

Estudos de Bioatividade de genótipos de Framboesa e Produtos derivados

Raquel Gaspar Casado Parreira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar

Orientadores: Doutora Ana Cristina Martins Ramos, Investigadora Auxiliar do Instituto
Nacional de Investigação Agrária e Veterinária
Professora Doutora Margarida Gomes Moldão Martins

Júri:

Presidente: Doutor Vítor Manuel Delgado Alves, Professor auxiliar do Instituto Superior
de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutora Carla Sofia Marques de Alegria, Investigadora Auxiliar do Instituto
Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

Doutora Ana Cristina Martins Ramos, Investigadora Auxiliar do Instituto
Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

Agradecimentos

Por mais pessoal que seja uma conquista, esta é o culminar de todos os que ao meu lado caminharam e apoiaram, direta e indiretamente. É com orgulho que concluo a minha dissertação, marcada pelo esforço e perseverança.

Gostaria de começar por agradecer ao INIAV, em particular à UTI, na pessoa do Doutor Miguel Pestana, pelo acolhimento e privilégio de integrar nesta equipa de investigação, cujo apoio e confiança foram determinantes para o meu crescimento académico e pessoal.

Com profunda gratidão, expresso o meu mais sincero agradecimento à minha orientadora, Doutora Cristina Ramos, não só pela orientação e conhecimento partilhado, mas também pelo incentivo, dedicação, paciência e simpatia com que me acompanhou ao longo deste ano. Agradeço igualmente à Doutora Marta Abreu e ao Nelson Pereira pela colaboração, acompanhamento atento, simpatia e ensinamentos. À minha colega de laboratório, Inês Pena, muito obrigada pelos momentos de alegria e companheirismo.

À Doutora Cristina Roseiro, gostaria de agradecer pela disponibilidade e simpatia, e pelas análises HPLC que gentilmente realizou. À Andreia Soares e Jaime Fernandes, pelas análises de determinação da gordura e proteína bruta, respetivamente. À Doutora Manuela Vida e Cláudia Correia, pela avaliação da estabilidade microbiológica das amostras de doce. Ao Doutor Nuno Alvarenga, pelas análises reológicas dos doces de framboesa. E a todas as pessoas que formaram parte do painel de provadores na apreciação sensorial dos doces de framboesa.

Quero deixar ainda um agradecimento à Professora Margarida Moldão, enquanto vínculo com o ISA, por me ter aceitado como orientanda, bem como, pela atenção, apoio prestado e esclarecimento de dúvidas.

Ao ISA, aos professores, colegas e funcionários – em especial à Joana Sales, pela ajuda na análise mineral da matéria-prima – com quem me cruzei, tanto na Licenciatura como no Mestrado, e que me acompanharam ao longo destes cinco anos de vida académica. Levo comigo tudo o que aprendi convosco e que me ajudou a tornar-me na pessoa e engenheira que hoje sou.

Um especial agradecimento à minha família – avós, pais, irmão e o meu mano mais novo de 4 patas – aqueles que me viram crescer e me ensinaram a seguir sempre o coração e a lutar pelos meus objetivos. Neste caminho atribulado que é a vida, o mais importante é ter quem acredite em nós, vibre connosco, mas também nos desafie. E, nesse sentido, sei que convosco posso sempre contar!

Resumo

As framboesas (*Rubus idaeus* L.) são frutos altamente perecíveis, sujeitos a perdas pós-colheita significativas devido a danos mecânicos e ao rápido desenvolvimento fúngico. Nesse contexto, a transformação de frutos *in natura* não comercializáveis em produtos funcionais revela-se como estratégia sustentável para minimizar o desperdício alimentar e fomentar a economia circular. Por outro lado, as framboesas destacam-se pela riqueza em compostos fitoquímicos, cuja estabilidade e bioacessibilidade após a ingestão podem ser comprometidas pela interação com a matriz alimentar e pelas condições do trato gastrointestinal.

Este trabalho propõe o desenvolvimento de um doce hipocalórico de framboesa, utilizando pectina de baixo metoxilo (LMP) como agente gelificante, com o duplo objetivo de proteger e preservar a bioacessibilidade dos fitoquímicos relevantes e reduzir significativamente o teor de açúcar, sem adição de iões de cálcio – uma vez que a framboesa apresenta teores adequados deste ião – ou outros aditivos gelificantes, obtendo-se assim uma formulação “clean label”, mais natural e alinhada com as tendências atuais de consumo saudável. Para a formulação do doce optou-se pelo genótipo ‘id. A’ por se tratar de uma cultivar já comercializada, em contraste à ‘id. B’ que, embora promissor, ainda se encontra em fase de desenvolvimento no programa de melhoramento genético. Para tal, delinearam-se dois ensaios experimentais complementares: (i) caracterização e bioatividade de um novo genótipo de framboesa resultante de melhoramento genético face a uma cultivar comercial, e (ii) desenvolvimento de um doce hipocalórico (2,5% de LMP e 12,7% de açúcar) face a um doce tradicional (relação fruta-açúcar, 1:1), caracterizando-os com base nos parâmetros avaliados para a matéria-prima, bem como, avaliação reológica, avaliação da estabilidade microbiológica e apreciação sensorial.

Os resultados indicaram que a incorporação de pectina de baixo metoxilo conferiu ao doce hipocalórico uma textura agradável, assegurando simultaneamente a libertação controlada dos polifenóis durante a digestão simulada. Além disso, a redução do teor de açúcar não comprometeu as propriedades sensoriais, demonstrando o potencial de valorização de excedentes de produção com o desenvolvimento de formulações saudáveis e inovadoras.

Palavras-chave: Pequenos frutos, bioacessibilidade, fitoquímicos, pectina de baixo metoxilo, desenvolvimento de novos produtos

Abstract

Raspberries (*Rubus idaeus* L.) are highly perishable fruits, prone to significant post-harvest losses due to mechanical damage and rapid fungal development. In this context, the transformation of unmarketable fresh fruit into functional products emerges as a sustainable strategy to minimize food waste and promote a circular economy. Moreover, raspberries are notable for their richness in phytochemical compounds, whose stability and bioaccessibility after ingestion may be affected by interactions with the food matrix and the conditions of the gastrointestinal tract.

This study aims to develop a low-calorie raspberry jam, using low-methoxyl pectin (LMP) as a gelling agent, with the dual objective of protecting and preserving the bioaccessibility of relevant phytochemicals while significantly reducing sugar content – without the addition of calcium ions – since raspberries naturally contain adequate levels of this ion – or other gelling additives, thus achieving a more natural “clean label” formulation in line with current healthy consumption trends.

For the formulation of the jam, the ‘id. A’ genotype was selected due to its current commercial use, in contrast with ‘id. B’, which, although promising, is still under development within a genetic improvement program. Two complementary experimental trials were conducted: (i) characterization and bioactivity assessment of a new raspberry genotype developed through genetic improvement, compared with a commercial cultivar, and (ii) development of a low-calorie jam (2.5% LMP and 12.7% sugar) in comparison with a traditional jam (fruit-to-sugar ratio 1:1), characterizing both based on the parameters evaluated for the raw material, as well as rheological assessment, microbiological stability analysis, and sensory evaluation.

Results showed that the incorporation of low-methoxyl pectin resulted in a low-calorie jam with a pleasant texture, while enabling controlled release of polyphenols during simulated digestion. Furthermore, the reduction in sugar content did not compromise sensory properties, demonstrating the potential for valorising surplus production through healthy and innovative formulations.

Keywords: small fruits, bioaccessibility, phytochemicals, low-methoxyl pectin, new product development

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract	III
Lista de Tabelas.....	VI
Lista de Figuras	VII
Lista de Equações	IX
Lista de Abreviaturas	XI
1. Introdução e Objetivo principal.....	1
2. Enquadramento Teórico	2
2.1. A Framboesa.....	2
2.1.1. Caracterização Botânica e Morfológica.....	2
2.1.2. Composição Nutricional.....	4
2.1.3. Mercado em Portugal: Desafios pós-colheita e Processamento	5
2.1.4. Transformação da framboesa em doce.....	7
2.2. Compostos fitoquímicos presentes na framboesa: tipos, atividades biológicas, estabilidade e bioacessibilidade.....	8
2.3. Fibra alimentar e implicações na saúde gástrica do consumidor	9
2.4. Pectina de Baixo Metoxilo	10
2.4.1. Caracterização e Mecanismo de Gelificação	10
2.4.2. Testes de avaliação reológica.....	14
2.5. Bioacessibilidade de compostos fitoquímicos.....	15
2.5.1. Efeito da interação com a fibra alimentar.....	15
2.5.2. Testes de determinação da bioacessibilidade	16
3. Delineamento Experimental	18
3.1. Descrição dos génotipos de framboesa.....	18
3.2. Métodos analíticos	18
3.2.1. Análises físico-químicas	18
3.2.2. Compostos bioativos	22
3.2.3. Bioacessibilidade de fitoquímicos	27
3.2.4. Contagens microbiológicas.....	28
3.2.5. Avaliação Reológica	29
3.2.6. Apreciação Sensorial.....	29
3.2.7. Análise Estatística	30
3.3. Descrição dos ensaios	30

3.3.1.	Caracterização e Bioacessibilidade de fitoquímicos de genótipos de framboesa.....	30
3.3.2.	Produção de doce.....	30
4.	Resultados e Discussão.....	34
4.1.	Caracterização e Bioacessibilidade de fitoquímicos de genótipos de framboesa.....	34
4.1.1.	Parâmetros físico-químicos	34
4.1.2.	Composição bioativa	38
4.1.3.	Bioacessibilidade de fitoquímicos	42
4.2.	Produção de doce	43
4.2.1.	Parâmetros físico-químicos	43
4.2.2.	Composição bioativa	48
4.2.3.	Bioacessibilidade de fitoquímicos	51
4.2.4.	Contagens microbiológicas.....	53
4.2.5.	Avaliação reológica.....	54
4.2.6.	Apreciação sensorial	56
4.3.	Comparação do genótipo 'id. A' com o doce hipocalórico de framboesa.....	57
5.	Conclusões	58
6.	Divulgação	59
7.	Perspetivas futuras	59
	Referências Bibliográficas	i
	Anexos	xi

