

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos os que, de alguma forma tornaram possível a realização deste trabalho.

Em primeiro lugar, à Professora Doutora Isabel Maria Marques Saraiva de Carvalho, agradeço a motivação e a forma como me acompanhou na realização deste trabalho, transmitindo os seus conhecimentos com empenho e dedicação.

À Professora Doutora Célia Quintas, pela sugestão de trabalhar com o fruto de *Arbutus unedo* L. (medronho), pela motivação transmitida durante a elaboração do trabalho e pela forma como me acompanhou na elaboração da tese.

À Professora Doutora Graça Miguel, pela cedência dos padrões de antocianinas e pelo apoio durante a determinação destes compostos.

À Dra. Ludovina Galego, pela realização das análises da aguardente de medronho produzida com os frutos utilizados no estudo.

À Comissão Coordenadora do Mestrado em Agricultura Sustentável, em especial à Professora Doutora Jacinta Fernandes e ao Professor Doutor Amílcar Duarte.

Ao Centro de Desenvolvimento de Ciências e Técnicas de Produção Vegetal que me possibilitou a utilização do equipamento para as determinações efectuadas.

A todos os técnicos do laboratório de Química, Bioquímica e Química dos Solos da Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais (João Duarte, Camilo Portela e Mestre Teresa Sancho), em especial à Dra. Denise Martins pelo apoio prestado durante todo o trabalho.

À Mestre Carla Longuinho, à Dra. Celina Santos e à Dra. Anabela Gonçalves por todo o apoio que me deram na elaboração desta tese.

A toda a família, pelo apoio e compreensão nas horas mais difíceis.

RESUMO

O presente trabalho teve como principal objectivo caracterizar quimicamente dois frutos silvestres, o fruto de *Arbutus unedo* L (medronho) e o fruto de *Rubus fruticosus* Agg. (amora), que crescem espontaneamente na Serra do Caldeirão.

Os parâmetros físico-químicos e bioquímicos estudados foram o pH, o °Brix, a humidade, a cinza total, os iões cálcio, magnésio, sódio e potássio, o azoto total, a proteína total, os açúcares (frutose, glucose e sacarose) e as antocianinas (delfinidina 3-glucosido, delfinidina 3,5-diglucosido, cianidina 3-glucosido, cianidina 3,5-diglucosido, pelargonidina 3-glucosido e pelargonidina 3,5- diglucosido). Foram ainda determinados os parâmetros de cor no espaço CIE (L*, a* e b*). Observaram-se diferenças significativas nas várias determinações físico-químicas realizadas dependendo do ano e do local de colheita das amostras.

Os frutos de *Arbutus unedo* L apresentaram na sua constituição teores das antocianinas delfinidina 3-glucosido e cianidina 3-glucosido de 0,44 mg e 0,13 mg por 100 g de fruto fresco, respectivamente. Os frutos de *Rubus fruticosus* Agg. apresentaram na sua composição concentrações das antocianinas cianidina 3-glucosido, pelargonidina 3-glucosido e pelargonidina 3,5- diglucosido de 0,45 mg, 0,01 mg e 0,012 mg por 100 g de fruto, respectivamente. Estes frutos constituem, assim, uma fonte de antocianinas benéficas para a saúde, uma vez que estes compostos possuem reconhecidas actividades antioxidante e antimicrobiana.

Foram também estudadas as alterações físico-químicas e microbiológicas da massa do fruto de *Arbutus unedo* L. em fermentação. As leveduras foram os microrganismos responsáveis pela fermentação, encontrando-se as bactérias lácticas e as bactérias acéticas ausentes no processo estudado.

Os resultados obtidos contribuem para a valorização das espécies vegetais estudadas pois permitem que elas conquistem novos mercados, tendo em conta a sua composição em antocianinas e, conseqüentemente, contribuam para uma agricultura mais sustentável a nível económico, social e ambiental.

Palavras Chave: Agricultura sustentável, *Arbutus unedo* L., *Rubus fruticosus* Agg., açúcares, antocianinas, fermentação.

ABSTRACT

The main purpose of this thesis is to characterise chemically two wild fruits, the *Arbutus unedo* L. fruit (strawberry tree fruit) and the *Rubus fruticosus* Agg. fruit (blackberry), that grow up spontaneously in Serra do Caldeirão (Algarve).

The physicochemical and biochemical parameters studied were the pH, the °Brix, the humidity, the total ash, the calcium, magnesium, sodium and potassium ions, the total nitrogen, the total protein, the sugars (fructose, glucose and sucrose) and the anthocyanins (delphinidin 3-glucoside, delphinidin 3,5-diglucoside, cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3,5-diglucoside, pelargonidin 3-glucoside and pelargonidin 3,5-diglucoside). The colour parameters in the CIE space (L*, a* and b*) were also measured. Significant differences were observed in the several physicochemical analysed parameters depending on the year and the origin of the samples.

