).

Nas amostras do doce foi primeiramente avaliada a presença de microrganismos patogénicos ao longo do tempo de armazenamento. Depois no final de cada um dos tempos foram determinados os atributos de qualidade das amostras do doce, tais como: a cor, firmeza e o °Brix. Foi separada uma quantidade de doce das framboesas, que foi congelada, para posterior avaliação dos fenóis, TEAC, ORAC e oxigénio singlete e ainda para a determinação dos açúcares.

Foi realizada também uma avaliação sensorial nos doces de framboesas que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses), por apreciação de um painel de provadores em que os parâmetros analisados foram a aparência do doce, aroma, textura, doçura, acidez e sabor (Anexo 2).

### ***3.3. Determinação dos atributos físico-químicos das framboesas e dos doces de framboesa***

Os atributos de qualidade incluem aspeto ou aparência, textura, sabor e valor nutritivo. A aparência encerra tamanho, forma, cor, ausência de defeitos e de apodrecimentos. Na textura considera-se a firmeza, turgescência e suculência. Os componentes do sabor e aroma dizem respeito a atributos como o sabor doce, amargo, ácido e adstringência.

#### ***3.3.1. Cor***

A cor das amostras de framboesa frescas e processadas foi medida em triplicado em regiões aleatórias do fruto, bem como nas amostras do doce, com um Colorímetro Minolta Meter CR-300 SERIES (CE MINOLTA, Japan). Este aparelho é utilizado para analisar a coloração das amostras, classificando numericamente quanto ao brilho, cor e saturação. O equipamento foi calibrado com uma placa de cerâmica branca ( $Y=93,0$ ;  $X=0,3133$ ;  $Z=93,85$ ) de acordo com os padrões pré-estabelecidos na escala de classificação CIELab  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$  (Figura 7). Os valores da cor foram lidos diretamente do aparelho, onde  $a^*$  varia na região entre o verde ( $-a^*$ ) ao vermelho ( $+a^*$ ), o valor de  $b^*$  do azul ( $-b^*$ ) ao amarelo ( $+b^*$ ) e o valor de  $L^*$  que representa o grau de luminosidade, que varia do preto ( $L^*=0$ ) ao branco ( $L^*=100$ ) (Jordheim, 2007).

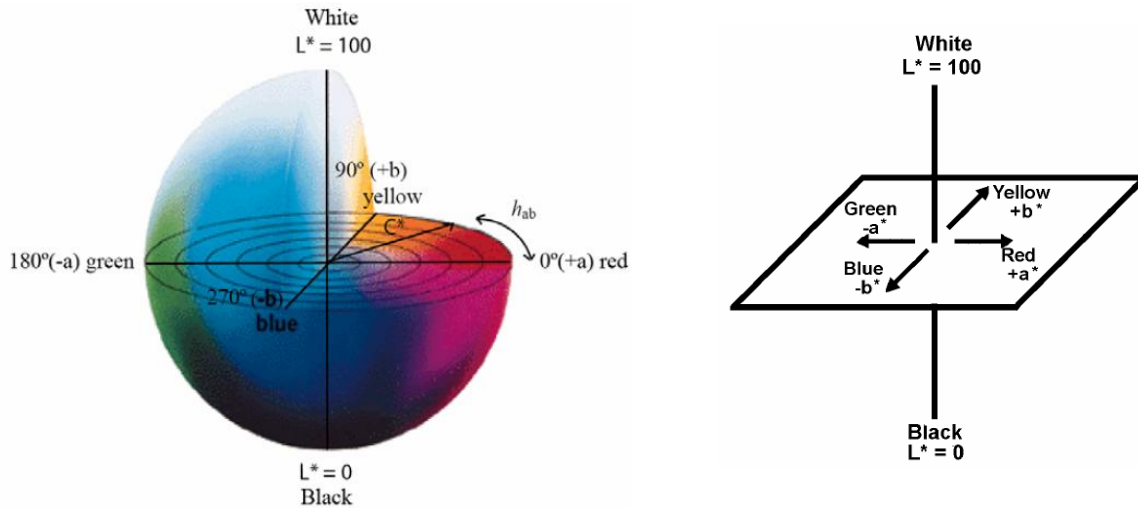


Figura 7 – Plano tridimensional Policromático: Sistema de cores CIELab  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$ , mostrando  $h_{ab}^{\circ}$  (ângulo hue),  $C^*$  (cromaticidade) e  $L^*$  (luminosidade) (adaptado de Jordheim, 2007).

Uma cor em qualquer um dos planos  $a^* b^*$  também pode ser descrita em termos de cromaticidade (ou saturação da cor ou pureza cromática),  $c^*$ , que é a distância da sua coordenada  $(a,b)$  à origem acromática  $(0,0)$ , e do seu ângulo de tonalidade,  $h^{\circ}$ , o qual é medido em graus numa escala de  $0^{\circ}$ - $360^{\circ}$  seguindo no sentido anti-horário a partir do eixo positivo de  $a^*$ , no vermelho  $0^{\circ}$ , passando pelo eixo positivo de  $b^*$ , no amarelo  $90^{\circ}$ , contornando e passando pelo verde  $180^{\circ}$ , pelo azul  $270^{\circ}$  e retornando ao vermelho  $0^{\circ}$ - $360^{\circ}$ , (Machado *et al.*, 1997) como mostra a figura 8.

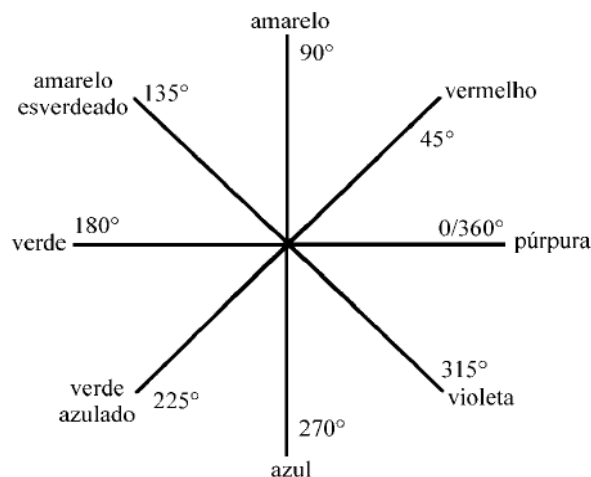


Figura 8 – Plano de tonalidades em função de  $h_{ab}^{\circ}$  (adaptado de Machado *et al.*, 1997).

Desta forma, os valores de  $h^*$  e  $c^*$  foram determinados pelas seguintes equações:  $h_{ab}^* = \arctang(b^*/a^*)$  e  $c^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ .

### **3.3.2. Textura**

A textura das amostras foi avaliada com um Penetrómetro Chatillon Force TCD200 (Jonh Chatillon & Sons, inc. U.S.A.), com êmbolo cilíndrico de 1 cm de diâmetro e uma profundidade de 7 mm para o fruto e para o doce 2,5 cm de diâmetro e uma profundidade de 7 mm.

Este método baseia-se na força necessária para perfurar as amostras. Nas framboesas e no doce a textura foi determina uma vez. Sendo os resultados expressos em Newton (N).

### **3.3.3. °Brix**

A determinação do °Brix (Teor de sólidos solúveis) obteve-se diretamente com auxílio de um refratómetro digital PAL-1 ATAGO. Realizou-se a medição das diferentes amostras, colocando uma gota de amostra (sumo da framboesa que foi previamente esmagada e filtrada com um pano) na superfície do prisma do refratómetro e procedeu-se à leitura direta do °Brix. Efetuaram-se as medições para as três repetições dos diferentes tratamentos das duas cultivares. O refratómetro foi calibrado com água destilada antes de se iniciar as medições e quando se mudava de amostras das diferentes cultivares.

Para a determinação do °Brix do doce procedeu-se do mesmo modo para os dois tratamentos de cada uma das duas cultivares. No entanto, devido ao elevado valor de °Brix do doce, houve a necessidade de diluir a amostra (1:1) com água destilada.

### **3.3.4. Perda de Peso**

Pesou-se inicialmente, no tempo zero, as cuvetes com 20 framboesas (Peso inicial) e voltou-se a pesar sempre as mesmas amostras nos restantes tempos (Peso

final). De seguida calculou-se a percentagem de perda de peso em relação às amostras iniciais pela seguinte expressão:

$$\% \text{ Perda de peso} = ((\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) / \text{Peso inicial}) * 100$$

Sendo os resultados da perda de peso expressos em percentagem (%).

### **3.4. Avaliação das propriedades químicas das framboesas e dos doces de framboesa**

#### **3.4.1. Fenóis totais**

O conteúdo fenólico total dos extratos das amostras de framboesa fresca e processada foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu (Pantelidis *et al.*, 2007).

As amostras frescas (5 g) foram maceradas com auxílio de um almofariz e um pilão de porcelana, por duas vezes com frações de 20 ml de solução de extração metanol:água (1:1). O extrato foi centrifugado (5000 rpm) durante 5 minutos numa Centrífuga (Universal 320, Hettich Zentrifuger). O sobrenadante foi recolhido e guardado no frio (-18°C), para as análises posteriores.

Para a determinação dos fenóis totais foi necessário preparar uma solução de Folin-Ciocalteu (Merck) numa proporção de 1:10 (1ml do reagente Folin-Ciocalteu em 10 ml de etanol a 75%), uma solução aquosa de carbonato de sódio (Pronolab) (75 g/100 ml) e diluir as amostras numa diluição apropriada.

Adicionou-se 0,8 ml da solução de carbonato de sódio, 0,2 ml da amostra diluída e 1 ml da solução de Folin (1:10). Homogeneizou-se a mistura num vórtex e deixou-se repousar durante 30 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Ao fim de 30 minutos centrifugou-se a mistura (5000 rpm) durante 5 minutos e fez-se a leitura da absorvância por espectrofotometria UV-Visível num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a um comprimento de onda de 765 nm.

O conteúdo fenólico total foi estimado a partir de uma curva padrão de ácido gálico e os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalente por 100 gramas de amostra fresca [mg GAE / 100 g (p.f.)].

Para a curva padrão, utilizaram-se várias concentrações de ácido gálico (0,0325; 0,075, 0,125; 0,25 e 0,5 mg/ml) e procedeu-se de igual modo como descrito para as amostras. A curva padrão está representada na figura 9.

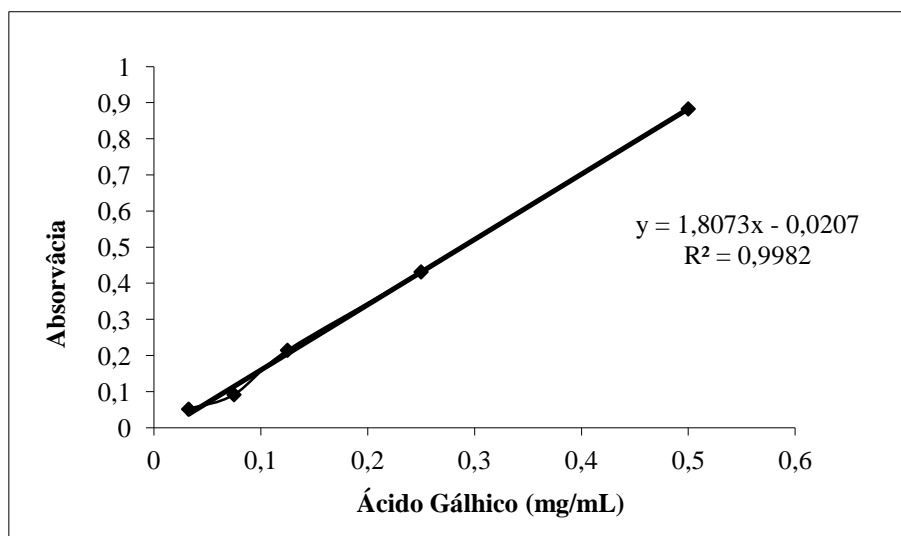


Figura 9 - Curva padrão e a respetiva equação da reta, utilizada para estimar o conteúdo fenólico dos frutos frescos e das amostras de doce.

### **3.4.2. Antocianinas totais**

O teor de antocianinas monoméricas total foi quantificado pelo método de pH diferencial, de acordo com Lee *et al.* (2005).

Adicionou-se num tubo 5 gramas da amostra dos frutos e 30 ml da solução de extração (300 ml de água destilada, 1700 ml de etanol 96% e 2,5 ml de ácido clorídrico) e deixou-se a repousar (macerar) durante 12 h a uma temperatura de 2-5 °C. Repetiu-se o procedimento até à perda de cor das amostras.

Após a maceração das amostras, estas foram sonicadas (Sonicador Sonic & Materiais - Lab Nerma) durante 3 minutos (1 minuto de cada vez) e depois foram centrifugadas a uma velocidade de 5000 rpm, durante 5 minutos numa Centrífuga

(Universal 320, Hettich Zentrifuger). No final recolheu-se um volume total de 30 ml de sobrenadante. Este extrato foi utilizado para determinar o conteúdo de antocianinas.

Os pigmentos monoméricos das antocianinas mudam de cor reversivelmente com uma mudança no pH, a forma colorida de oxónio existe em pH 1,0, e a forma incolor de hemiacetal predomina em pH 4,5. A diferença na absorção de pigmentos a 520 nm é proporcional à concentração do pigmento. Os resultados são expressos numa base cianidina-3-glucosido. As antocianinas degradadas na forma polimérica são resistentes à mudança de cor com alteração do pH. Por conseguinte, os pigmentos de antocianinas polimerizadas não são medidas através deste método porque absorvem tanto a pH 4,5 quanto a pH 1,0.

Assim, foram elaboradas duas soluções tampão, uma solução de tampão pH 1,0 (cloreto de potássio, 0,025 M), ajustando-se o pH a 1,0 ( $\pm 0,05$ ) com a adição de ácido clorídrico (HCl, Riedel-de Haën) e a outra solução tampão pH 4,5 (acetato de sódio, 0,4 M), o pH foi acertado com HCl.

Os extratos das amostras foram diluídos nestas soluções tampão. A quantidade de extrato máximo adicionado deve ser 1 parte da amostra a analisar para 4 partes de tampão de modo a não exceder a capacidade de reação dos tampões.

Foram feitas leituras das amostras diluídas a 520 nm e 700 nm, tanto no tampão de pH 1,0 como no pH 4,5 e o conteúdo de pigmentos de antocianinas foi calculado usando o peso molecular e a absorvidade molar da cianidina-3-glucósido.

$$A = (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 1,0 - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 4,5$$

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/100g)} = A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100 / (\epsilon \times 1)$$

onde:

A = Absorvância;

PM = Peso molecular de cianidina-3-glucósido: 449,2 g/mol;

FD = fator de diluição

$\epsilon$  = Absorvidade molar de cianidina-3-glucósido: 26900

A concentração total das antocianinas monoméricas foi expressa em cianidina-3-glicósido equivalente em mg/100g de p.f..

### **3.4.3. Taninos**

Os taninos foram quantificados usando o método *Folin-Ciocalteu*, adaptado de Rey *et al.* (2000). A sua extração foi a mesma realizada nos fenóis. No entanto para a determinação dos taninos, as amostras dos frutos tiveram que sofrer uma precipitação de proteínas com uma solução de gelatina.

Depois de determinados os fenóis totais como descrito anteriormente numa fração de sobrenadante, procedeu-se na outra fração com o mesmo volume a uma precipitação de proteínas com uma solução de gelatina.

Para a determinação dos taninos foi necessário preparar uma solução de gelatina (1% de gelatina alimentar em pó dissolvida em 10% de uma solução de cloreto de sódio). Diluiu-se as amostras numa diluição apropriada. De seguida procedeu-se a preparação da amostra em que se adicionou a 10 ml da amostra diluída 100 µl da solução de gelatina e levou-se ao vórtex para homogeneizar.

Num tubo adicionou-se 0,8 ml da solução de carbonato de sódio, 0,2 ml da amostra precipitada e 1 ml da solução de Folin (1:10). Homogeneizou-se a mistura num vórtex e deixou-se repousar durante 30 minutos à temperatura ambiente. Ao fim de 30 minutos centrifugou-se a mistura a uma velocidade de 5000 rpm durante 5 minutos e fez-se a leitura da absorvância por espectrofotometria UV-Visível num espectrofotómetro Ultrospect 1100 pro a um comprimento de onda de 765 nm.

O conteúdo de fenóis foi estimado a partir de uma curva padrão de ácido Gálgico (Figura 9) e os resultados expressos em mg de ácido Gálgico equivalente por 100 gramas de amostra fresca [mg GAE / 100 g (p.f.)].

O conteúdo de taninos foi calculado pela diferença entre o teor dos fenóis totais antes da precipitação com a gelatina e o teor dos fenóis totais depois da precipitação.

#### **3.4.4. Ácido ascórbico**

A metodologia desenvolvida para a determinação da quantidade de ácido ascórbico foi segundo Oliveira *et al.* (2010). Para tal, utilizou-se 0,5 gramas de amostra do fruto homogeneizado em 50 ml de ácido cítrico 3 % (Pronolab). Esta solução foi centrifugada durante 5 minutos a 5000 rpm e o sobrenadante resultante foi usado para titular uma solução de 2 ml de indicador 2,6- diclorofenol - indofenol (Riedel-de Haën) e 18 ml de água destilada. O ponto final da titulação foi definido no momento em que a solução titulada apresentou coloração idêntica à solução titulante (amostra diluída em ácido cítrico 3% e centrifugada), reservando-se um período de 15 segundos para a confirmação do ponto de viragem.

Efetou-se o mesmo procedimento para a solução padrão em que se colocou num erlenmeyer 2 ml de indofenol e 18 ml de água e na bureta colocou-se o ácido ascórbico (Merck). O ponto de titulação foi definido no momento em que a solução se apresentou incolor.

Para o cálculo da quantidade de Ácido Ascórbico (AA) presente na amostra, foi aplicada a fórmula:

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

Em que “C” é a quantidade de ácido ascórbico (mg) presente em 100 g de amostra, “p” é o volume (ml) gasto de indicador que reage com 10 ml da solução padrão de AA cuja concentração é “c” (mg/ ml). “V” é o volume (ml) de indicador utilizado na titulação do extrato de amostra e “m” é a quantidade de amostra (g) utilizada na extração.

#### **3.4.5. Carotenoides**

O método utilizado para determinar a quantidade de carotenoides presente nas amostras foi adaptado de Reyes *et al.* (2007).

Os carotenoides foram extraídos de 1 g de amostra do fruto por maceração com 20 ml acetona:etanol (1:1) contendo 200 mg/l BHT (2,6-Di-*terc*-butil-*p*-cresol, Fluka Chemika). Primeiro macerou-se a amostra com 10 ml de solução de extração e depois o homogeneizado foi filtrado através de papel de filtro 454 ( $\phi = 125$  mm, VWR) e lavado com mais 10 ml da solução de extração. Os extratos foram transferidos para um tubo e adicionou-se 10 ml de hexano (VWR), agitou-se e deixou-se repousar durante 15 minutos. Decorrido este tempo, adicionou-se 5 ml de água destilada, agitou-se vigorosamente as amostras e esperou-se que se obtivessem 2 fases. A leitura das absorvâncias das amostras (fase superior) foi medida a um comprimento de 470 nm numa cuvette de quartzo de 1 cm. O auto-zero foi efetuado com hexano. Os carotenoides foram quantificados usando uma curva padrão de  $\beta$ -caroteno, Type II Synthetic (Sigma-Aldrich) com as concentrações de 0,00025; 0,0005; 0,001; 0,002 e 0,004 mg /ml, como mostra a figura 10.

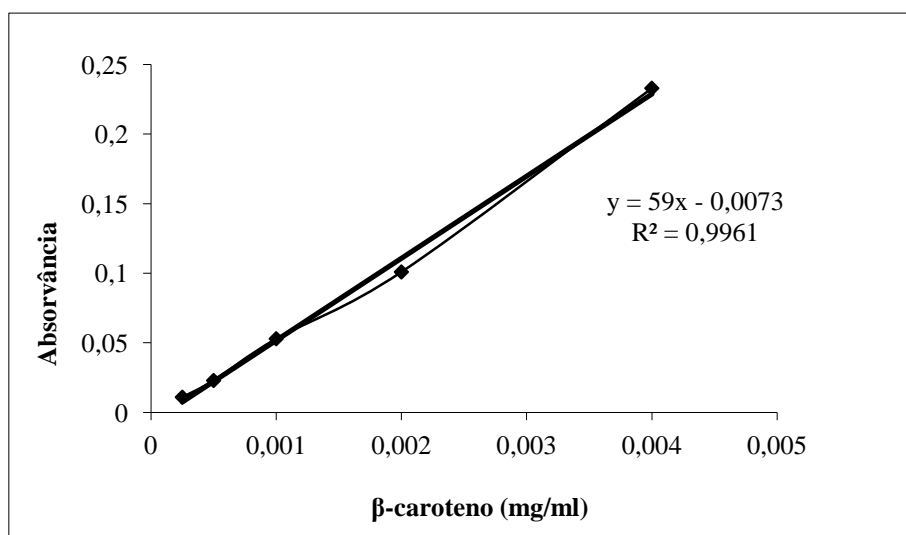


Figura 10 - Curva padrão do  $\beta$ -caroteno e a respetiva equação da reta utilizada para estimar a quantidade de carotenoides presente nas amostras.

A quantidade de carotenoides foi expressa em mg de  $\beta$ -caroteno por 100 g de peso fresco.

### **3.4.6. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)**

Para determinar a capacidade antioxidante foi realizado o método conforme descrito por Re *et al.* (1999). Preparou-se previamente uma solução ABTS – ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (Fluka Analytical), misturando em partes iguais (v:v) de solução ABTS 7,0 mM e de solução de Persulfato de Potássio 2,47 mM (Acros Organics). Esta reagiu por 12-16 horas, em temperatura ambiente e ausência de luz. Após formado o radical catiónico ABTS<sup>+</sup> adicionou-se etanol à solução até se obter um valor de absorvância de 0,700 a 0,800 a 735 nm (a diluição pode ser feita até 1/50 em etanol a 96%). O radical é estável sobre esta forma por mais ou menos dois dias quando guardado no escuro a uma temperatura ambiente.

A determinação da absorvância das amostras foi realizada em temperatura ambiente, após seis minutos de reação, por espectrofotometria (Shimadzu Spectrophotometer 160-UV). Numa cuvette colocou-se 990 µl de ABTS leu-se a 735 nm e registou-se o seu valor e colocou-se 10 µl da amostra, agitou-se e esperou-se 6 minutos, leu-se outra vez e registou-se o seu valor. Procedeu-se de igual modo na preparação dos padrões, substituindo os 10 µl de amostra por 10 µl de padrão.

Como padrões utilizou-se o antioxidante 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 (500 µM, 1000 µM, 1500 µM, 2000 µM e 2500 µM) utilizadas para a construção da reta padrão para o extrato etanólico e metanólico, que está representada na figura 11 e para o extrato de hexano utilizou-se como padrão o β-caroteno, Type II Synthetic (Sigma – Aldrich), o qual também foi armazenado a -20 °C para posterior preparação das diferentes concentrações (0,12207 µM, 0,244 µM, 0,488 µM, 0,976 µM, 1,953125 µM, 15,625 µM, 31,25 µM, 62,5 µM e 125 µM), que está representado na figura 12.

Determinou-se a capacidade antioxidante no extrato etanólico, metanólico e em hexano para o fruto e para o extrato metanólico do doce pela diferença da absorvância da amostra com a do controlo pela fórmula:

$$((\text{Absorvância do controlo} - \text{Absorvância da amostra}) / \text{Absorvância do controlo}) * 100$$

A quantidade de ABTS consumida nos extratos etanólicos e metanólicos é expressa em  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox por volume de amostra e designa-se TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox) e para o extrato de hexano é expressa  $\mu\text{mol}$  equivalentes de  $\beta$ -caroteno por volume.

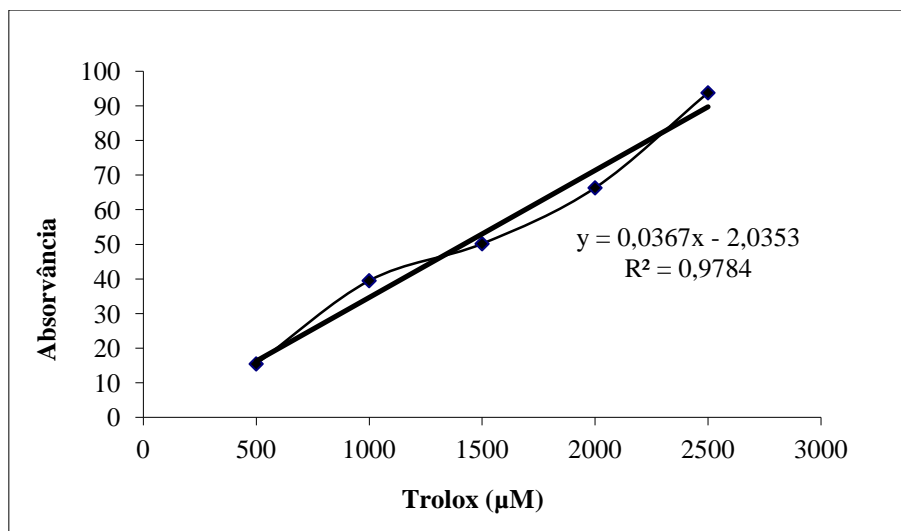


Figura 11 - Curva padrão Trolox e a respetiva equação da reta, utilizada para estimar a capacidade antioxidante dos frutos frescos e das amostras de doce pelo método TEAC, utilizando como solvente o etanol.

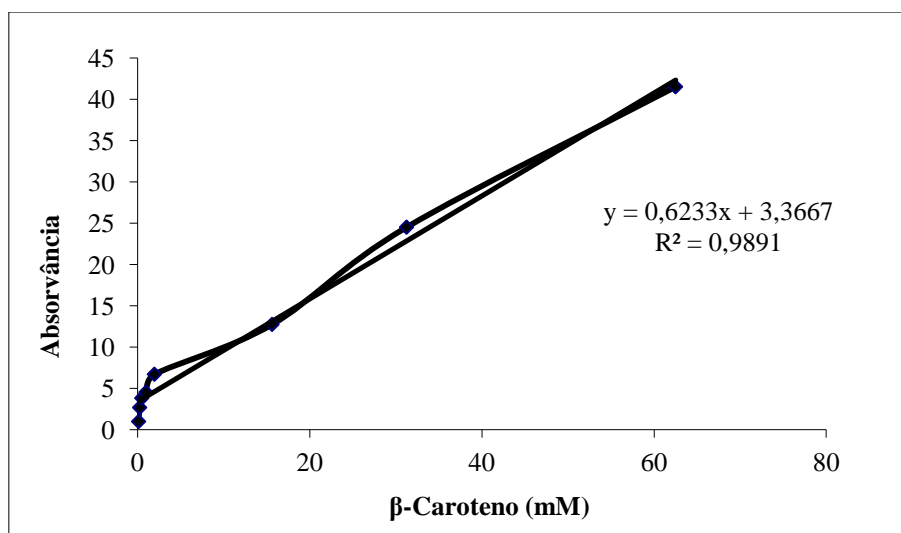


Figura 12 - Curva padrão  $\beta$ -caroteno e a respetiva equação da reta, utilizada para estimar a capacidade antioxidante dos frutos frescos pelo método TEAC, utilizando como solvente o hexano.

### **3.4.7. ORAC ( Oxygen Radical Absorbance Capacity)**

A determinação do poder antioxidante pelo método ORAC baseia-se na medida da redução da concentração de um substrato oxidável (Fluoresceína) ao longo do tempo, de acordo com Chandrasekara *et al.* (2011).

O método ORAC permite determinar a capacidade do antioxidante para captar radicais peróxido formados por uma fonte radicalar, o ABAP (2'-azobis (2'-metilpropionamidine) dihidroclorado, Acros Organics).

A determinação do ORAC realizou-se usando uma placa de 96 micropoços, preta e estéril (VWR) que se colocou a incubar num Synergy™ 4 Multi-detection Microplate Reader, com um comprimento de onda de excitação em 485 nm e de emissão em 528 nm. Utilizou-se como sonda sintética, a fluoresceína (Sigma-Aldrich), cuja fluorescência decai, indicando assim, a intensidade da sua reacção com os radicais formados.

Os extratos etanólico e metanólico das amostras dos frutos de framboesa e do extrato metanólico das amostras do doce foram centrifugados a 14000 rpm durante 5 minutos numa Microcentrifugadora (Hettich Refrigerada Micro 200R) e o sobrenadante foi utilizado para a análise, depois de se ter efetuado uma diluição apropriada com a solução de tampão fosfato 75 mM (pH 7,4).

O ABAP (0,4 g) foi completamente dissolvido em 4 ml de tampão fosfato 75 mM (pH 7,4) e foi mantido no congelador. A solução stock de fluoresceína (mM) foi realizada em tampão fosfato 75 mM (pH 7,4) e foi mantida a 4 °C, no escuro. A solução de trabalho (solução intermédia) de fluoresceína foi feita diluindo-se 0,4 ml da solução stock em 10 ml de tampão fosfato 75 mM (pH 7,4), podendo durar alguns meses quando mantida no frio. A solução diária de fluoresceína foi feita no próprio dia, diluindo-se 0,2 ml da solução intermédia em 10 ml de tampão fosfato 75 mM (pH 7,4).

Assim, para a preparação do controlo pipetou-se diretamente para os poços 50 µl de tampão fosfato de potássio (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a 1M, Merck), 150 µl de fluoresceína e deixou-se incubar durante 10 minutos a 37 °C. Após os 10 minutos, adicionou-se 25 µl de

ABAP. A placa foi agitada durante 30 segundos e foram iniciadas as leituras. O leitor da placa foi programado para efetuar agitação adicional ao conteúdo dos poços antes de se efetuar cada leitura, de forma a obter uma sensibilidade máxima.

Para a preparação das amostras colocaram-se 150 µl de fluoresceína e 25 µl de amostra. Deixou-se incubar tal como efetuado no controlo durante 10 minutos, com a posterior adição de 25 µl de ABAP, sendo realizadas três leituras independentes para cada uma das amostras.

Para a curva padrão, o procedimento é idêntico ao utilizado para preparar as amostras, no entanto, a amostra é substituída pelas diferentes concentrações de padrão Trolox. A gama de concentrações utilizadas para construir a reta de calibração foi de 3,125; 6,25 12,5 e 25 µM. A reta de calibração está representada na figura 13.

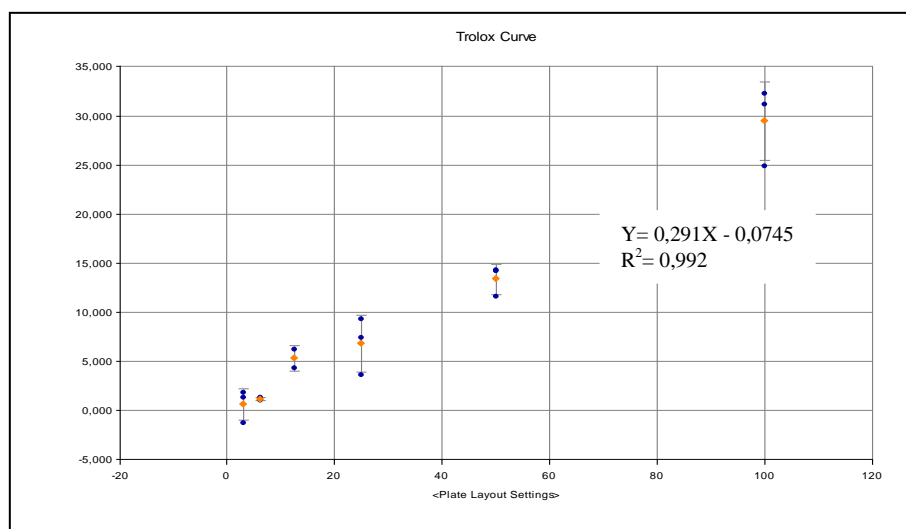


Figura 13 - Reta de calibração do padrão Trolox com a respetiva equação, utilizada para determinar a capacidade antioxidante pelo método ORAC.