Lista de Tabelas

Tabela 1 Classificação científica da framboesa <i>R. idaeus</i> L.	2
Tabela 2 Perfil nutricional de <i>R. idaeus in natura</i> por 100 g de parte edível.	5
Tabela 3 Características no trato gastrointestinal e exemplos das frações de fibra alimentar.....	10
Tabela 4 Classificação detalhada do nível de diferenças obtido através do parâmetro DTC.....	20
Tabela 5 Ensaio preliminares de DH.....	31
Tabela 6 Cor instrumental CIELab dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.....	34
Tabela 7 AT, pH e TSS dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.	36
Tabela 8 Humidade, Proteína Bruta e Minerais dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.	37
Tabela 9 Composição bioativa dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.....	38
Tabela 10 Perfil fenólico dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.	41
Tabela 11 CFT, TAT e AOx dos frutos 'id. A' e 'id. B' resultantes do ensaio de bioacessibilidade.	42
Tabela 12 Cor instrumental CIELab dos doces.....	44
Tabela 13 a_w , AT, pH e TSS dos doces.	46
Tabela 14 Humidade, proteína e gordura dos doces em t_0 vs. valores referenciados na literatura.....	47
Tabela 15 Composição bioativa dos doces.....	48
Tabela 16 Perfil fenólico dos doces.	50
Tabela 17 CFT, TAT e AOx dos doces resultantes do ensaio de bioacessibilidade. ...	52
Tabela 18 Contagem microbiológica dos doces, sob diferentes condições de armazenamento.....	53
Tabela 19 Módulo <i>Plateau</i> e de G' a 1 Hz, obtidos dos espectros mecânicos dos doces em t_0	55
Tabela 20 Volumes das soluções-mãe de eletrólitos utilizados para preparação dos reagentes SSF, SGF e SIF (1,25x).....	xvii
Tabela 21 Quantidades necessárias das soluções enzimáticas utilizadas nas diversas fases do processo digestivo.....	xvii

Lista de Figuras

Figura 1 Morfologia da framboesa: vista externa e corte longitudinal.	3
Figura 2 Variação de coloração em frutos de framboesa (<i>R. idaeus</i> e híbridos).....	4
Figura 3 Produção agrícola (t ³) e Área de exploração agrícola (ha) de framboesa, em Portugal, entre 2010 e 2023.	6
Figura 4 Representação estrutural da linearidade das cadeias de homogalacturonano (HG) interrompidas por ramnogalacturonanos I (RG-I) e II (RG-II).....	11
Figura 5 Transformação de uma unidade linear de ácido α -D-galacturónico (GalA) esterificada com metanol.	11
Figura 6 Representação esquemática das ligações iónicas entre cadeias de pectina e iões de cálcio. (a) dimerização; (b) agregação dos dímeros; (c) "caixa de ovos".	12
Figura 7 Genótipos de framboesa vermelha rececionados. (a) Cultivar comercial/referência ('id. A'); (b) Seleção avançada de melhoramento INIAV/Beira Baga ('id. B')..	18
Figura 8 Modelo do sistema espacial de cromaticidade CIELab, com ilustração das coordenadas L*, a* e b* para interpretação do parâmetro de tonalidade ($^{\circ}$ h, Hue).. ...	19
Figura 9 Processo produtivo dos doces tradicional (DT) e hipocalórico (DH).	32
Figura 10 Aspeto final dos doces: (a) Doce tradicional (DT); (b) Doce hipocalórico (DH).	33
Figura 11 Espetros mecânicos dos doces em t ₀ , com G' e G'' (Pa) em função de f (Hz).	55
Figura 12 Classificações médias atribuídas durante a apreciação sensorial dos doces em t ₀	56
Figura 13 Reta de calibração da AOx pelo método DPPH para a caracterização de 'id. A' e 'id. B'.	xi
Figura 14 Reta de calibração da AOx pelo método DPPH para o ensaio de bioacessibilidade dos frutos 'id. A' e 'id. B'.	xi
Figura 15 Reta de calibração da AOx pelo método DPPH para a caracterização dos doces de framboesa em t ₀	xii
Figura 16 Reta de calibração da AOx pelo método DPPH para o ensaio de bioacessibilidade dos doces de framboesa em t ₀	xii
Figura 17 Reta de calibração da AOx pelo método DPPH para a caracterização do DH em t ₁₅ sob diferentes condições de temperatura.....	xii
Figura 18 Reta de calibração da AOx pelo método DPPH para a caracterização do DH em t ₃₀ sob diferentes condições de temperatura.....	xiii
Figura 19 Reta de calibração da AOx pelo método FRAP.	xiii
Figura 20 Reta de calibração de CFT.....	xiii

Figura 21 Retas de calibração do perfil fenólico para os flavonoides (catequina, rutina, quercetina-3-glucósido, quercetina e naringenina) detetados por HPLC.....xiv	xiv
Figura 22 Retas de calibração do perfil fenólico para os ácidos fenólicos hidroxibenzoicos (ácidos <i>p</i> -hidroxibenzoico e gálico) detetados por HPLC.....xiv	xiv
Figura 23 Retas de calibração do perfil fenólico para os ácidos fenólicos hidroxicinâmicos (ácidos vanílico, siríngico, clorogénico, cafeico, <i>p</i> -cumárico e ferúlico) detetados por HPLC. xv	xv
Figura 24 Retas de calibração do perfil fenólico para os taninos (ácido elágico) detetados por HPLC. xv	xv
Figura 25 Reta de calibração do ácido ascórbico determinado por HPLC.....xvi	xvi

Lista de Equações

Equações 1 Conjunto de equações para a determinação do parâmetro ρ_h	19
Equação 2 Equação para a determinação do parâmetro WI.	19
Equação 3 Equação para a determinação do parâmetro DTC. Os valores de L^*_0 , a^*_0 e b^*_0 correspondem à média das leituras da cor no dia 0, usados como referência.....	20
Equação 4 Equação para a determinação da AT (g AC/100 g MF), onde “V total” corresponde ao volume total de amostra (mL); “V NaOH” ao volume adicionado de NaOH (mL); “V toma” ao volume da toma para análise (mL); “0,1” à normalidade da solução de NaOH e “0,064” à constante que expressa AT em g AC.....	21
Equação 5 Equação para a determinação do teor de humidade (%), onde “mc” corresponde à massa da placa de Petri (g); “ma” à massa da amostra (g) e “mf” à massa final (g).....	21
Equações 6 Conjunto de equações para a determinação da Proteína bruta (%), onde “NT” corresponde ao azoto total (% m/m); “1,4007” à concentração de NCl titulado (g/mol); “0,0999” à massa molar do azoto (g/mol); “V” ao volume gasto de ácido clorídrico 98% (mL); “m” à massa da amostra (g) e “6,25” ao fator de conversão proteína-framboesa.....	22
Equações 7 Conjunto de equações para a determinação da Aox através do método DPPH ($\mu\text{M ET}/100 \text{ g MF}$), onde “ ΔDPPH ” ao decréscimo da $\text{Abs}_{515\text{nm}}$ pela ação dos antioxidantes; “ $\text{Abs}_{515\text{nm}}\text{DPPH}$ ” à absorvância da solução de DPPH preparada; “ $\text{Abs}_{515\text{nm}}\text{amostra}$ ” à absorvância da amostra; b e m, respetivamente, a ordenada na origem e o declive da reta de calibração, e “FD” o fator de diluição.	23
Equação 8 Equação para a determinação da AOX através do método FRAP (mmol de equivalentes a $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ por 100 g MF), em que m e b representam o declive e a ordenada na origem da reta de calibração, respetivamente, e “FD” o fator de diluição.	24
Equação 9 Equação para a determinação do CFT (mg EAG/100 g MF), em que m e b representam o declive e a ordenada na origem da reta de calibração, respetivamente, e “FD” o fator de diluição.	24
Equações 10 Conjunto de equações para a determinação de TAT (mg de equivalentes de cianidina-3-glucósido por 100 g MF), onde “FD” corresponde ao fator de diluição ($\text{FD} \approx 6$); “A” o valor de absorvância total; “MM” a massa molecular da cianidina-3-glucósido ($\text{MM} = 449,2 \text{ g/mol}$); “ ϵ ” o coeficiente de absorvidade molar da cianidina-3-glucósido ($\epsilon = 26900 \text{ L/mol/cm}$) e “l” a largura da cuvette (1 cm).....	26

Equação 11 | Equação para a determinação da bioacessibilidade de fitoquímicos (%), onde “ t_F ” corresponde ao valor após digestão in vitro e “ t_0 ” ao valor antes digestão in vitro..... 28

Equação 12 | Equação para a contagem de B&L e microrganismos a 30 °C (log UFC/g), onde “N” corresponde ao número de microrganismos; “c” ao somatório das colónias contabilizadas em duas placas inoculadas a partir de duas diluições sucessivas; “m” à massa de inóculo (g) e “d” à menor diluição das placas contabilizadas e utilizadas no somatório..... 28

Lista de Abreviaturas

a_w	Atividade da água
AACC	Associação Americana de Químicos de Cereais
AC	Ácido cítrico
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
AOx	Atividade antioxidante
AT	Acidez Titulável
a^*	Parâmetro de variação da cor entre vermelho e verde
b^*	Parâmetro de variação da cor entre amarelo e azul
cid-3-glu	Cianidina-3-glucósido
cf.	Conforme descrito
CFT	Conteúdo de Fenólicos Totais
DDPH	<i>2,2-diphenyl -1 -picrilhidrazil</i>
DE	Grau de esterificação
DRBC agar	<i>Dichloran Rose-Bengal Chlortetracycline Agar</i>
DTC	Diferença Total de Cor
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico
EN	Norma Europeia
ET	Equivalentes de Trolox
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
GalA	Ácido α -D-galacturônico
G'	Módulo conservativo
G''	Módulo dissipativo
$^{\circ}h$	Tonalidade da cor
HG	Homogalacturonano
HHDP	Ácido hexahidroxidifênico
HMP	<i>High Methoxyl Pectin</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPP	<i>High Pressure Processing</i>
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy</i>
INIAV	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária
INSA	Instituto Nacional de Saúde
LMP	<i>Low Methoxyl Pectin</i>
L^*	Parâmetro de Luminosidade, variação da cor entre escuro e claro

Nq	Não quantificado
MF	Matéria Fresca
NP	Norma Portuguesa
NT	Azoto Total
OMS	Organização Mundial de Saúde
PB	Proteína Bruta
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
PET	Polietileno tereftalato
RG	Ramnogalacturonanos
TSS	Teor de sólidos solúveis
UTAD	Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro
UTI	Unidade de Tecnologia e Inovação
UV/Vis	Ultravioleta/Visível
WI	Índice de brancura
τ_c	Tensão crítica
τ	Tensão

1. Introdução e Objetivo principal

A framboesa vermelha (*Rubus idaeus* L.) é um fruto com múltiplas drupéolas, altamente perecível, que se tem destacado pela riqueza nutricional e funcional. Apresenta elevado teor de fibra, vitamina C, minerais, além de compostos fitoquímicos com reconhecida atividade antioxidante, nomeadamente antocianinas e elagitaninos (Rao & Snyder, 2010; Wang *et al.*, 2009).