The fruits of *Arbutus unedo* L had contents of the anthocyanins delphinidin 3-glucoside and cyanidin 3-glucoside of 0,44 mg and 0,13 mg in 100 g of fresh fruit, respectively. The fruits of *Rubus fruticosus* Agg. showed concentrations of cyanidin 3-glucoside, pelargonidin 3-glucoside and pelargonidin 3,5- diglucoside of 0,45 mg, 0,01 and 0,012 mg in 100 g of fruit, respectively. These fruits seem to be a good source of anthocyanins beneficial for health, due to the antioxidant and antiseptic properties of those compounds.

The physicochemical and microbiological changes of the fermented must of *Arbutus unedo* L. fruit were also studied. The yeasts were the main responsible microorganisms for the fermentation, whereas the lactic acid bacteria and the acetic acid bacteria were absent in the process studied.

This study intends to be a contribution for the valorisation, preservation and better utilization of the vegetal species studied and consequently, it contributes for a more sustainable agriculture in an economic, social and environmental level.

Key words: Sustainable agriculture, *Arbutus unedo* L., *Rubus fruticosus* Agg., sugars, anthocyanins, fermentation

GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

INE- Instituto Nacional de Estatística

CCDR- Comissão Coordenadora de Desenvolvimento Regional

NADH- dinucleotídeo de nicotinamida- adenina

NAD⁺- dinucleotídeo de nicotinamida- adenina (forma oxidada)

ATP- trifosfato de adenosina

rpm - rotações por minuto

min - minuto

Kg - quilograma

Ca²⁺ - ião cálcio

Mg²⁺ - ião magnésio

Na⁺ - ião sódio

K⁺ - ião potássio

°C - graus Celsius

ml - mililitros

% - percentagem

g - gramas

h - horas

ppm - partes por milhão

µm - micrómetro

mm - milímetro

mg - miligramas

MEA - malt extract agar

HPLC- cromatografia líquida

ANOVA - análise de variância

CIELAB - espaço de cor CIE

L* - luminosidade

a* - redness

b* - yellowness

a*/b* - relação entre a cor verde e vermelha

H° - ângulo da cor (Hue angle)

C - pureza da cor (Croma)

Dp 3 - delfinidina 3-glucosido

Dp 3,5 - delphinidina 3,5- diglucosido

Cy 3 - cianidina 3-glucosido

Cy 3,5 - cianidina 3,5-diglucosido

Pg 3 - pelargonidina 3- glucosido

Pg 3,5 - pelargonidina 3,5- diglucosido

Mt. do Cravo - Monte do Cravo

ufc – unidade formadora de colónias

INDICE DE FIGURAS

I- INTRODUÇÃO

Figura 1.

Mapa de localização da freguesia de Cachopo. 6

Figura 2.

Carta de solos da região do Algarve. 8

Figura 3.

Arbutus unedo L. 11

Figura 4

Flor de *Arbutus unedo* L.. 12

Figura 5

Flor de *Arbutus unedo* L.. 12

Figura 6.

Fruto de *Arbutus unedo* L.. 12

Figura 7.

Aspecto geral do caule, folhas, flor e fruto de *Rubus fruticosus* Agg.. 16

Figura 8.

Terminais dos ramos rosados de *Rubus fruticosus* Agg. com numerosos estames. 17

Figura 9.

Fruto de *Rubus fruticosus* Agg.. 18

Figura 10.	
Fruto de <i>Rubus fruticosus</i> Agg..	18
Figura 11.	
Estrutura básica de uma antocianina.	23
Figura 12.	
Híbridos de ressonância.	24
Figura 13.	
Glicólise e fermentação alcoólica.	26
Figura 14.	
Processo de produção de aguardente de medronho.	28
Figura 15.	
Fermentador de PVC.	28
Figura 16.	
Alambique de cobre.	29

II- MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 17.	
Mapa de localização dos locais de colheita das amostras.	31

III- RESULTADOS

Figura 18.	
Variação da temperatura no exterior do fermentador [máxima (▲) e mínima (●)] e no interior do fermentador (□).	60

Figura 19.

Evolução da população de leveduras (♦) e variação no teor de açúcares [glucose (□), frutose (Δ) e sacarose (x)] durante a fermentação do fruto de *Arbutus unedo* L..

62

Figura 20.

Evolução da população de leveduras (♦) e a produção de etanol (o) durante a fermentação do fruto de *Arbutus unedo* L.

62

IV- DISCUSSÃO

Figura 21.

Gráfico de precipitação.

65

ÍNDICE DE QUADROS

I- INTRODUÇÃO

Quadro I.

Estatísticas demográficas referentes ao ano de 2001. 4

Quadro II.

Estrutura etária da população de Cachopo, referente ao ano de 2001. 5

Quadro III.