Os valores finais ORAC foram calculados usando a reta de calibração entre a concentração de Trolox e o Net AUC obtido das leituras.

O AUC foi calculado pelo aparelho pela seguinte expressão:

$$AUC = 0.5 + f_1/f_0 + \dots f_i/f_0 + \dots + f_{180}/f_0 + 0.5(f_{181}/f_0).$$

Onde:

$f_0$  é a leitura inicial da fluorescência no tempo 0 e  $f_1$  é a leitura de fluorescência no momento da leitura.

O net AUC é obtido subtraindo-se a AUC do branco a partir de uma amostra:

$$[(AUC_{\text{amostra}} - AUC_{\text{branco}})/(AUC_{\text{TROLOX}} - AUC_{\text{branco}})]$$

A capacidade antioxidante é expressa em micromoles de Equivalentes Trolox por gramas de peso fresco.

#### **3.4.8. Oxigénio Singlete**

A capacidade dos diferentes extratos das amostras do fruto (etanólico, metanólico e hexano) e do doce (metanólico) para captar o oxigénio singlete foi quantificado por espectrofotometria (Shimadzu Spectrophotometer 160-UV) de acordo com Chandrasekara *et al.* (2011).

As soluções químicas foram preparadas a partir de um tampão fosfato de sódio 0,1 mM (pH 7,4).

A reação de mistura consistiu em 0,4 ml de extrato das amostras, 0,5 ml de DPN de 200 mM (N,N-dimetil- $\rho$ -nitrosoaniline, Acros Organics), 0,2 ml de histinina de 100 mM (Merck), 0,2 ml de hipoclorito de sódio de 100 mM e 0,2 ml de peróxido de hidrogénio de 100 mM (Panreac) para um volume total que se fez até aos 2 ml com o tampão de fosfato de sódio.

A absorvância da reação da mistura foi medida aos 440 nm depois de incubação a 30 °C, num banho, durante 40 minutos.

O controlo foi preparado por substituição dos extratos por tampão fosfato de sódio.

A percentagem de inibição do oxigénio singlete foi calculada pela seguinte expressão:

$$((\text{Absorvância da amostra} - \text{Absorvância do controlo}) / \text{Absorvância da amostra}) * 100$$

Sendo os resultados finais expressos em % de inibição.

### **3.5. Nutrientes**

#### ***3.5.1. Determinação do azoto total***

A quantificação do azoto total (amoniacoal + orgânico) foi determinada utilizando o método de Kjeldhal. Este método baseia-se na ação do ácido sulfúrico concentrado na presença de determinados catalisadores sobre as formas azotadas existentes na amostra, as quais são transformadas em sulfato de amónio. Este por ação de uma solução concentrada de soda cáustica liberta amoníaco que é fixado num soluto de ácido de título conhecido. Por titulação com o soluto de título conhecido e na presença de um indicador determina-se a quantidade de amoníaco fixada e conseqüentemente a quantidade de azoto contida na amostra.

Pesou-se 1 g do fruto framboesa previamente seco numa estufa e homogeneizado num papel de filtro Whatman nº 42.

Introduziu-se o papel de filtro com a amostra num tubo de Kjeldhal para que não ficasse material aderido ao tubo.

Adicionou-se a cada tubo que continha as amostras das duas cultivares de framboesa ('Maravilla' e 'Sevillana') uma espátula de catalisador (100 partes de sulfato de Potássio + 20 partes de sulfato de cobre + 0,5 partes de selénio) que teve como finalidade a elevação do ponto de ebulição acelerando deste modo o ataque. De seguida,

juntou-se 25 ml de ácido sulfúrico concentrado e colocaram-se os tubos de Kjeldahl na bateria de digestão aumentando gradualmente a temperatura.

A digestão terminou quando desapareceu a substância sólida e a solução ficou incolor. Retirou-se o tubo e deixou-se arrefecer.

Transferiu-se o digerido do tubo de Kjeldahl para o aparelho de destilação lavando o balão com água destilada.

No tubo de saída do aparelho de destilação pró-nitro colocou-se um balão erlenmeyer de 250 ml contendo 10 ml de ácido bórico e 3 gotas de indicador misto. Iniciou-se a destilação segundo as instruções do manual do Aparelho de Destilação pró-nitro II.

Usou-se uma quantidade de hidróxido de sódio a 35% suficiente para efetuar a neutralização do excesso de ácido contido na amostra a qual não ultrapassou os 40 ml.

A destilação terminou 3 a 4 minutos após a viragem do indicador de rosa para azul correspondendo a um volume de destilado de cerca de 100 ml. Retirou-se o balão de recolha do destilado tendo o cuidado de lavar o tubo de saída com água destilada.

Titulou-se o destilado com ácido clorídrico 0,05 N, até que o indicador virasse para rosa e registou-se o volume de ácido clorídrico gasto (V).

Para o cálculo da percentagem de azoto total (% N) presente na amostra, aplicou-se a fórmula:

$$\% N = \frac{V \times f \times 0,014 \times 100}{P}$$

Em que “V” é o volume em ml de ácido clorídrico gasto na titulação, “f” o título do ácido clorídrico, “P” o peso da amostra e 0,014 o valor (g) de N que reage com 1 ml de ácido clorídrico 1 N.

Sendo o resultado final expresso em percentagem de azoto total (% N).

### **3.5.2. Determinação de minerais**

Na preparação das amostras para a determinação dos minerais utilizou-se o método da calcinação.

Pesou-se 1 g do fruto framboesa, previamente seco numa estufa, para um cadinho de porcelana e colocou-se na Mufla (Mufla type 1500 Furnace, Thermolyne) a 500°C. Retirou o cadinho da Mufla quando só restavam cinzas e foi colocado no exsicador durante algum tempo. Retirou-se o cadinho do exsicador e adicionaram-se 10 ml de ácido clorídrico (1:1) (a amostra ficou amarela) seguidamente colocou-se o cadinho numa placa de aquecimento (dentro de uma hotte) até que se observasse a libertação de fumo branco.

Por fim retiraram-se os cadinhos da placa de aquecimento, filtrando-se as cinzas com papel de filtro Whatman nº 42 e aferiu-se com água destilada para balões volumétricos de 100 ml.

#### **3.5.2.1. Determinação do Sódio e do Potássio**

A determinação do potássio e do sódio efetuou-se nas soluções obtidas pela incineração via seca (método da calcinação) e realizaram-se as suas leituras num Fotómetro de emissão de chama JENWAY modelo PFP7.

Para a preparação das soluções de potássio pipetou-se 10 ml de uma solução stock de 1000 ppm de cloreto de potássio e dilui-se até 100 ml. A partir desta solução de potássio de 1000 ppm efetuaram-se os respetivos padrões 2, 4, 6, 8 e 10 ppm, sendo cada um preparado para um volume final de 100 ml com água bidestilada. Efetuou-se o mesmo procedimento para a determinação da quantidade de sódio presente nas amostras, mas em vez da utilização de cloreto de potássio utilizou-se cloreto de sódio. A realização das curvas padrão (Figura 14 e 15) foi necessário apenas para a confirmação se as amostras estavam dentro das curvas padrões ou se seria preciso efetuar diluições.

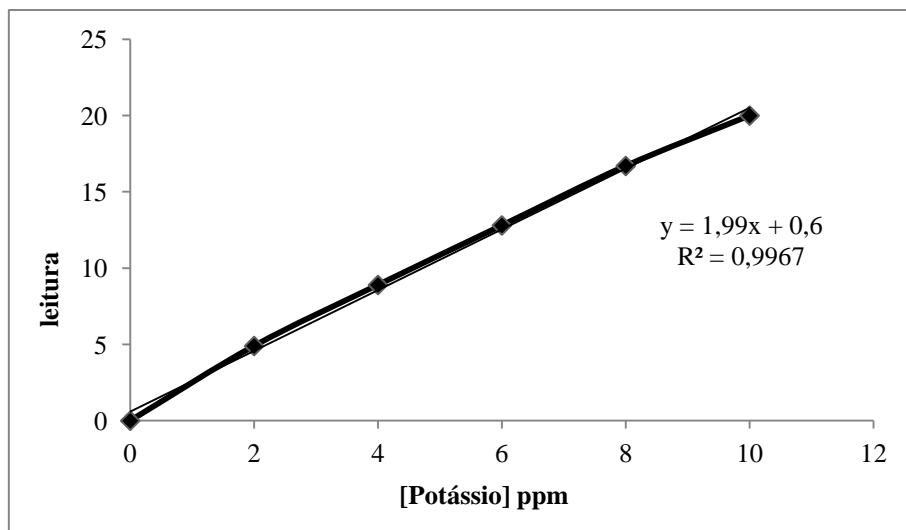


Figura 14 - Retas de calibração do padrão Potássio com a respectiva equação da reta, para determinar a quantidade de potássio (ppm) presente nas amostras.

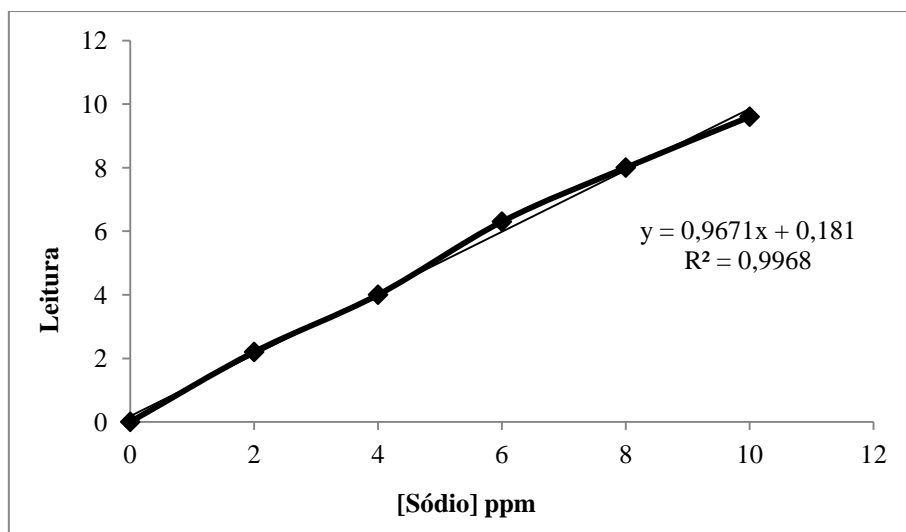


Figura 15 - Retas de calibração do padrão de Sódio com a respectiva equação da reta, utilizada para determinar a quantidade de sódio (ppm) presente nas amostras.

A quantificação do sódio e do potássio foi estimada a partir das leituras obtidas no fotômetro dadas em ppm, sendo depois os resultados expressos em mg equivalente por 100 gramas de amostra seca (mg / 100 g de p.s.).

### **3.5.2.2. Determinação do Fósforo Total**

A determinação do fósforo efetuou-se nas soluções obtidas pela incineração via seca (método da calcinação). Este método baseia-se na formação do complexo amarelo molibdovanadofosfórico avaliando a concentração do elemento na amostra pela intensidade da cor obtida medida no espectrofotómetro UV-Visível (UV-106A, Shimadzu) a 375 nm.

Pipetou-se 5 ml da solução, obtida por incineração via seca, para um balão volumétrico de 50 ml, de seguida adicionou-se 12,5 ml de reagente misto (mediram-se volumes iguais de solução de Molibdato de Amónio a 5 % e solução Vanadato de Amónio a 0,25 %) a cada balão e perpez-se o volume até aos 50 ml com água bidestilada e agitou-se com cuidado.

Depois de repousar durante 15 minutos a cor amarela que se formou foi estável por algumas horas.

Procedeu-se à leitura espectrofotómetro UV-Visível num comprimento de onda de 375 nm.

Para a preparação da solução padrão mãe de fósforo pesou-se 0,4349 g de fósforo monopotássio (previamente seco numa estufa a 100 °C), dissolveu-se em 20 ml de água destilada e perpez o seu volume até 1 litro. A partir desta solução padrão de fósforo de 100 ppm efetuaram-se os respetivos padrões 0, 2, 4, 6, 8 e 10 ppm, a cada um adicionou-se 12,5 ml do reagente misto e perpez-se com água bidestilada até a um volume de 50 ml, obtendo-se a curva padrão representada na figura 16.

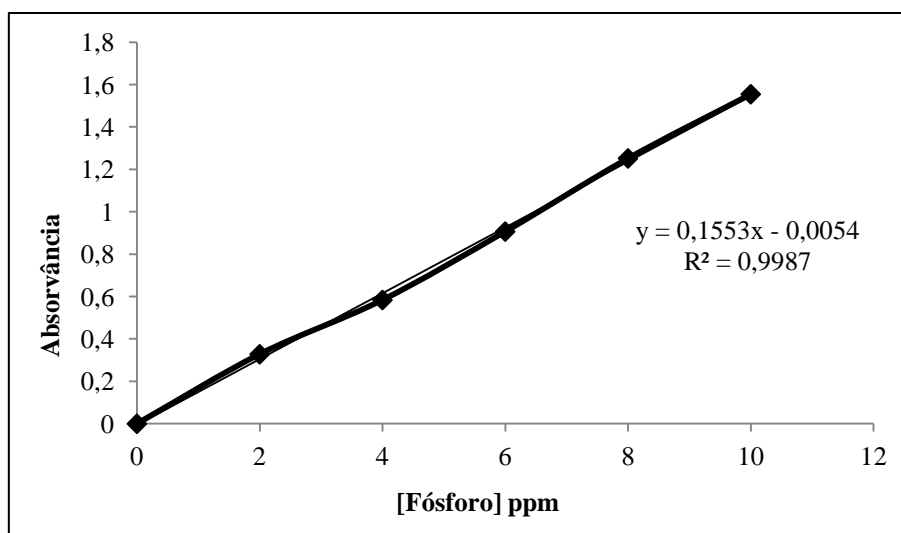


Figura 16 - Retas de calibração do padrão de Fósforo com a respectiva equação da reta, utilizada para determinar a quantidade de fósforo (ppm) presente nas amostras.

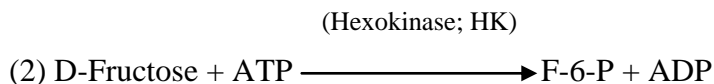
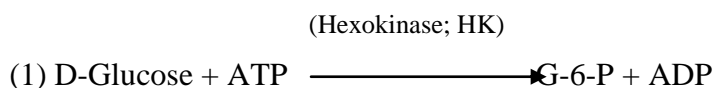
A quantificação do fósforo foi estimada a partir da respectiva curva padrão e os resultados expressos em mg equivalente por 100 gramas de amostra seca (mg / 100 g (p.s.)).

### **3.6. Açúcares**

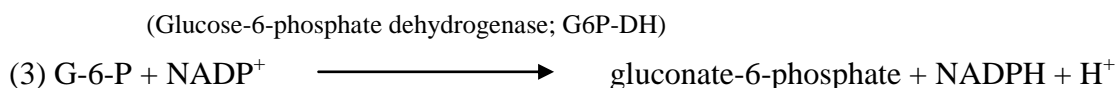
A determinação da quantidade de açúcares (glucose e frutose) foi feita com recurso a um kit " D-FRUCTOSE & D-GLUCOSE (*Liquid Stable Format*)" (K-FRGLQR 07/10) da Megazyme.

As amostras do fruto e do doce (150 mg) foram extraídas com 1 ml de Etanol a 80%, num banho com uma temperatura de 80 °C durante 15 minutos. Retirou-se o extrato etanólico (que contém os açúcares) para um tubo e repetiu-se este procedimento por mais três vezes. Por fim armazenou-se a -20 °C (1-2 meses) até à sua quantificação.

A D-Glucose e D-Fructose são fosforiladas pela enzima hexokinase (HK) e adenosine-5'-triphosphate (ATP) em glucose-6-phosphate (G-6-P) e fructose-6-phosphate (F-6-P) com a formação em simultâneo de adenosine-5'-diphosphate (ADP) (1), (2).

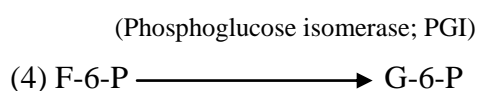


Na presença da enzima glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH), G-6-P é oxidada pela nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato ( $\text{NADP}^+$ ) em gluconate-6-phosphate com a formação da forma reduzida de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) (3).



A quantidade de NADPH formado nesta reação é estequiométrica com a quantidade de D-Glucose. Sendo o NADPH que é medido pelo aumento da absorvância a 340 nm.

Após a conclusão da reação (3) F-6-P é convertida em G-6-P por phosphoglucose isomerase (PGI).



A G-6-P formada reage por sua vez com  $\text{NADP}^+$  formando gluconate-6-phosphate e NADPH, levando a um novo aumento na absorvância que é estequiométrica com a quantidade de D-frutose.

A determinação da quantidade de açúcares realizou-se usando uma placa de 96 micropoços, preta e estéril (VWR) que se colocou a incubar num Synergy™ 4 Multi-detection Microplate Reader, com um comprimento de onda de 340 nm.

Para a preparação do controlo pipetou-se diretamente para os poços 40 µl reagente 1 (Azida de sódio a 0,08 % w/v), 160 µl de água destilada e 3 µl da amostra controlo (D-Glucose plus D-Fructose Standard com 3 g/l para cada açúcar), e deixou-se incubar durante 3 minutos a 25 °C. Após os 5 minutos leu-se a absorvância e adicionou-se 20 µl do reagente 2 (Azida de sódio a 0,05 % w/v). Deixou-se incubar durante 5 minutos a 25 °C. Após os 5 minutos leu-se a absorvância, caso a reação não tenha terminado ao fim desses 5 minutos, continua-se a ler a absorvância durante mais 10 minutos em intervalos de 2 minutos. Após terminar a reação adicionou-se 20 µl do reagente 3 (Azida de sódio a 0,05 % w/v) e deixa-se a incubar durante 10 minutos, caso a reação não tenha terminado continua-se a ler a absorvância durante mais 10 minutos em intervalos de 2 minutos. O leitor da placa foi programado para efetuar agitação adicional ao conteúdo dos poços antes de se efetuar cada leitura, de forma a obter uma sensibilidade máxima.

Para a preparação das amostras colocaram-se 3 µl das extrações do fruto em vez da amostra controlo, sendo o procedimento igual. Foram realizadas duas leituras independentes para cada uma das amostras.

Para o doce efetuaram-se as análises da quantidade de açúcares recorrendo ao mesmo kit, no entanto alterou-se o tempo de incubação para 60 minutos à temperatura ambiente.

A quantificação dos respetivos açúcares foi calculada recorrendo a expressão que se segue:

$$C = \frac{V \times MW \times \Delta A}{\epsilon \times d \times v} \text{ [g/L]}$$

**Sendo:**

V = volume final [ml]

MW = peso molecular da D-glucose ou D-fructose [g/mol]

ε = extinction coefficient of NADPH a 340 nm

= 6300 [l x mol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>]

d = light path [cm]

v = volume da amostra [ml]

*Para a D-glucose:*

$$C = \frac{2,23 \times 180,16}{6300 \times 1 \times 0,1} \times \Delta A_{D\text{-glucose}} [\text{g/l}] \Leftrightarrow c = 0,6634 \times \Delta A_{D\text{-glucose}} [\text{g/l}]$$

$$\text{Em que: } \Delta A_{D\text{-glucose}} = A_2 - A_1$$

*Para a D-fructose:*

$$C = \frac{2,43 \times 180,16}{6300 \times 1 \times 0,1} \times \Delta A_{D\text{-fructose}} [\text{g/l}] \Leftrightarrow c = 0,6692 \times \Delta A_{D\text{-fructose}}$$

$$\text{Em que: } \Delta A_{D\text{-fructose}} = A_3 - A_2$$

A quantificação dos respetivos açúcares foi calculada recorrendo a expressão que se segue:

*Conteúdo de D-Glucose:*

$$= \frac{C_{D\text{-glucose}} [\text{g/l amostra}] \times 100 [\text{g/100 g}]}{\text{Peso da amostra} [\text{g/l amostra}]}$$

*Conteúdo de D - Frutose:*

$$= \frac{C_{D\text{-frutose}} [\text{g/l amostra}] \times 100 [\text{g/100 g}]}{\text{Peso da amostra} [\text{g/l amostra}]}$$

Sendo os resultados finais expressos em g de glucose ou frutose por 100 g de peso fresco.

### **3.7. Análise Microbiológica**

As análises microbiológicas foram realizadas apenas nas amostras do doce de framboesa, nas duas cultivares de framboesas ('Sevillana' e 'Maravilla') e pelos dois métodos (método tradicional e método com a adição de ácido e pectina).

Para a avaliação da qualidade microbiológica dos doces produzidos, foram realizadas as determinações de contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em placas de Plate Count Agar (Biokar) a 37 °C com incubação por 24 horas foi realizada de acordo com a Norma Portuguesa NP-3788:2002 e a contagem de bolores e leveduras foi realizada, de acordo com a Norma ISO 21527-2:2008, em placas com meio de Chloramphenicol Glucose Agar (Biokar) a 30 °C com incubação de 120 horas.

Numa câmara de fluxo laminar, pesou-se 10 g da compota a analisar e depois transferiu-se para um saco de stomacher com 90 ml de Água Peptonada Tamponada estéril. Homogeneizaram-se as amostras no Stomacher durante 30 segundos.

Retirou-se 0,5 ml da amostra do saco de stomacher para um tubo com 4,5 ml de Solutio de Ringer (Biokar) previamente preparado e esterilizado, sendo este tubo correspondente à primeira diluição. A partir desse tubo realizam-se as diluições  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ , e entre cada diluição passou-se 0,5 ml da amostra diluída, tendo o cuidado de homogeneizar a amostra entre cada passagem.

Depois inoculou-se 100 µl da amostra em cada placa e realizou-se o método de espalhamento. Sendo que, para cada diluição realizaram-se 2 duplicados.

### **3.8. Análise Sensorial**

Efetuiu-se uma avaliação sensorial aos frutos das duas cultivares de framboesas frescas e processadas que foi efetuada ao longo do tempo de conservação por apreciação de um painel de provadores, constituído por 15 provadores não treinados, visando atingir o consumidor comum. Os provadores receberam de maneira aleatória as

amostras em pratos codificados e a ficha para preenchimento da análise sensorial, na qual foram avaliados alguns parâmetros pela atribuição de uma pontuação de 1-Mau a 5-Excelente. Os resultados desta análise foram correlacionados com os resultados obtidos das análises físicas-químicas.

Na avaliação sensorial dos frutos que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) os parâmetros analisados foram: a aparência do fruto e da polpa, textura, aroma e acidez (Anexo 1). Do mesmo modo também se realizou uma avaliação sensorial aos produtos finais das framboesas processadas que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses), em que os parâmetros analisados foram aparência do doce, aroma, textura, doçura, acidez e sabor (Anexo 2).

### **3.9. Análise Estatística**

A análise estatística dos resultados obtidos foi feita no “*software*” SPSS v.15, no qual foram feitas múltiplas comparações pelo teste de Duncan’s para determinar as diferenças significativas entre as cultivares das framboesas e o efeito dos diferentes tratamentos aplicados ao doce de framboesa ao longo do tempo. Sendo consideradas significativas as diferenças entre as médias ao nível de 5% ( $P < 0,05$ , ou seja, num intervalo de confiança de 95%).

## Capítulo 4 – Resultados e Discussão

### 4.1. Conservação das Framboesas em Fresco

#### 4.1.1. Nutrientes

Os valores encontrados para os nutrientes fósforo, potássio, sódio e azoto total nas duas cultivares de framboesas estão representados na Tabela 6.

Tabela 6 – Comparação dos valores obtidos para os nutrientes das duas cultivares de framboesas Sevillana e Maravilla, com os valores dos nutrientes referenciados em Rao *et al.* (2010).

<b>Nutrientes/100 g (p. f.)</b>	<b>Referências</b>	<b>Maravilla</b>	<b>Sevillana</b>
Fósforo (mg)	29	36	38
Potássio (mg)	151	176	137
Sódio (mg)	1	69	17
Azoto total (%)	19,2	1,5	1,8

Como referenciado por Rao *et al.* (2010) as framboesas vermelhas são ricas em nutrientes importantes para a saúde humana. Após a conversão dos valores obtidos em peso seco para peso fresco verifica-se que as duas cultivares apresentam valores de nutrientes muito próximos entre si e similares aos descritos por aqueles autores, com exceção do sódio e do azoto total. Segundo ainda por Rao *et al.* (2010), estas diferenças podem ser atribuídas as diferenças genéticas, práticas agrícolas diversas, condições ambientais, estágios de desenvolvimento incluindo níveis de maturação.

De acordo com Plessi *et al.* (2007) os diferentes resultados para os valores nutricionais dos frutos vermelhos podem ser explicados não são pelas diferentes cultivares, mas também podem ser influenciados por outros fatores como a área de produção, solo e clima, práticas agrícolas, qualidade da água irrigada e eventualmente do armazenamento e das condições de comercialização.

#### **4.1.2. Atributos físico-químicos das framboesas**

##### **4.1.2.1. Cor**

O valor de Luminosidade ( $L^*$ ) das duas cultivares apresenta diferenças significativas entre as temperaturas de armazenamento ao longo do tempo de armazenamento (Anexo 3).

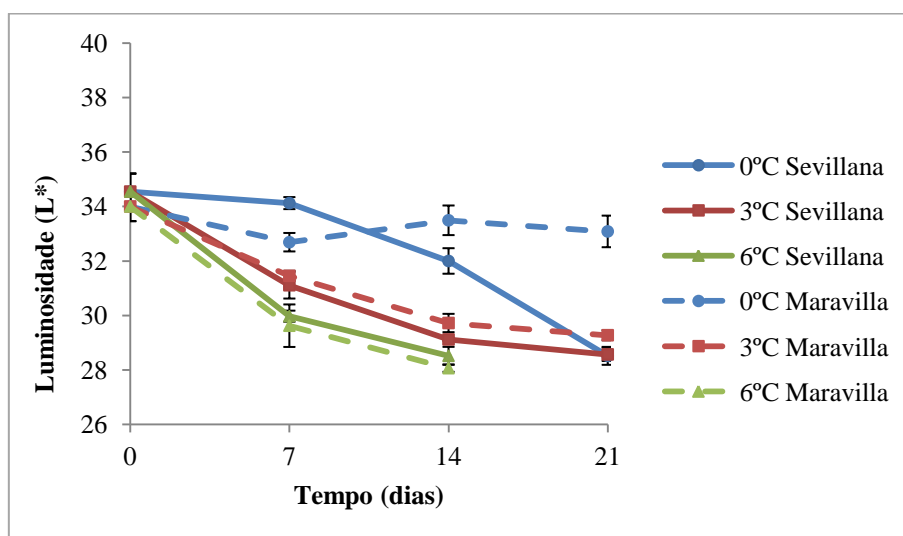


Figura 17 – Evolução da Luminosidade da cor ( $L^*$ ) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Da análise da figura 17, verifica-se que o parâmetro da cor, Luminosidade, começa com valores semelhantes entre as duas cultivares mas, diminui significativamente ao longo do tempo de armazenamento sendo mais significativo aos 6°C seguido por 3 °C e praticamente sem diferenças entre cultivares.

Observa-se que ao longo do tempo de armazenamento na temperatura de 0 °C os frutos da cultivar Maravilla apresentam-se mais ou menos inalteráveis, sendo esta a temperatura que melhor preserva este parâmetro da cor. A cultivar Sevillana também apresenta melhores resultados aos 0 °C, mantendo os valores de  $L^*$  mais ou menos constantes até 14 dias de armazenamento. Verifica-se uma diminuição significativa apenas de 14 para 21 dias.

Os valores Luminosidade quer nas framboesas da cultivar Maravilla quer da cultivar Sevillana foram, no geral, diminuindo durante o tempo e as temperaturas de armazenamento, ou seja, a cor foi escurecendo. Segundo Yuksel *et al.* (2008) os valores de Luminosidade geralmente aumentam durante o armazenamento e com as temperaturas de refrigeração, que justifica o facto da cor ir aclarando. A perda de cor é resultado da degradação das antocianinas. No entanto, neste estudo, verifica-se o contrário, observa-se a diminuição dos valores de Luminosidade que aponta para o ganho de cor. De acordo com Mitcham (2007), isto está relacionado com a inibição/retardamento da maturação e/ou vias de senescência, associado a este parâmetro devido ao aumento da temperatura e ao tempo de armazenamento.

A diminuição dos valores do parâmetro Luminosidade nas duas cultivares resulta também do aumento dos valores de antocianinas (Figura 26), resultados semelhantes foram obtidos por Wicklund *et al.* (2005), nos estudos de 5 cultivares de morangos ('Senga Senganaes', 'KoronaSen', 'PolkaaSe', 'Honeyoyee' e 'Oneoye').

Inicialmente os valores do parâmetro de cor  $a^*$  são semelhantes entre as duas cultivares mas apresentam diferenças significativas ao longo do tempo (Anexo 3).

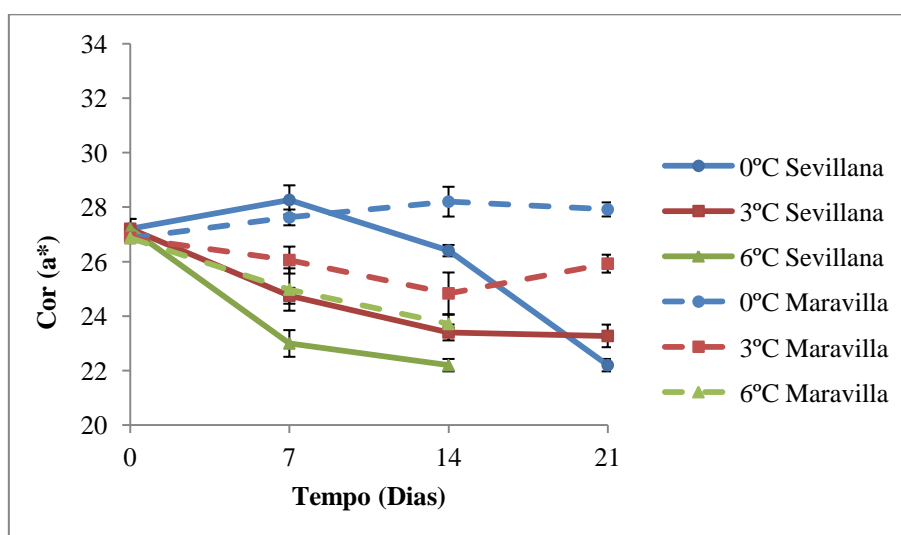


Figura 18 – Evolução do parâmetro cor ( $a^*$ ) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Verifica-se que, que o parâmetro de cor  $a^*$  diminui ao longo do tempo de armazenamento, exceto aos 0 °C para a cultivar Maravilla (Figura 18). A cultivar Sevillana aos 0 °C mantém os valores de  $a^*$  até 7 dias reduzindo a partir daí até final do armazenamento. Observa-se pela análise da figura 18, que os valores do parâmetro cor  $a^*$  (cor vermelha mais intensa) diminuem significativamente com o aumento da temperatura.

Neste estudo, o efeito da temperatura e o tempo de armazenamento afetaram significativamente o parâmetro  $a^*$ , verifica-se que a temperatura que preservou melhor os valores do parâmetro de cor  $a^*$  foi a de 0 °C no caso da cultivar Maravilla ao longo dos 21 dias e na cultivar Sevillana apenas nos primeiros 7 dias.

Também se verificou que os valores de  $a^*$  eram superiores na cultivar Maravilla do que na cultivar Sevillana em todas as temperaturas, sugerindo que a primeira se preserva melhor no armazenamento.

A diminuição dos valores do parâmetro de cor  $a^*$  aponta para a perda da tonalidade vermelha. Segundo Mitcham (2007), isto está relacionado com o avanço de senescência, associado a este parâmetro devido ao aumento da temperatura e ao tempo de armazenamento. Aos 3° e 6 °C verifica-se uma diminuição dos valores do parâmetro de cor  $a^*$  nos primeiros 7 dias e depois mantém-se constante ao longo do restante tempo.