A distribuição da framboesa está centrada principalmente no hemisfério Norte, com destaque para a Ásia, Europa e América do Norte, sendo o Sudoeste da China o provável centro de origem da espécie *idaeus* (Associação dos Jovens Agricultores de Portugal, 2018; Oliveira *et al.*, 2007). O crescente interesse europeu por alimentos nutritivos e sustentáveis tem impulsionado a procura e produção deste pequeno fruto (Confederação dos Agricultores de Portugal, 2024; Sousa *et al.*, 2007). Portugal é o sétimo maior produtor mundial de *R. idaeus* (Our World in Data, 2023), sendo o Alentejo e o Algarve as principais regiões nacionais produtoras (AgroGarante, 2022).

Contudo, a sua elevada suscetibilidade a danos físicos e atividade microbiológica leva a significativas perdas pós-colheita e a uma vida útil que não ultrapassa as duas semanas. Para tal, adotaram-se estratégias sustentáveis de conservação, como o processamento térmico, que minimiza perdas, prolonga a conservação e inativa microrganismos patogénicos e enzimas. Estas técnicas permitiram a diversificação de produtos derivados de framboesa, como polpas, pós, doces, sumos e infusões (Almeida, 2012; Lafarga *et al.*, 2018).

Face ao exposto, o objetivo principal do presente trabalho é avaliar a eficácia do desenvolvimento de um doce hipocalórico de framboesa, utilizando pectina de baixo metoxilo como estratégia para promover a estabilidade e bioacessibilidade dos fitoquímicos presentes no fruto *R. idaeus* e, em paralelo, reduzir significativamente o teor de açúcar *versus* formulação tradicional, sem adição de iões de cálcio (presente em níveis adequados na framboesa) ou outros aditivos gelificantes, aproveitando excedentes da produção. Para o efeito, foi inicialmente avaliada a bioatividade de uma seleção avançada de melhoramento INIAV/Beira Baga ('id. B'), comparando-a com uma cultivar comercial ('id. A'). No entanto, para a formulação do doce optou-se pela 'id. A' por se tratar de uma cultivar já comercializada, em contraste à 'id. B' que, embora promissora, ainda se encontra em fase de desenvolvimento no programa de melhoramento genético.

2. Enquadramento Teórico

2.1. A Framboesa

2.1.1. Caracterização Botânica e Morfológica

A framboesa é uma planta que pertence à classe Angiosperma, ordem Rosales e família Rosaceae. O género *Rubus*, ao qual a framboesa pertence, está subdividido em 12 subgéneros (Oliveira *et al.*, 2007; Vara, 2020), os quais agrupam diferentes espécies, com base em características morfológicas e genéticas, refletindo assim a grande diversidade de plantas deste género.

O género *Rubus* inclui plantas herbáceas, perenes e bienais. Embora a maioria das framboesiras seja perene, algumas espécies ou variedades podem ter um ciclo bienal, especialmente no que diz respeito aos ramos que produzem frutos (Oliveira, 2021).

O subgénero *Idaeobatus*, com cerca de 200 espécies, tem a sua maior diversidade no Sudoeste da China, região considerada como provável centro de origem (Associação dos Jovens Agricultores de Portugal, 2018). Encontra-se distribuído principalmente no hemisfério Norte, com incidência na Ásia, Europa e América do Norte (Oliveira *et al.*, 2007).

As framboesas comercialmente cultivadas, em larga escala, são predominantemente híbridas resultantes do melhoramento genético das espécies de framboesa vermelha europeia (*R. idaeus* L.) e de framboesas norte americana vermelha (*R. strifosus* Michx.) e preta (*R. occidentalis* L.) (Aires, 2023; Associação dos Jovens Agricultores de Portugal, 2018). A combinação destas espécies permite a criação de variedades de framboesas, com frutos de elevada qualidade e adaptadas a diferentes condições de cultura, atendendo às exigências comerciais.

No continente europeu, a espécie mais comum e amplamente cultivada é a *R. idaeus* (Sousa *et al.*, 2007), cuja classificação científica se encontra apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 | Classificação científica da framboesa *R. idaeus* L. Adaptado de Jardim Botânico da UTAD.

Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Ordem	Rosales
Família	Rosaceae
Género	<i>Rubus</i>
Subgénero	<i>Idaeobatus</i>
Espécie	<i>Idaeus</i>

No nosso clima, esta cultura floresce no Verão, após um ano de crescimento vegetativo, passando por um período de dormência no Inverno (Oliveira, 2021; Oliveira *et al.*, 2007).

Do ponto de vista botânico, a framboesa não é considerada baga, mas um fruto com múltiplas drupéolas que se agrupam em torno de um receptáculo comum e se mantêm coesas, devido aos pelos epidérmicos que revestem a sua superfície (Figura 1). Cada drupéola geralmente apresenta forma cónica arredondada e contém no seu interior uma semente dura envolvida por polpa, representando cerca de 3 a 10% da massa total do fruto (Correia, 2016; Sousa *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2009).

No momento da colheita, uma das características mais marcantes das framboesas, com elevado interesse do ponto de vista frutícola, é a facilidade com que os frutos maduros se separam do receptáculo, que permanece ligado à planta, resultando num fruto oco, com estrutura muito delicada e extremamente perecível, o que dificulta o seu manuseamento e conservação (Aires, 2023; Associação dos Jovens Agricultores de Portugal, 2018; Correia, 2016; Sousa *et al.*, 2007).

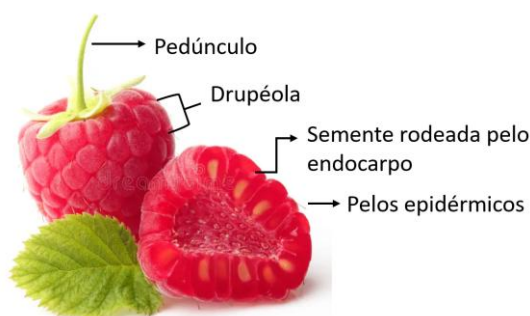


Figura 1 | Morfologia da framboesa: vista externa e corte longitudinal. *Adaptado de Sousa et al. (2007).*

A coloração dos frutos varia, consoante as espécies e cultivares, do amarelo ao quase preto, incluindo tons alaranjados, avermelhados e púrpura (Figura 2). Essa variação cromática poderá também estar diretamente associada a diferentes perfis de pigmentos, como antocianinas (responsáveis pelas cores vermelha a púrpura) e carotenoides (tons amarelados e alaranjados), compostos com reconhecida atividade biológica. Em Portugal, predominam as variedades de framboesa vermelha, que se distinguem pelo sabor agri-doce, aroma delicado e polpa com pequenas sementes homogeneamente distribuídas, com textura granulada, macia e succulenta (Sousa *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2009).



Figura 2 | Variação de coloração em frutos de framboesa (*R. idaeus* e híbridos). Créditos: fotografias de Francisco Luz.

2.1.2. Composição Nutricional

As framboesas são por natureza fontes significativas de fibra, vitamina C, minerais (sobretudo potássio e cálcio), nutrientes essenciais para o bom funcionamento do organismo humano. Paralelamente, contêm fitoquímicos, compostos bioativos com reconhecida atividade antioxidante (Rao & Snyder, 2010; Tosun *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009), destacando-se as antocianinas (especialmente cianidinas) e os elagitaninos (Mullen *et al.*, 2002). Na Tabela 2 apresenta-se a composição nutricional da framboesa vermelha.

As framboesas representam uma opção alimentar saudável, com baixo teor de calorias (203 kJ (49 kcal)/100 g MF). Os teores de fibra e açúcar (6,7 g/100 g MF e 5,1 g/100 g MF, respetivamente) ajudam a regular os níveis de açúcar no sangue, retardando a sua absorção no trato gastrointestinal e digestão. As fibras também promovem maior sensação de saciedade (INSA, 2024; Rao & Snyder, 2010).

Embora em teor reduzido, contém também proteínas (0,9 g/100 g MF) e lípidos (0,6 g/100 g MF) provenientes predominantemente das sementes, ricas em ácidos gordos insaturados (97,8%). Além disso, é um fruto rico em diversos minerais, sobretudo potássio e cálcio (230 mg/100 g MF e 26 mg/100 g MF) (INSA, 2024).

Adicionalmente, a framboesa é uma fonte de vitaminas, incluindo vitaminas lipossolúveis presentes nas sementes, como pró-vitamina A (beta caroteno) e vitamina E (tocoferol), e vitaminas hidrossolúveis na polpa, como vitamina C (30 mg/100g MF) (INSA, 2024; Rao & Snyder, 2010). Conforme o Regulamento (EU) N° 432/2012, o ácido ascórbico contribui para o funcionamento normal dos sistemas imunitário e nervoso e da função psicológica, além de proteger as células contra oxidações indesejáveis (*stress oxidativo*), reduzir o cansaço e a fadiga e melhorar a absorção de ferro.

Tabela 2 | Perfil nutricional de *R. idaeus in natura* por 100 g de parte edível. Adaptado de INSA (2024).

Constituintes em 100 g de parte edível de framboesa vermelha <i>in natura</i>					
Macronutrientes		Micronutrientes			
Água	84,3 g	Potássio	230 mg	Vitamina C (Ácido ascórbico)	30 mg
Fibra	6,7 g	Cálcio	26 mg	Vitamina B3 (Niacina)	0,6 mg
Hidratos de carbono	5,1 g	Fósforo	23 mg	Vitamina E (α-tocoferol)	0,2 mg
dos quais Açúcares	5,1 g	Magnésio	20 mg	Vitamina B6	0,05 mg
Ácidos orgânicos	1,9 g	Sódio	1 mg	Tiamina	0,03 mg
Proteínas	0,9 g	Ferro	0,5 mg	Riboflavina	0,02 mg
Lípidos totais	0,6 g	Zinco	0,3 mg	Vitamina B9 (Folatos)	33 µg
Cinza	0,54 g			Carotenoides	10 µg
				Pró-vitamina A	2 µg

A composição nutricional da framboesa varia em função do genótipo, do estado de maturação, das práticas de cultivo e de colheita, bem como, das condições de armazenamento pós-colheita (Ain *et al.*, 2022).