Aspectos gerais da composição nutricional do fruto de *Arbutus unedo* L.. 14

Quadro IV.

Características do fruto de *Arbutus unedo* L.. de acordo com os diferentes graus de maturação. 15

Quadro V.

Estrutura básica de algumas antocianinas. 23

II- MATERIAIS E MÉTODOS

Quadro VI.

Código das amostras do fruto de *Arbutus unedo* L. e do fruto de *Rubus fruticosus* Agg.. 31

III- RESULTADOS

Quadro VII

Valores médios (n=4), afectados pelo respectivo erro padrão de percentagem de cinza total, humidade e proteína para as amostras do fruto de *Arbutus unedo* L. e *Rubus fruticosus* Agg.. 43

Quadro VIII

Valores de F e p resultantes da análise de variância (ANOVA) para n=4, assim como o respectivo nível de significância (^{ns}p≥0,05; 0,01≤ *p<0,05; 0,001≤ **p<0,01; ***p<0,001) efectuada em relação à variação do teor de cinzas, humidade.

44

Quadro IX.

Valores médios (n=4), afectados pelo respectivo erro padrão de pH, °Brix, valores de cor medidos por reflectância no espaço CIE para as amostras do fruto de *Arbutus unedo* L. e *Rubus fruticosus* Agg..

46

Quadro X

Valores de F e p resultantes da análise de variância (ANOVA) para n=4, assim como o respectivo nível de significância (^{ns}p≥0,05; 0,01≤ *p<0,05; 0,001≤ **p<0,01; ***p<0,001) efectuada em relação ao pH, °Brix, valores de cor medidos por reflectância no espaço CIE.

47

Quadro XI

Valores médios (n=4), afectados pelo respectivo erro padrão do teor de glucose, sacarose e frutose para as amostras do fruto de *Arbutus unedo* L. e *Rubus fruticosus* Agg.

48

Quadro XII

Valores de F e p resultantes da análise de variância (ANOVA) para n=4, assim como o respectivo nível de significância (^{ns}p≥0,05; 0,01≤ *p<0,05; 0,001≤ **p<0,01; ***p<0,001) efectuada em relação ao teor de glucose, sacarose e frutose.

49

Quadro XIII.

Valores médios (n=4), afectados pelo respectivo erro padrão do teor de antocianinas das diferentes amostras do fruto de *Arbutus unedo* L. e de *Rubus fruticosus* Agg..

50

Quadro XIV

Valores de F e p resultantes da análise de variância (ANOVA) para n=4, assim como o respectivo nível de significância (^{ns}p≥0,05; 0,01≤ *p<0,05; 0,001≤ **p<0,01; ***p<0,001) efectuada em relação ao teor antocianinas (Dp 3- glu, Cy 3-glu e Pg 3 - glu).

50

Quadro XV

Quantidade dos diferentes minerais (mg /100 g de fruto) presentes nos fruto de *Arbutus unedo* L. colhidos em Larache no ano de 2004.

51

Quadro XVI

Correlações existentes entre o pH e os diferentes parâmetros analisadas para caracterizar os frutos de *Arbutus unedo* L. do Sotavento Algarvio (Serra do Caldeirão, freguesia de Cachopo).

52

Quadro XVII

Correlações existentes entre a humidade e os diferentes parâmetros analisadas para caracterizar os frutos de *Arbutus unedo* L. do Sotavento Algarvio (Serra do Caldeirão, freguesia de Cachopo).

53

Quadro XVIII

Correlações existentes entre o °Brix e os diferentes parâmetros analisadas para caracterizar os frutos de *Arbutus unedo* L. do sotavento Algarvio (Serra do Caldeirão, freguesia de Cachopo).

53

Quadro XIX

Correlações existentes entre o teor de minerais e os diferentes parâmetros analisadas para caracterizar os frutos de *Arbutus unedo* L. do sotavento Algarvio (Serra do Caldeirão, freguesia de Cachopo).

54

Quadro XX

Correlações existentes entre frutose e os diferentes parâmetros analisadas para caracterizar os frutos de *Arbutus unedo* L. do Sotavento Algarvio (Serra do Caldeirão, freguesia de Cachopo).

54

Quadro XXI.

Correlações existentes entre os diferentes parâmetros da cor (L^* , a^* e b^*) e os diferentes parâmetros analisadas para caracterizar os medronhos do Sotavento Algarvio (Serra do Caldeirão, freguesia de Cachopo).

55

Quadro XXII.

Correlações existentes entre o teor de $Cy3$ e os diferentes parâmetros analisadas para caracterizar os medronhos do Sotavento Algarvio (Serra do Caldeirão, freguesia de Cachopo).

55

Quadro XXIII.

Correlações existentes entre o pH e os diferentes parâmetros analisadas para o fruto de *Rubus fruticosus* Agg.. da freguesia de Cachopo (Serra do Caldeirão).