No entanto, de acordo com Yuksel *et al.* (2008), era de se esperar um aumento dos valores do parâmetro de cor  $a^*$  ao longo do tempo, porque a diminuição dos valores do parâmetro cor  $L^*$  e o aumento dos valores do parâmetro de cor  $a^*$  são indicadores do escurecimento e da polimerização das antocianinas. Tal não aconteceu porque verifica-se a diminuição dos valores do parâmetro  $L^*$  e  $a^*$ .

Os valores do parâmetro de cor  $b^*$  também apresentam valores semelhantes entre as duas cultivares no tempo zero, mas apresentaram diferenças significativas ao longo do armazenamento (Anexo 3). O padrão seguido é o mesmo que para os valores de  $a^*$  (Figura 18).

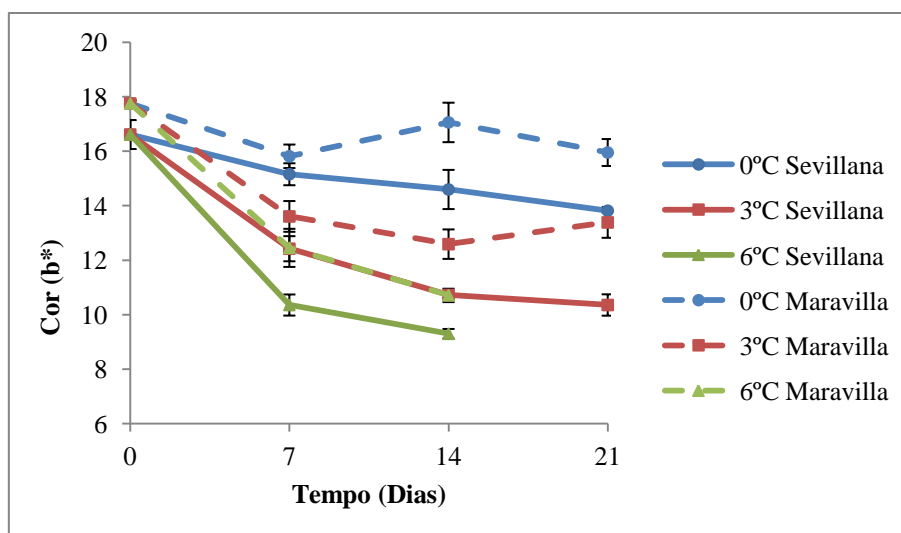


Figura 19 – Evolução do parâmetro cor ( $b^*$ ) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Ao longo do tempo e durante o mesmo período de armazenamento, os frutos armazenados à temperatura de 0 °C apresentam valores superiores do parâmetro de cor  $b^*$ , seguido por 3° e 6 °C (Figura 19). Nas framboesas da cultivar Maravilla a temperatura de 0 °C foi a que preservou melhor os valores do parâmetro de cor  $b^*$ , sendo os seus valores em todas as temperaturas superiores à cultivar Sevillana.

Os valores do parâmetro de cor  $b^*$  mantiveram-se constantes na cultivar Maravilla aos 0 °C, ou seja, o conteúdo de pigmentos como os carotenos mantiveram-se estáveis e permaneceram nos tecidos ao longo do tempo. Na temperatura de 3 °C, nos primeiros 7 dias os valores do parâmetro de cor  $b^*$  são significativamente superiores aos valores dos restantes dias e por fim na temperatura de 6 °C verifica-se que diminui com o aumento do tempo de armazenamento. Na cultivar Sevillana observa-se uma diminuição significativa dos valores do parâmetro de cor  $b^*$  durante o armazenamento com o aumento da temperatura, ou seja, uma diminuição dos conteúdos de carotenos.

Como relatado por Monica *et al.* (2007), observa-se a diminuição dos valores do parâmetro de cor  $b^*$ , esta diminuição aponta para a perda da tonalidade amarela. Isto está, relacionado com a perda de pigmentos como os carotenos  $\beta$  e  $\alpha$ , que dão a cor amarela ou laranjada nos frutos e legumes, com o aumento da temperatura e do tempo de armazenamento.

O parâmetro de cor C\* foi semelhante entre as duas cultivares no tempo zero. A cultivar Maravilla, na temperatura de 0 °C, manteve os seus valores ao longo do tempo, diminuindo significativamente nos restantes tratamentos (Figura 20; Anexo 3).

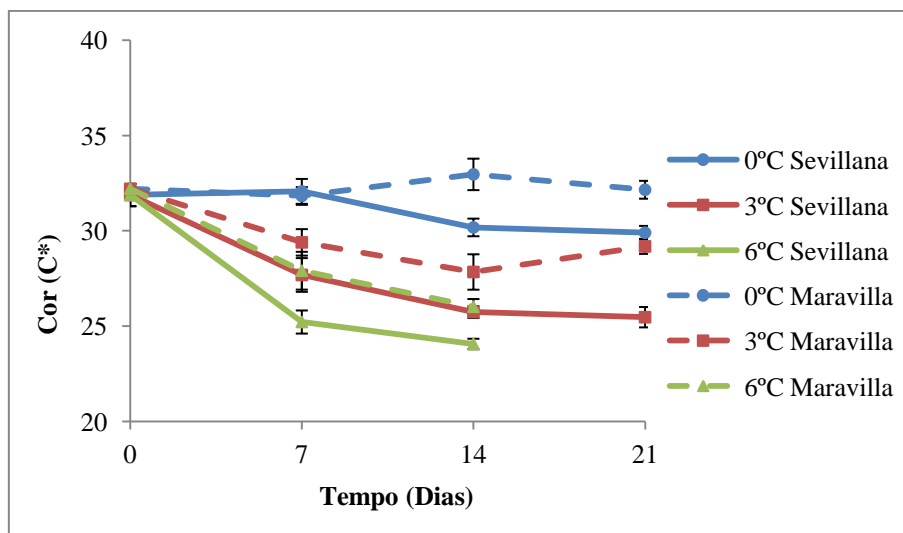


Figura 20 – Evolução da saturação da cor pelo parâmetro C\* das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Verifica-se ainda pela análise da figura 20 que, ao longo do tempo as framboesas ‘Sevillana’ armazenadas à temperatura de 0 °C mantiveram os valores do parâmetro de cor C\* até 7 dias decrescendo depois. Os valores mais altos de saturação da cor (C\*) foram para ambas as cultivares a 0 °C de seguida os 3 °C e por fim os 6 °C. A cultivar Maravilla apresenta valores superior à cultivar Sevillana em cada temperatura.

Neste estudo o efeito da temperatura e do tempo de armazenamento afetaram significativamente os valores do parâmetro de cor C\*, observa-se que a temperatura que melhor preservou o parâmetro de cor C\* foi a de 0 °C, verificando se alterações no grau de saturação da cor com o aumento da temperatura e ao longo do tempo de armazenamento.

De acordo com os estudos efetuados por Jordheim (2007), quanto maior o valor de C\*, mais intensa é a cor, por isso era de se esperar uma diminuição do parâmetro de cor C\*, tendo sido o que se observou neste estudo, exceto aos 0 °C. Verificou-se a

diminuição do grau de saturação com o aumento do tempo de armazenamento e o aumento das temperaturas de armazenamento.

O ângulo Hue era, à colheita, superior na cultivar Maravilla do que na cultivar Sevillana (Figura 21; Anexo 3).

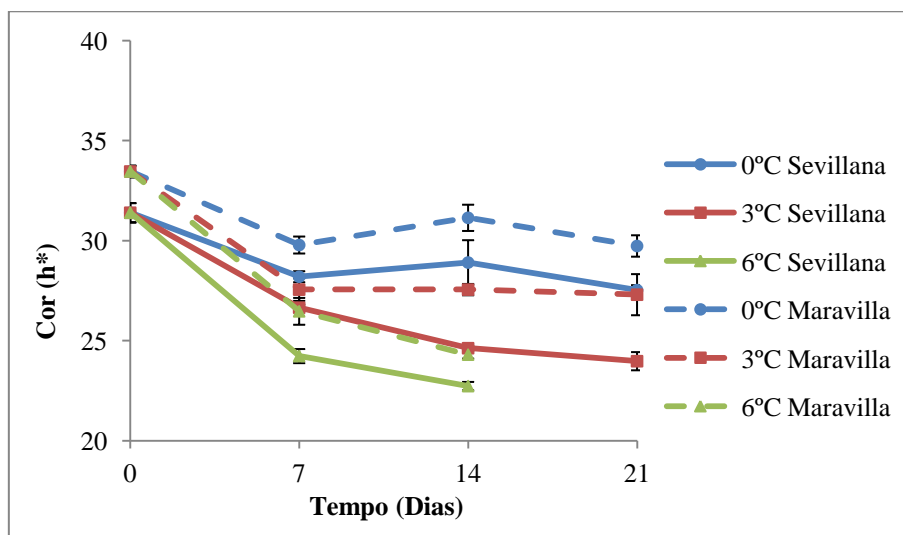


Figura 21 – Evolução do ângulo Hue ( $h^*$ ) que descreve a tonalidade das cores das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Verifica-se pela análise da figura 21 que as framboesas da cultivar Maravilla apresentaram valores de Hue superiores aos da cultivar Sevillana, ao longo do tempo de armazenamento.

Neste estudo o efeito da temperatura e do tempo de armazenamento afetaram significativamente o parâmetro Hue, verifica-se que a temperatura que preservou melhor o parâmetro Hue foi a de 0 °C nas framboesas das duas cultivares, verificando-se que nos primeiros 7 dias é ligeiramente superior e depois mantém-se constante ao longo dos restantes dias. Observa-se ainda que nas outras temperaturas o parâmetro Hue diminui significativamente ao longo do tempo, apresentando valores superiores a 3 °C do que a 6 °C na cultivar Sevillana e na cultivar Maravilla. O parâmetro Hue diminui ao longo do tempo, principalmente nos primeiros 7 dias.

O ângulo Hue é um parâmetro frequentemente utilizado para caracterizar a cor nos produtos alimentares, de acordo com Yuksel *et al.* (2008). É um ângulo que a 0° ou 360 ° representa a tonalidade vermelha, enquanto 90°, 180° ou 270° representam amarelo, verde e azul, respetivamente. Como dado pela figura 21 o valor do ângulo Hue diminui com o aumento da temperatura e o tempo de armazenamento, verifica-se que as amostras se vão tornando menos vermelhas nas duas cultivares de framboesas estudadas.

Segundo Wang *et al.* (1996) e Rao *et al.* (2010) as framboesas armazenadas em atmosfera normal apresentaram cores mais escuras do que as armazenadas em atmosfera controlada, com níveis crescentes de pigmentos após 7 dias. Neste estudo observou-se um ligeiro escurecimento das duas cultivares de framboesas vermelhas durante o armazenamento. A mudança de cor ocorreu mais rapidamente nas temperaturas de armazenamento de 6 °C, seguida de 3 °C, especialmente durante os primeiros 7 dias de armazenamento, que corresponde com os dados descritos.

A diminuição da cor vermelha durante o armazenamento também se pode dever possivelmente, segundo estudos de Kähkönen *et al.* (2001), a um aumento do teor de antocianinas e possivelmente ao aumento pH das framboesas vermelhas, tornando-as menos vermelhas.

A densidade da cor das amostras de framboesas das duas cultivares mostra que o parâmetro cor é influenciado pelo tipo de cultivar e que as diferentes cultivares apresentam distintos comportamentos com as diversas temperaturas de armazenamento e ao longo do tempo de armazenamento, que vai ao encontro dos estudos efetuados por Yuksel *et al.* (2008). Notou-se que a cor das framboesas diminui com o aumento da temperatura, sendo a diminuição mais acentuada nas framboesas da cultivar Sevillana.

#### 4.1.2.2. Textura

O parâmetro firmeza apresentou diferenças significativas entre as amostras das framboesas das duas cultivares, sendo ligeiramente superior à colheita na cultivar Maravilla (Figura 22; Anexo 3).

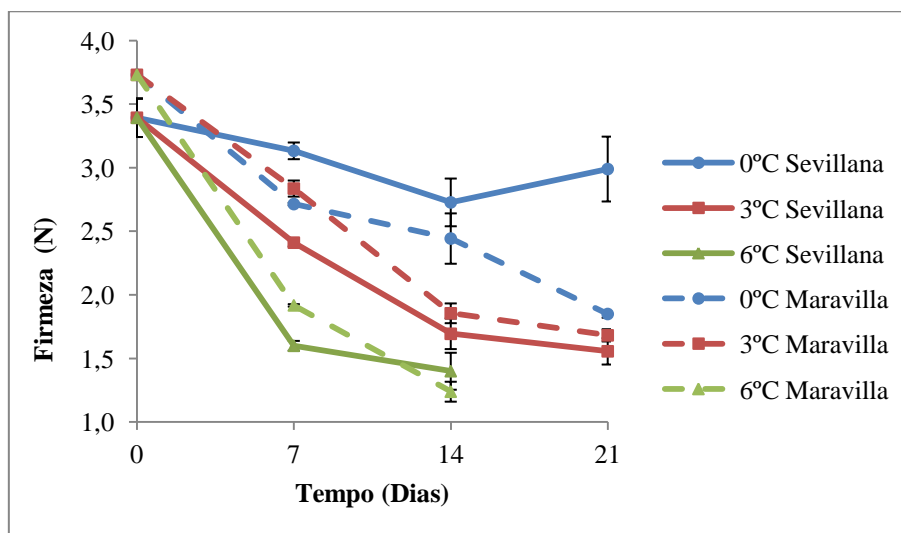


Figura 22 – Evolução da firmeza das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

A firmeza diminui significativamente com o aumento da temperatura e ao longo do tempo de armazenamento, como se pode observar pela análise da figura 22.

De acordo com Talcott (2007) a perda de turgescência e o abrandamento dos tecidos são processos complexos, que dependem de muitos fatores, como a cultivar, condições de crescimento, dimensões, estágio de maturação e senescência, os quais podem ser retardados. A maioria dos processos de armazenamento e acondicionamento visam atrasar estas fases. Verificou-se que a temperatura de 0 °C retardou os níveis de amadurecimento e de senescência das amostras de framboesas das duas cultivares ('Maravilla' e 'Sevillana'), mais eficientemente que as temperaturas de 3° e 6 °C.

Na temperatura de 0 °C, as amostras de framboesas da cultivar Sevillana apresentaram valores de firmeza significativamente superiores aos das amostras de framboesas da cultivar Maravilla. O que já não se verificou nas temperaturas de 3° e

6°C, nas quais as framboesas da cultivar Maravilla apresentaram valores de firmeza superiores.

A firmeza segundo Sousa *et al.* (2007b) é interpretada como uma resposta mecânica intrínseca à estrutura da fruta, é influenciada pelos estágios de desenvolvimento fisiológico, grau de maturação, danos e identificação de fibrosidade e turgescência. Neste estudo, a perda de turgescência e o abrandamento dos tecidos são os principais fatores que explicam a diminuição da firmeza das amostras de framboesa, fatores que são muito dependentes da temperatura e tempo de armazenamento.

#### 4.1.2.3. °Brix

Os valores do °Brix são ligeiramente superiores na cultivar Maravilla no início do ensaio do que na cultivar Sevillana (Figura 23; Anexo 3).

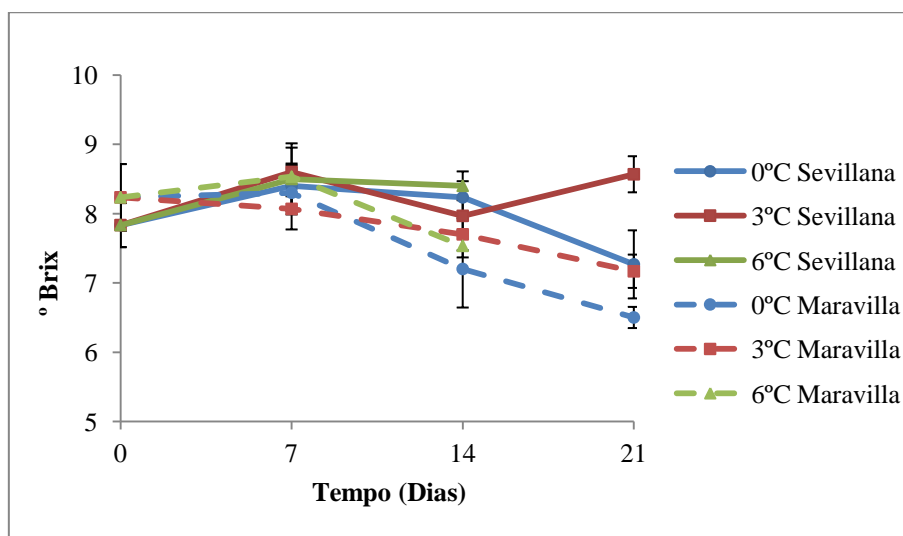


Figura 23 – Evolução do ° Brix das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

O °Brix aumenta ligeiramente nos primeiros 7 dias de armazenamento na cultivar Sevillana, mantém-se na cultivar Maravilla, e depois diminui ligeiramente nas amostras de framboesas das duas cultivares, ao longo dos restantes dias de armazenamento. Ao fim de 14 e 21 dias a cultivar Maravilla tem valores de °Brix inferiores à cultivar Sevillana.

A temperatura de 3 °C foi aquela que apresentou nas duas cultivares valores mais elevados de °Brix, no final do ensaio.

Os açúcares (glucose e frutose) são acumulados durante a maturação resultando num maior teor de sólidos solúveis ou °Brix. Resultados semelhantes foram obtidos por Kafkas *et al.* (2006) em 5 cultivares de amoras ('C. Thornless', 'Bursa 2', 'Navaho', 'Jumbo' e 'Loch Ness').

Como estudado por Mitchan (2007) obteve-se que o teor em sólidos solúveis (°Brix) mais elevados com o aumento da maturação das framboesas. Assim, verificou-se que a 'Sevillana' foi a cultivar que amadureceu mais rapidamente porque apresentou valores de °Brix superiores. Uma vez que a temperatura de 0 °C retarda os níveis de maturação, foi esta a temperatura que apresentou valores mais baixos de °Brix.

#### **4.1.2.4. Perda de Peso**

Os valores da perda de peso são significativamente superiores aos 6 °C, seguido por 3° e 0 °C em ambas as cultivares ao longo do tempo de armazenamento (Figura 24; Anexo 3).

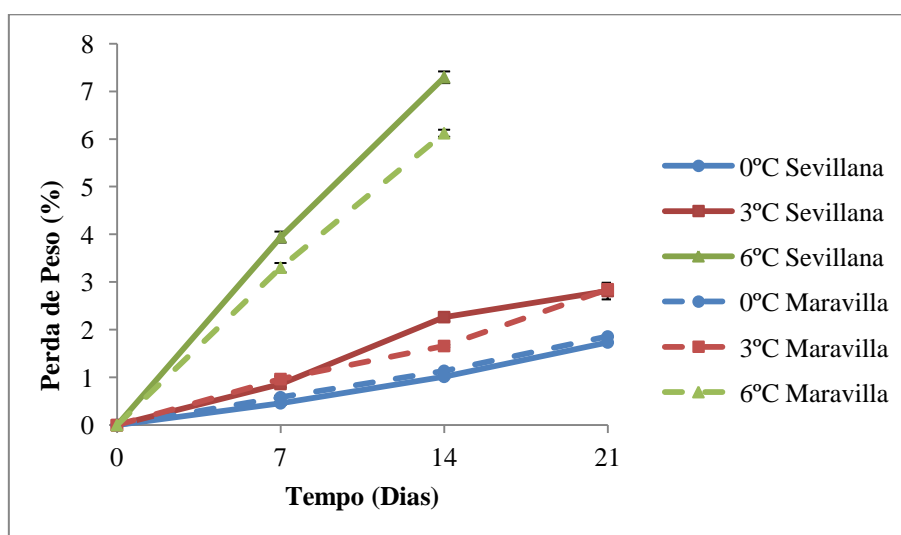


Figura 24 – Evolução da perda de peso das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Observa-se, pela análise da figura 24, que a temperatura de 6 °C nas duas cultivares é aquela em que se verifica maior valor de perda de peso e na qual as framboesas não resistiram os 21 dias de armazenamento, sendo observado nas framboesas da cultivar Sevillana valores mais elevados do que nas framboesas da cultivar Maravilla. Nas restantes temperaturas de armazenamento, não se verificam diferenças significativas de perda de peso entre as cultivares.

Pela análise da figura 24, verifica-se que a temperatura de 0 °C é a temperatura que significativamente melhor retarda a perda de peso.

A perda de peso está também muito associada aos níveis de amadurecimento das amostras de framboesa, isto é, segundo Micham (2007) com a inibição/retardamento da maturação e/ou vias de senescência. Sendo as amostras da cultivar Sevillana as que apresentaram níveis de amadurecimentos superiores, foram também as amostras que apresentaram valores de perda de peso mais elevados. O facto de se verificar também que houve uma proliferação nos níveis de amadurecimento com a ampliação da temperatura, a extensão da perda de peso das framboesas não só se intensifica com a maior maturação das framboesas, mas também aumenta com o reforçar das temperaturas de armazenamento.

### ***4.1.3. Avaliação das propriedades químicas das framboesas***

#### ***4.1.3.1. Fenóis totais***

O conteúdo fenólico apresenta diferenças significativas entre as cultivares (Figura 25; Anexo 3). Verifica-se que de uma maneira geral o conteúdo fenólico aumenta com o aumento da temperatura sendo os valores mais acentuados para a temperatura de armazenamento de 6 °C, ao fim de 14 dias, e dos 21 dias para os 3 °C. As amostras de framboesa da cultivar Sevillana foram as que apresentaram um conteúdo fenólico mais elevado.

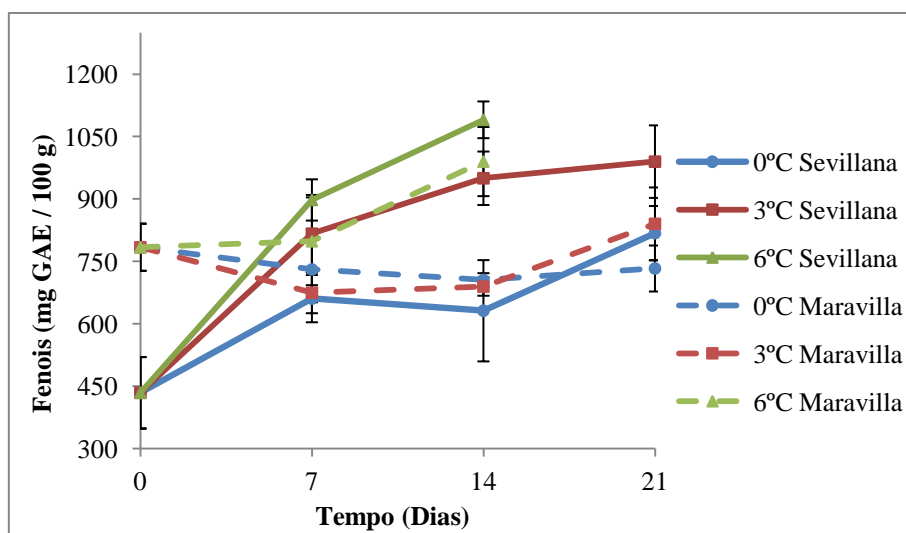


Figura 25 – Evolução do conteúdo fenólico total das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Pela análise da figura 25, as amostras da cultivar Maravilla apresentaram inicialmente uma quantidade significativamente superior de conteúdo fenólico. No entanto, permanecem praticamente constantes na temperatura de armazenamento de 0°C. Na temperatura de 3 °C o conteúdo fenólico só aumenta ao fim de 14 dias, permanecendo até então constante. Nas amostras da cultivar Maravilla só se verificou um crescimento significativo ao longo do tempo com a temperatura de armazenamento de 6 °C.

Durante os primeiros 7 dias, os fenóis totais das amostras de framboesa da cultivar Sevillana na temperatura de 0 °C aumentaram e de seguida mantêm-se constantes. Ao fim de 14 dias verifica-se que o conteúdo fenólico volta a aumentar. Na temperatura de 3 °C o conteúdo fenólico nas amostras da cultivar Sevillana apresentou acréscimos graduais ao longo do tempo. No entanto, verificaram-se aumentos muito mais acentuados na temperatura de 6 °C, apesar de não serem considerados significativos. Verificaram-se diferenças significativas na cultivar Sevillana entre a temperatura de 0 °C e as temperaturas de 3° e 6 °C, no decurso do tempo.

Segundo Kalt *et al.* (1999), a acidez titulável diminui durante o armazenamento e os ácidos orgânicos por meio de interconversão dos hidratos de carbono podem fornecer “esqueletos” de carbono para a síntese dos compostos fenólicos. Reyes *et al.*

(2007) salientam também que fatores como a luz, temperatura, stress hídrico, afetam a fisiologia de produtos frescos, desencadeando respostas que podem induzir a acumulação de compostos fenólicos.

O aumento dos compostos fenólicos também está associado, segundo Reyes *et al.* (2007), ao facto dos compostos fenólicos, possivelmente serem usados para a captação de espécies reativas de oxigénio.

Relativamente aos valores obtidos, os compostos fenólicos apresentaram valores superiores aos relatados na literatura. Segundo todos os estudos efetuados por Howard *et al.* (2007) os níveis de fenóis totais nas cultivares de framboesas vermelhas vão desde 192 a 512 mg /100 g (p.f.). Os níveis de fenóis totais deste estudo nas framboesas da cultivar Sevillana vão de 435-1090 mg /100 g (p.f.) e nas framboesas da cultivar Maravilla vão de 731-990 mg /100g (p.f.).

No entanto, observa-se uma ampla gama de valores descritos para as várias classes de compostos fenólicos nos frutos vermelhos. De acordo com Mertz *et al.* (2007), esta ampla gama pode ser atribuída a diferenças genéticas, práticas agrícolas diversas, condições ambientais, estágios de desenvolvimento incluindo níveis de maturação. A estes fatores, os mesmos autores referem que os teores finais dos compostos fenólicos são também afetados pelos diferentes solventes de extração e métodos de análise de quantificação.

#### **4.1.3.2. Antocianinas totais**

O teor de antocianinas apresenta diferenças significativas entre as duas cultivares. De uma maneira geral, aumentam com o aumento da temperatura e ao longo do tempo de armazenamento (Anexo 3). Verificou-se um crescimento significativo das antocianinas nos primeiros 7 dias de armazenamento e nos restantes dias observaram-se ligeiras subidas, sendo praticamente considerado que se mantém constante (apresentam valores ligeiramente superiores mas não considerados significativos).

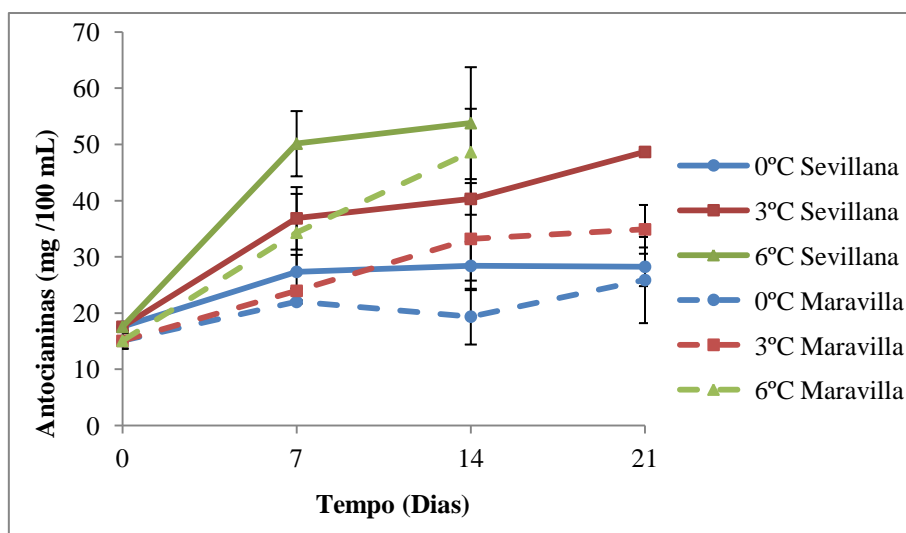


Figura 26 – Evolução do teor de antocianinas monoméricas das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

A figura 26 mostra que o tempo de armazenamento e o aumento da temperatura foram fatores que influenciaram significativamente o teor de antocianinas, o que vai ao encontro com o relatado na literatura por Pantelidis *et al.* (2007) e Rao *et al.* (2010).

Pela análise da figura 26, a cultivar Sevillana apresentou uma quantidade superior de antocianinas, ao longo do tempo em relação a cultivar Maravilla. Portanto, de acordo com Ancos *et al.* (2000) e Moyer *et al.* (2002), a cultivar e o seu estado de maturação são fatores que influenciam o teor de antocianinas.

Observou-se, neste estudo, que a maturação dos frutos durante o armazenamento teve um grande impacto na qualidade do fruto, na sua cor e na composição do pigmento final, o que também foi verificado por Monica *et al.* (2007) e Rao *et al.* (2010) nas cultivares de framboesas vermelhas como ‘Heritage’, ‘Summit’, ‘Willamette’ e ‘Zuravlik’. Durante o amadurecimento, as antocianinas acumularam-se no fruto, e resistiram durante os 21 dias em temperaturas relativamente baixas. A síntese de antocianinas depende, segundo Monica *et al.* (2007) de muitos fatores ecológicos e fisiológicos, mas também da cultivar. Na cultivar de framboesa Maravilla, a biossíntese das antocianinas prossegue uniformemente com o amadurecimento apesar da cultivar Sevillana apresentar quase sempre valores mais elevados de antocianinas totais. Deste

modo, e de acordo com Monica *et al.* (2007) e Rao *et al.* (2010) as mudanças de cor nos frutos podem ser atribuídas à síntese dos pigmentos e às mudanças de acidez do fruto.

Relativamente aos valores obtidos, as antocianinas apresentaram valores próximos dos relatados na literatura. Segundo estudos efetuados por Howard *et al.* (2007), os níveis de antocianinas vão desde 19-89 mg / mg (p.f.). Os níveis antocianinas deste estudo nas framboesas da cultivar Sevillana vão de 18-54 mg /100 g (p.f.) e nas framboesas da cultivar Maravilla vão de 15-48 mg /100g (p.f.).

As pequenas diferenças verificadas podem ser atribuídas à variabilidade inerente ao material vegetal, devido a fatores como a localização e as condições de crescimento. No entanto, outras fontes de variabilidade dos dados disponíveis na literatura podem ser devido a diferenças na metodologia utilizada para a quantificação. Segundo o observado por Castañeda-Ovando *et al.* (2009), obteve-se valores mais elevados quando as antocianinas foram extraídas com metanol e acetona, enquanto neste estudo para o método de extração utilizou-se o etanol.

Estes resultados mostraram que a preservação da conservação de antocianinas iniciais nos tecidos da framboesa e o seu aumento ao longo do tempo, possivelmente depende, segundo Ancos *et al.* (2000) do valor de pH, teor de ácidos orgânicos, da concentração de açúcares entre outros fatores.

#### **4.1.3.3. Taninos**

Verificaram-se diferenças significativas entre as duas cultivares (Figura 27; Anexo 3). Nas framboesas da cultivar Sevillana o teor de taninos aumenta com o aumento da temperatura de armazenamento, ao contrário da cultivar Maravilla em que o teor de taninos aumenta com a diminuição da temperatura de armazenamento.