2.1.3. Mercado em Portugal: Desafios pós-colheita e Processamento

O setor dos pequenos frutos em Portugal tem demonstrado ser um exemplo de modernização na agricultura, superando desafios nos últimos anos, como a escassez hídrica, os impactos da pandemia e mudanças climáticas. A proximidade ao mar aliada à qualidade dos solos de cultivo e da água de rega conferem a Portugal condições climáticas favoráveis para uma produção consistente durante praticamente todo o ano (Confederação dos Agricultores de Portugal, 2024; GPP, 2022).

Atualmente, Portugal encontra-se entre os maiores produtores de framboesa, ocupando o 7.º lugar a nível mundial (Our World in Data, 2023), sendo o Alentejo a principal região nacional produtora, seguida do Algarve (AgroGarante, 2022). Nas últimas décadas, a produção deste fruto registou um crescimento expressivo, impulsionada pela forte procura europeia por alimentos nutritivos e sustentáveis (Confederação dos Agricultores de Portugal, 2024; Sousa *et al.*, 2007).

Segundo dados da FAOSTAT (2024), a área dedicada ao cultivo de framboesa em Portugal registou uma expansão notável entre 2010 e 2023 (Figura 3), passando de cerca de 90 ha para 1.680 ha, em pouco mais de uma década. Este crescimento refletiu-se diretamente na produção nacional, que passou de 1.600 t para 35.660 t no mesmo intervalo, com produtividade média estabilizada em torno de 18 a 19 t por ha.

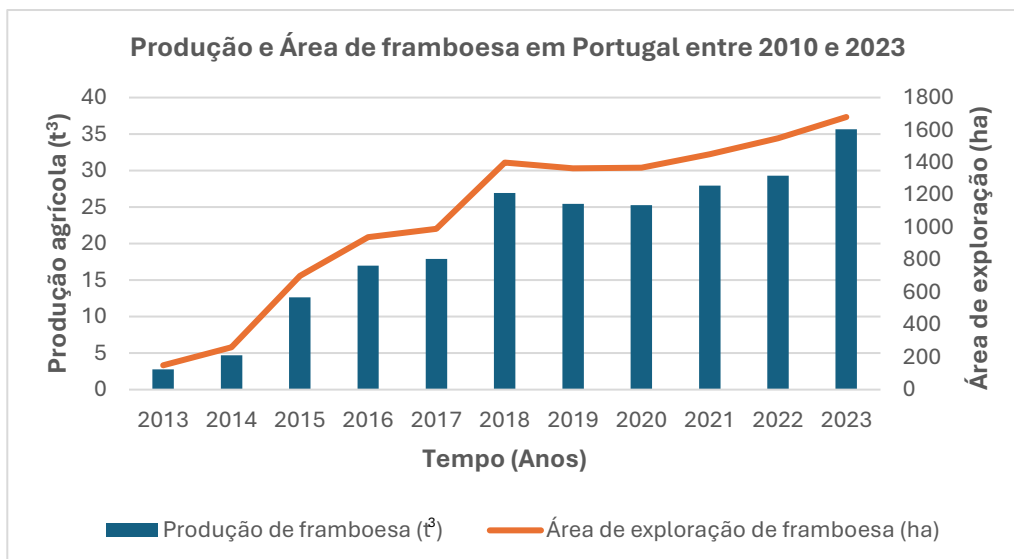


Figura 3 | Produção agrícola (t³) e Área de exploração agrícola (ha) de framboesa, em Portugal, entre 2010 e 2023. Adaptado de FAOSTAT (2024).

Posicionando-se como um dos principais exportadores europeus destes frutos, Portugal registou, em 2023, um volume de 28.918 t de framboesas *in natura* exportadas, contrastando com as 891 t importadas, resultando num saldo exportado superior a 205 milhões de euros face aos 5 milhões de euros de produto importado (GPP, 2024).

A framboesa, apesar da elevada exportação, é altamente perecível, com rápida taxa de degradação por danos mecânicos (defeitos morfológicos ou lesões) e atividade microbiana, resultando em perdas significativas pós-colheita e numa vida útil inferior a duas semanas (Almeida, 2012; GPP, 2022). Para minimizar essas perdas emergiram estratégias sustentáveis de conservação, incluindo congelação, desidratação e apertização, transformando os frutos em polpas, pós, doces, sumos e infusões, diversificando a oferta, valorizando os excedentes de produção e impulsionando o mercado dos pequenos frutos (Almeida, 2012; Lafarga *et al.*, 2018).

Apesar dos benefícios das estratégias de conservação, tratamentos térmicos intensivos podem degradar compostos bioativos termossensíveis, como antocianinas e elagitaninos. Otimizar processos para preservar a sua integridade é crucial no desenvolvimento de alimentos funcionais, onde a bioatividade depende não apenas da quantidade, mas da biodisponibilidade efetiva destes fitoquímicos.

2.1.4. Transformação da framboesa em doce

A produção de doces é uma forma de conservação que permite estender significativamente o prazo de validade, associando elevada aceitação sensorial e viabilidade económica (Lafarga *et al.*, 2018). Estes produtos alimentares semissólidos ou gelificados resultam da cozedura e concentração da polpa da fruta com outros ingredientes como açúcar, pectina, ácidos orgânicos, corantes ou aromatizantes. As formulações tradicionais, com relação fruta-açúcar de 1:1, conduzem a elevados teores de sólidos solúveis (TSS \geq 65%), com a consequente diminuição da atividade da água (a_w) do meio, criando um ambiente hipertónico que “desidrata” as células microbianas, limitando o seu crescimento e prolongando a vida útil do produto (Laborde e Pagano, 2022; Shinwari e Rao, 2018, 2020; União Europeia, 2001).

Em resposta à crescente procura por alternativas mais saudáveis, desenvolveram-se formulações com TSS $<$ 40%, recorrendo à utilização de gelificantes que permitam a obtenção de estrutura gel desejada. A pectina de baixo metoxilo (LMP) é o gelificante mais utilizado nestes casos por permitir a gelificação mesmo com nulos ou reduzidos teores de açúcar. Apesar da acidez do doce (pH \leq 4,6) inibir o desenvolvimento de *Clostridium botulinum*, a elevada a_w (0,80 – 0,90) e a menor pressão osmótica (devido ao reduzido teor de açúcar) favorecem o crescimento de microrganismos acidúricos (leveduras, bolores, bactérias lácticas), exigindo barreiras adicionais de conservação, como a esterilização térmica ou o uso de Altas Pressões Hidrostáticas (Laborde e Pagano, 2022; Ribeiro de Castro, 2013; Troller e Christian, 1978). Contudo, no caso de a conservação ser por calor, o processamento térmico pode degradar nutrientes e compostos bioativos (Shinwari e Rao, 2018).

O tratamento térmico de esterilização em autoclave das embalagens de conservação de doce (normalmente frascos) deve assegurar que o centro térmico atinja uma temperatura superior a 100 °C, durante um intervalo de tempo suficiente, para destruir os microrganismos, incluindo esporos termorresistentes e garantir a estabilidade microbiológica do produto (Laborde e Pagano, 2022). Como alternativa aos tratamentos térmicos, as Altas Pressões Hidrostáticas (HPP, *High Pressure Processing*) consistem na aplicação uniforme e instantânea de elevadas pressões (400 – 600 MPa) ao alimento, à temperatura ambiente. Esse processo promove a inativação microbiana e preserva de forma mais eficaz a composição nutricional, os compostos bioativos e as características sensoriais originais do produto, em comparação com os tratamentos térmicos convencionais. Contudo, estes produtos geralmente exigem refrigeração durante o armazenamento, dado que não inativam enzimas e esporos microbianos, representando uma limitação operacional face aos doces esterilizados por calor (Laborde e Pagano, 2022; Shinwari e Rao, 2018).

2.2. Compostos fitoquímicos presentes na framboesa: tipos, atividades biológicas, estabilidade e bioacessibilidade

A framboesa destaca-se pelo amplo perfil fitoquímico, marcado pela presença de compostos fenólicos diversificados, salientando antocianinas e elagitaninos, o que as diferencia de outros pequenos frutos (Kula *et al.*, 2016; Rao & Snyder, 2010). Os polifenóis, amplamente reconhecidos pelas suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas, têm sido alvo de investigação científica no contexto da prevenção de doenças crônicas, como cancro, patologias cardiovasculares e neurodegenerativas (Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Scalbert *et al.*, 2005; Tosun *et al.*, 2009). Os polifenóis, que incluem subclasses como flavonoides (p.ex. antocianinas) ou não-flavonoides (p.ex. elagitaninos), atuam como agentes redutores capazes de neutralizar radicais livres, mitigando o *stress* oxidativo e retardando processos de degeneração celular (Bravo, 1998; Mahmutović *et al.*, 2024; Scalbert *et al.*, 2005). A sua concentração varia entre 37 e 429 mg/100 g (MF), dependendo da cultivar e das condições de cultivo (Bravo, 1998).

As **antocianinas**, pigmentos naturais hidrossolúveis da subclasse dos flavonoides, conferem à framboesa a coloração característica, oscilando entre tons vermelhos e azulados, conforme o pH do meio (ácido ou alcalino, respetivamente) (Ain *et al.*, 2022; Di Santo *et al.*, 2021). Estruturalmente, predominam os glicósidos de cianidina (98% do total de antocianinas), com teores geralmente inferiores a 100 mg/100 g (MF), enquanto os glicósidos de pelargonidina representam menos de 2%. A época de colheita influencia diretamente a sua concentração, sendo a maioria das colheitas efetuada no verão, contudo, colheitas tardias (primavera e outono) registam valores mais baixos, embora compensados por maiores teores de elagitaninos (Rao & Snyder, 2010). Por outro lado, os **elagitaninos**, pertencentes aos taninos hidrolisáveis, derivam da esterificação do ácido hexahidroxidifénico (HHDP) com glucose, apresentando-se como oligómeros ou polímeros complexos (Ain *et al.*, 2022; Rao & Snyder, 2010). A sua quantificação é, por vezes, difícil devido à hidrólise das ligações éster dos elagitaninos que, quando em condições ácidas ou alcalinas, libertam moléculas de HHDP que se transformam espontaneamente em ácido elágico – processo que direciona estudos para a medição indireta, via metabólitos (Bobinaitè *et al.*, 2012; Rao & Snyder, 2010).