56

Quadro XXIV.

Correlações existentes entre o humidade e os diferentes parâmetros analisadas para o fruto de *Rubus fruticosus* Agg.. da freguesia de Cachopo (Serra do Caldeirão).

56

Quadro XXV.

Correlações existentes entre o °Brix e os diferentes parâmetros analisadas para o fruto de *Rubus fruticosus* Agg.. da freguesia de Cachopo (Serra do Caldeirão).

57

Quadro XXVI.

Correlações existentes entre os açúcares e os diferentes parâmetros analisadas para o fruto de *Rubus fruticosus* Agg.. da freguesia de Cachopo (Serra do Caldeirão).

58

Quadro XXVII.

Correlações existentes entre os diferentes parâmetros da cor e os diferentes parâmetros analisadas para o fruto de *Rubus fruticosus* Agg.. da freguesia de Cachopo (Serra do Caldeirão).

59

Quadro XXVIII.

Variação do pH, °Brix e teores de humidade ao longo do período de fermentação

61

Quadro XXIX.

Características da aguardente resultante da fermentação dos frutos estudados (resultados obtidos pela Dra. Ludovina Galego).

63

IV- CONCLUSÕES GERAIS

Quadro XXX.

Composição físico-química e bioquímicas dos frutos de *Arbutus unedo* L e de *Rubus fruticosus* Agg..

74

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE QUADROS	XIII
ÍNDICE	XVII

OBJECTIVOS	1
-------------------	----------

I- INTRODUÇÃO	3
----------------------	----------

1- Localização da zona em Estudo	4
1.1- Cachopo	6
1.2- Desertificação e sustentabilidade	9
2- Importância dos frutos de <i>Arbutus unedo</i> L. e de <i>Rubus fruticosus</i> Agg.	11
2.1- Medronheiro (<i>Arbutus unedo</i> L.)	11
2.1.1- Composição nutricional do fruto de <i>Arbutus</i> <i>unedo</i> L.	14
2.2- Amoreira selvagem (<i>Rubus fruticosus</i> Agg.)	16
3- Aspectos gerais da composição nutricional dos frutos. Importância de determinados nutrientes presentes nos frutos	19
3.1- Minerais	19
3.2- Hidratos de Carbono	20
3.3- Pigmentos Vegetais	21
3.3.1- Antocianinas	23
4- Fermentação alcoólica	26
4.1- Fermentação do fruto de <i>Arbutus unedo</i> L.	27

1- Material Vegetal	31
2- Métodos	32
2.1- Determinação do resíduo seco solúvel (°Brix)	32
2.2- Determinação do pH	33
2.3- Determinação da cor (refracção L*, a* e b*)	33
2.4- Determinação dos açúcares	33
2.5- Determinação das antocianinas	33
2.6- Determinação do teor em humidade	34
2.7- Determinação do teor de proteína total	35
2.7.1- Digestão	35
2.7.2- Destilação	35
2.8- Determinação do teor de matéria seca	36
2.9- Determinação do teor em cinza total	36
2.10- Determinação do teor de sódio (Na ⁺), potássio (K ⁺), magnésio (Mg ²⁺) e cálcio (Ca ²⁺).	37
2.11- Alterações físico-químicas e microbiológicas durante a fermentação do fruto de <i>Arbutus unedo</i> L.	
2.11.1- Condições de fermentação	38
2.11.2- Determinações físico-químicas	38
2.11.3- Parâmetros microbiológicos	39
2.11.4- Contagem de leveduras	39
2.11.5- Contagem de bactérias lácticas	39
2.11.6- Contagem de bactérias acéticas	39
2.11.7- Isolamento de leveduras	39
2.12- Procedimento estatístico	40

III- RESULTADOS

1- Caracterização química dos frutos de <i>Arbutus unedo</i> L. e de <i>Rubus fruticosus</i> Agg.	42
--	----

2- Alterações físico-químicas e microbiológicas durante a fermentação de <i>Arbutus unedo</i> L	60
IV- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	64
<hr/>	
1- Caracterização química do fruto de <i>Arbutus unedo</i> L. e de <i>Rubus fruticosus</i> Agg.	65
2- Alterações físico-químicas e microbiológicas durante a fermentação do fruto de <i>Arbutus unedo</i> L	71
V- CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
<hr/>	
VI-PERSPECTIVAS FUTURAS	76
<hr/>	
VI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
<hr/>	
ANEXOS	
<hr/>	
ARTIGO PUBLICADO	
- “Chemical and Microbial changes during the natural fermentation of <i>Arbutus unedo</i> ’s fruit”	
Journal of Food Biochemistry (Aceite em Agosto de 2006).	
APÊNDICE	
<hr/>	
Apêndice I- Composição do Meio de Cultura MEA	