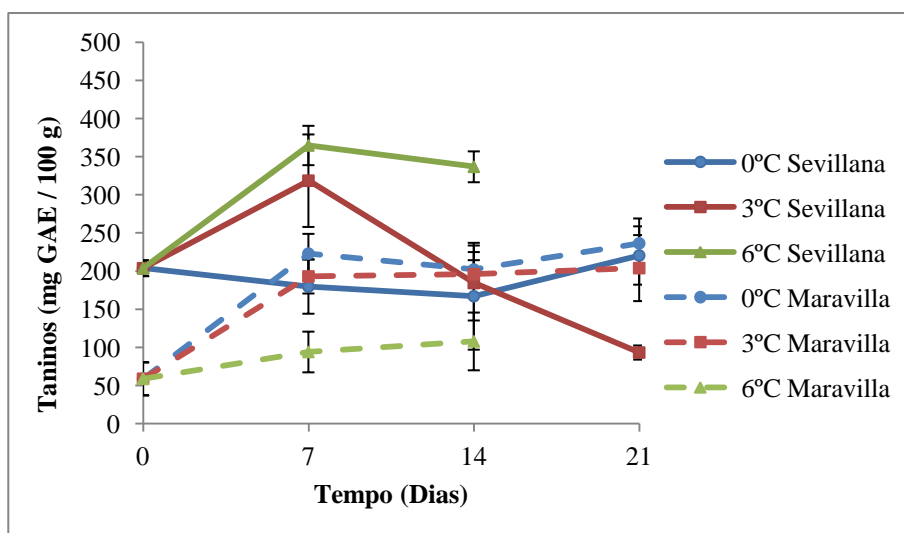


Figura 27 – Evolução do conteúdo de taninos das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

A cultivar Sevillana apresenta diferenças significativas entre os tempos de armazenamento mas não entre as temperaturas. Observa-se que com a elevação da temperatura o teor de taninos aumenta nos primeiros 7 dias de armazenamento e depois se mantém constante à exceção da temperatura de 3 °C em que se verifica um ligeiro decréscimo de taninos. Relativamente à cultivar Maravilla, a temperatura de 6 °C é à que apresenta valores significativamente diferentes das temperaturas de 0° e 3 °C e verifica-se apenas um aumento significativo do teor de taninos nos primeiros 7 dias, em todas as temperaturas e após estes 7 dias o teor de taninos mantém-se inalterável.

Observa-se pela análise da figura 27, que os taninos variam significativamente com a cultivar. O teor de taninos apresenta um comportamento mais constante na cultivar Maravilla.

No entanto, no final a temperatura de 0 °C nas duas cultivares foi aquela que apresentou valores superiores aos 3 °C e em ambas as temperaturas a cultivar Maravilla apresentou valores de taninos superiores aos da cultivar Sevillana.

Segundo Beekwilder *et al.* (2005), os padrões de taninos durante o amadurecimento das frutas ainda não são bem compreendidos. Os taninos do tipo proantocianinas de natureza dimérica foram observados nas framboesas ainda verdes,

sendo estes conhecidos por causar a adstringência em vinhos. Durante a maturação do vinho estes compostos condensam em polímeros, diminuem a sua solubilidade reduzindo deste modo a adstringência. De acordo ainda com Beekwilder *et al.* (2005) a adstringência das framboesas também é reduzida durante o amadurecimento das frutas. No entanto, outros estudos sugerem que os taninos diminuem não só durante o amadurecimento das framboesas, mas também com o aumento do conteúdo de outros compostos, tais como polissacáridos, que durante o amadurecimento dos frutos interrompem o efeito de adstringência. Diversos estudos sugerem fortemente que os taninos diminuem com o amadurecimento das framboesas (Wang *et al.*, 2007). No presente trabalho tal não foi tão evidente, particularmente na cultivar Maravilla, uma vez que se verificou um aumento do teor dos taninos ao longo do tempo. Vários são os métodos para a quantificação dos taninos, sendo alguns dos métodos específicos para os diversos tipos de taninos (galhotaninos, elagitaninos, taninos condensados). No presente trabalho tais ensaios não foram efetuados, apenas se avaliaram taninos totais. Deste modo, torna-se difícil comparar os resultados obtidos no presente trabalho com os dos autores referidos acima que avaliaram os teores de taninos específicos.

Os níveis de taninos deste estudo nas framboesas da cultivar Sevillana vão de 94-365 mg /100 g (p.f.) e nas framboesas da cultivar Maravilla vão de 59-237 mg /100g (p.f.).

#### **4.1.3.4. Ácido ascórbico**

Existem diferenças significativas entre as cultivares no que diz respeito aos teores de ácido ascórbico (Anexo 3).

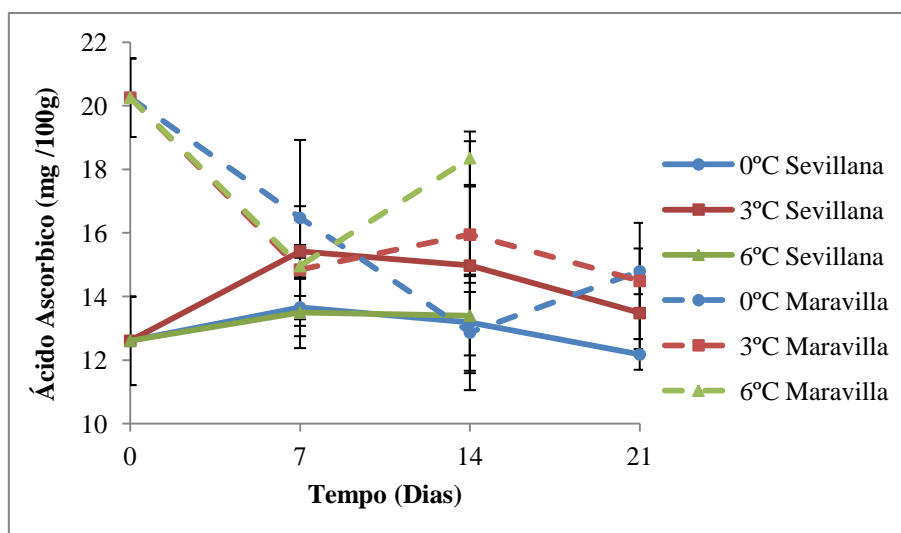


Figura 28 – Evolução da quantidade de ácido ascórbico das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Pela análise da figura 28, verifica-se uma diminuição do teor de ácido ascórbico ao fim de 14 dias de armazenamento na cultivar Sevillana. No início da experiência, a cultivar Maravilla apresenta um teor mais elevado de vitamina C que a cultivar Sevillana, contudo, rapidamente diminui, atingindo valores mais próximos dos encontrados para a cultivar Sevillana ao fim de 7 dias de armazenamento. Depois dos 14 dias, verificou-se um aumento do teor de ácido ascórbico.

Neste estudo, o ácido ascórbico das duas cultivares não parece ser afetado com a temperatura de armazenamento, apenas com o tempo de armazenamento. Ao longo do tempo de armazenamento deve ocorrer a oxidação do ácido ascórbico. O conteúdo inicial de ácido ascórbico das duas cultivares de framboesas (por volta dos 13 mg /100 g de (p.f.) na cultivar Sevillana e 21 mg /100g (p.f.) na cultivar Maravilla), apesar de relativamente baixo quando comparado com os resultados obtidos por Rao *et al.* (2010) [26,2 mg /100g (p.f.)], depende da cultivar.

Era de esperar, segundo Oliveira *et al.* (2010) que a estabilidade do ácido ascórbico presente nas framboesas se degradasse proporcionalmente à temperatura empregue, isto é, quanto maior a temperatura maior seria a perda de ácido ascórbico no meio. Também com a incidência da luz, a presença de oxigénio e compostos metálicos, e a atividade da água, acelera as reações de oxidação e favorecem

a degradação do ácido ascórbico. No entanto, não se verificou uma diminuição muito acentuada do ácido ascórbico, particularmente na cultivar Sevillana, possivelmente devido ao facto de se terem armazenado as amostras das framboesas em cuvetes cobertas com uma película de polietileno que reduziu a perda de água bem como a perda de ácido ascórbico devido ao menor contacto com o oxigénio presente no ar, de acordo com Mitcham (2007).

Segundo Kalt *et al.* (1999), a estabilidade do ácido ascórbico nas framboesas é atribuída ao seu elevado conteúdo de ácido e do efeito protetor dos antioxidantes fenólicos do fruto. A estabilidade relativa neste estudo, segundo os estudos referidos, do ácido ascórbico pode estar relacionada com os compartimentos intracelulares do ascorbato no fruto. Os compostos fenólicos estão localizados no vacúolo celular que é um ambiente de pH muito baixo e ocupa a maioria do volume celular. Todas as células vegetais têm ácido ascórbico em compartimentos como citosol e noutros compartimentos celulares, os quais não estão protegidos pelos compostos fenólicos e pelo ambiente de baixo pH do vacúolo. Nos frutos que têm valores elevados de ácido ascórbico, a maior parte da vitamina C está localizada no vacúolo, e portanto menos suscetível a perdas.

O estudo da evolução do ácido ascórbico, ao longo do tempo, também se revelou importante pois este possui propriedades redutoras que são importantes para a inibição das reações que levam ao escurecimento das framboesas.

#### **4.1.3.5. Carotenoides**

Não existem diferenças significativas no que diz respeito aos teores de carotenoides entre as cultivares (Anexo 3).

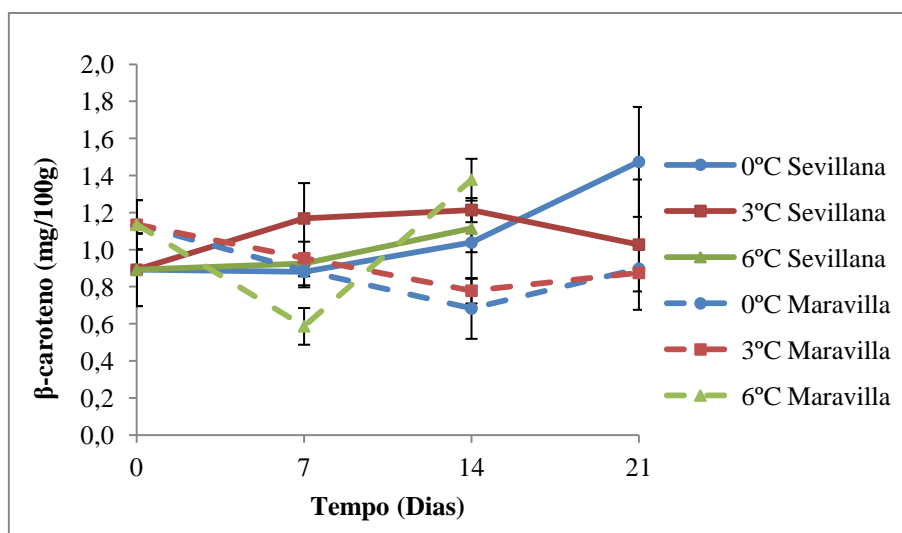


Figura 29 – Evolução da quantidade de  $\beta$ -caroteno das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

De um modo geral, verifica-se pela análise da figura 29, que a quantidade deste pigmento, no decorrer do tempo, permaneceu praticamente constante. As exceções incluem as amostras da cultivar Sevillana mantidas a 0 °C, que a partir dos 14 dias de armazenamento verificou-se um aumento da concentração dos carotenoides e a cultivar Maravilla que aos 6 °C diminuiu significativamente nos primeiros 7 dias e depois aumenta nos restantes 7 dias.

Neste estudo os carotenoides das duas cultivares não parece ser afetado com a temperatura e com o tempo de armazenamento. Como referenciado, nos estudos de Monica *et al.* (2007), os carotenoides são estáveis e permanecem no tecido das framboesas ('Heritage', 'Summit', 'Willamette' e 'Zuraevlik') até à sua senescência.

#### **4.1.3.6. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)**

A capacidade antioxidante medida pelo método TEAC nos extratos etanólicos apresenta diferenças significativas entre as duas cultivares analisadas de framboesas (Figura 30; Anexo 3).

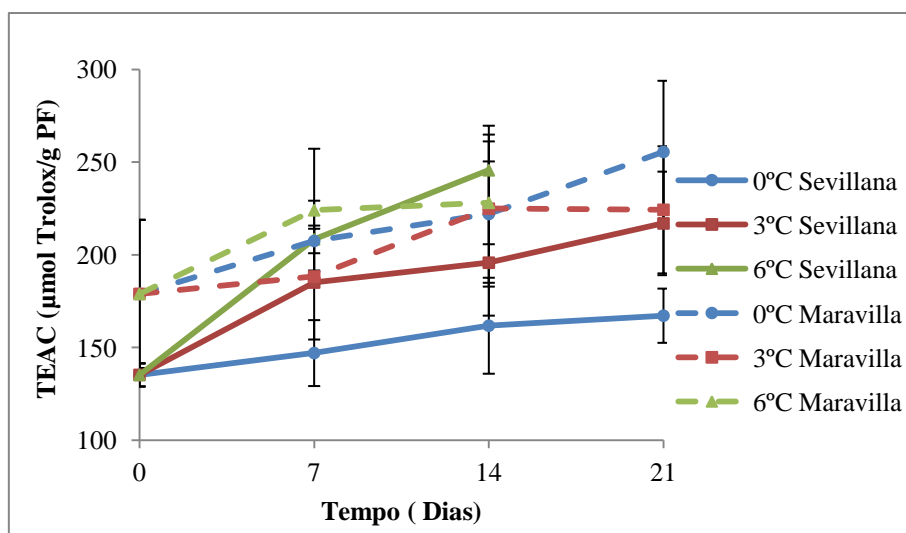


Figura 30 – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método TEAC de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em etanol ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

A capacidade antioxidante dos extratos etanólicos da cultivar Sevillana aumentou com o aumento da temperatura e ao longo do tempo de armazenamento. A capacidade antioxidante das amostras da cultivar Maravilla aumentou, embora de maneira não significativa, com a elevação da temperatura e no decorrer do tempo. A capacidade antioxidante das amostras de framboesa da cultivar Maravilla foi superior à outra cultivar (Figura 30).

A capacidade antioxidante das amostras de framboesa da cultivar Maravilla praticamente mantém-se constante ao longo do tempo (apresenta ligeiros aumentos que não são significativos). O mesmo não acontece com a cultivar Sevillana, a capacidade apresenta comportamentos diferentes consoante a temperatura. Aos 0 °C, os valores da capacidade antioxidante praticamente mantêm-se inalteráveis, aos 3 °C verifica-se um aumento nos primeiros 7 dias depois permanece constante até aos 14 dias e volta a aumentar novamente nos últimos 7 dias. Por último, nos 6 °C verifica-se uma subida da capacidade ao longo do tempo.

A capacidade antioxidante medida pelo método TEAC nos extratos metanólicos apresenta diferenças significativas entre as duas cultivares analisadas de framboesas (Figura 31; Anexo 3).

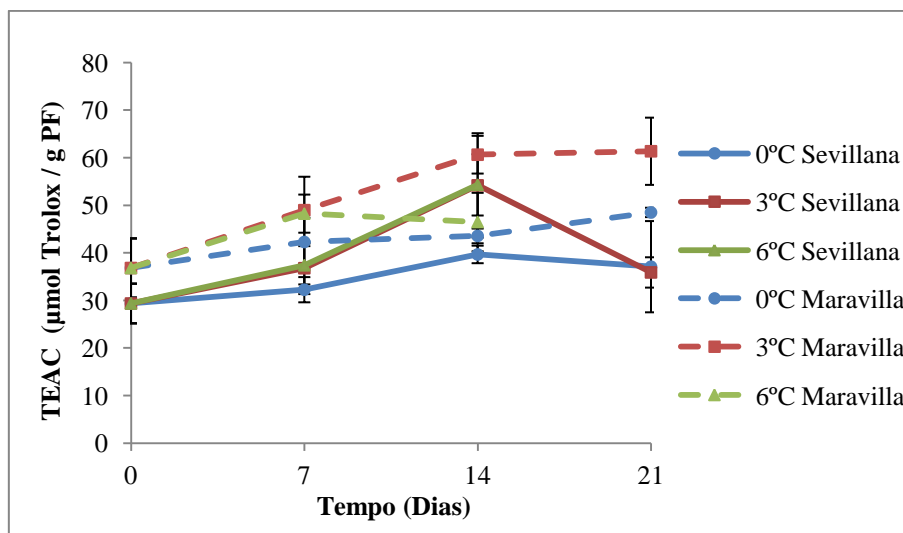


Figura 31 – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método TEAC de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Os extratos metanólicos da cultivar Sevillana apresentaram uma capacidade antioxidante que aumentou à medida que aumentava a temperatura de armazenamento, exceto à temperatura de 3 °C, que a partir de 14 dias de armazenamento, a capacidade antioxidante diminuiu. Na cultivar Maravilla, as ligeiras subidas da capacidade antioxidante ao longo do tempo e nas diversas temperaturas não são consideradas significativas. Verificou-se apenas um aumento significativo nos primeiros 7 dias, permanecendo praticamente constante nos restantes dias de armazenamento, à exceção das amostras mantidas a 3 °C. A capacidade antioxidante das amostras da cultivar Maravilla foi superior à capacidade das amostras da cultivar Sevillana.

A capacidade antioxidante medida pelo método TEAC nos extratos em hexano apresenta diferenças significativas entre as duas cultivares analisadas de framboesas (Figura 32; Anexo 3).

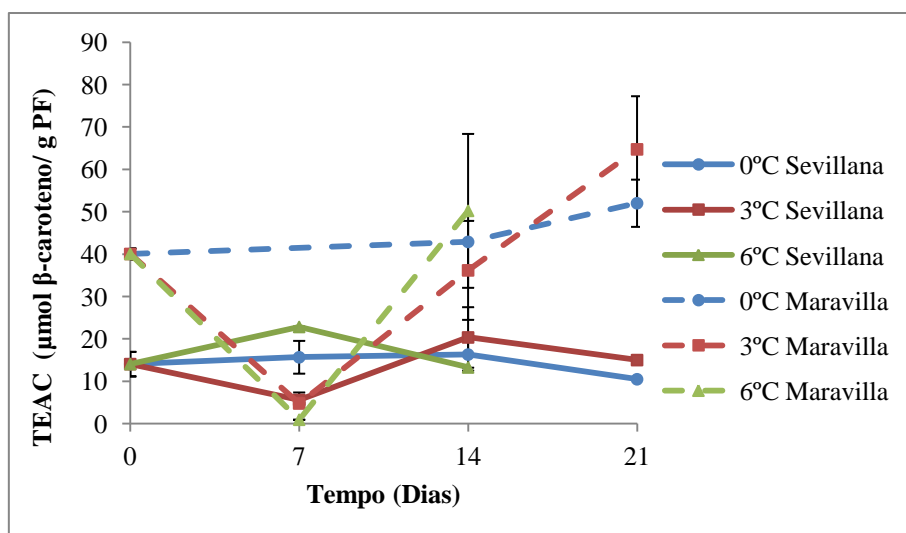


Figura 32 – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método TEAC de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em hexano ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

A capacidade antioxidante das amostras da cultivar Sevillana não sofreu alterações no decorrer do tempo de armazenamento e nas diversas temperaturas de armazenamento. Na cultivar Maravilla, a capacidade antioxidante não apresentou diferenças significativas entre as temperaturas, mas sim ao longo do tempo de armazenamento. Aos 0 °C, a capacidade praticamente mantém-se constante, aos 3 °C e aos 6 °C verificou-se uma diminuição da capacidade antioxidante nos primeiros 7 dias, e uma subida nos restantes dias. Wang *et al.* (2007) observaram que a capacidade antioxidante e o conteúdo de polifenóis variam consideravelmente com diferentes estados de maturação. Resultados semelhantes foram obtidos neste estudo, a capacidade antioxidante aumenta com o aumento do tempo de armazenamento, ou seja, com o aumento dos estágios de maturação que se verifica ao longo do tempo.

Comparando com os estudos de Kalt *et al.* (1999) os valores obtidos para a capacidade antioxidante pelo método TEAC neste estudo são mais baixos em relação a outras cultivares de framboesas.

O método de extração teve uma influência importante nos resultados finais. Ao comparar as três figuras 30, 31 e 32, verifica-se que se obteve valores superiores de capacidade antioxidante quando as amostras foram extraídas com etanol, mostrando-se ser este o método mais eficaz (Extrato etanólico: 135,3-255,5  $\mu$ mol Trolox / g (p.f.);

Extrato metanólico: 29,3-60,6  $\mu\text{mol Trolox / g (p.f.)}$ ; Extrato hexano: 0,946-50,2  $\mu\text{mol } \beta\text{-caroteno / g (p.f.)}$ .

Autores como Wang *et al.* (2000b) encontraram correlações positivas entre o conteúdo total de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante dos frutos. No entanto, segundo Garcia-Alonso *et al.* (2004) estes resultados devem ser interpretados com cautela pois foram obtidos utilizando o método Folin-Ciocalteu para a determinação de compostos fenólicos totais, tal como neste estudo, apesar de ser amplamente aceite e se verificar como método de eleição em muitos artigos, não é muito específico, porque não só quantifica compostos fenólicos, mas simultaneamente outros compostos redutores.

#### 4.1.3.7. ORAC ( *Oxygen Radical Absorbance Capacity* )

A capacidade antioxidante, determinada pelo método ORAC, dos extratos etanólicos das cultivares de framboesas analisadas não apresenta, na generalidade dos casos, diferenças significativas, nas diferentes temperaturas e ao longo do tempo de armazenamento (Figura 33; Anexo 3).

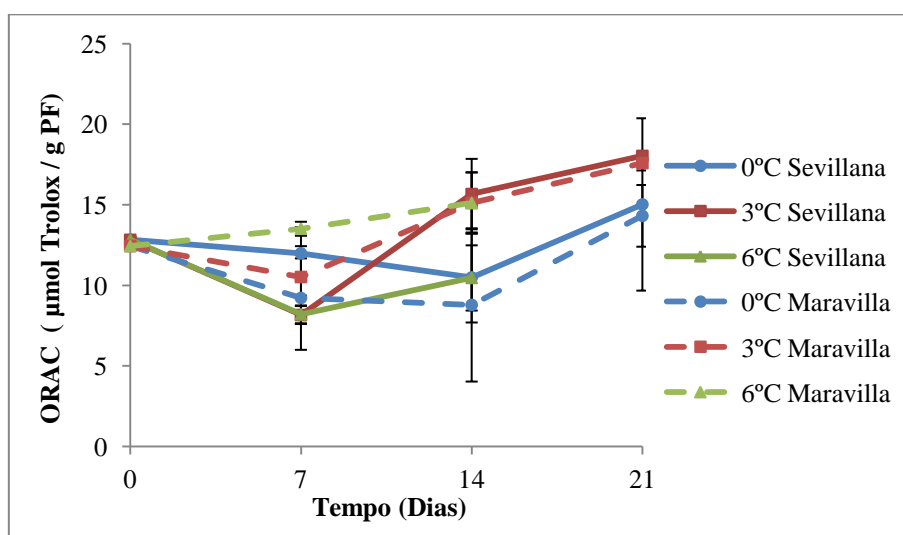


Figura 33 – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método ORAC, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em etanol, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Como se pode verificar pela análise do gráfico 33, a capacidade antioxidante das amostras de framboesa da cultivar Maravilla praticamente mantém-se constante ao longo do tempo, o que não acontece com as amostras de framboesa da cultivar Sevillana. Esta cultivar apresenta comportamentos diferentes com um aumento da temperatura. Nas amostras da cultivar Sevillana aos 0 °C, a capacidade antioxidante praticamente mantém se constante, verificando uma ligeira subida a partir dos 14 dias de armazenamento. Aos 3 °C verifica-se um aumento da capacidade a partir dos 7 dias de armazenamento, depois de ter sofrido uma diminuição desde o tempo 0. Por último, nos 6 °C observa-se uma redução da capacidade nos primeiros 7 dias e depois volta a subir nos restantes 7 dias.

No final, os valores superiores de capacidade antioxidante quantificada pelo método ORAC verifica-se aos 3 °C, sendo a cultivar Sevillana a que apresenta os valores mais elevados.

A capacidade antioxidante, determinada pelo método ORAC, dos extratos metanólicos das cultivares de framboesas estudadas apresenta diferenças significativas entre as duas cultivares, nas diferentes temperaturas e ao longo do tempo de armazenamento (Figura 34; Anexo 3).

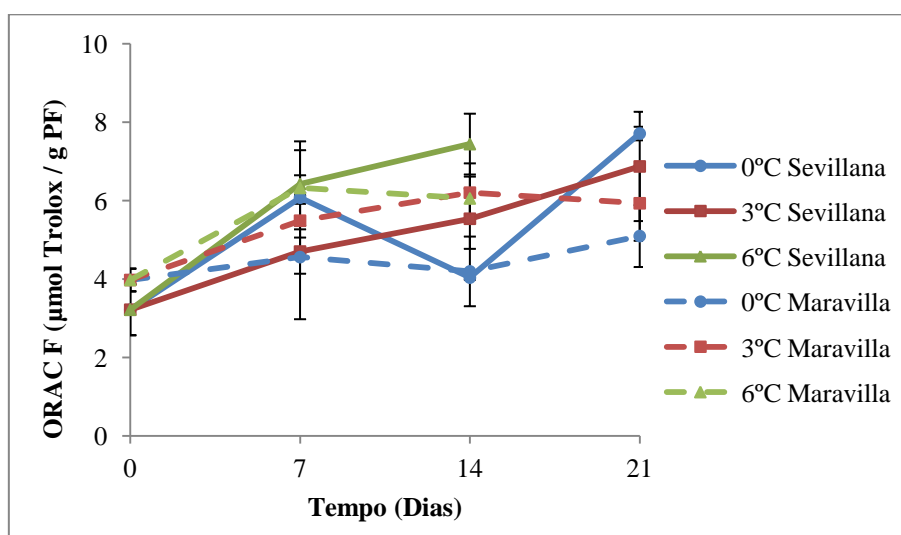


Figura 34 – Evolução da capacidade de antioxidante determinada pelo método ORAC, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

As amostras dos extratos metanólicos da cultivar Maravilla são aquelas que apresentam inicialmente valores superiores de capacidade antioxidante (Figura 34), no entanto, no final são as amostras da cultivar Sevillana que apresenta maior capacidade antioxidante.

A capacidade antioxidante das framboesas da cultivar Maravilla não apresentou diferenças significativas entre as diferentes temperaturas e ao longo do tempo de armazenamento. A capacidade antioxidante do extrato metanólico da cultivar Maravilla mantém-se praticamente inalterável nas temperaturas de 0 °C e 3 °C ao longo do tempo, e na temperatura de 6 °C aumenta nos primeiros 7 dias e depois permanece constante. O que não acontece com os extratos da cultivar Sevillana (Figura 34), estes extratos apresentam comportamentos diferentes com a elevação da temperatura. A temperatura de 0 °C apresenta valores de capacidade antioxidante significativamente superiores às temperaturas de 3 °C e 6 °C. Os valores da cultivar Sevillana aos 0 °C, sobem nos primeiros 7 dias, diminuem de seguida e verifica-se uma novamente uma subida nos últimos 7 dias. Aos 3 °C aumentam ao longo do tempo. Por último, nos 6 °C verifica-se um aumento da capacidade antioxidante nos primeiros 7 dias e depois permanece constante.

No final, a temperatura de 3 °C é a temperatura que apresenta valores de capacidade antioxidante superiores nas amostras da cultivar Maravilla e nos 0 °C é a temperatura onde a capacidade antioxidante é superior nas amostras da cultivar Sevillana.

Verifica-se que a capacidade antioxidante medida pelo método ORAC apresenta diferenças entre as cultivares de framboesas estudadas e com o tipo de solvente usado para a extração das várias frações de amostras das framboesas.

Segundo Wang *et al.* (2007), os açúcares ligados às aglíconas dos compostos fenólicos podem ser responsáveis pela diversidade de capacidades antioxidantes, uma vez que a eficiência de captação de radicais livres pelo antioxidante depende da sua capacidade de formar um radical mais estável, as diferentes moléculas de açúcar podem dificultar ou não a doação de um eletrão ou hidrogénio por parte dos compostos fenólicos, diminuindo ou aumentando respetivamente a capacidade. Não é

surpreendente que valores diferentes de capacidade antioxidante quantificados pelo método ORAC tenham sido diferentes entre os investigadores.

A capacidade antioxidante de um composto depende de qual dos radicais livres ou oxidante é utilizado no ensaio, a utilização de métodos quimicamente diferentes para medir a capacidade antioxidante irá produzir diferentes capacidades. Diferentes ensaios com diferentes geradores de radicais livres, pontos finais, e sistemas de quantificação têm sido utilizados por outros investigadores. No entanto, segundo Wang *et al.* (2000b) o método ORAC é superior a outros métodos semelhantes, pois na quantificação da capacidade utiliza-se a área sob a curva - técnica (AUC) que combina tempo e grau de inibição da ação dos radicais livres, por um antioxidante numa determinada concentração.

De acordo com Wang *et al.* (2000b), as capacidades antioxidantes de extratos de etanol medidos utilizando o método ORAC podem contribuir como antioxidantes significativos nas propriedades das framboesas estudadas.

O método de extração teve uma influência importante nos resultados finais. Ao comparar as figuras 33 e 34, obteve-se valores superiores de capacidade antioxidante quantificada pelo método ORAC quando os extratos das amostras foram extraídos utilizando o etanol, mostrando-se ser este o mais eficaz (extrato etanólico: 8-18  $\mu\text{mol TE} / \text{g (p.f.)}$  e no extrato metanólico: 3-8  $\mu\text{mol TE} / \text{g (p.f.)}$ ).

Sendo o método TEAC e o método ORAC, dois métodos para quantificar a capacidade antioxidante, verificou-se que os extratos apresentaram capacidades antioxidantes mais elevadas no método TEAC, comparativamente ao método ORAC, o que pode sugerir que a capacidade dos extratos se deve ao poder redutor dos compostos presentes no referido extrato. O método TEAC baseia-se na transferência de eletrões ao passo que o método ORAC se baseia na transferência de hidrogénios. Do exposto, os compostos presentes nos extratos devem atuar como antioxidantes por doação de eletrões e não de hidrogénio, dado que as capacidades são maiores no método TEAC.

Wang *et al.* (2000b) encontraram uma relação linear entre os valores obtidos pelo método ORAC e as antocianinas ou o conteúdo fenólico total das framboesas

vermelhas, nas cultivares ‘Autumn Bliss’, ‘Canby’, ‘Sentry’ e ‘Summit’. Kalt *et al.* (1999) também descreveram que a composição fenólica, as antocianinas e capacidade antioxidante em frutos de framboesas (*Rubus idaeus Michx., cultivar Nova*), mudou durante os tratamentos pós-colheita, armazenamento e a capacidade antioxidante foi correlacionada com o teor de compostos fenólicos e antocianinas.

Os valores da capacidade antioxidante, quantificada pelo método ORAC, foram mais baixos (extrato etanólico: 8-18  $\mu\text{mol TE / g}$  (p.f.) e no extrato metanólico: 3-8  $\mu\text{mol TE / g}$  (p.f.)) que os relatados por Howard *et al.* (2007), [37,4-57,9  $\mu\text{mol TE / g}$  (p.f.)] para as framboesas vermelhas.

#### 4.1.3.8. Oxigénio Singlete

Existem diferenças significativas na capacidade antioxidante, medida pela percentagem de captação do oxigénio singlete, em extratos etanólicos das duas cultivares estudadas, apresentando as framboesas das duas cultivares comportamentos diferentes (Figura 35; Anexo 3).