A estabilidade e bioacessibilidade destes fitoquímicos são fatores críticos para a efetividade das suas propriedades bioativas. A bioacessibilidade (fração libertada no trato gastrointestinal, tornando-a potencialmente disponível para absorção) e a biodisponibilidade (quantidade absorvida e metabolizada pelo organismo) dependem das interações com a matriz alimentar, condições fisiológicas (pH, enzimas digestivas)

e transformações químicas ao longo da digestão (Ali Redha *et al.*, 2024; Barba *et al.*, 2017; Brodkorb *et al.*, 2019; Di Santo *et al.*, 2021; Jakobek, 2015; Palafox-Carlos *et al.*, 2011). Apenas 5 – 10% dos polifenóis ingeridos são absorvidos no intestino delgado, enquanto 90 – 95% alcançam o cólon, sendo fermentados pela microbiota intestinal em metabólitos de menor peso molecular, como ácidos fenólicos e aldeídos, os quais são efetivamente absorvidos pelo organismo e contribuem para a atividade antioxidante sistêmica (Barba *et al.*, 2017; Guergoletto *et al.*, 2016). No caso específico das antocianinas, estas são suscetíveis a fatores ambientais, sendo a sua baixa bioacessibilidade (1 – 2%) atribuída à reduzida estabilidade em diferentes valores de pH, nomeadamente no estômago (meio ácido, pH 3) e no intestino (meio alcalino, pH 7), nos quais são convertidas em formas com reduzida capacidade de absorção, predominando como catiões flavílio e carbinol, respetivamente (Ali Redha *et al.*, 2024).

Por esse motivo, a fração de polifenóis efetivamente biodisponível no organismo pode não corresponder necessariamente à quantidade ingerida e presente nos alimentos, reforçando a importância de considerar a quantidade potencialmente biodisponível, em vez dos valores declarados nas tabelas nutricionais (Barba *et al.*, 2017; Palafox-Carlos *et al.*, 2011).

2.3. Fibra alimentar e implicações na saúde gástrica do consumidor

A definição de fibra alimentar difere conforme a área de análise. Botanicamente, é um componente estrutural dos tecidos vegetais; quimicamente, corresponde a compostos como celulose e pectinas; para o consumidor, destaca-se pelos benefícios à saúde; e para a indústria, para além das funções tecnológicas, é um recurso estratégico de *marketing*. Segundo a AACC, consiste na parte edível das plantas ou hidratos de carbono não digeríveis no intestino delgado, mas fermentáveis no cólon, aos quais a OMS e a FAO acrescentam que é um polissacarídeo com ≥ 10 monómeros (Devries *et al.*, 2001; Dhingra *et al.*, 2012; Ötles & Ozgoz, 2014).

Por outras palavras, a fibra dietética é constituída por polímeros de hidratos de carbono que compõem a estrutura rígida da parede celular dos vegetais, não digerida por enzimas digestivas humanas, mas fermentada por bactérias intestinais. Essa fermentação produz ácidos gordos de cadeia curta, que promovem positivamente a microbiota (desenvolvem bactérias intestinais benéficas e reduzem as bactérias nocivas) e mantêm a saúde intestinal (Cheng *et al.*, 2025; Nevara *et al.*, 2021; Ozyurt & Ötles, 2016; Tomas, 2022). Conforme a solubilidade no trato gastrointestinal humano, a fibra distingue-se em fração solúvel ou fração insolúvel (Dhingra *et al.*, 2012) (Tabela 3).

Tabela 3 | Características no trato gastrointestinal e exemplos das frações de fibra alimentar. *Fontes: Dhingra et al. (2012), Nevara et al. (2021), Ötles & Ozgoz (2014), Tomas (2022).*

	Fibra solúvel	Fibra insolúvel
Características no trato gastrointestinal	<ul style="list-style-type: none"> - Solúvel em água; - Aumenta a viscosidade do sistema e forma géis viscosos; - Não digerível no intestino delgado, sendo fermentescível pela microbiota no cólon; - Promove ambiente antioxidante saudável (regula níveis de glucose e de colesterol no sangue). 	<ul style="list-style-type: none"> - Insolúvel em água; - Baixa densidade e elevada porosidade, não forma géis; - Fermentação limitada no cólon; - Laxante, aumento do volume do bolo fecal e redução do trânsito intestinal.
Exemplos	Pectina, gomas, frutanas, algumas hemiceluloses solúveis e mucilagens.	Lenhina, celulose e algumas hemiceluloses insolúveis.

Estudos demonstram que a ingestão diária de 30 – 45 g de fibra *per capita* (Ozyurt & Ötles, 2016) contribui para um risco 15 – 30% menor de desenvolver doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, cancro colorretal e diabetes tipo 2 (Tomas, 2022). Contudo, os efeitos benéficos dependem do tipo e da quantidade ingerida, já que a composição química e estrutural da fibra influencia o modo como atua no organismo. Quando incorporada num alimento, a fibra pode interagir com outros componentes e modificar significativamente a microestrutura e características do produto final, além de poder afetar processos de digestão e de absorção (Nevara *et al.*, 2021).

A framboesa contém maioritariamente fibra insolúvel (71% da fibra dietética total), sobretudo celulose, hemicelulose insolúvel e lenhina. Os restantes 29% correspondem à fração solúvel, nomeadamente hemicelulose solúvel, pectina e gomas (Baenas *et al.*, 2020).

2.4. Pectina de Baixo Metoxilo

2.4.1. Caracterização e Mecanismo de Gelificação

A pectina é uma fibra solúvel encontrada nas paredes celulares das plantas, com especial relevo nos citrinos e pomóideas. O termo pectina deriva do vocábulo grego *pektos*, que significa firmeza, refletindo a sua capacidade de formar hidrogéis e apresentando um expressivo interesse na indústria alimentar e farmacêutica, devido às excelentes propriedades gelificantes, espessantes e emulsionantes (Chan *et al.*, 2017; Ciurzyńska *et al.*, 2016; De Cindio *et al.*, 2015; Dhingra *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2024).

A pectina é um heteropolissacarídeo aniónico constituído maioritariamente por cadeias lineares de ácido α -D-galacturónico (GalA) interligadas por ligações glicosídicas α -1,4 (homogalacturonano, HG), responsáveis por cerca de 60 – 65% da composição

total da pectina. A linearidade das cadeias de HG é interrompida com a introdução de moléculas de L-ramnose por ligações α -1,6, o que introduz ramificações na estrutura da pectina, como os rhamnogalacturonanos I (RG-I) e II (RG-II) (Figura 4). As frações de ramnose estão ligadas a outros açúcares, como arabinose (Blanco-Pérez *et al.*, 2021; De Cindio *et al.*, 2015; Mercado-Mercado *et al.*, 2020; Tomas, 2022; Yang *et al.*, 2022).

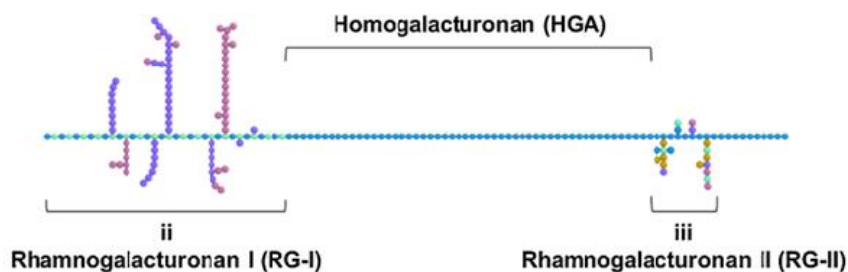


Figura 4 | Representação estrutural da linearidade das cadeias de homogalacturonano (HG) interrompidas por rhamnogalacturonanos I (RG-I) e II (RG-II). *Adaptado de Chan et al. (2017).*

Na forma natural, os grupos carboxilo ($-\text{COOH}$) das unidades de GalA estão esterificados com metanol (CH_3OH), formando metoxilos ($-\text{COOCH}_3$) (Figura 5). O grau de esterificação ou de metoxilação (DE) reflete a proporção de grupos carboxilo esterificados e determina o comportamento gelificante da pectina. Esta pode ser classificada como Pectina de Alto Metoxilo (HMP, *High Methoxyl Pectin*, $\text{DE} > 50\%$) – predominante na natureza – ou Pectina de Baixo Metoxilo (LMP, *Low Methoxyl Pectin*, $\text{DE} < 50\%$) – forma mais comum em alimentos processados com baixo teor de açúcar (Blanco-Pérez *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2022).

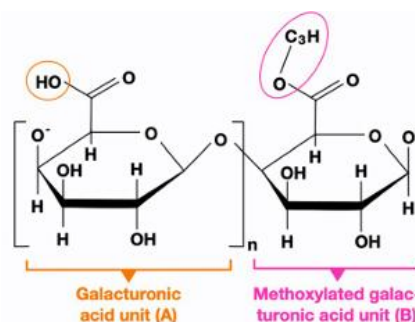


Figura 5 | Transformação de uma unidade linear de ácido α -D-galacturônico (GalA) esterificada com metanol. *Adaptado de Blanco-Pérez et al. (2021).*

A Pectina de Baixo Metoxilo possui menos de 50% dos seus grupos carboxilo esterificados ($\text{DE} < 50\%$), resultando num maior número de grupos carboxilo livres. Isso favorece a formação de géis estáveis na presença de iões divalentes, como o cálcio (Ca^{2+}), numa ampla gama de pH (2 – 6), sem a necessidade de adição de açúcar. Por

isso, a LMP é adequada para formulações com reduzido teor de açúcar (Cieurzyńska *et al.*, 2016; De Cindio *et al.*, 2015).

A gelificação consiste na transição de estado líquido (sol) em estado semissólido (gel), por meio da formação de uma rede tridimensional de cadeias poliméricas que retêm água, ar e óleo no seu interior. O gel resultante exibe comportamento intermédio entre o sólido e o líquido (comportamento viscoelástico), com propriedades elásticas e viscosas, sendo essencial para a textura e percepção sensorial de produtos alimentares, como geleias e doces (Chan *et al.*, 2017; Cieurzyńska *et al.*, 2016; De Cindio *et al.*, 2015; Fu *et al.*, 2024; Norziah *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2022).

Em sistemas com pectina, a gelificação depende de fatores intrínsecos (tipo de pectina, número de grupos carboxilos livres, peso molecular) e extrínsecos (concentração de pectina, presença de íões, pH, teor de sólidos solúveis, temperatura) que influenciam o comportamento reológico e as propriedades do gel (Cieurzyńska *et al.*, 2016; Han *et al.*, 2017; Kastner *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2022).