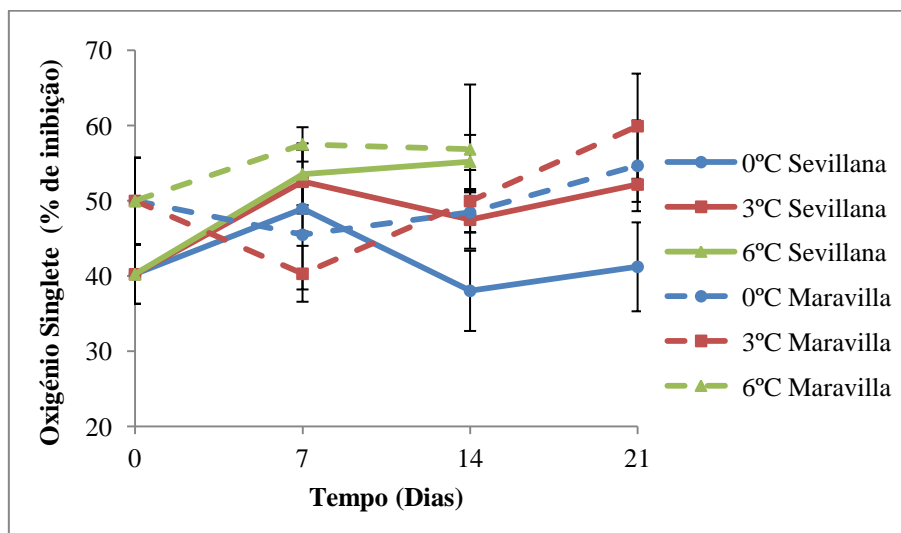


Figura 35 – Evolução da percentagem captação de Oxigénio Singlete, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em etanol, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

A percentagem de captação do oxigénio singlete nas amostras da cultivar Maravilla permanece constante ao longo do tempo e entre as temperaturas, não se

verificam diferenças significativas entre os valores obtidos. As amostras da cultivar Sevillana apresentam valores significativamente superiores na temperatura de armazenamento de 3 °C e os valores aumentam nos primeiros 7 dias e depois diminuem ligeiramente nos restantes tempos.

Inicialmente as amostras da cultivar Maravilla são as que apresentam valores superiores para a percentagem de captação de oxigénio singleto. Verifica-se depois que nas amostras da cultivar Sevillana, as percentagens aumentam nos restantes dias, apresentando no final a cultivar Maravilla valores superiores. Em ambas as cultivares, a temperatura que apresenta valores superiores é a de 3 °C.

Verifica-se que a percentagem de captação do oxigénio singleto das amostras da cultivar Sevillana a 0 °C e a 3 °C aumenta nos primeiros 7 dias, depois diminui e nos últimos 7 dias volta a aumentar. Aos 6 °C verifica-se que elevam nos primeiros 7 dias e depois permanecem constantes. Relativamente às amostras da cultivar Maravilla verifica-se que na temperatura de 0 °C e aos 6 °C, a percentagem de inibição praticamente se mantêm constante, não apresentando diferenças significativas entre si. Aos 3 °C verifica-se uma diminuição da percentagem de captação do oxigénio singleto significativa nos primeiros 7 dias e depois aumenta ao longo do restante tempo.

Existem diferenças significativas na percentagem de captação do oxigénio singleto medida em extratos metanólicos das duas cultivares estudadas, apresentando as framboesas das duas cultivares comportamentos diferentes (Figura 36; Anexo 3).

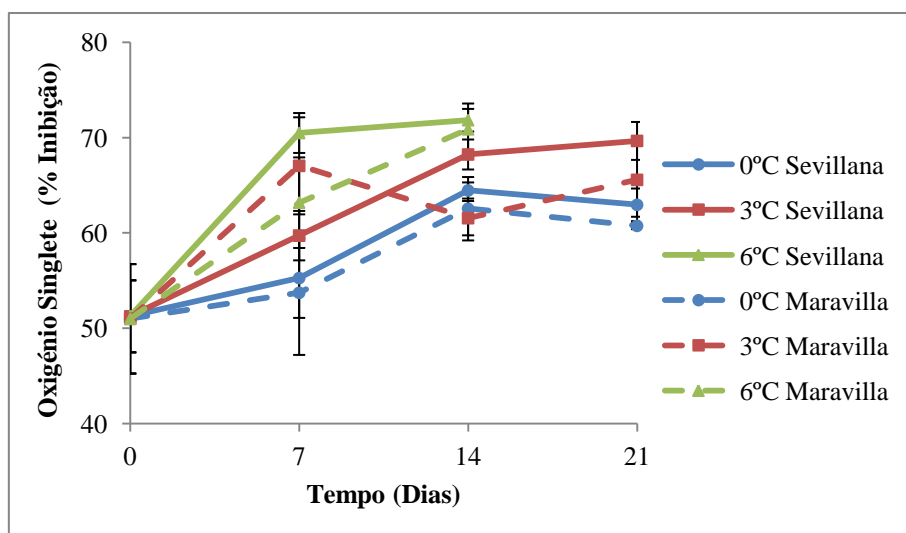


Figura 36 – Evolução da percentagem de captação de Oxigénio Singlete, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

A percentagem de captação do oxigénio singlete em ambos os extratos metanólicos das cultivares (Figura 36) aumenta nos primeiros 14 dias, diferenciando o comportamento nos últimos 7 dias. Observa-se que os valores finais são superiores na temperatura de 3 °C, apresentando as amostras da cultivar Sevillana valores superiores às amostras da cultivar Maravilla.

A percentagem de inibição nas amostras da cultivar Sevillana na temperatura de 0 °C aumenta até os 14 dias e nos restantes 7 dias diminui. Aos 3 °C verifica-se que aumenta ao longo do tempo permanecendo apenas constante nos últimos dias. Aos 6 °C aumenta nos primeiros 7 dias e nos restantes 7 permanece constante.

A percentagem de inibição das amostras da cultivar Maravilla aos 0 °C continua praticamente inalterável, não apresentando diferenças significativas ao longo do tempo, aos 3 °C verifica-se que não mantém um padrão fixo, verificando-se aumentos intercalados com diminuições. Aos 6 °C, a capacidade de captação do oxigénio singlete aumenta ao longo do tempo, muito particularmente nos últimos 7 dias.

Existem diferenças significativas na percentagem de captação do oxigénio singlete medida nos extratos de hexano das duas cultivares estudadas, apresentando as framboesas das duas cultivares comportamentos diferentes (Figura 37; Anexo 3).

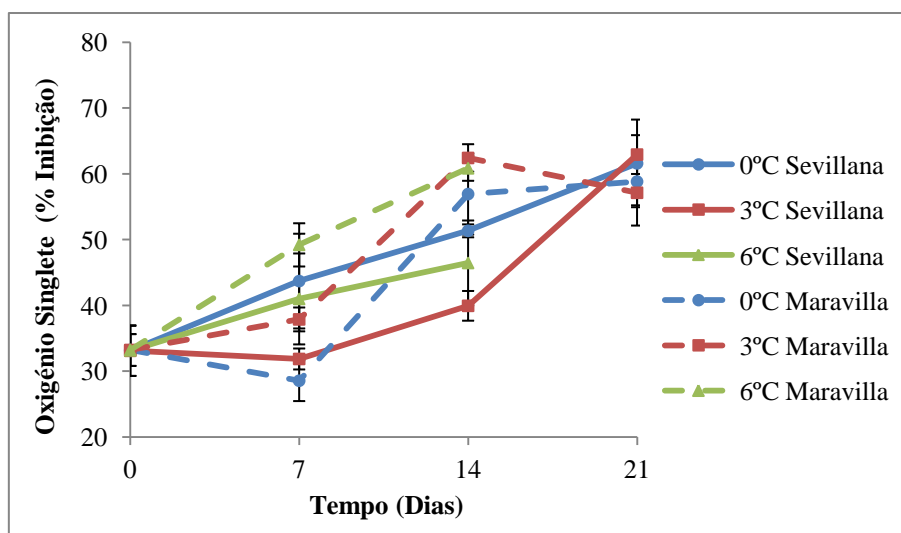


Figura 37 – Evolução da percentagem de captação de Oxigénio Singlete, de amostras das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em hexano, ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

De um modo geral, os valores de oxigénio singlete determinados em amostras extraídas por hexano aumentam ao longo do tempo e diminuem com a subida da temperatura (Figura 37). As duas cultivares apresentam valores de captação de oxigénio singlete significativamente diferentes.

Verifica-se que nas amostras da cultivar Sevillana as percentagens de inibição aumentam com a diminuição da temperatura e que aumentam ligeiramente ao longo do tempo, apresentando aumentos significativos só a partir dos 7 dias de armazenamento. Nas amostras de framboesa da cultivar Maravilla as percentagens aumentam com a elevação da temperatura, apesar de não se considerar estatisticamente significativo, e exibem aumentos ao longo do tempo, considerados significativos a partir dos 7 dias de armazenamento.

As amostras da cultivar Maravilla apresentam valores de atividade superiores comparativamente às amostras da cultivar Sevillana, ao longo dos 14 dias, sendo que no final as duas cultivares apresentam valores muito próximos.

Segundo os estudos de Wang *et al.* (2000a) as diferentes cultivares mostraram diferentes graus de capacidade de captação das espécies ativas de oxigénio. No presente

estudo, as duas cultivares ('Maravilla' e 'Sevillana') apresentaram diferentes capacidades antioxidantes entre si e entre as diferentes temperaturas de armazenamento.

Verifica-se que o método de extração não influenciou a capacidade de captação do oxigénio singlete, e que os valores obtidos são semelhantes aos encontrados por Wang *et al.* (2000a) no estudo de 5 cultivares de framboesas ('Autums Bliss', 'Jewel', 'Canby', 'Sentry' e 'Summit') em que os valores obtidos foram 47,5-66,9 % de inibição.

#### 4.1.4. Açúcares

##### 4.1.4.1. Glucose

Verifica-se, pela análise da figura 38, que os valores de glucose, no geral diminuem com o aumento da temperatura e aumentam ao longo do tempo de armazenamento.

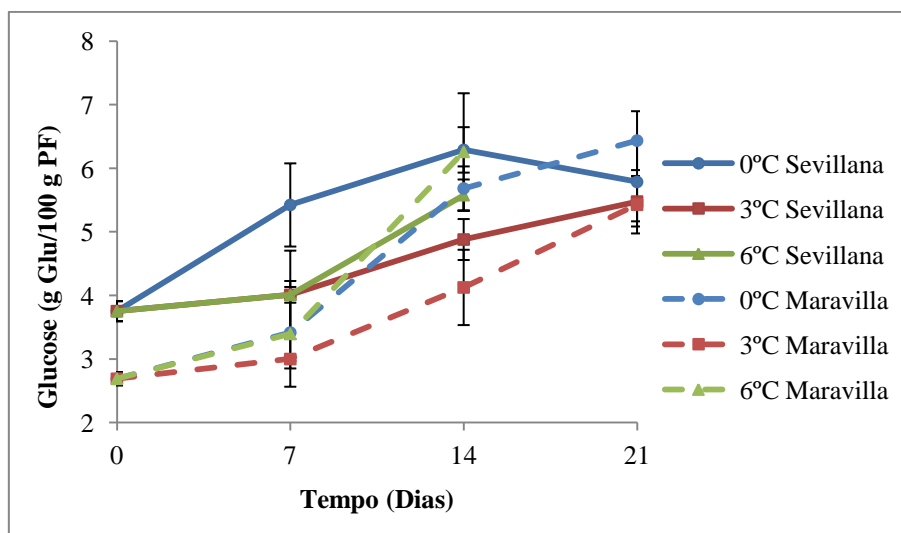


Figura 38 – Evolução do teor de glucose das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Inicialmente a cultivar Sevillana é a que apresenta valores superiores de glucose e tendem a aumentar ao longo do tempo.

Nos primeiros 7 dias, os valores de glucose das amostras da cultivar Sevillana à temperatura de 0 °C aumentam significativamente, permanecendo constante nos restantes dias, aos 3 °C verifica-se aumentos ao longo do tempo de armazenamento, sendo só considerada significativa a subida após os 7 dias (Anexo 3). Aos 6 °C verificam-se aumentos no decorrer do tempo, sendo só considerada significativa a elevação após os 14 dias de armazenamento. Relativamente às amostras de framboesa da cultivar Maravilla aos 0 °C, os valores de glucose aumentam ligeiramente nos primeiros 7 dias e depois aumentam significativamente até aos 14 dias e voltam a subir ligeiramente, aos 3 °C e 6 °C os valores de glucose para as amostras da cultivar Maravilla aumentam ligeiramente nos primeiros 7 dias e depois aumentam significativamente ao longo do tempo (Anexo 3).

Os valores de glucose no final são superiores para a cultivar Maravilla a uma temperatura de 0 °C, sendo, no entanto, a cultivar Sevillana que inicialmente apresenta valores superiores de glucose

#### **4.1.4.2 . Frutose**

Verifica-se que os valores de frutose, no geral aumentam com o aumento da temperatura, com diferenças significativas na temperatura de 6 °C (Figura 39; Anexo 3). As amostras das duas cultivares apresentam valores significativamente diferentes ao longo do tempo, tendem a aumentar nos 14 dias de armazenamento e a diminuir nos últimos 7 dias.

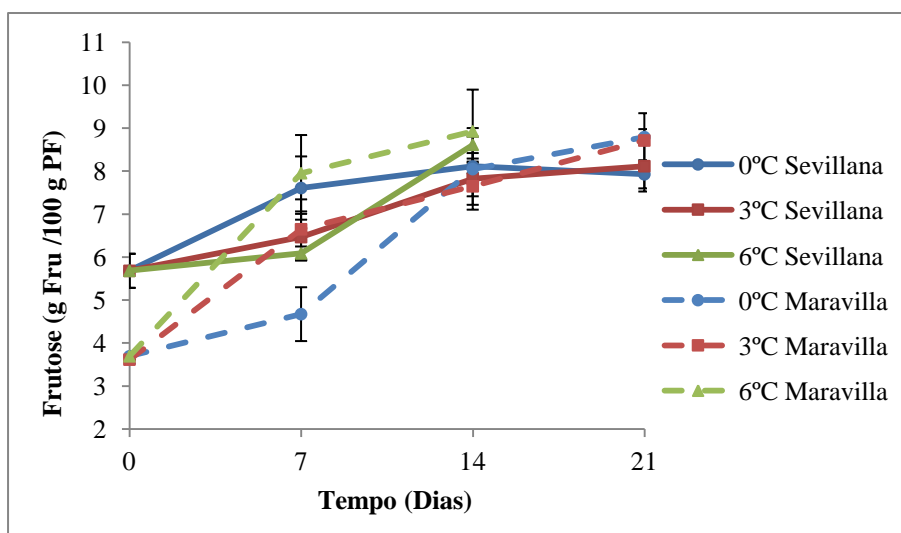


Figura 39 – Evolução do teor de frutose das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 7, 14 e 21 dias de armazenamento em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Inicialmente a cultivar Sevillana é a que apresenta valores superiores de frutose, mas que tendem a permanecer constantes ao longo do tempo.

Na cultivar Sevillana, os valores de frutose tendem a aumentar significativamente com a diminuição da temperatura e com o aumento do tempo de armazenamento. Os valores da frutose nas amostras da cultivar Maravilla não apresentam diferenças significativas entre as temperaturas, diminuindo ligeiramente com o aumento da temperatura, e no decorrer do tempo aumentam significativamente nos 14 dias de armazenamento, não sendo considerada significativa a subida nos últimos 7 dias de armazenamento.

Nos primeiros 7 dias, os valores de frutose da cultivar Sevillana na temperatura de 0 °C aumentam, permanecendo constante nos restantes dias, aos 3 °C só aumentam depois dos primeiros 7 dias até aos 14 dias e continuam estáveis até ao final do tempo de armazenamento. Aos 6 °C depois dos primeiros 7 dias os valores de frutose elevam-se ao longo do tempo de armazenamento. Relativamente à cultivar Maravilla aos 0 °C os valores de frutose permanecem inalteráveis nos primeiros 7 dias e depois aumentam até aos 14 dias e voltam a ficar constantes, aos 3 e 6 °C os valores de frutose para a Maravilla aumentam nos primeiros 7 dias e depois continuam inalteráveis no decorrer do tempo.

Os valores de frutose no final são superiores para a cultivar Maravilla a uma temperatura de 0 °C, sendo, no entanto, a cultivar Sevillana que inicialmente apresentam valores superiores.

A concentração de frutose é citada com valores de 2,35 g /100 g (p.f.) e a glucose com valores de 1,86 g /100 g (p.f.) nas framboesas vermelhas (Rao *et al.*, 2010). No presente estudo foram encontrados valores superiores aos da literatura, possivelmente devido as diferenças entre as cultivares, localização geográfica, condições edafo-climáticas e ao método de quantificação, entre outros fatores que podem explicar estas diferenças.

Tal como nos resultados de Rao *et al.* (2010) obteve-se no presente estudo valores de frutose superiores aos da glucose, nas duas cultivares.

A composição química de açúcar neste estudo está de acordo com os estudos referidos por Kafkas *et al.* (2006). Como os açúcares principais encontrados nas framboesas foram a frutose e glucose, as suas concentrações variaram segundo o grau de maturação. A frutose e glucose foram positivamente correlacionadas com os conteúdos dos sólidos solúveis nas framboesas. Verifica-se o mesmo nos estudos efetuados por Kafkas *et al.* (2006) em amoras em que os níveis de açúcares (frutose e glucose) foram superiores nas cultivares que apresentaram valores superiores de açúcares totais.

#### ***4.1.5. Análise Sensorial***

O painel de provadores foi de grande utilidade como complemento às análises ao fornecerem uma avaliação sensorial das duas cultivares de framboesa ('Maravilla' e 'Sevillana').

O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que ambas as cultivares apresentaram uma boa qualidade (>3 numa escala de 1-5) nos primeiros 7 dias como se pode verificar pelas figuras abaixo representadas.

#### 4.1.5.1 . Aparência do fruto

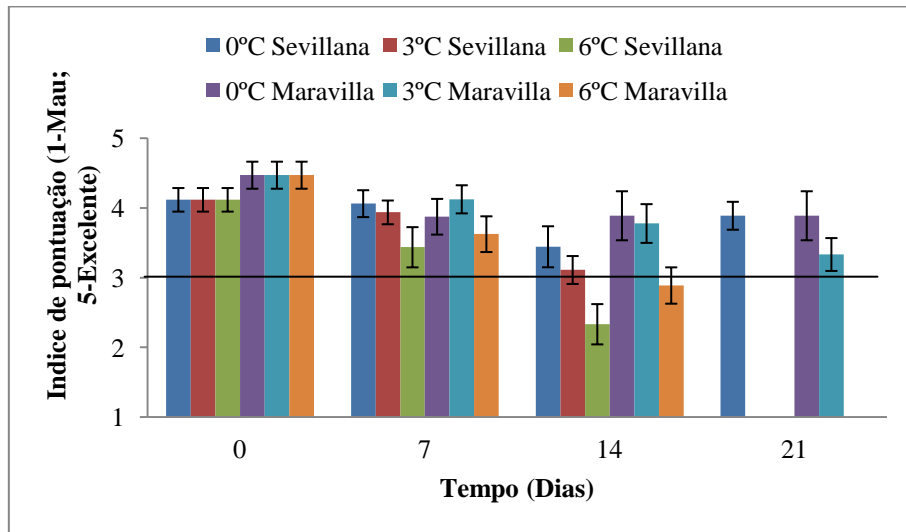


Figura 40 - Evolução da aparência dos frutos das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6 °C, por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que os frutos da cultivar Maravilla tinham ligeiramente melhor aparência do que os da cultivar Sevillana (Figura 40). Ao fim de 7 dias todos os tratamentos mantinham boa aparência (>3 numa escala de 1-5), embora aos 6 °C o índice de pontuação fosse inferior às outras temperaturas. Esta tendência é mais visível aos 14 dias. No entanto, também se verifica uma diminuição da qualidade do fruto da cultivar Sevillana armazenada à temperatura de 3 °C ao longo dos restantes dias. No final do ensaio verificou-se uma boa apreciação pelo painel de provadores, na cultivar Sevillana armazenada à temperatura de 0 °C e na cultivar Maravilla armazenada as temperaturas de 0° e 3 °C.

#### 4.1.5.2 Aparência da polpa

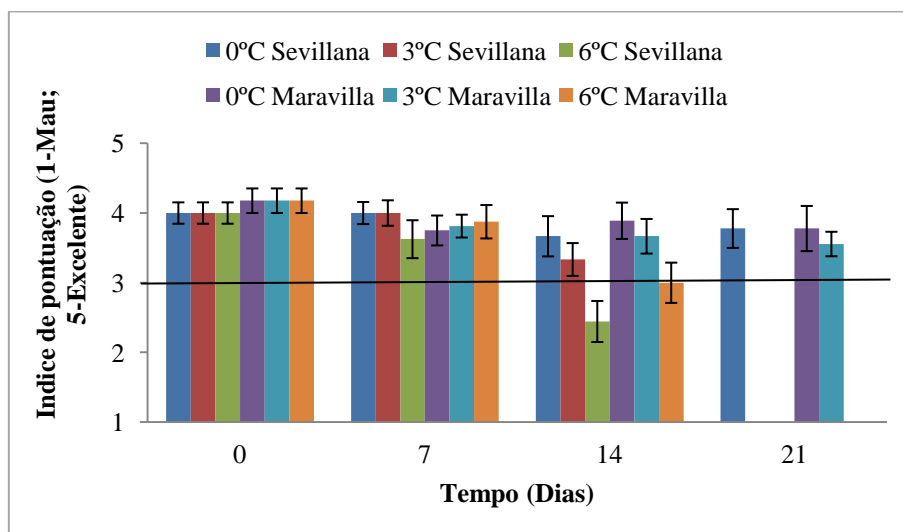


Figura 41 - Evolução da aparência da polpa das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores

A aparência da polpa teve uma classificação semelhante à do fruto inteiro (Figura 40). O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que ambas as cultivares apresentaram uma boa aparência da polpa (>3 numa escala de 1-5) nos primeiros 7 dias como se pode verificar pela figura 41. No entanto, verifica-se uma diminuição da qualidade da aparência da polpa das duas cultivares, armazenadas na temperatura de 6 °C, ao longo dos restantes dias. No final obteve-se uma classificação boa na cultivar Sevillana armazenada à temperatura de 0 °C e a cultivar Maravilla armazenada as temperaturas de 0° e 3 °C.

#### 4.1.5.3 . Aroma

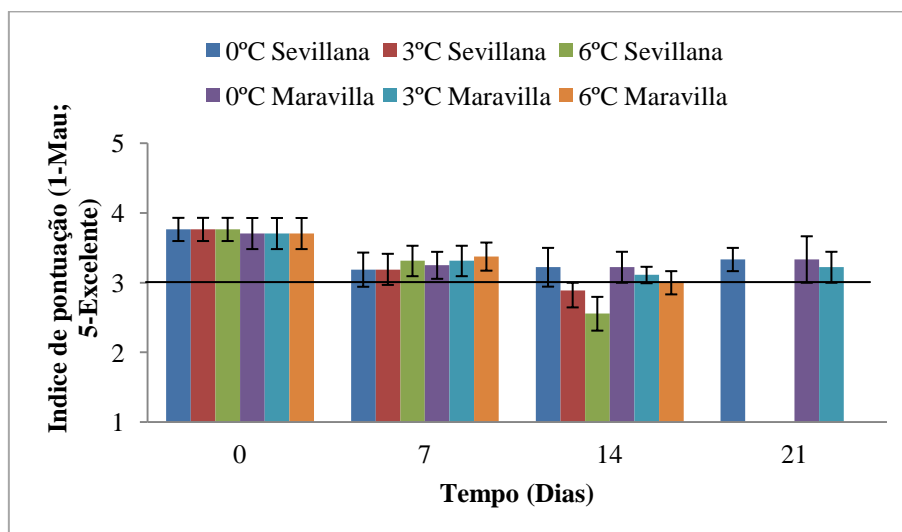


Figura 42 - Evolução do aroma das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.

O aroma foi considerado bom e semelhante nas duas cultivares no início do ensaio, diminuindo ligeiramente aos 7 dias de forma semelhante em todas as temperaturas (Figura 42). O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que a cultivar Sevillana apresentou um aroma agradável (>3 numa escala de 1-5) nos primeiros 7 e a cultivar Maravilla nas temperaturas de 0° e 3 °C, ao longo dos 21 dias de armazenamento, como se pode verificar pela figura 42. No entanto, verifica-se uma diminuição da preferência pelo aroma das duas cultivares, armazenadas na temperatura de 6 °C, ao longo do tempo de armazenamento.

#### 4.1.5.4. Textura

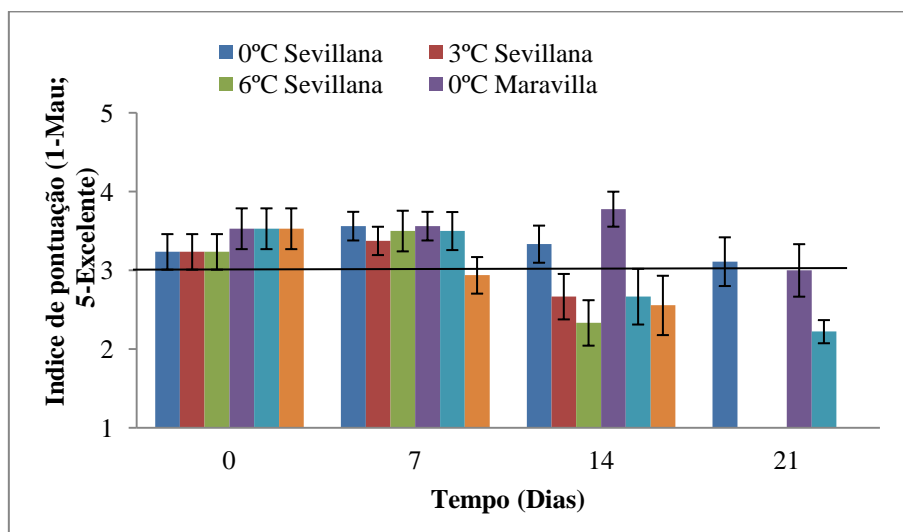


Figura 43 - Evolução da textura das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.

A textura foi considerada ligeiramente melhor na cultivar Sevillana do que na cultivar Maravilla, no tempo zero (Figura 43). O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que ambas as cultivares apresentaram uma textura consistente (>3 numa escala de 1-5) nos primeiros 7 dias. No entanto, verifica-se uma diminuição da textura das duas cultivares, armazenadas na temperatura de 3° e 6 °C, ao longo dos restantes dias. Atribuiu-se uma apreciação média pelo painel de provadores, nos últimos dias, em ambas as cultivares armazenadas à temperatura de 0 °C.

#### 4.1.5.5 . Doçura

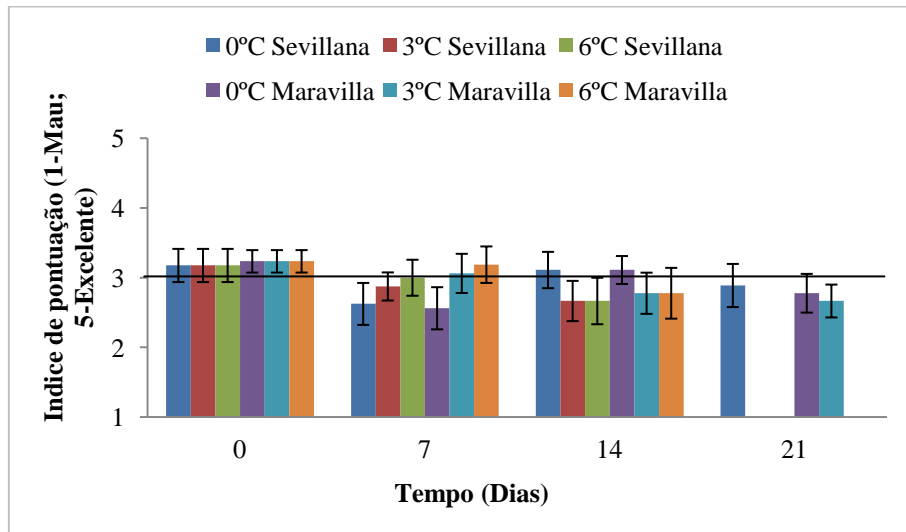


Figura 44 - Evolução da doçura das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores considerou que ambas as cultivares eram doces (>3 numa escala de 1-5) nos primeiros 7 dias como se pode verificar pela figura 44. No entanto, verifica-se uma diminuição da doçura das duas cultivares ao longo dos restantes dias, principalmente nas temperaturas de armazenamento 3° e 6 °C.

#### 4.1.5.6 Acidez

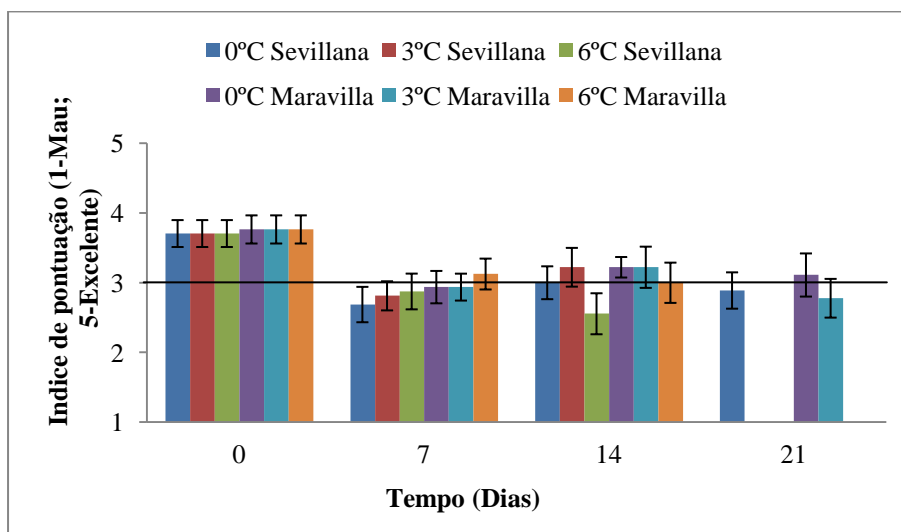


Figura 45 - Evolução da acidez das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores considerou que ambas as cultivares possuíam uma acidez agradável (>3 numa escala de 1-5) nos primeiros 7 dias como se pode verificar pela figura 45. No entanto, verifica-se uma diminuição da preferência das framboesas devido a acidez nas duas cultivares logo a partir do sétimo dia.

#### 4.1.5.7. Sabor

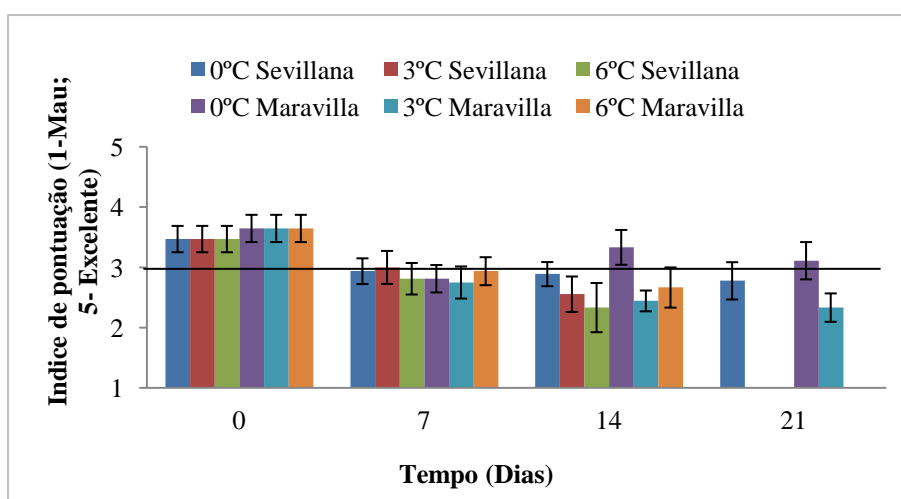


Figura 46 - Evolução do sabor das duas cultivares Sevillana e Maravilla sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 7, 14 e 21 dias) em câmaras de refrigeração de 0, 3, 6° C, por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores considerou que ambas as cultivares apresentaram um sabor agradável (>3 numa escala de 1-5) inicialmente verificando uma diminuição da preferência pelo sabor das framboesas das duas cultivares, logo nos primeiros 7 dias de armazenamento, como se pode verificar pela figura 46. Verifica-se uma diminuição da preferência do sabor das duas cultivares ao longo dos restantes dias. No entanto, no final do ensaio ambas as cultivares tinham um sabor bom aos 0 °C ligeiramente superior na cultivar Maravilla à mesma temperatura.

Após o desenvolvimento máximo do fruto ocorre a maturação, manifestada pelo progressivo aparecimento de características típicas de perda de sabor, cor, textura e diminuição de acidez que se verifica com a avaliação atribuída pelo painel de provadores (<3 numa escala de 1-5).

De acordo com Sousa *et al.* (2007a) a textura é o atributo principal de qualidade organolética apreciada pelos consumidores de framboesas e o maior contributo para a textura das framboesas frescas é a pressão de turgor celular.

A avaliação sensorial realizada pelo painel de provadores vai ao encontro do verificado pelas análises efetuadas. Os avaliadores preferiram as framboesas da cultivar Maravilla às framboesas da cultivar Sevillana. Como obtido analiticamente a cultivar Maravilla é a que apresenta melhores características físicas ao longo do tempo. As características do fruto alteram-se com o aumento das temperaturas, sendo a temperatura de 0 °C a que retardou melhor a senescência o que faz com os frutos armazenados a temperatura de 0 °C apresentem uma melhor qualidade (>3 numa escala de 1-5) .

A análise sensorial revelou que a cultivar Maravilla foi a que obteve melhor pontuação no decorrer do período de conservação, por apresentarem melhor aparência, maior uniformidade da cor, serem mais firmes, suculentas, menos ácidos e terem um aroma e sabor mais acentuados. No entanto, não foi a cultivar que apresentou maior efeito antioxidante. Verifica-se que a perceção de qualidade do consumidor difere no que respeita aos benefícios nutricionais provenientes dos compostos fenólicos.

Apesar das propriedades benéficas dos frutos como é o caso da cultivar Sevillana com base nas suas concentrações de vitaminas, compostos fenólicos e a sua capacidade antioxidante, a sua aparência e organolepticamente não foram tão bem aceites pelo painel de provadores como a cultivar Maravilla. Tais resultados sugerem que outros métodos pós-colheita têm de ser experimentados e desenvolvidos para melhorar a aparência e aceitação por parte dos consumidores, porque experimentalmente foi a cultivar que apresentou teores mais elevados de vitaminas, fenóis e antocianinas.

## **4.2 Conservação dos doces de Framboesa**

### **4.2.1. Atributos físico-químicos dos doces de framboesa**

#### **4.2.1.1. Cor**

De um modo geral, verifica-se pela análise da figura 47 que nas amostras de doce das duas cultivares ('Maravilla' e 'Sevillana') os valores do parâmetro Luminosidade (L\*) do doce tradicional diminuem significativamente nos 2 primeiros meses, diminuem ligeiramente nos dois meses seguintes e aumentam significativamente nos dois últimos meses (Figura 47; Anexo 4). Nos doces das duas cultivares, com adição ácido cítrico e pectina (Cit + Pect), os valores do parâmetro cor (L\*) mantêm-se constantes até aos 4 meses e sobem no restante tempo de armazenamento, ficando com valores superiores ao doce tradicional.

No início do ensaio os valores do parâmetro Luminosidade (L\*) da cultivar Sevillana com adição de ácido cítrico e pectina (Cit + Pect) foram inferiores relativamente aos outros tratamentos.

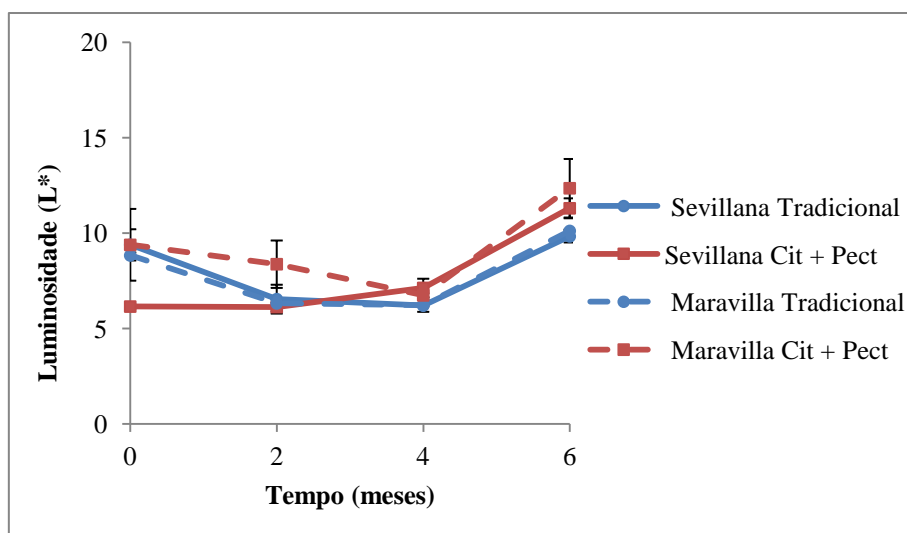


Figura 47 – Evolução da Luminosidade da cor ( $L^*$ ), de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Nas duas cultivares os valores do parâmetro cor Luminosidade mantiveram-se nos dois primeiros meses no doce tradicional, o que representa o ganho de cor, de acordo com Howard *et al.* (2007), conseguindo manter a cor durante 4 meses.

Os valores da cor polimérica são afetados pelo tipo de doce, armazenamento, temperatura e tempo de armazenamento. Os valores da cor polimérica nos doces, segundo Howard *et al.* (2007), aumentam significativamente nos 4 a 6 meses de armazenamento, o que se verifica neste estudo.

De um modo geral, verifica-se pela análise da figura 48, que o parâmetro de cor  $a^*$  decresce significativamente ao longo de 2 meses e depois permanece constante ao longo do tempo nos doces da cultivar Maravilla independentemente da forma como foi feito o doce. O doce da cultivar Sevillana apresenta no início valores de  $a^*$  inferiores, sendo que depois não se verificam diferenças entre as cultivares uma vez que apresentam valores muito próximos.

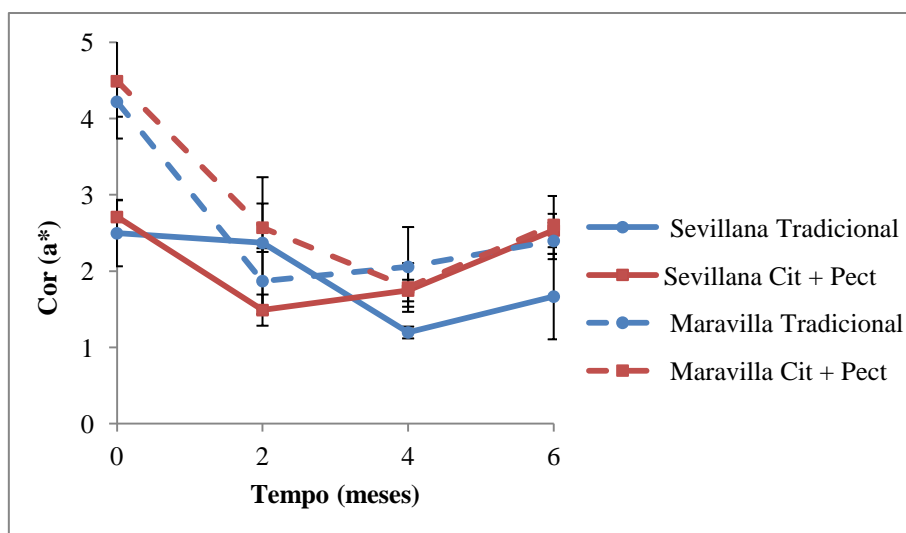


Figura 48 – Evolução do parâmetro cor ( $a^*$ ) de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

O doce de framboesa da cultivar Sevillana obtido pelo método tradicional, apresenta valores praticamente constantes, este aparentou a mesma tonalidade vermelha, ao longo do tempo. No entanto, pelo método de adição de ácido cítrico mais pectina verifica-se que diminui significativamente durante os primeiros 2 meses (Anexo 4), depois permaneceu constante durante 4 meses e voltou a apresentar valores significativos nos últimos 2 meses. Na cultivar Maravilla o doce não apresenta alterações relativamente ao método de produção. Em ambos os métodos os valores do parâmetro de cor  $a^*$  decrescem significativamente nos primeiros 2 meses e posteriormente permanecem constante no decurso do tempo, ou seja verifica-se uma perda da tonalidade vermelha até ao um certo ponto e depois permanece essa tonalidade durante o restante tempo de armazenamento.

A diminuição dos valores para o parâmetro  $a^*$ , aponta para a redução na intensidade da cor vermelha de doces, ao longo do tempo, o que está de acordo com os estudos de Wicklund *et al.* (2005) e foi descrita também para o doce de romã durante o armazenamento nos estudos de Melgarejo *et al.* (2011).

O parâmetro de cor  $b^*$  vai permanecendo constante na cultivar Sevillana. A cultivar Maravilla apresenta inicialmente valores superiores ao doce da cultivar

Sevillana, depois decresce, não apresentando a partir dos 2 meses diferenças significativas (Figura 49; Anexo 4).

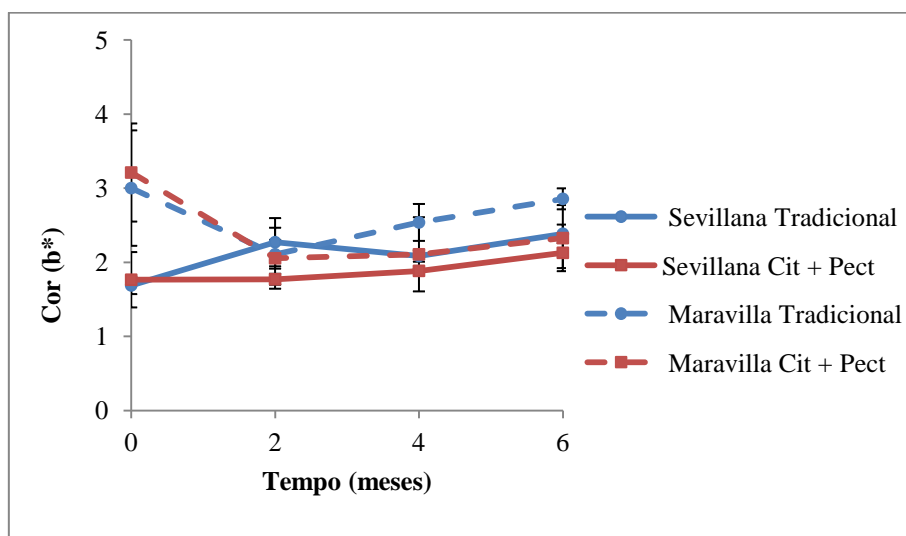


Figura 49 – Evolução do parâmetro cor (b\*) de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

No entanto, ao comparar-se os valores dos doces (Figura 49) com os obtidos pelos frutos (Figura 19) verifica-se que os valores do parâmetro b\* do doce são muito mais baixos. A diminuição dos valores do parâmetro cor b\*, aponta para a perda da tonalidade amarela. Isto pode-se dever à perda de pigmentos, como os carotenos, devido ao tratamento térmico.

De um modo geral, verifica-se pela análise da figura 50, que o parâmetro de cor C\* diminui significativamente nos dois primeiros meses na cultivar Maravilla e depois mantém-se constante. O doce da cultivar Sevillana apresenta valores inferiores no início mas permanece constante até ao fim.

No entanto o doce da cultivar Maravilla é aquele que ao longo do tempo vai apresentando sempre valores ligeiramente superiores do parâmetro de cor C\* que o doce da cultivar Sevillana, ou seja, apresenta graus de saturação superiores.

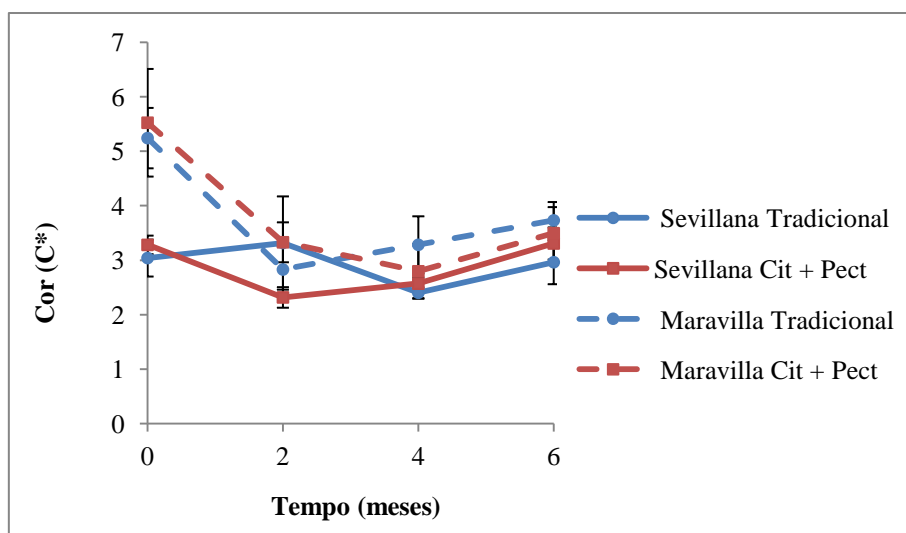


Figura 50 – Evolução da saturação da cor pelo parâmetro C\* de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

No doce da cultivar Sevillana existem diferenças significativas entre os dois métodos de produção do doce. Observa-se que no doce da cultivar Sevillana pelo método tradicional os valores do parâmetro de cor C\* mantêm-se sempre constantes ao longo do tempo e no doce de Sevillana obtido pelo método de adição de ácido cítrico e pectina, os valores do parâmetro de cor C\* diminuem ao longo de 4 meses, sendo apenas a diminuição dos dois primeiros meses e o aumento nos últimos dois meses significativos ( $P < 0,05$ ).

No doce da cultivar Maravilla não se verificam diferenças entre os dois métodos, em ambos os métodos os valores diminuem significativamente nos dois primeiros meses e depois permanecem constantes, ou seja o grau de saturação diminui nos primeiros dois meses e depois nos restantes meses o grau de saturação permanece igual.

O parâmetro de cor Hue ( $h^*$ ) aumenta significativamente nos primeiros 2 meses e depois praticamente mantêm-se constante nos doces das duas cultivares exceto no doce da cultivar Maravilla com adição de Cit + Pect em que o aumento é considerado significativo apenas aos 4 meses de armazenamento (Figura 51; Anexo 4).

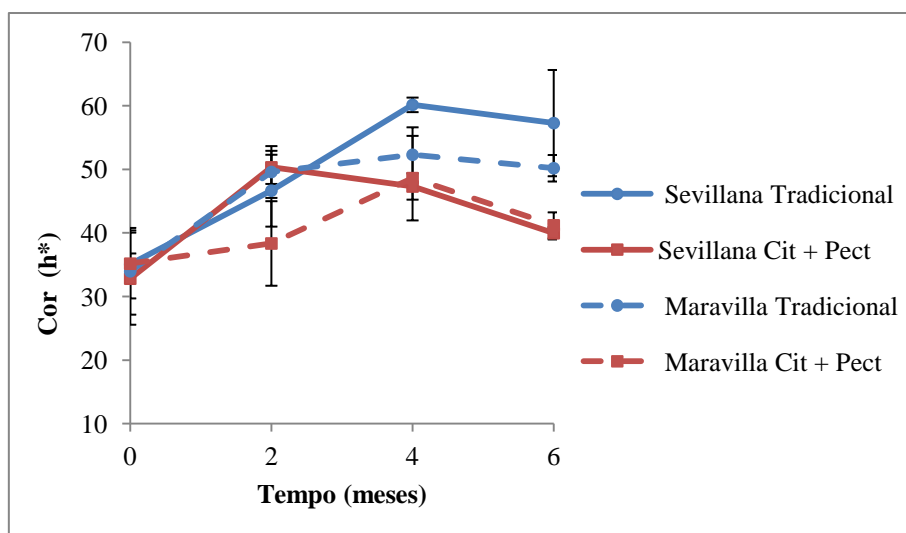


Figura 51 – Evolução do ângulo Hue (h\*) que descreve a tonalidade das cores de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Os doces obtidos pelo método tradicional apresentam valores significativamente superiores, ao método com adição de ácido cítrico e pectina nos 2 últimos meses de armazenamento.

O ângulo Hue é um parâmetro frequentemente utilizado para caracterizar a cor nos produtos alimentares. Ao comparar-se os resultados obtidos para o parâmetro Hue para o doce (Figura 51) com os obtidos para os frutos (Figura 21) verifica-se que os valores obtidos para o doce foram superiores o que representa uma tonalidade vermelho mais escuro.

O parâmetro de cor Hue foi no qual se verificou mais alterações significativas entre as cultivares e entre os métodos de produção de doce, o que não se verificou nos estudos de Wicklund *et al.* (2005). Nos estudos destes autores a variável que mais se distinguiu para expressar as diferenças entre as cultivares foi a dos valores do parâmetro de cor Luminosidade.

A temperatura ambiente a que foram armazenados os doces também teve um impacto sobre a estabilidade da cor e dos pigmentos, verificando-se a degradação da cor ao fim de 4 meses. De acordo com os estudos relatados por Wicklund *et al.* (2005), os

doces neste estudo apresentaram uma melhor qualidade e duraram mais um mês. No entanto, a degradação da cor não é tão drástica como a degradação dos pigmentos, sugerindo-se que os pigmentos polimerizados e as reações de copigmentação são importantes para a cor durante o armazenamento. Não se verificando, no geral, diferenças entre os doces das duas cultivares, bem como entre os tratamentos de produção dos doces.

As duas cultivares analisadas são consideradas adequadas para a produção de doce principalmente devido à sua aceitável cor para doces.

Como referido por Ancos *et al.* (2000) e Wang *et al.* (2007) a perda de cor dos doces de framboesa das duas cultivares com o processamento e armazenamento são atribuídos a muitos fatores como as reações enzimáticas, a oxidação do ácido ascórbico e outros ácidos orgânicos, aos produtos de açúcar, ao oxigênio, maturação do fruto antes do processamento, tempo de descongelamento, aos iões metálicos, luz, a temperatura de processamento e ao tempo de processamento bem como corresponde a uma perda de antocianinas monoméricas que possivelmente resultam da atividade residual da peroxidase.

Verificou-se que o método tradicional de uma maneira geral foi o que preservou melhor o parâmetro cor e que o doce da cultivar Sevillana foi aquele que apresentou diferenças significativas em quase todos os parâmetros entre os métodos aplicados.

Como fruto a Sevillana foi a cultivar na qual mais alterações se verificaram, podendo ser uma explicação para os resultados obtidos para o doce. De certo modo o parâmetro cor analisado dos doces também é influenciado pelas diferentes cultivares.

De acordo com Hager *et al.* (2008b) o processamento térmico provoca uma diminuição nos valores da cor polimérica. Verificou-se, neste estudo, que com o processamento o parâmetro cor foi afetado apresentando valores muito mais baixos para a cor polimérica, ou seja, os doces apresentaram cores muito mais escuras que os frutos. Este escurecimento pode estar relacionado pelo aumento significativo de compostos fenólicos, de acumulação de açúcares e redução de ácidos dos doces de framboesa.

#### 4.2.1.2. Textura

Os doces das duas cultivares apresentam diferenças significativas entre si (Figura 52; Anexo 4).

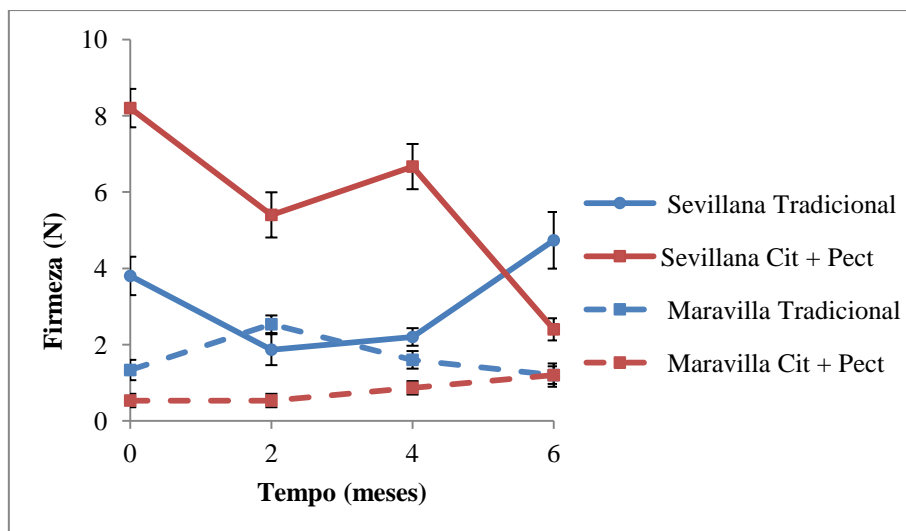


Figura 52 – Evolução da textura de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

O doce da cultivar Sevillana apresenta valores de textura superiores aos do doce da cultivar Maravilla. O doce da cultivar Sevillana é aquele que apresenta ao longo do tempo maiores valores de textura pelo método com adição de ácido e pectina em relação ao método tradicional. No entanto, no final o doce da cultivar Sevillana obtido pelo método tradicional mostra valores mais elevados. O doce da cultivar Maravilla pelo método tradicional apresenta valores superiores mas no fim dos 6 meses pouca diferença se verificou na textura do doce entre os dois métodos.

A textura do doce da cultivar Sevillana diminui significativamente nos primeiros 2 meses, mantém-se praticamente constante nos 2 meses a seguir, e voltou a apresentar um aumento significativo dos valores, verificam-se diferenças nos métodos nos dos últimos meses em que o doce produzido pelo método tradicional apresenta valores de textura superiores e o doce obtido pelo método de adição de ácido e pectina diminui.

No doce da cultivar Maravilla pelo método tradicional verificou-se que a textura do doce aumenta significativamente nos dois primeiros meses e depois vai diminuir. Pelo método de adição de ácido e pectina observa-se que vai aumentando ligeiramente, podendo deste modo poder considerar-se praticamente constante ao longo do tempo.

O tratamento térmico influencia, segundo Sousa *et al.* (2007b), os materiais da parede celular presentes na framboesa e teve efeitos drásticos na celulose e hemicelulose das moléculas da parede celular levando a uma diminuição da textura dos doces ao longo do tempo. Verifica-se que os doces das duas cultivares apresentam diferentes comportamentos. Deste modo, a textura é influenciada pela cultivar bem como os tratamentos aplicados.

Resultados semelhantes foram obtidos nos estudos de Figuerola (2007) e Sousa *et al.* (2007b), no entanto para cultivares diferentes, os doces são produtos baseados na formação de textura. Eles são caracterizados pela formação de uma estrutura viscosa, e as suas propriedades são desenvolvidas pela interação do açúcar, substâncias peptídicas, acidez e o alto teor de fibras. Todos os materiais da parede celular estão presentes nos doces e os efeitos da celulose e hemicelulose das moléculas não permitem a formação de um gel contínuo. A formação do gel e estabilidade são controladas pelo pH, assim como a acidez é um importante factor determinante das propriedades dos doces. Assim, verificou-se que na cultivar Sevillana a adição de pectina e ácido cítrico ajudou a estabilizar a textura do doce durante 4 meses, sendo que o doce foi mostrando valores de textura superiores. No doce da cultivar Maravilla não se conseguiu verificar essa estabilidade com a adição da pectina e ácido cítrico.

Neste estudo, verificou-se valores de textura mais elevados na cultivar Sevillana, possivelmente, porque esta cultivar apresentou uma quantidade de açúcar superior devido aos seus níveis de maturação superiores. De acordo com o observado por Figuerola (2007), só por si, o açúcar consegue estabilizar a textura dos doces, no entanto a adição de pectina no doce de Sevillana ainda conseguiu melhorar a sua estabilização. No doce da cultivar Sevillana conseguiu-se estabelecer um equilíbrio entre o açúcar e a pectina adicionada. Por outro lado, a estabilização da textura não se verificou na cultivar Maravilla, possivelmente devido a pectina utilizada não ser a mais adequada para esta cultivar.

#### 4.2.1.3. °Brix

Pela análise da figura 53 verifica-se que o doce da cultivar Sevillana apresenta valores de °Brix superiores ao doce da cultivar Maravilla, sendo significativos a partir dos 2 meses de armazenamento (Anexo 4).

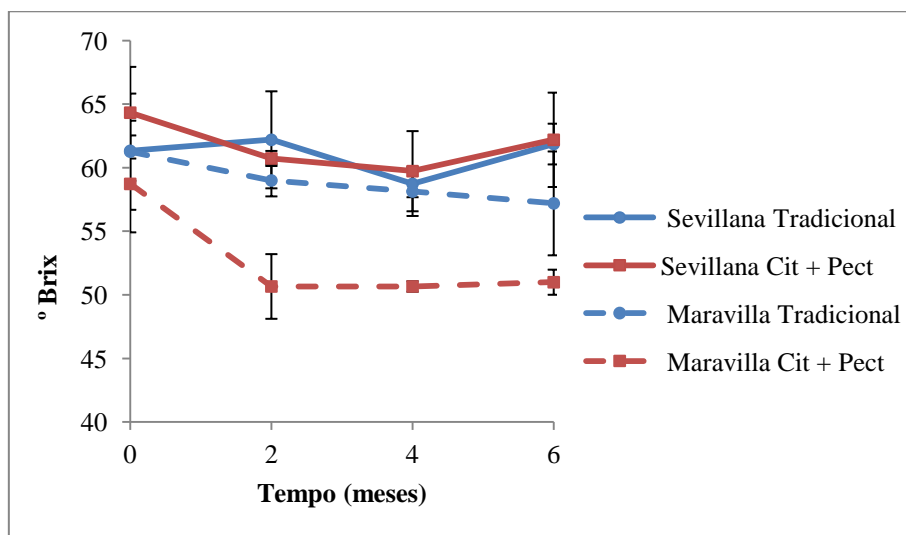


Figura 53 – Evolução do °Brix de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

No final do processamento (tempo zero) os doces resultaram num produto com 58,7°-64,3° valor muito próximo do 65° normalmente empregue pelas indústrias no preparo de doces com açúcar (Figuerola, 2007).

No doce da cultivar Sevillana não existem diferenças significativas entre os dois tratamentos mantendo-se ambos sempre com valores inalteráveis. No entanto, no doce da cultivar Maravilla existe uma grande diferença entre os métodos, o método tradicional apresenta valores superiores e constantes ao longo do tempo e o método com adição do ácido e pectina apresenta valores em que nos 2 primeiros meses decresce significativamente e depois praticamente mantém-se constante.

Estes valores menores de °Brix podem estar relacionados com os valores menores de firmeza (Figura 52) de acordo com Basu *et al.* (2011) que observou que doces com maior percentagem de sólidos solúveis eram mais firmes.

O processamento térmico influenciou o °Brix, verificando-se que os valores obtidos com o processamento são bastantes mais elevados que os do fruto (Figura 23), isto deve-se, segundo Wu *et al.* (2010), ao facto de se ter adicionado açúcar e a evaporação da água durante o processamento.

A adição da pectina e do ácido influenciou o doce da cultivar Maravilla, não se conseguindo estabelecer o equilíbrio entre os açúcares, pectina e o ácido cítrico.

Verificou-se que o doce da cultivar Sevillana é o que mantém o valor de °Brix próximo dos 65°, tal facto, segundo Figuerola (2007), pode ter afetado as funções biológicas dos microrganismos.

#### **4.2.2. Avaliação das propriedades químicas dos doces de framboesa**

##### **4.2.2.1. Fenóis totais**

O conteúdo fenólico apresenta valores praticamente constantes ao longo do tempo de armazenamento, não mostrando diferenças significativas (Figura 54; Anexo 4).

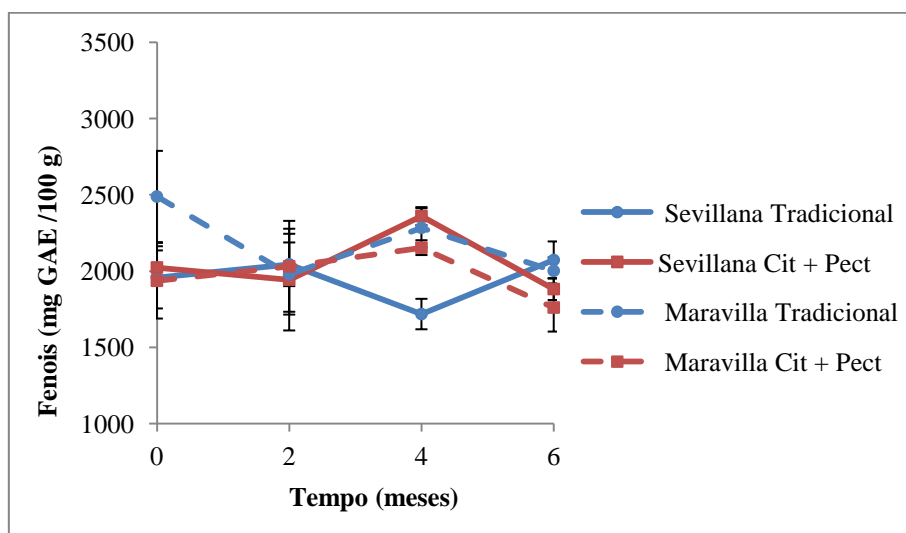


Figura 54 – Evolução do conteúdo fenólico total de amostras dos doces produzidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Pela análise da figura 54 verifica-se que apesar de a cultivar Maravilla com adição de Cit + Pect ter valores mais elevados no início do ensaio, essa diferença desaparece logo a partir do 2º mês de armazenamento apresentando todos os tratamentos valores semelhantes de fenóis no final do ensaio.

Segundo Vedana (2008), o conteúdo fenólico consegue prevalecer nos produtos elaborados por tratamento térmico, no entanto depende de vários fatores, tais como a cultivar das framboesas, métodos de extração e as condições e armazenamento. Neste estudo, obteve-se resultados semelhantes aos estudos em uvas de Vedana (2008), o conteúdo fenólico prevalece nos doces de framboesa ao longo dos 6 meses de armazenamento.

De acordo com Plessi *et al.* (2007) ao comparar-se o teor de fenóis totais em frutos (Figura 25) com os dos doces (Figura 54), o conteúdo fenólico foi mais elevado nos doces, este facto deve-se, possivelmente, à melhor extração de fenóis causados pelo aquecimento, como demonstrado em estudos sobre técnicas de processamento de várias cultivares de amoras, framboesas e groselhas. Fatores como a temperatura, segundo Hager *et al.* (2008b), desencadeiam respostas que podem induzir a acumulação de compostos fenólicos.

Relativamente aos valores obtidos, os compostos fenólicos apresentaram valores mais baixos aos relatados por Plessi *et al.* (2007): 2180-3610 mg /100 (p.f.). Os níveis de fenóis totais neste estudo no doce das framboesas da cultivar Sevillana para o método tradicional vão de 1717-2044 mg /100 g (p.f.), no doce das framboesas da cultivar Sevillana para o método de adição de ácido mais pectina vão de 1880-2360 mg /100 g (p.f.) e no doce das framboesas da cultivar Maravilla para o método tradicional vão de 1978-2490 mg /100 g (p.f.), no doce das framboesas da cultivar Maravilla para o método de adição de ácido mais pectina vão de 1760-2153 mg /100 g (p.f.).

No entanto os resultados foram semelhantes aos de Rababah *et al.* (2011) para doces de morango e cereja em que o conteúdo fenólico prevalece ao longo de 5 meses de armazenamento.

#### 4.2.2.2. TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

Verificam-se diferenças significativas nas capacidades antioxidantes dos doces da cultivar Sevillana e no doce da cultivar Maravilla pelo método de adição de ácido e pectina. Não se observando diferenças significativas nas capacidades antioxidantes do doce da cultivar Maravilla pelo método tradicional (Figura 55; Anexo 4).