O modelo “caixa de ovos” (*egg-box*) (Figura 6) descreve o mecanismo de gelificação da LMP, caracterizado por interações eletrostáticas (ligações iônicas fortes) entre duas cadeias de pectina mediadas por íões divalentes (como o cálcio, Ca^{2+}), complementadas por interações hidrofóbicas e pontes de hidrogénio, que estabilizam a rede tridimensional formada.

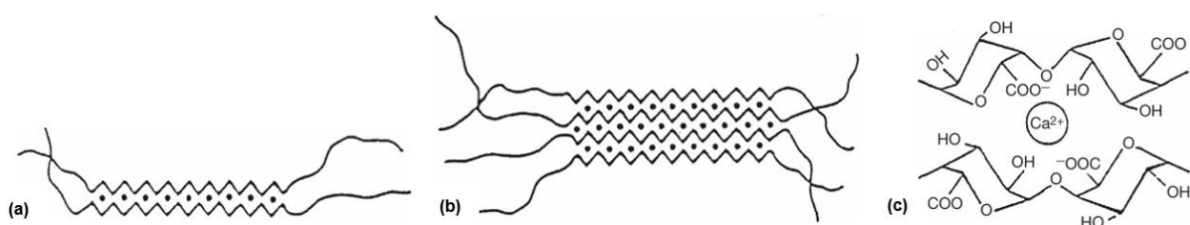


Figura 6 | Representação esquemática das ligações iônicas entre cadeias de pectina e íões de cálcio. (a) dimerização; (b) agregação dos dímeros; (c) “caixa de ovos”. Adaptado de De Cindio *et al.* (2015).

A gelificação da LMP ocorre em dois estágios. No primeiro, duas cadeias rígidas do polímero linear HG ligam-se por ligações iônicas fortes mediadas por íões de cálcio (Ca^{2+}), formando dímeros – característicos da estrutura típica da “caixa de ovo”. Esse processo requer o alinhamento de 6 a 14 grupos carboxilo dissociados por cadeia. No segundo estágio, esses dímeros agregam-se formando uma rede tridimensional complexa, fortemente estabilizada por interações hidrofóbicas (entre grupos metilo) a altas temperaturas e pontes de hidrogénio (entre grupos carboxilo não dissociados) a temperaturas mais baixas (Chan *et al.*, 2017; De Cindio *et al.*, 2015; Kastner *et al.*, 2012).

Embora inicialmente proposto para o alginato, este modelo aplica-se também à pectina, sendo mais apropriada a designação “caixa de ovos deslocada”, já que as cadeias não se alinham perfeitamente uma face à outra (Chan *et al.*, 2017).

As LMP apresentam a capacidade de formação de estrutura gel numa gama alargada de valores de pH, embora os géis formados sejam diferentes. A gelificação das LMP é favorecida em pH superior ao das HMP ($pK_a > 3,5$), pois requer a dissociação dos grupos carboxilo da pectina ($-\text{COO}^-$) (carga negativa) para interagir com os iões de cálcio (carga positiva) e formar pontes de cálcio. Essa dissociação permite a formação de uma rede de gel estável, denominada “caixa de ovos”. Em $\text{pH} > 5,0$, a força do gel diminui devido à menor estabilidade das interações hidrofóbicas e pontes de hidrogénio. Já em $\text{pH} < pK_a$ (3,5), a maioria dos grupos carboxilo da pectina não se desassocia ($-\text{COOH}$), limitando as interações com cálcio. Porém, os grupos carboxilo não dissociados não têm carga negativa, favorecendo a formação de rede de gel (mais fraca) por pontes de hidrogénio, conferindo estabilidade ao gel mesmo na ausência de cálcio (Kastner *et al.*, 2012).

Embora a adição de açúcar não seja necessária, a incorporação de 10 – 20% melhora a textura e rigidez do gel, uma vez que estabelece ligações com a água e promove pontes de hidrogénio entre moléculas de pectina, reduzindo a sinérese (libertação de líquido do gel) e conferindo maior elasticidade e menor fragilidade ao gel. A concentração de pectina também influencia significativamente a estrutura do gel: valores entre 6 e 25 g/L aumentam a força do gel devido ao maior número de zonas de reticulação. A temperatura e a concentração de iões de cálcio (Ca^{2+}) afetam inversamente a gelificação. A redução da temperatura e o aumento da concentração de cálcio reforçam a estrutura do gel; contudo, concentrações excessivas de cálcio podem induzir a gelificação prematura e sinérese. Para concentrações de iões de cálcio inferiores a 16 mg/g de pectina não ocorre gelificação, pois as pontes de cálcio não se formam adequadamente. Entre 16 e 40 mg/g de pectina, a força do gel aumenta com a concentração de cálcio. Entre 40 e 64 mg/g de pectina, formam-se géis elásticos e estáveis, enquanto entre 64 e 88 mg/g de pectina formam-se géis com superfície áspera. Acima de 88 mg/g de pectina, pode ocorrer pré-gelificação imediatamente após a adição dos ingredientes, alterando a estrutura final do gel (Han *et al.*, 2017).

2.4.2. Testes de avaliação reológica

Os materiais semissólidos exibem características intermédias entre os líquidos e os sólidos, apresentando simultaneamente propriedades viscosas e elásticas, como é o caso dos hidrogéis (Barrosa, 2021; Joyner, 2019). A pectina é um hidrogel que permite a gelificação, processo de formação de uma rede tridimensional de cadeias poliméricas que exibem resposta sólida (elástica) sob pequenas tensões e fluidez (líquida) quando o material é submetido a forças mais intensas. O comportamento viscoelástico é determinado através de testes estáticos e dinâmicos, no entanto, na presente dissertação apenas foram efetuados testes dinâmicos/oscilatórios (testes não destrutivos, cuja tensão é controlada). A determinação das propriedades viscoelásticas dos materiais é, normalmente, realizada por meio de dois testes consecutivos: Varrimento de Tensão e Varrimento de Frequência. Os resultados são expressos em dois parâmetros reológicos: o módulo conservativo/de armazenamento (G'), que representa a componente elástica, e o módulo dissipativo/de perda (G''), que reflete a componente viscosa (Joyner, 2019; Zerbinati *et al.*, 2022).

Teste de Varrimento de Tensão (Strain Sweep Test)

Este ensaio tem como objetivo determinar a zona linear viscoelástica, identificando o intervalo de tensões dentro do qual o material pode ser submetido ao teste subsequente e cuja estrutura interna do material permanece intacta. O limite superior dessa região, designado como tensão crítica (τ_c), corresponde ao ponto a partir do qual ocorre alteração ou destruição da estrutura interna do material, comprometendo a integridade do material e as suas propriedades viscoelásticas. Durante o ensaio é aplicada tensão oscilatória sobre a amostra, mantendo constantes a temperatura e a frequência de oscilação e o *software* do reómetro regista os valores dos módulos G' e de G'' em função da tensão, resultando em gráficos com duas curvas e permitindo diferenciar as componentes elástica e viscosa (Thermo Fisher Scientific, 2024).

Teste de Varrimento de Frequência (Frequency Sweep Test)

Este ensaio tem como objetivo caracterizar o comportamento viscoelástico e a resistência da estrutura interna da amostra. No final do ensaio obtém-se o espectro mecânico das amostras e o *software* do reómetro automaticamente regista os valores dos módulos viscoelásticos (G' e G'') em função da frequência aplicada (Thermo Fisher Scientific, 2024).

A análise dos módulos viscoelásticos permite avaliar a complexidade da estrutura interna do material. O afastamento entre os módulos G' e G'' indica uma estruturação

do material, caso essa diferença atinja pelo menos uma década, o material pode ser considerado como um gel estruturado. Quando $G' > G''$ (ou seja, $\tan \delta < 1$) observa-se um comportamento elástico predominante, indicando que o material consegue recuperar a sua estrutura interna após a aplicação de tensão. Por outro lado, quando $G' < G''$ ($\tan \delta > 1$) verifica-se a dominância do comportamento viscoso, havendo destruição ou alteração da estrutura interna do material. A razão entre os módulos G'' e G' , conhecida como tangente do ângulo de perda ($\tan \delta = G''/G'$), quantifica o equilíbrio entre a energia dissipada e a energia armazenada do material (Isreb *et al.*, 2022; Thermo Fisher Scientific, 2024). A complexidade estrutural derivada da densidade dos entrelaçamentos entre as moléculas que formam a estrutura interna do material pode ser obtida pelo valor de G' a 1 Hz e pelo módulo *Plateau*, G_N^0 , que corresponde ao valor de G' quando a $\tan \delta$ é mínima. Valores elevados de G' a 1 Hz e de G_N^0 indicam maior grau de estruturação interna e maior firmeza e estabilidade do material (Raymundo *et al.*, 1999).

2.5. Bioacessibilidade de compostos fitoquímicos

2.5.1. Efeito da interação com a fibra alimentar

A fibra alimentar e os compostos fitoquímicos, como polifenóis, têm recebido destaque pelo seu potencial positivo na microbiota intestinal e na saúde do hospedeiro. Existem estudos que evidenciam que a presença de fibra alimentar interfere com a bioacessibilidade de compostos fitoquímicos. As interações fibra-polifenóis podem ocorrer de forma natural nas paredes celulares do tecido vegetal ou durante o processamento ou digestão dos alimentos, influenciando a bioacessibilidade e a bioatividade de ambos os componentes na saúde (Cheng *et al.*, 2025; Sharma *et al.*, 2025). Essas interações podem ocorrer através de ligações covalentes ou não covalentes. Contudo, o tipo de ligação influencia significativamente a bioacessibilidade e bioatividade dos compostos.

As ligações não covalentes são mais comuns e reversíveis, formando estruturas organizadas e estáveis entre os grupos hidroxilo (-OH) dos polifenóis e os grupos polares dos polissacarídeos da fibra, envolvendo interações eletrostáticas, pontes de hidrogénio, interações hidrofóbicas (forças de *Van der Waals*). Já as ligações covalentes, embora menos comuns, são interações mais fortes e estáveis formadas por ligações éster, éter ou carbono-carbono (Mercado-Mercado *et al.*, 2020; Palafox-Carlos *et al.*, 2011).