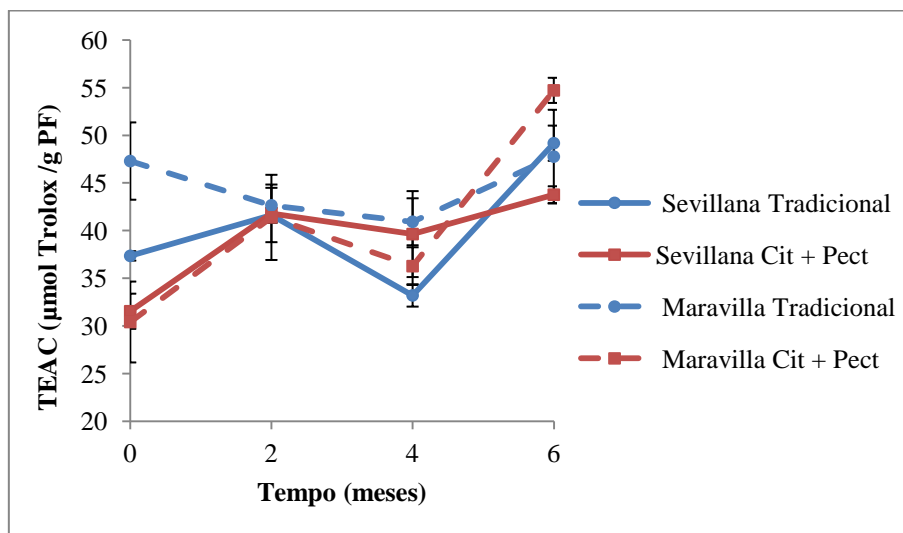


Figura 55 – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método TEAC de amostras dos doces produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de ácido Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Verifica-se, pela análise da figura 55, que o doce de framboesa da cultivar Sevillana pelo método tradicional e pelo método com adição de ácido e pectina apresenta um aumento significativo da capacidade antioxidante quantificada pelo método TEAC nos dois primeiros meses, um decréscimo ligeiro nos 2 meses seguintes e no final do período de armazenamento volta a aumentar significativamente.

A capacidade antioxidante medida pelo método TEAC no doce de framboesa da cultivar Maravilla obtida pelo método tradicional mantém-se praticamente inalterável e pelo método de adição de ácido e pectina, mantém-se fixa, subindo significativamente apenas nos últimos dois meses.

Apesar da perda de antocianinas e do aumento da cor polimérica, Howard *et al.* (2007), verificaram um aumento da capacidade antioxidante nas amostras estudadas. Segundo Hager *et al.* (2008b) os polímeros de antocianinas podem ser responsáveis por atividades antioxidantes mais elevadas do que as atividades devidas às antocianinas.

De acordo com Hager *et al.* (2008b) o aumento significativo da cor polimérica com o armazenamento, que corresponde a perda de antocianinas monoméricas resulta da capacidade antioxidante total inalterada, sugerindo que os produtos obtidos por processamento térmico mantêm os benefícios na saúde humana, durante um extenso prazo de armazenamento.

#### 4.2.2.3. ORAC ( *Oxygen Radical Absorbance Capacity* )

A capacidade antioxidante medida pelo método ORAC, apresenta diferenças significativas entre as cultivares (Anexo 4). Verifica-se um aumento significativo dos valores ao longo do tempo no doce de Maravilla e no doce da cultivar Sevillana verifica-se apenas um aumento significativo nos dois primeiros meses. O doce de framboesa da cultivar Maravilla apresenta valores de capacidade antioxidante significativamente superiores aos do doce da cultivar Sevillana.

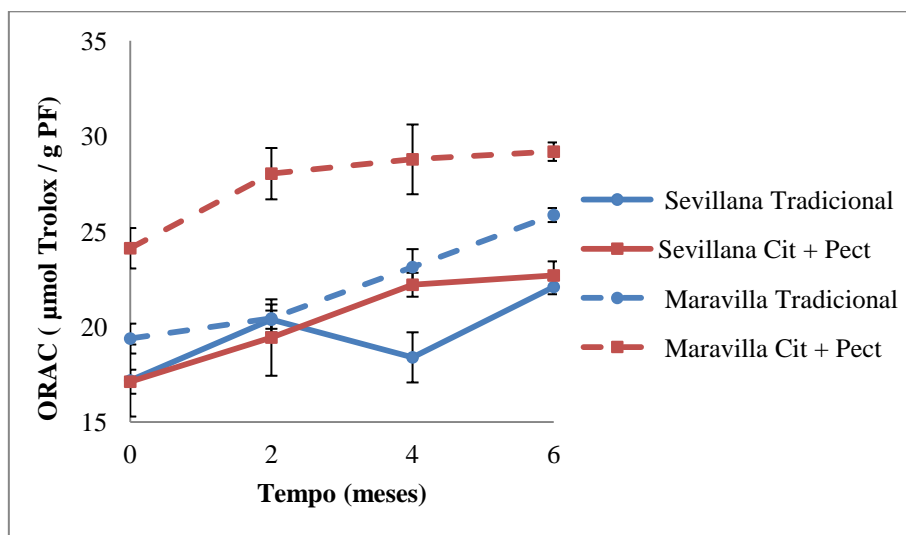


Figura 56 – Evolução da capacidade antioxidante determinada pelo método ORAC de amostras dos doces produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de ácido Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

No doce da cultivar Sevillana não se verificam, pela análise da figura 56, diferenças entre os tratamentos. No entanto, na cultivar Maravilla verifica-se que a atividade do doce obtido pelo método tradicional apresenta aumentos expressivos no decurso do armazenamento e no método de adição de ácido e pectina apresenta um aumento indicativo apenas nos dois primeiros meses, permanecendo constantes no resto do tempo. As atividades do doce da cultivar Maravilla apresentam diferenças significativas entre os métodos aplicados, verifica-se que o método de adição de ácido cítrico e pectina apresentou valores superiores aos do método tradicional.

Prior *et al.* (2003) atribui que a contribuição do ácido ascórbico na capacidade antioxidante é muito baixa. De facto, neste estudo, a perda do ácido ascórbico não afetou a capacidade antioxidante das framboesas o que é consistente com a observação que o ácido ascórbico não contribui muito na capacidade antioxidante e vai também ao encontro que Kalt *et al.* (1999) observou nos seus estudos.

Sendo o método TEAC e o método ORAC dois métodos para quantificar a capacidade antioxidante, verificou-se que o método TEAC apresentou valores superiores (TEAC: valores entre 30-55 mg / 100 g (p.f.); ORAC: 17-30 mg /100 g (p.f.)), mostrando que os compostos responsáveis pela atividade atuam por um mecanismo envolvendo transferência de eletrões em vez de hidrogénio.

#### **4.2.2.4. Oxigénio Singlete**

A capacidade de captação do oxigénio singlete aumentou significativamente ao longo do tempo, mantendo-se apenas nos últimos 2 meses nos doces das duas cultivares (Figura 57; Anexo 4).

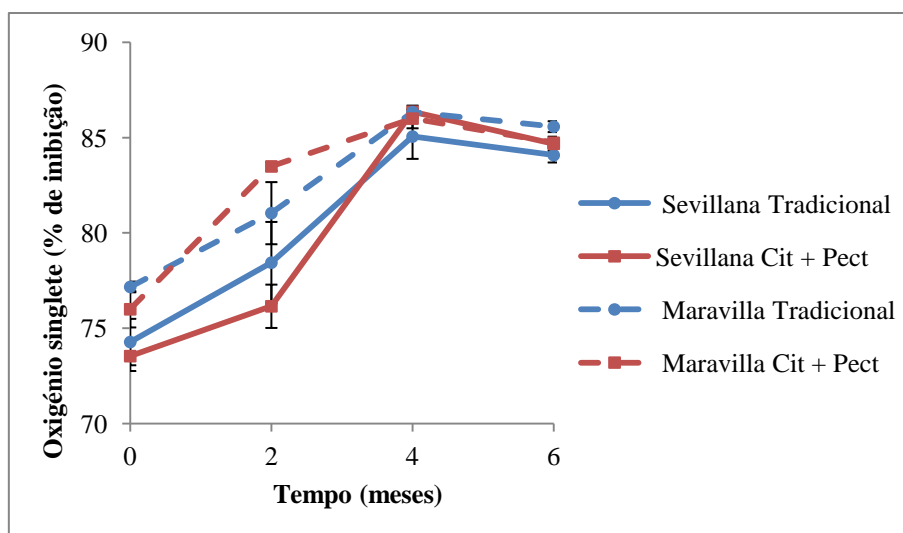


Figura 57 – Evolução da percentagem de inibição dos radicais livres (Oxigênio Singlete), de amostras dos doces produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect) das duas cultivares Sevillana e Maravilla extraídas em metanol, ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

A atividade do doce da cultivar Maravilla foi significativamente superior à atividade do doce obtido da framboesa cultivar Sevillana até aos 4 meses, ficando com valores semelhantes dos 4 até aos 6 meses. O aumento da atividade do doce da cultivar Sevillana obtido a partir da adição de ácido mais pectina foi mais importante no doce obtido pelo método tradicional. No doce da cultivar Maravilla pelo método tradicional observou-se uma subida ao longo dos 4 meses da atividade, mantendo-se depois nos dois meses seguintes praticamente constante. No método pela adição de ácido e pectina verifica-se também um desenvolvimento expressivo da atividade no decorrer do armazenamento, no entanto, os aumentos não são tão acentuados como no método tradicional.

### **4.2.3. Açúcares**

#### **4.2.3.1. Glucose**

A framboesa da cultivar Sevillana apresenta um aumento significativo do teor da glucose ao longo do tempo, não tão nítido para o doce obtido a partir da cultivar Maravilla (Figura 58; Anexo 4).

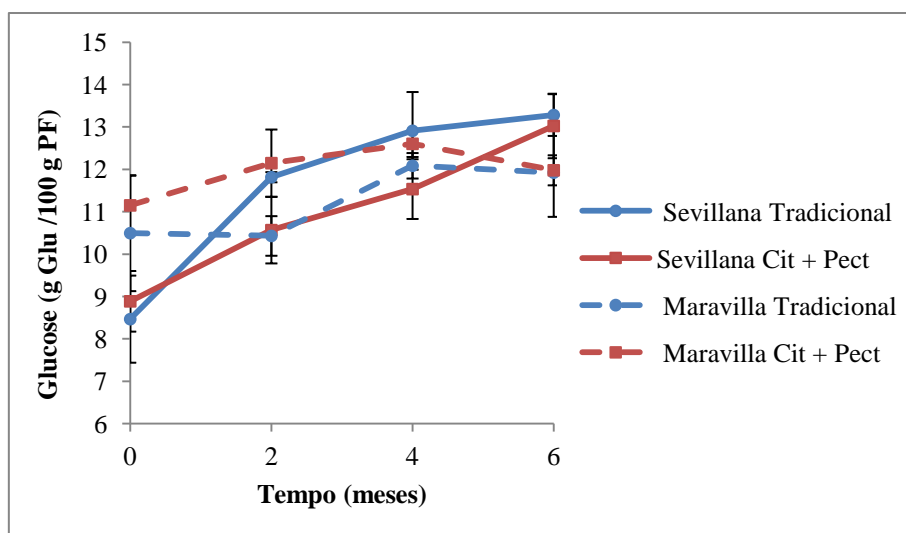


Figura 58 – Evolução do teor de glicose dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Inicialmente, o doce da cultivar Maravilla apresentou valores mais elevados de glicose, no entanto, o doce da cultivar Sevillana é aquele que apresenta no final valores mais elevados, apesar de não se considerar estatisticamente relevante.

O doce da cultivar Sevillana obtido pelo tratamento tradicional apresenta um aumento significativo nos valores de glicose nos primeiros 2 meses e depois permanece constante. Os valores de glicose do doce da cultivar Sevillana pelo método com adição de ácido e pectina só se evidenciam ao fim de 4 meses.

No doce da cultivar Maravilla, o teor da glicose aumenta ligeiramente ao longo de 4 meses e diminui apenas nos últimos dois meses quer pelo método tradicional quer pelo método com adição de ácido e pectina. Na cultivar Maravilla o teor de glicose não apresentou grandes diferenças entre a aplicação dos dois métodos distintos de produção de doce.

#### **4.2.3.2. Frutose**

No geral, o teor de frutose aumenta significativamente ao longo do tempo para as duas cultivares (Figura 59; Anexo 4).

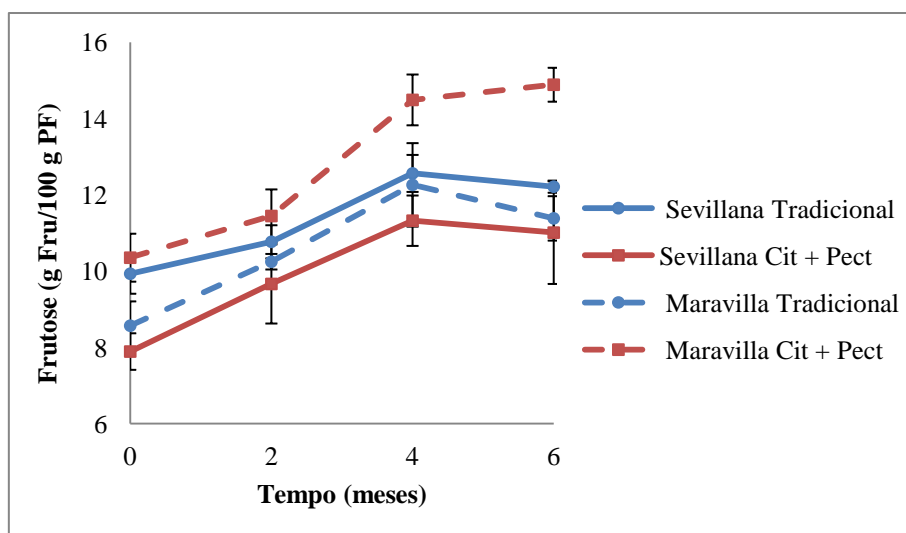


Figura 59 – Evolução do teor de frutose dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla produzidos pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pectina), ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Os valores de frutose para o doce da cultivar Maravilla aumentam ao longo do tempo verificando-se um desenvolvimento indicativo ao fim de 2 meses e uma ligeira diminuição dos últimos dois meses (Figura 59). No doce da cultivar Sevillana obtido pelo método tradicional e pelo método com adição de ácido e pectina verifica-se que os valores de frutose vão também avultando e nos últimos dois meses mantêm-se. A partir dos 4 meses de armazenamento o doce da cultivar Maravilla com a adição de ácido cítrico e pectina é o que apresenta teores de frutose mais elevados.

Segundo Kopjar *et al.* (2009) os ácidos presentes nas framboesas, como o ácido ascórbico, cítrico, tartárico e ácido málico, também ajudam a hidrólise da sacarose no início do processamento. A sacarose é convertida em glucose e frutose, que pode aumentar a qualidade dos produtos. Era de se esperar que nos doces em que se adicionou ácido cítrico um valor mais alto para os resultados de glucose e frutose, tal facto ocorreu no doce da cultivar Maravilla.

O calor, durante o processamento, com um pH adequado pode ter sido responsável pela transformação da sacarose em glucose e frutose com o consequente aumento destes monossacáridos detetados no doce. Outro fator que pode ter contribuído para os valores mais elevados destas oses é a menor quantidade de água presente nos doces do que nos frutos.

#### 4.2.4. Análise Microbiológica

##### 4.2.4.1. Microrganismos aeróbios mesófilos

As contagens de microrganismos aeróbios mesófilos aumentam significativamente durante todo o período de armazenamento (Figura 60; Anexo 4).

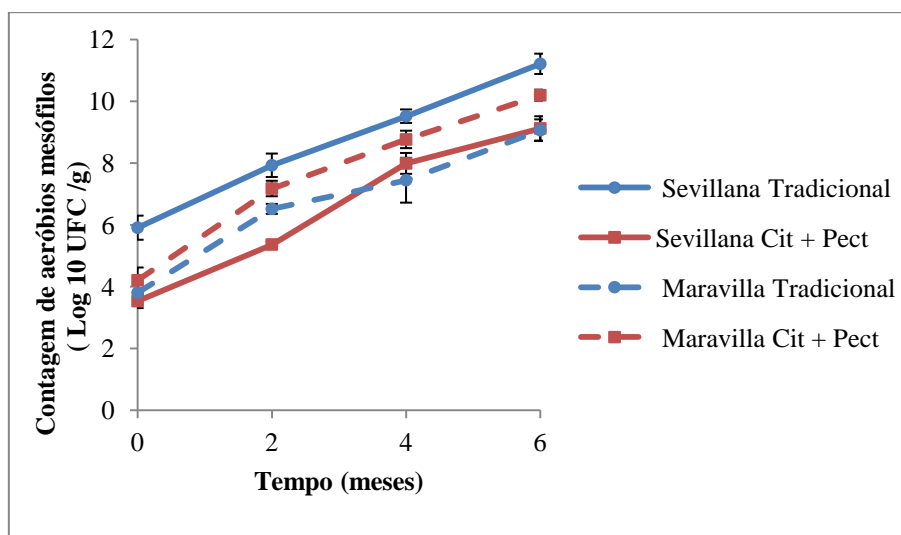


Figura 60 – Avaliação da qualidade microbiológica dos doces produzidos das duas cultivares Sevillana e Maravilla, pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), pela determinação da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos efetuada ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

No doce da cultivar Sevillana observou-se um número significativamente superior de microrganismos aeróbios mesófilos no método tradicional, seguido pelo doce da cultivar Maravilla pelo método de adição mais ácido cítrico.

##### 4.2.4.2. Bolores/Leveduras

As contagens de bolores/leveduras aumentam significativamente até ao fim do armazenamento (Figura 61; Anexo 4).

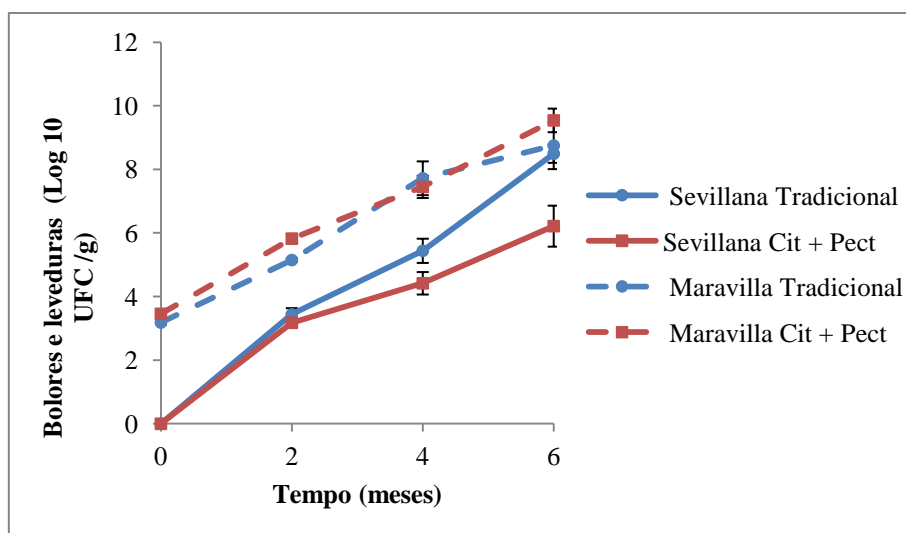


Figura 61 – Avaliação da qualidade microbiológica dos doces produzidos das duas cultivares Sevillana e Maravilla, pelos dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), pela determinação da contagem de bolores e leveduras efetuadas ao longo dos 2, 4 e 6 meses de armazenamento. Os valores obtidos são a média de três determinações independentes  $\pm$  desvio padrão.

Verifica-se que o doce da cultivar Maravilla é aquele que apresenta valores significativamente mais elevados de contagem de bolores e leveduras em relação à cultivar Sevillana. Ambas são influenciadas pelos métodos de maneiras diferentes. O doce da cultivar Maravilla apresenta valores superiores com o tratamento por adição de ácido cítrico mais pectina e o doce da cultivar Sevillana é pelo tratamento tradicional é que apresenta valores superiores de bolores/leveduras.

Como referido nos estudos de Figuerola (2007) os principais problemas microbiológicos não são as bactérias, mas sim os bolores. No entanto, verificou-se que com a adição do ácido cítrico o doce da cultivar Sevillana apresentou menores valores de contagem de bolores/leveduras do que microrganismos aeróbios mesófilos, preservando neste modo o doce. Para este último no fim do período de armazenamento observaram-se os valores de bolores e leveduras mais baixos (cerca de menos de 2  $\log_{10}$ ) em comparação com os restantes doces. Na cultivar Maravilla, tal facto não aconteceu, como verificado pelos resultados anteriores, no doce da cultivar Maravilla não se conseguiu estabelecer um equilíbrio entre os açúcares, pectina e ácido cítrico, o que comprovou os resultados superiores de bolores/leveduras e microrganismos aeróbios mesófilos no doce da cultivar Maravilla.

A tolerância osmótica dos microrganismos depende em grande parte das condições do meio, do pH, da temperatura à qual o produto é preparado, do conteúdo ácido, de algumas inibições naturais e da atividade da água, que são os fatores mais importantes que afetam o comportamento das bactérias, bolores e leveduras, de acordo com Figuerola (2007). Os frutos vermelhos possuem normalmente uma elevada acidez e quando os doces são preparados com uma atividade de água baixa, os microrganismos não encontram as condições adequadas para sobreviver. No entanto neste estudo verificou-se a presença de microrganismos que necessita ainda de ser estudada para que se consiga um produto final de melhor qualidade.

#### **4.2.5. Análise Sensorial**

O painel de provadores tornou-se indispensável ao complemento das análises por fornecer uma avaliação sensorial dos doces de framboesa das duas cultivares.

O painel de provadores considerou que durante todo o período de armazenamento os doces apresentavam uma boa qualidade (>3 numa escala de 1-5), como se pode observar pelas figuras abaixo representadas.

##### **4.2.5.1. Aparência do doce**

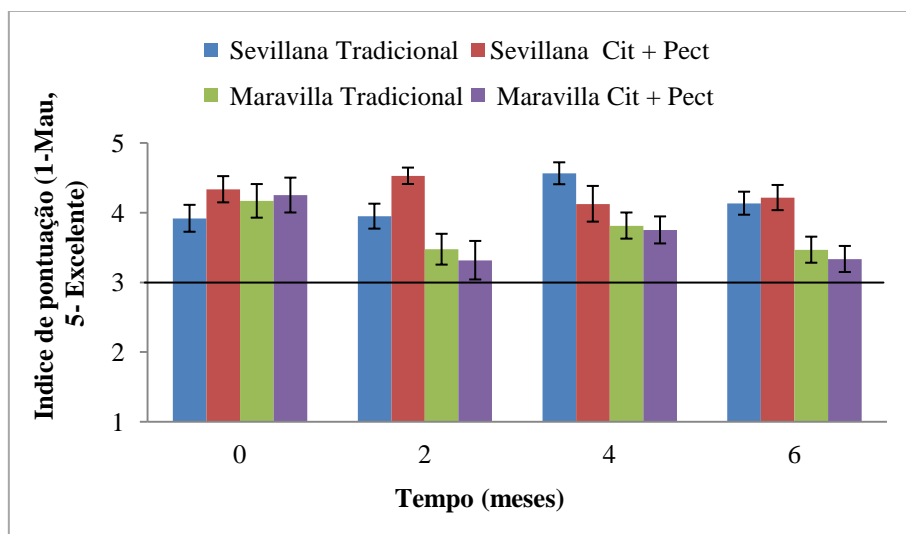


Figura 62 - Evolução da aparência dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses), por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que os doces das duas cultivares apresentavam uma boa aparência (>3 numa escala de 1-5). Verifica-se que o painel de provadores foi atribuindo uma melhor qualificação ao doce da cultivar Sevillana como se pode observar pela figura 62.

#### 4.2.5.2. Aroma

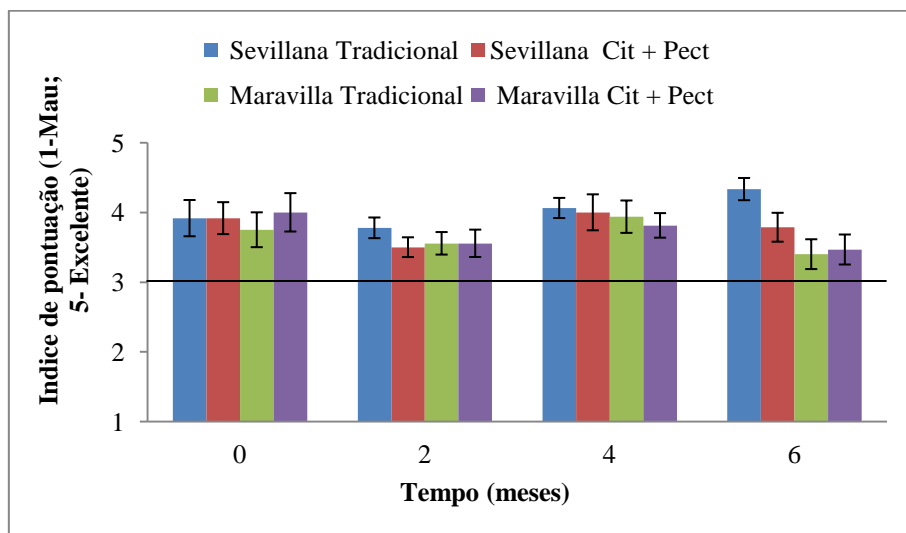


Figura 63 - Evolução do aroma dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses), por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores encarou os doces das duas cultivares como tendo um aroma agradável (>3 numa escala de 1-5). Verifica-se que o painel de provadores foi dando uma melhor pontuação ao doce da cultivar Sevillana pelo método tradicional, ao fim de 6 meses, como se pode observar pela figura 63.

#### 4.2.5.3. *Textura*

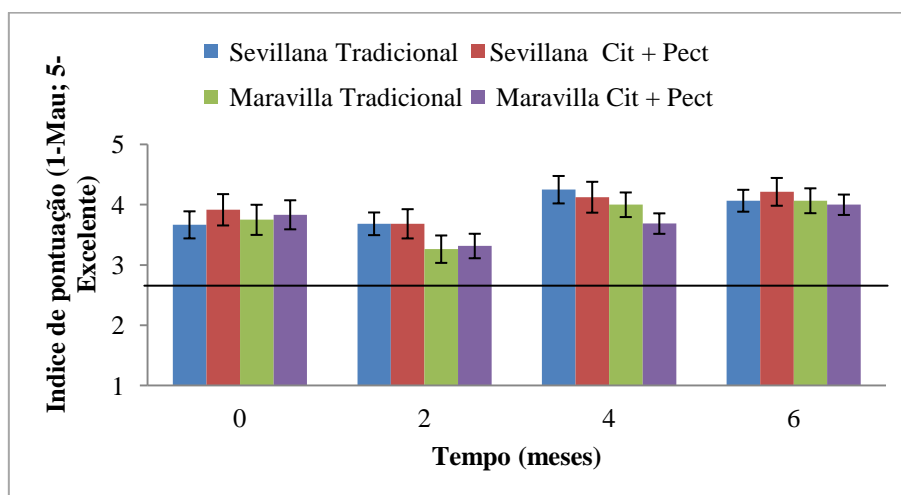


Figura 64 - Evolução da textura dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses), por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que os doces das duas cultivares apresentavam uma textura consistente (>3 numa escala de 1-5). Verifica-se que ao longo de 4 meses foram atribuindo uma melhor qualificação ao doce da cultivar Sevillana, como se pode observar pela figura 64. No entanto ao fim de 6 meses a classificação foi semelhante entre as duas cultivares e tratamentos.

#### 4.2.5.4. *Acidez*

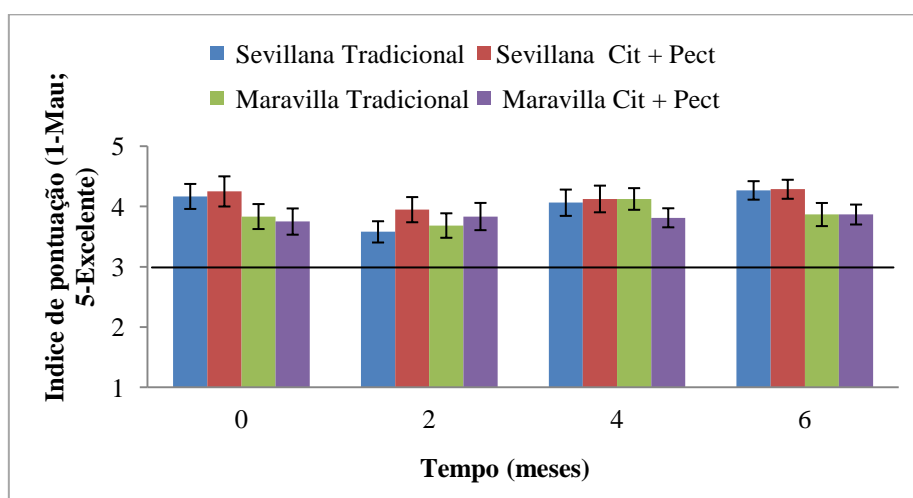


Figura 65 - Evolução da acidez dos doces das cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses), por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que os doces das duas cultivares possuíam uma acidez aceitável ( $>3$  numa escala de 1-5), ao longo dos 6 meses de armazenamento. Verifica-se que ao longo do tempo o painel de provadores atribui uma melhor qualificação ao doce da cultivar Sevillana como se pode observar pela figura 65.

#### 4.2.5.5. Doçura

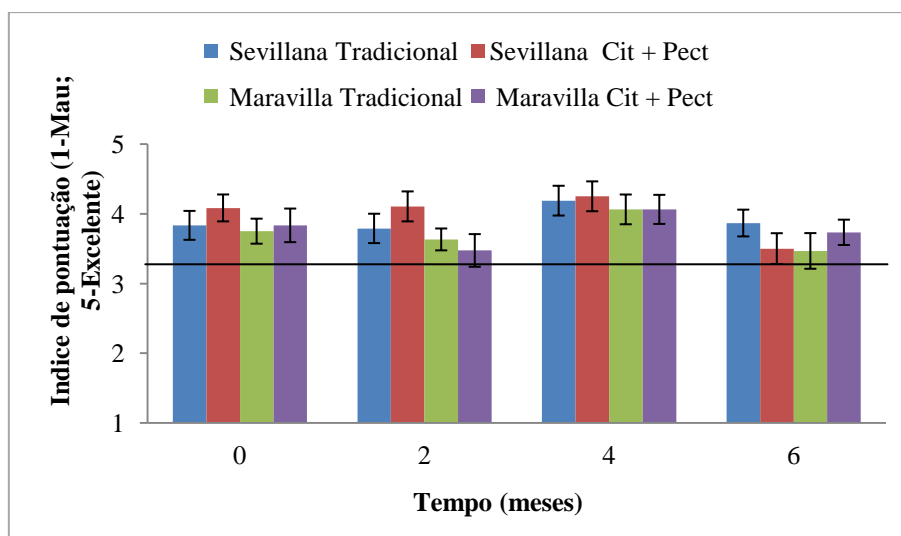


Figura 66 - Evolução da doçura dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses), por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que os doces das duas cultivares possuíam uma boa doçura ( $>3$  numa escala de 1-5), ao longo dos 6 meses de armazenamento. Verifica-se que o painel de provadores foi atribuindo uma melhor apreciação ao doce da cultivar Sevillana como se pode observar pela figura 66, independentemente do tratamento.