Durante a digestão, a maioria dos polifenóis associados à fibra dietética não está disponível para absorção no intestino delgado, pois permanecem aprisionados na matriz

fibrosa, dificultando a ação das enzimas digestivas. Como consequência, apenas uma pequena fração (5 – 10%) dos compostos fenólicos é absorvida no intestino delgado, passando a restante parte (90 – 95%) para o cólon, onde é fermentada pela microbiota intestinal e libertada sob a forma de metabolitos mais simples e, efetivamente, absorvível pelo organismo (Barba *et al.*, 2017; Guergoletto *et al.*, 2016; Palafox-Carlos *et al.*, 2011).

No processo digestivo, as interações não covalentes promovem uma libertação retardada, direcionando os polifenóis de forma lenta e gradual ao longo do trato gastrointestinal até ao cólon. Por sua vez, as interações covalentes, devido à sua maior resistência aos efeitos gastrointestinais, reduzem a absorção precoce dos polifenóis no tubo digestivo e favorecem, igualmente, a sua libertação no cólon. Apesar das diferenças na resistência e estabilidade destas ligações, ambas conferem efeitos fisiológicos e benéficos semelhantes (Cheng *et al.*, 2025; Tomas *et al.*, 2022).

A pectina, fibra solúvel, interage com polifenóis principalmente por ligações não covalentes, formando complexos que protegem os polifenóis durante a digestão e influenciam a sua solubilidade e absorção. Devido às propriedades físico-químicas da pectina (grau de esterificação, peso molecular e hidrofobicidade), a pectina pode favorecer a formação de micelas com compostos hidrofóbicos (p.ex. carotenoides) em condições gastrointestinais (Shahidi & Pan, 2021). Estudos mostram que, por exemplo, a adição de pectina de girassol protege antocianinas (compostos hidrofílicos) da batata-doce da degradação térmica, aumentando a sua bioacessibilidade (Cheng *et al.*, 2025).

2.5.2. Testes de determinação da bioacessibilidade

Existem diversos modelos de mimetização da digestão humana *in vitro*, que visam simular as condições fisiológicas do trato gastrointestinal, desde a cavidade oral até as fases gástrica e intestinal. Estes classificam-se em métodos estáticos ou dinâmicos (Brodkorb *et al.*, 2019).

Dada a importância de compreender a bioacessibilidade dos compostos bioativos nos alimentos, esta dissertação teve como foco o método estático da digestão *in vitro* – modelo simples e de baixo custo – que simula o comportamento gastrointestinal e a possível absorção destes compostos no intestino delgado (Barba *et al.*, 2017). Definido pela rede internacional INFOGEST, o método estático baseia-se em dados fisiológicos, caracterizando-se por manter as condições experimentais constantes em cada fase do processo digestivo, assemelhando a digestão *in vitro* à digestão *in vivo*.

A utilização de uma porção fixa de matriz alimentar, pH controlado e adição controlada de eletrólitos (sais minerais) e de enzimas digestivas permite manter a simplicidade, robustez e reprodutibilidade deste modelo em laboratório e melhorar a precisão dos ensaios, evitando variações nos níveis de atividade enzimática. No entanto, esta padronização apresenta algumas limitações, visto que não reproduz a variação gradual do pH gástrico, a adição progressiva de fluido gástrico e o esvaziamento gástrico controlado. Além disso, considera a fase intestinal como um único processo, sem diferenciação das regiões do intestino (duodeno, jejuno e íleo), que apresentam diferenças significativas na diluição, composição mineral, pH e atividade enzimática. Por esse motivo, o modelo estático não é adequado para estudos detalhados, devendo ser utilizado somente para avaliar os produtos finais de cada fase do processo digestivo (Brodkorb *et al.*, 2019).

3. Delineamento Experimental

3.1. Descrição dos genótipos de framboesa

Foram caracterizados dois genótipos de framboesa: uma cultivar comercial ('id. A', referência) e uma seleção avançada do programa de melhoramento INIAV/Beira Baga ('id. B'), com o objetivo de identificar diferenças e evidenciar a existência de variações entre diferentes genótipos pertencentes à mesma espécie, no âmbito do programa de melhoramento genético. A Figura 7 ilustra o aspeto característico dos frutos e das plantas de cada genótipo.

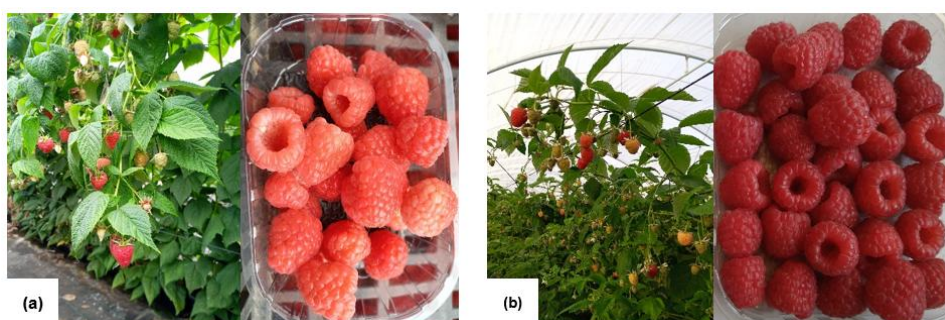


Figura 7 | Genótipos de framboesa vermelha rececionados. (a) Cultivar comercial/referência ('id. A'); (b) Seleção avançada de melhoramento INIAV/Beira Baga ('id. B'). *Créditos: fotografias de Francisco Luz.*

Os frutos foram colhidos manualmente no Polo de Inovação da Fataca (Odemira), acondicionados em embalagens perfuradas de PET [poli(tereftalato de etileno)] e transportados sob refrigeração (4 ± 1 °C) para a Unidade de Tecnologia e Inovação (UTI/INIAV). Os frutos frescos foram caracterizados quanto à cor e armazenados a -20 °C até análise. Para os testes de caracterização e para o processo de produção de doces, a descongelação foi realizada de forma lenta, visando preservar a integridade físico-química das amostras (câmara refrigerada a 4 °C por 24 h).

3.2. Métodos analíticos

3.2.1. Análises físico-químicas

Parâmetros Colorimétricos CIELab

A cor das amostras foi avaliada no sistema CIELab (Iluminante C), com recurso ao colorímetro Minolta Chroma Meter CR-300 (Osaka, Japão), calibrado com um padrão branco de referência ($L^* = 97,10$; $a^* = 0,19$; $b^* = 1,95$). Por leitura direta, no sistema CIE, o valor de L^* representa a luminosidade da amostra e traduz a variação entre escuro e claro, em que 0 equivale a preto e 100 a branco. O valor de a^* traduz a variação entre vermelho (+60) e verde (-60), enquanto o valor de b^* traduz a variação entre amarelo

(+60) e azul (-60), valores aproximados de zero em ambas as coordenadas indicam cores neutras (branco, cinzento e preto) (Ferreira & Spricigo, 2017). Posteriormente, foram calculados os parâmetros de tonalidade ($^{\circ}h$, *Hue*), índice de brancura (WI) e diferença total de cor (DTC). Na Figura 8 está ilustrada uma representação do modelo do sistema espacial de cromaticidade CIELab.

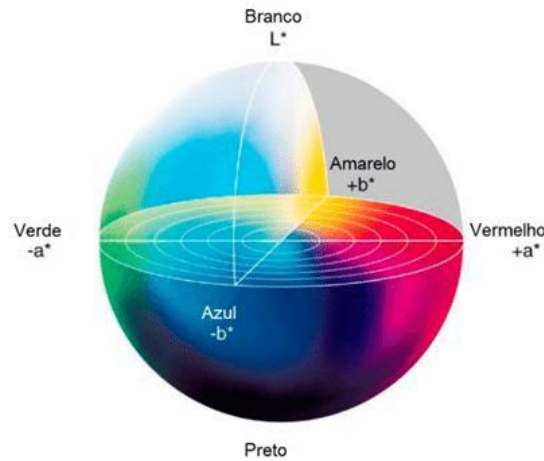


Figura 8 | Modelo do sistema espacial de cromaticidade CIELab, com ilustração das coordenadas L^* , a^* e b^* para interpretação do parâmetro de tonalidade ($^{\circ}h$, *Hue*). *Créditos: retirado de Konica Minolta.*

A tonalidade da cor é transmitida pelo ângulo $^{\circ}h$ (Equações 1), que varia pelos eixos dos parâmetros a^* e b^* , com o ângulo 0 a corresponder ao vermelho, o ângulo 90° ao amarelo, o ângulo 180° ao verde e o ângulo 270° ao azul (Ferreira & Spricigo, 2017).

$$^{\circ}h = \frac{\left(\frac{b^*}{a^*}\right)}{6,2832} \times 360, \quad \text{se } a^* > 0 \text{ e } b^* > 0$$

$$^{\circ}h = 180 + \frac{\left(\frac{b^*}{a^*}\right)}{6,2832} \times 360, \quad \text{se } a^* < 0$$

$$^{\circ}h = 360 + \frac{\left(\frac{b^*}{a^*}\right)}{6,2832} \times 360, \quad \text{se } a^* > 0 \text{ e } b^* < 0$$

Equações 1 | Conjunto de equações para a determinação do parâmetro $^{\circ}h$.

Segundo Bolin & Huxsoll (1991), o parâmetro WI traduz a maior ou menor presença de branco na superfície da amostra, sendo dado pela seguinte expressão matemática (Equação 2).

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

Equação 2 | Equação para a determinação do parâmetro WI.

O parâmetro DTC reflete as variações de cor entre uma dada amostra e uma amostra referência, cujas classificações encontram-se na Tabela 4 (Allegretti *et al.*, 2009). Este parâmetro expressa a magnitude da diferença de cor entre amostras, facilitando a sua comparação, e pode ser calculado pela Equação 3.

$$DTC = \Delta E = \sqrt{(L^* - L^*_0)^2 + (a^* - a^*_0)^2 + (b^* - b^*_0)^2}$$

Equação 3 | Equação para a determinação do parâmetro DTC. Os valores de L^*_0 , a^*_0 e b^*_0 correspondem à média das leituras da cor no dia 0, usados como referência.

Tabela 4 | Classificação detalhada do nível de diferenças obtido através do parâmetro DTC. *Adaptado de Allegretti et al. (2009).*

DTC	Grau de diferenças
0 – 0,2	Imperceptível
0,2 – 0,5	Muito pequena
0,5 – 1,5	Pequena
1,5 – 3	Distinta
3 – 6	Muito distinta
6 – 12	Grande
> 12	Muito grande (cores diferentes)

Os valores médios dos parâmetros colorimétricos resultaram de 27 medições no caso dos frutos ('id. A' e 'id. B') e de 3 medições por doce de framboesa (DH e DT).