#### 4.2.5.6. Sabor

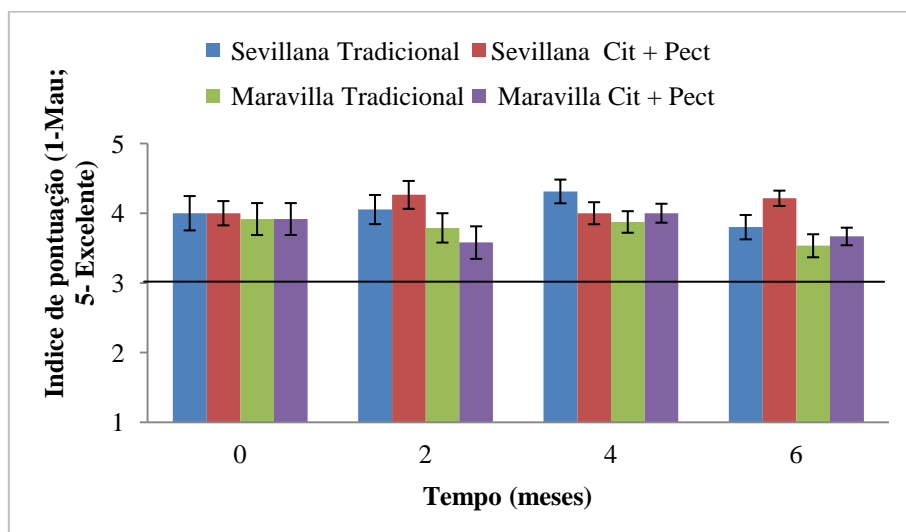


Figura 67 - Evolução do sabor dos doces das duas cultivares Sevillana e Maravilla obtidos por dois métodos (Tradicional e adição de Cit + Pect), sujeitas a uma avaliação sensorial que foi efetuada ao longo do tempo de conservação (0, 2, 4 e 6 meses), por apreciação de um painel de provadores.

O painel de provadores ao longo do tempo de armazenamento considerou que os doces das duas cultivares possuíam um sabor agradável (>3 numa escala de 1-5), ao longo dos 6 meses de armazenamento. Verifica-se que ao longo do tempo o painel de provadores atribuiu uma melhor qualificação ao doce da cultivar Sevillana como se pode observar pela figura 67. Nota-se aqui que a classificação foi no final superior no doce com a adição de ácido cítrico e pectina.

Os resultados do painel de provadores estão de acordo com as análises instrumentais dando preferência ao doce da cultivar Sevillana e o tratamento de adição de ácido e pectina ajudou a preservar a aparência do doce.

De acordo com os estudos efetuados por Figuerola (2007) é muito importante considerar que a qualidade de um doce depende fortemente da perceção sensorial do produto, ou seja, sabor, aroma, textura e cor. Estes fatores qualitativos, por outro lado, dependem do tratamento, bem como da qualidade do fruto. A cultivar das framboesas, maturidade e tratamentos pós-colheita são muito importantes para os atributos das framboesas. O produto final é fortemente dependente da qualidade da fruta fresca, isto

é, se a qualidade do fruto é melhor, melhor será a qualidade do produto final, especialmente no tratamento térmico utilizado para o processamento doce.

A cor revelou-se ser o indicador de qualidade muito influente, sendo resultados semelhantes obtidos por Wicklund *et al.* (2005), especialmente para avaliar a aparência dos doces, onde a cor vermelha ou roxo tem sido demonstrado ser muito atraente para os consumidores. A cor é afetada por diversas reações que ocorrem durante o processamento, incluindo degradação de ácido ascórbico, escurecimento enzimático, e polimerização de antocianinas, um outro fator importante é a consistência de qualidade e homogeneidade, que são dependentes do pH do doce (da sua acidez), a quantidade de pectina, e as relações entre açúcar e pectina. Verificou-se uma preferência para os doces mais doces, com menor nível de acidez e uma textura mais consistente.

## **Capítulo 5 – Conclusão**

Com este estudo concluiu-se que o armazenamento em câmaras de refrigeração (0, 3 e 6 °C) e as tecnologias de processamento térmico e o subsequente armazenamento à temperatura ambiente afetaram consideravelmente as propriedades físico-químicas e os compostos bioativos e tiveram um grande impacto na capacidade antioxidante nas duas cultivares de framboesas estudadas.

### ***5.1. Conclusão para os frutos de framboesa***

Tanto o parâmetro cor como a textura das framboesas diminuem ao longo do tempo de armazenamento e com o aumento da temperatura. Verificou-se que a temperatura de armazenamento de 0 °C foi a que melhor retardou a senescência, seguida de 3° e 6 °C para ambas as cultivares.

A concentração de sólidos solúveis das framboesas está muito dependente dos seus níveis de maturação e varia com as diferentes cultivares. Neste estudo a cultivar Sevillana foi a que apresentou níveis superiores de °Brix e também dos açúcares frutose e glucose.

O conteúdo fenólico engrandeceu com o aumento do tempo e da temperatura de armazenamento. Verificou-se que os valores de TEAC, ORAC e oxigénio singlete das framboesas também foram fortemente influenciadas pelas diferentes cultivares e principalmente pelas temperaturas e o tempo de armazenamento.

A capacidade antioxidante medida pelo método TEAC e ORAC apresentou diferenças significativas, sendo o método TEAC, o método que apresentou valores superiores mostrando ser o mais eficaz neste estudo.

O método de extração teve uma influência indispensável nos resultados finais da capacidade antioxidante. As amostras extraídas com etanol apresentaram actividade antioxidante superior, mostrando ser o mais eficaz. Na quantificação da capacidade de

captação dos radicais livres de oxigénio, o método de extração parece não afetar os resultados obtidos.

Verificou-se uma diminuição do teor do ácido ascórbico apenas com o aumento do tempo de armazenamento devido a sua oxidação, não sendo a sua degradação proporcional à temperatura de armazenamento. A diminuição do ácido ascórbico não afetou a capacidade antioxidante das framboesas.

Não se verificaram alterações significativas nas análises efetuadas aos carotenoides das duas cultivares de framboesas, concluindo-se que os carotenoides são mais estáveis que o ácido ascórbico permanecendo durante mais tempo nos tecidos até a completa senescência das framboesas.

A análise sensorial realizada pelo painel de provadores corresponde às análises efetuadas. Os avaliadores preferiram as framboesas da cultivar Maravilla às framboesas da cultivar Sevillana, ao longo do tempo. Como obtido analiticamente a cultivar Maravilla é a que apresenta melhores características qualitativas, pois a cultivar Sevillana apresentou senescência mais rápida.

## ***5.2. Conclusão para os doces de framboesa***

A temperatura ambiente, à qual, foram armazenados os doces após o processamento térmico teve um impacto sobre a estabilidade da cor e dos pigmentos, verificando-se a degradação da cor ao fim de 4 meses. O escurecimento das framboesas ‘Maravilla’ e ‘Sevillana’ está relacionado com o aumento bastante significativo dos compostos fenólicos e de acumulação de açúcares dos doces de framboesa.

O tratamento térmico afetou os materiais da parede celular presentes nas duas cultivares de framboesas levando a uma diminuição da textura dos doces ao longo do tempo. A textura foi também fortemente influenciada pela cultivar bem como pelos métodos aplicados de produção dos doces, sendo o tratamento de adição de ácido e pectina que preservou melhor a textura na cultivar Sevillana e na cultivar Maravilla o tratamento tradicional.

O processamento térmico influenciou o °Brix e os teores de açúcar verificando-se que os valores obtidos com o processamento foram bastante superiores, devido ao facto de se ter adicionado açúcar e a evaporação da água durante o processamento.

As amostras com quantidades mais elevadas de compostos fenólicos totais também apresentaram maior capacidade antioxidante. O tratamento térmico associado à maceração favoreceu a extração dos compostos fenólicos e consequentemente o aumento da atividade antioxidante.

O equilíbrio entre a pectina, açúcar e ácido cítrico revelou-se muito importante para o controlo microbiológico, bem como para a qualidade do doce, uma vez que os doces com esse tratamento apresentaram valores mais baixos de bolores e mesófilos. No entanto, este equilíbrio depende da cultivar e do seu estado de maturação. O doce da cultivar Sevillana pelo método de adição de ácido cítrico e pectina revelou-se ser o doce com melhor qualidade.

Os frutos da cultivar Maravilla foram melhor aceites pelo painel de provadores, do que os da cultivar Sevillana. Contudo, nos doces, o painel de provadores preferiu o doce da cultivar Sevillana. Assim, os frutos da cultivar Sevillana poderão ser mais usados para processamento em vez de fruta fresca.

### **5.3. Perspetivas Futuras**

Avaliando os resultados verifica-se a importância de estudos complementares para determinar a influência de outras formas de processamento nas capacidades antioxidante dos alimentos, assim como a identificação dos compostos mais afetados e tentar diminuir a perda de compostos antioxidantes importantes tais como as antocianinas, empregando-se técnicas como cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas. Será importante ainda identificar as possíveis interferências na quantificação da capacidade antioxidante pelo método ORAC, visto ser o método considerado pela literatura mais eficaz.

A continuação do estudo de modo a que as propriedades antioxidantes possam ser mantidas ou mesmo melhoradas através do desenvolvimento de cultivares, do armazenamento pós-colheita e processamento dos alimentos e ainda o estudo das propriedades antioxidantes não só no fruto mas das folhas da planta da framboesa como possível fonte de antioxidantes.

Que a informação estudada possa ser utilizada por investigadores para desenvolver novos procedimentos de modo a serem utilizados pelos produtores da indústria alimentar e para que os consumidores tenham uma melhor perceção dos benefícios destes frutos para a saúde.

## Capítulo 6 – Referências Bibliográficas

- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Tonogai, Y. Influence of Jam Processing on the Radical Scavenging Activity and Phenolic Content in Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, 48, 6292-6297.
- Ancos, B., Ibañez, E., Reglero, G., Cano, M. Frozen Storage Effects on Anthocyanins and Volatile Compounds of Raspberry Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, 48, 873-879.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K., Özyurt, D. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*. 2007, 12, 1496-1547.
- Basu, S., Shivhare U.S., Singh T.V., and Beniwal V.S. Rheological textural and spectral characteristics of sorbitol substituted mango jam. *Journal of Food Engineering*. 2011, 105, 503-512.
- Beekwilder, J., Jonker, H., Meesters, P., Hall, R., Van Der Meer, I., Ric de Vos, C. Antioxidants in Raspberry: On-Line Analysis Links Antioxidant Activity to a Diversity of Individual Metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, 53, 3313-3320.
- Beattie, J., Crozier, A., Duthie, G. Potential Health Benefits of Berries. *Current Nutrition & Food Science*. 2005, 1, 71-86.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, M., Paez-Hernandez, M., Rodriguez, J., Galan-Vidal, C. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 2009, 113, 859-871.
- Chandrasekara, A., Shahidi, F. Inhibitory Activities of Soluble and Bound Millet Seed Phenolics on Free Radicals and Reactive Oxygen Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011, 59, 428-436.
- Dai, J., Gupte, A., Gates, L., Mumper, R. A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*. 2009, 47 837-847.

Deighton, N., Brennan, R., Finn, C., Davies, H. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2000, 80, 1307 - 1313.

Figuerola, F. (2007). Berry jams and jellies. In Y. Zhao (Ed.), *Berry fruit: value-added products for health promotion* (pp. 106-126). New York: CRC Press.

Fortalezas, S., Tavares, L., Pimpão, R., Tyagi, M., Pontes, V., Alves, P., McDougall, G., Stewart, D., Ferreira, R., Santos, C. Antioxidant Properties and Neuroprotective Capacity of Strawberry Tree Fruit (*Arbutus unedo*). *Nutrients*. 2010, 2, 214-229.

García-Alonso, M., Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*. 2004, 84, 13-18.

González-Barrio, R., Borges, G., Mullen, W., Crozier, A. Bioavailability of Anthocyanins and Ellagitannins Following Consumption of Raspberries by Healthy Humans and Subjects with an Ileostomy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58, 3933-3939.

Hager, T., Howard, L., Liyanage, R., Lay, J., Prior, R. Ellagitannin Composition of Blackberry As Determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008a, 56, 661-669.

Hager, T., Howard, L., Prior, R. Processing and Storage Effects on Monomeric Anthocyanins, Percent Polymeric Color, and Antioxidant Capacity of Processed Blackberry Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008b, 56, 689-695.

Howard, L., Castrodale, C., Brownmiller, C., Mauromoustakos, A. Jam Processing and Storage Effects on Blueberry Polyphenolics and Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58, 4022-4029.

Howard, L., Hager, T. (2007). Berry fruits phytochemicals. In Y. Zhao (Ed.), *Berry fruit: value-added products for health promotion* (pp. 73-96). New York: CRC Press.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Prior, R. 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, 50, 4437-4444.

Huang, D., Ou, B., Prior, R. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, 53, 1841-1856.

ISO 21527-2:2008- Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of yeast and moulds.

Jordheim, M. Isolation, Identification and Properties of Pyranoanthocyanins and Anthocyanin Forms, *Dissertation for the degree of Philosophiae Doctor (PhD)*. 2007. Bergen, Norway, 9-10.

Kafkas, E., Kosar, M., Türemisa, N., Baser, K.H.C. Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey. *Food Chemistry*. 2006, 97, 732–736.

Kähkönen, M., Hopia, A., and Heinonen, M.. Berry Phenolics and Their Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001, 49, 4076-4082.

Kalt, W., Forney, C., Martin, A., Prior, R. Antioxidant Capacity, Vitamin C, Phenolics, and Anthocyanins after Fresh Storage of Small Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999, 47, 4638-4644.

Kopjar, M., Piližota, V., Tiban, N., Šubarić, D., Babić, J., Ačkar, D., Sajdl, M., Strawberry Jams: Influence of Different Pectins on Colour and Textural Properties. *Czech J. Food Sci.* Vol. 27, 2009, No. 1: 20–28.

Lee, J., Durst, R., Wrolstad, R. 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*. 2005, Vol. 88, N° 5.

Liu, M., Li, X., Weber, C., Lee, C., Brown, J., Liu, R.. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, 50, 2926-2930.

Liu, R., (2007). The potential health benefits of phytochemicals in berries for protecting against cancer and coronary heart disease. In Y. Zhao (Ed.), *Berry fruit: value-added products for health promotion* (pp. 187-200). New York: CRC Press.

Machado, P., Hotza, D., Petter, D., Bergmann, C. Controle de Qualidade para Revestimentos Cerâmicos Através da Análise Colorimétrica de Superfície Vidrada Monocromática. *Cerâmica Industrial*. 1997, 2 (3/4).

Malowicki, S. Flavor Composition of Transgenic Raspberry Bushy Dwarf Virus-Resistant ‘Meeker’ Raspberries. *Thesis*. 2007.

Melgarejo, P., Martínez R., Hernández, F., Martínez, J.J. and Legua P. Anthocyanin content and colour development of pomegranate jam. *Food and Bioproducts Processing*. 2011, 89, 477-481.

Mertz, C., Cheynier, V., Günata, Z., Brat, P. Analysis of Phenolic Compounds in Two Blackberry Species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55, 8616-8624.

Mitcham, E., (2007). Quality of berries associated with preharvest and postharvest conditions. In Y. Zhao (Ed.), *Berry fruit: value-added products for health promotion* (pp. 207-228). New York: CRC Press.

Moyer, R., Hummer, K., Finn, C., Frei, B., Wrolstad, R. Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity in Diverse Small Fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, 50, 519-525.

Monica, M., Jing, P. (2007). Natural pigments of berry: Functionality and application. In Y. Zhao (Ed.), *Berry fruit: value-added products for health promotion* (pp. 106-126). New York: CRC Press.

Nikkhah, E., Khayamy, M., Heidari, R., Jamee, R. Effect of Sugar Treatment on Stability of Anthocyanin Pigments in Berries. *Journal of Biological Sciences*. 2007, 8, 1412-1417.

NP-3788:2002 – Microbiologia Alimentar – Regras gerais para a contagem de microrganismos a 30 ° C. IPQ, Portugal.

Oliveira, P., Valdivieso, T., Esteves, A., Mota, M., Fonseca, L. A planta de framboesa - Morfologia e fisiologia. *Folhas de Divulgação AGRO 556*, Nº 1. 2007a.

Oliveira, P., Fonseca, L. FRAMBOESA - Tecnologias de produção. *Folhas de Divulgação AGRO 556*. Nº 3. 2007b.

Oliveira, R., Godoy, H., Prado, M. Optimização de metodologia colorimétrica para a determinação de ácido ascórbico em geleias de frutas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2010, 30 (1): 244-249.

Pantelidis, G., Vasilakakis, M., Manganaris, G., Diamantidis, Gr. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*. 2007, 102, 777-783.

Plessi, M., Bertelli, D., Albasini, A. Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. *Food Chemistry*. 2007, 100, 419-427.

Prior, R., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsch-Woodill, M., Huang, D., Ou, B., Jacob, R. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51, 3273-3279.

Rababah, T. M., Al-Mahasneh, M. A., Kilani, I., Yang, W., Alhamad, N. M., Ereifej, K., Al-Udatt, M. Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity and anthocyanins of different fruits. *Journal of Food Science and Agriculture*. 2011, 91, 1096-1102.

Rao, A., Snyder, D. Raspberries and Human Health: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58, 3871-3883.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 1999, 26, 1231-1237.

Rey, D., David, J., Martins, D., Pautou, M., Long, A., Marigo, G., Meyran, J. Role of vegetable tannins in habitat selection among mosquito communities from the Alpine hydrosystems. *C.R. Académie des Sciences Paris, Sciences de la vie / Life Sciences*. 2000, 323, 391-398.

Reyes, L., Villarreal, J., Cisneros-Zevallos, L. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chemistry*. 2007, 101, 1254-1262.

Sablani, S., Andrews, P., Davies, N., Walters, T., Hector Saez, H., Syamaladevia, R., Mohekara, P. Effect of thermal treatments on phytochemicals in conventionally and organically grown berries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010, 90, 769-778.

Sousa, M., Canet, W., Alvarez, M., Fernández, C. Effect of processing on the texture and sensory attributes of raspberry (cultivar Heritage) and blackberry (cultivar Thornfree). *Journal of Food Engineering*. 2007b, 78, 9-21.

Sousa, M., Curado, T., Vasconcellos, F., Trigo, M. Framboesa – Qualidade Pós-Colheita. *Folhas de Divulgação AGRO 556, Nº 6*. 2007a.

- Strik, B. C. (2007). Berry crops: worldwide area and production systems. In Y. Zhao (Ed.), *Berry fruit: value-added products for health promotion* (pp. 9-1). New York: CRC Press.
- Vedana, M. Efeito do processamento na actividade antioxidante da Uva. *Tese*. 2008.
- Talcott, S., (2007). Chemical components of berry fruits. In Y. Zhao (Ed.), *Berry fruit: value-added products for health promotion* (pp. 51-67). New York: CRC Press.
- Wada, L., Ou, B., Antioxidant Activity and Phenolic Content of Oregon Caneberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, 50, 3495-3500.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R. Total Antioxidant Capacity of Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996, 44, 701-705.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R., Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997, 45, 304-309.
- Wang, S., Jiao, H. Scavenging Capacity of Berry Crops on Superoxide Radicals, Hydrogen Peroxide, Hydroxyl Radicals, and Singlet Oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000a, 48, 5677-5684.
- Wang, S., Lin, H., Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000b, 48, 140-146.
- Wang, W., Xu, S. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*. 2007, 82, 271-275.
- Wicklund, T., Rosenfeld, H., Martinsen, B., Sundfor, M., Lea, P., Bruun, T., Blomhoff, R., Haffner, K. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *LWT - Food Science and Technology*. 2005, 38, 387-391.
- Wu, R., Frei, B., Kennedy, J., Zhao, Y. Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of 'Marion' and 'Evergreen' blackberries. *LWT - Food Science and Technology*. 2010, 43, 1253-1264.
- Yuksel, S., Koca, I.. Color stability of blackberry nectars during storage. *Journal of Food Technology*. 2008, 6 (4):166-169.
- Zafrilla, P., Ferreres, F., Toma's-Barbera, F. Effect of Processing and Storage on the Antioxidant Ellagic Acid Derivatives and Flavonoids of Red Raspberry (*Rubus idaeus*) Jams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001, 49, 3651-3655.

## **Anexos**

Anexo 1

Painel de Provadores  
Framboesa

Nome:

Data:

		A	B	C	D	E	F
Aparência do fruto	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5 (excelente)						
Aparência da polpa	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5 (excelente)						
Aroma	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5 (excelente)						
Textura	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5 (excelente)						
Doçura	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5 (excelente)						
Acidez	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5 (excelente)						
Sabor	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5 (excelente)						

Anexo 2

Painel de Provadores  
Doce de Framboesa

Nome:

Data:

		A	B	C	D	E	F
Aparência	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5(excelente)						
Aroma	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5(excelente)						
Textura	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5(excelente)						
Doçura	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5(excelente)						
Acidez	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5(excelente)						
Sabor	1 (má)						
	2						
	3						
	4						
	5(excelente)						

## Framboesas Frescas

### Post Hoc Tests

#### Temperaturas

#### Homogeneous Subsets

##### Repetiçoes

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset
		1
2,00	29	1,9655
1,00	36	2,0000
3,00	21	2,0000
Sig.		,901

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,902.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.
- b. Alpha = ,05.

##### L

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset		
		1	2	3
3,00	21	26,3863		
2,00	29		31,3700	
1,00	36			33,2094
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,550.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.
- b. Alpha = ,05.

##### a

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset		
		1	2	3
3,00	21	21,1382		
2,00	29		25,4629	
1,00	36			27,2836
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,518.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.
- b. Alpha = ,05.

**b**Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset		
		1	2	3
3,00	21	11,0293		
2,00	29		13,7008	
1,00	36			15,5818
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,573.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

**c**Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset		
		1	2	3
3,00	21	23,9033		
2,00	29		28,9566	
1,00	36			31,4377
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,893.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

**Hue**Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset		
		1	2	3
3,00	21	23,2276		
2,00	29		28,0350	
1,00	36			29,6828
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,710.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

**Firmeza**

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset		
		1	2	3
3,00	21	1,8973		
2,00	29		2,5010	
1,00	36			2,9356
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,041.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

**Brix**

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
3,00	21	7,0048	
1,00	36		7,8083
2,00	29		8,0241
Sig.		1,000	,160

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,314.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

**Peso**

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset		
		1	2	3
1,00	36	,8327		
2,00	29		1,2451	
3,00	21			2,9520
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,011.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### Antocianinas

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
1,00	36	23,7975	
2,00	29		29,9662
3,00	21		31,3677
Sig.		1,000	,471

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 51,086.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### Fenois

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
1,00	36	656,2667	
3,00	21	713,7387	713,7387
2,00	29		735,0549
Sig.		,100	,538

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 16204,517.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### Taninos

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset
		1
3,00	21	166,6519
1,00	36	188,6419
2,00	29	192,0718
Sig.		,112

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3030,220.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### Ascorbico

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
3,00	21	13,2970	
1,00	36	13,9715	13,9715
2,00	29		14,9812
Sig.		,305	,126

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 5,799.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### Caroteno

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset
		1
3,00	21	,8618
2,00	29	1,0051
1,00	36	1,0145
Sig.		,059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,077.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### TEACA

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset
		1
1,00	36	179,2497
3,00	21	183,5210
2,00	29	190,3197
Sig.		,374

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1834,887.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### TEACF

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
3,00	21	36,7948	
1,00	36	37,3400	
2,00	29		42,5566
Sig.		,825	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 82,481.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### TEACB

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset
		1
3,00	21	20,2067
1,00	36	20,6846
2,00	29	22,5594
Sig.		,450

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 115,039.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### OxiA

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset
		1
1,00	36	44,6089
3,00	21	44,7406
2,00	29	48,3696
Sig.		,103

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 63,107.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

**OxiF**

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
3,00	21	54,0955	
1,00	36		57,9992
2,00	29		60,6333
Sig.		1,000	,103

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 34,656.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

**OxiB**

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset		
		1	2	3
3,00	21	37,7005		
2,00	29		42,6314	
1,00	36			46,4322
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 47,558.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

**ORACA**

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
3,00	21	10,3514	
2,00	29		12,8414
1,00	36		13,0063
Sig.		1,000	,861

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 11,953.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### ORACF

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset
		1
3,00	21	4,7744
1,00	36	4,9897
2,00	29	5,0078
Sig.		,530

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1,633.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### Glucose

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
3,00	21	3,7584	
2,00	29	4,1168	
1,00	36		5,0618
Sig.		,073	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,528.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

### Frutose

Duncan<sup>a,b</sup>

Temperaturas	N	Subset	
		1	2
3,00	21	5,8517	
2,00	29		6,6917
1,00	36		6,9901
Sig.		1,000	,197

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,714.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,303.

b. Alpha = ,05.

## Dias

### Homogeneous Subsets

### Repetições

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset
		1
2,00	23	1,9565
1,00	24	2,0000
3,00	21	2,0000
4,00	18	2,0000
Sig.		,894

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,902.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

### L

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset			
		1	2	3	4
4,00	18	25,8106			
3,00	21		30,4129		
2,00	23			31,8261	
1,00	24				34,3383
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,550.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

### a

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset			
		1	2	3	4
4,00	18	21,6929			
3,00	21		25,0236		
2,00	23			26,0276	
1,00	24				27,0804
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,518.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**b**Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset			
		1	2	3	4
4,00	18	11,2244			
3,00	21		12,7993		
2,00	23			13,4782	
1,00	24				17,0442
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,573.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**c**Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset			
		1	2	3	4
4,00	18	24,4393			
3,00	21		28,1452		
2,00	23			29,3222	
1,00	24				32,0042
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,893.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**Hue**Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
4,00	18	22,6793		
3,00	21		26,7844	
2,00	23		27,2428	
1,00	24			32,1705
Sig.		1,000	,081	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,710.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**Firmeza**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset			
		1	2	3	4
4,00	18	1,8448			
3,00	21		2,0125		
2,00	23			2,5264	
1,00	24				3,5200
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,041.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**Brix**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
4,00	18	6,1278		
3,00	21		7,8952	
1,00	24		7,9833	
2,00	23			8,4000
Sig.		1,000	,610	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,314.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**Peso**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset			
		1	2	3	4
1,00	24	,0000			
2,00	23		1,4603		
4,00	18			1,8314	
3,00	21				2,9298
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,011.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

### Antocianinas

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
1,00	24	16,6446		
4,00	18		27,6666	
2,00	23		31,7574	31,7574
3,00	21			36,0267
Sig.		1,000	,067	,056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 51,086.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

### Fenois

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
1,00	24	565,5527		
4,00	18		683,0066	
2,00	23		747,5458	747,5458
3,00	21			803,3224
Sig.		1,000	,103	,158

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 16204,517.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

### Taninos

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
1,00	24	149,5399		
4,00	18	162,5237	162,5237	
3,00	21		194,5751	
2,00	23			228,7138
Sig.		,445	,062	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3030,220.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

### Ascorbico

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset	
		1	2
4,00	18	11,1893	
3,00	21		14,5583
2,00	23		14,6986
1,00	24		15,4777
Sig.		1,000	,246

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 5,799.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

### Caroteno

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset
		1
2,00	23	,9211
4,00	18	,9581
1,00	24	,9832
3,00	21	1,0353
Sig.		,229

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,077.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

### TEACA

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset	
		1	2
1,00	24	163,2771	
4,00	18	166,8311	
2,00	23		199,3100
3,00	21		205,7362
Sig.		,788	,627

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1834,887.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**TEACF**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
1,00	24	32,1683		
4,00	18	35,4933	35,4933	
2,00	23		40,1930	
3,00	21			48,3671
Sig.		,237	,097	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 82,481.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**TEACB**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset	
		1	2
2,00	23	8,9589	
1,00	24		23,8218
4,00	18		25,4675
3,00	21		27,9532
Sig.		1,000	,242

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 115,039.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**OxiA**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
4,00	18	41,5233		
1,00	24	43,8789	43,8789	
3,00	21		47,6980	47,6980
2,00	23			49,8269
Sig.		,338	,122	,386

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 63,107.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**OxiF**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
1,00	24	51,1715		
4,00	18	53,6531		
2,00	23		60,7168	
3,00	21			66,2848
Sig.		,174	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 34,656.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**OxiB**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
1,00	24	33,1702		
2,00	23		38,6559	
4,00	18			50,3542
3,00	21			52,7634
Sig.		1,000	1,000	,259

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 47,558.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**ORACA**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset	
		1	2
2,00	23	10,2776	
3,00	21	12,2891	12,2891
1,00	24		12,6799
4,00	18		14,4019
Sig.		,063	,063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 11,953.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**ORACF**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset	
		1	2
1,00	24	3,4994	
3,00	21		5,3554
4,00	18		5,5516
2,00	23		5,5974
Sig.		1,000	,566

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1,633.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**Glucose**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset			
		1	2	3	4
1,00	24	3,3553			
2,00	23		4,1792		
4,00	18			4,8084	
3,00	21				5,5875
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,528.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.

**Frutose**

Duncan<sup>a,b</sup>

Dias	N	Subset		
		1	2	3
1,00	24	4,9371		
2,00	23		6,6919	
4,00	18		6,8327	
3,00	21			8,2475
Sig.		1,000	,589	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,714.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 21,240.

b. Alpha = ,05.



## Doce de Framboesa

### Post Hoc Tests

meses

### Homogeneous Subsets

repetições

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset
		1
1,00	12	2,0000
2,00	12	2,0000
3,00	12	2,0000
4,00	12	2,0000
Sig.		1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1,000.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

L

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset		
		1	2	3
3,00	12	6,5817		
2,00	12	6,8475		
1,00	12		8,4467	
4,00	12			10,9063
Sig.		,629	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1,785.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

**a**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset	
		1	2
3,00	12	1,6967	
2,00	12	2,0750	
4,00	12	2,3008	
1,00	12		3,4792
Sig.		,064	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,539.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- Alpha = ,05.

**b**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset
		1
2,00	12	2,0500
3,00	12	2,1525
1,00	12	2,4150
4,00	12	2,4225
Sig.		,195

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,396.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- Alpha = ,05.

**Firmeza**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset	
		1	2
2,00	12	2,6667	
3,00	12	2,8333	
4,00	12	2,8500	
1,00	12		3,4667
Sig.		,541	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,465.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- Alpha = ,05.

**Brix**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset
		1
4,00	12	58,0667
2,00	12	58,1500
3,00	12	59,0500
1,00	12	61,4167
Sig.		,132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 23,598.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

**C**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset	
		1	2
3,00	12	2,7644	
2,00	12	2,9493	
4,00	12	3,3757	
1,00	12		4,2727
Sig.		,098	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,694.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

**Hue**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset	
		1	2
1,00	12	34,2655	
2,00	12		46,2404
4,00	12		47,1680
3,00	12		52,1100
Sig.		1,000	,119

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 72,212.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

**Fenois**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset
		1
4,00	12	1928,6228
2,00	12	1999,1078
1,00	12	2101,2998
3,00	12	2128,1838
Sig.		,186

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 108770,429.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

**TEAC**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset		
		1	2	3
1,00	12	36,6473		
3,00	12	37,5077		
2,00	12		41,8636	
4,00	12			48,8472
Sig.		,676	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 24,894.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

**Oxig**

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset		
		1	2	3
1,00	12	75,2526		
2,00	12		79,7859	
4,00	12			84,7693
3,00	12			85,9407
Sig.		1,000	1,000	,084

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2,581.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

### ORAC

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset		
		1	2	3
1,00	12	19,4492		
2,00	12		22,0672	
3,00	12		23,1254	
4,00	12			24,9535
Sig.		1,000	,187	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3,696.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

### Mesofilos

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset			
		1	2	3	4
1,00	12	4,3603			
2,00	12		6,7434		
3,00	12			8,4262	
4,00	12				9,8957
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,341.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

### Fungos

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset			
		1	2	3	4
1,00	12	1,6606			
2,00	12		4,3985		
3,00	12			6,2590	
4,00	12				8,2519
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = ,363.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

### Glucose

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset		
		1	2	3
1,00	12	9,7521		
2,00	12		11,2421	
3,00	12		12,2855	12,2855
4,00	12			12,5541
Sig.		1,000	,057	,615

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1,681.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

### Frutose

Duncan<sup>a,b,c</sup>

meses	N	Subset		
		1	2	3
1,00	12	9,1880		
2,00	12		10,5330	
4,00	12			12,3750
3,00	12			12,6603
Sig.		1,000	1,000	,567

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1,459.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = ,05.

USE ALL.

COMPUTE filter\_\$=(Variedade = 1).

VARIABLE LABEL filter\_\$ 'Variedade = 1 (FILTER)'.  
 VALUE LABELS filter\_\$ 0 'Not Selected' 1 'Selected'.  
 FORMAT filter\_\$ (f1.0).  
 FILTER BY filter\_\$.  
 EXECUTE .