Atividade da Água, a_w

As amostras (triplicados) foram colocadas em cuvetes específicas e transferidas para sondas do aparelho Rotronic da Hygrolab, onde permaneceram até que o valor da atividade da água (a_w) estabilizasse. Após atingir a estabilidade, o aparelho fornece diretamente o valor de a_w e a temperatura do meio registada durante a análise.

pH

O pH das amostras foi determinado com recurso a um potenciômetro HI84532 Fruit Juice Titratable Acidity Meter (Hanna Instruments, Woonsocket, Rhode Island, EUA), previamente calibrado à temperatura ambiente, com soluções tampão de pH = 4 e pH = 7 (Carlo Erba Reagents, Val-de-Reuil, França). Os valores médios de pH resultaram de triplicados por amostra.

Acidez Titulável, AT

A acidez titulável (AT) foi determinada segundo a norma NP-1421 (1977), com ligeiras alterações. Procedeu-se à homogeneização de 5 g de amostra num balão volumétrico de 50 mL, completando o volume com água destilada. Tomas desta solução (10 mL) foram tituladas, sob agitação contínua, com uma solução de NaOH 0,1 M (Honeywell, Charlotte, Carolina do Norte, EUA) até pH 8,2, com recurso a um titulador automático (Metrohm 665 Dosimat, São Paulo, Brasil), anotando o volume de NaOH gasto. A média dos triplicados foi expressa em gramas de ácido cítrico por 100 g de amostra fresca (g AC/100 g MF) e calculada conforme a Equação 4.

$$AT = \frac{(V_{total} \times V_{NaOH})/V_{toma}}{massa\ amostra} \times 0,1 \times 0,064 \times 100$$

Equação 4 | Equação para a determinação da AT (g AC/100 g MF), onde “V total” corresponde ao volume total de amostra (mL); “V NaOH” ao volume adicionado de NaOH (mL); “V toma” ao volume da toma para análise (mL); “0,1” à normalidade da solução de NaOH e “0,064” à constante que expressa AT em g AC.

Teor de Sólidos Solúveis, TSS

O teor de sólidos solúveis (TSS) foi determinado com recurso a um refratômetro digital (Atago Palette PR-201, Tóquio, Japão), previamente calibrado com água destilada. Os valores médios, expressos em °Brix, resultaram de triplicados por amostra.

Humidade

O teor de humidade foi determinado, em triplicados, segundo a norma NP-875 (1994) e corresponde à perda de massa seca a ± 70 °C com ventilação, em estufa (Heraeus T 5050 E 250 °C, Borken, Alemanha), até massa constante. Os resultados médios de triplicados foram expressos em percentagem (% m/m) e obtidos conforme a Equação 5.

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{(mc + ma) - mf}{ma} \times 100$$

Equação 5 | Equação para a determinação do teor de humidade (%), onde “mc” corresponde à massa da placa de Petri (g); “ma” à massa da amostra (g) e “mf” à massa final (g).

Proteína

A proteína bruta foi quantificada pelo método AOAC 978.04 (Kjeldahl). A análise foi efetuada em duas fases principais: mineralização e destilação com titulação. Após digestão ácida escalonada (270°C→430°C) em digestor Tecator 2020 (Foss Tecator AB, Höganäs, Suécia), segue-se destilação/titulação automática no equipamento Foss 2300

Kjeltec. O teor de proteína bruta (% m/m), obtido através de triplicados por amostra, foi calculado pelas seguintes equações matemáticas (Equações 6).

$$NT = \frac{V \times 1,4007 \times 0,0999}{m}$$

$$PB = 6,25 \times NT$$

Equações 6 | Conjunto de equações para a determinação da Proteína bruta (%), onde “NT” corresponde ao azoto total (% m/m); “1,4007” à concentração de NCl titulado (g/mol); “0,0999” à massa molar do azoto (g/mol); “V” ao volume gasto de ácido clorídrico 98% (mL); “m” à massa da amostra (g) e “6,25” ao fator de conversão proteína-framboesa.

Gordura

A gordura, segundo Akbar *et al.* (2009), foi extraída por *Soxhlet* modificado com petróleo-éter, durante 5 h, seguido de evaporação rotativa num rotavapor (Heidolph G1, Alemanha) equipado com uma bomba de vácuo (MZ 2C NT, Vacuubrand GmbH, Wertheim, Alemanha). O resíduo foi seco em estufa (Heraeus T 5050 E 250 °C, Borken, Alemanha) a 85 °C durante 1 h e, posteriormente, colocado num exsiccador, procedendo-se à pesagem da amostra, com resultados expressos em % (m/m).

Minerais

O teor de minerais foi determinado segundo Leitão *et al.* (2021). Amostras desidratadas e moídas (1 g, triplicado) foram digeridas com 8 mL de ácido nítrico a 65% e 2 mL de ácido hidrocloreídrico a 37%, num bloco de aquecimento (100 °C/1,5 h; DigiPrep, MS 50 ml 48 Pos digestor, SCP Science, Quebec, Canadá). Após digestão ácida, as soluções foram ajustadas para 50 mL com água destilada, homogeneizadas e deixadas em repouso. Os elementos Na, K, Ca, Mg, P, S, Si, Fe, Cu, Zn e Mn foram quantificados por espectrofotometria ICP-OES (iCAP Série 7000, Thermo Scientific, Waltham, EUA).

3.2.2. Compostos bioativos

Preparação dos Extratos Metanólicos

Os extratos utilizados para análise do conteúdo fenólico total (CFT) e atividade antioxidante (AOx) foram obtidos pela homogeneização de amostra com metanol 100% (Honeywell, Charlotte, Carolina do Norte, EUA) (proporção 4:9, m/v) em Polytron Ultra-Turrax T 25 basic a 20 000 rpm (IKA-Werke, Staufen, Alemanha), seguidos de vortex Heidolph Reax 2000 (Heidolph Instruments, Alemanha) durante 30 s. Após centrifugação (7000 rpm/20 min/4 °C; Sorvall RC5C, rotor SS34, Sorvall Instruments)

com recolha do sobrenadante em tubos *Falcon* e armazenado em refrigeração a 5 °C durante 24 h. Os extratos utilizados para determinação do perfil fenólico por HPLC e do Conteúdo de Taninos Totais (TTC) foram preparados a partir da mistura de 4:9 (m/v) de amostra com extrato metanólico [79,9% metanol, 20% água destilada e 0,1% ácido fórmico, v/v/v] e seguiram o procedimento descrito anteriormente.

Atividade Antioxidante, AOx

Método DPPH – Determinação da capacidade antioxidante total

A atividade antioxidante (método DPPH) foi determinada segundo Arnao *et al.* (2001) e Brand-Williams *et al.* (1995), com adaptações. O radical livre estável de azoto DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), cuja cor roxa se altera para amarelo após respetiva redução na presença de compostos antioxidantes (Alves *et al.*, 2010), foi diluído em metanol (1:4,5, v/v) até absorvância inicial de $1,10 \pm 0,02$ a $\lambda=515$ nm. Para a análise, 75 μ L de extrato (diluído com 75 μ L de extrato metanólico [79,9% metanol, 20% água destilada e 0,1% ácido fórmico, v/v/v]) foram misturados com 2850 μ L da solução DPPH, e incubados 2 h no escuro, à temperatura ambiente, com leitura espectrofotométrica a 515 nm (Espectrofotómetro Jas.co V-530 UV/Vis, Japão). Foi preparada uma reta de calibração com várias soluções padrão de Trolox (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA) (82–10 000 μ M), que permitiu expressar resultados em μ M de equivalentes de Trolox por 100 g de amostra fresca (μ M ET/100 g MF), com base nas seguintes equações (Equações 7) (Anexo I: Retas de calibração da atividade antioxidante por espectrofotometria dos métodos DPPH e FRAP e do método CFT).

$$\Delta\text{DPPH} = \text{Abs}_{515 \text{ nm}}\text{DPPH} - \text{Abs}_{515 \text{ nm}}\text{amostra}$$

$$\text{AOx(DPPH)} = \left(\frac{\Delta\text{DPPH} - b}{m} \right) \times \left(\frac{\text{volume solvente} + \text{massa amostra}}{\text{massa amostra}} \right) \times \text{FD} \times 100$$

Equações 7 | Conjunto de equações para a determinação da Aox através do método DPPH (μ M ET/100 g MF), onde “ Δ DPPH” ao decréscimo da $\text{Abs}_{515\text{nm}}$ pela ação dos antioxidantes; “ $\text{Abs}_{515\text{nm}}\text{DPPH}$ ” à absorvância da solução de DPPH preparada; “ $\text{Abs}_{515\text{nm}}\text{amostra}$ ” à absorvância da amostra; b e m, respetivamente, a ordenada na origem e o declive da reta de calibração, e “FD” o fator de diluição.

Método FRAP – Determinação do poder antioxidante do Ferro

A atividade antioxidante (método FRAP) foi determinada segundo Thaipong *et al.* (2006), com adaptações. Preparou-se a solução *stock* de reagente de FRAP a partir da mistura de tampão acetato de sódio (0,3 M) (pH 3,6), solução de TPTZ (10 mM) (e solução de cloreto férrico (20 mM), na proporção 10:1:1 (v/v/v). Para a análise, 25 μ L de extrato (diluído com 175 μ L de extrato metanólico [79,9% metanol, 20% água destilada

e 0,1% ácido fórmico, v/v/v]) foi adicionado a 1800 µL da solução *stock* de FRAP, e incubado 5 min à temperatura ambiente. A absorvância foi medida a 593 nm (Espectrofotômetro Jas.co V-530 UV/Vis, Japão). Foi preparada uma reta de calibração com várias soluções de FeSO₄•7H₂O (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA) (10–1000 µM), que permitiu expressar resultados em mmol de equivalentes de FeSO₄•7H₂O por 100 g de amostra fresca (mmol FeSO₄•7H₂O/100 g MF), com base na seguinte expressão matemática (Equação 8) (Anexo I: Retas de calibração da atividade antioxidante por espectrofotometria dos métodos DPPH e FRAP e do método CFT).

$$AOx(FRAP) = \left(\frac{Abs_{593\text{ nm}} - b}{m} \right) \times \left(\frac{\text{volume solvente} + \text{peso amostra}}{\text{peso amostra}} \right) \times FD \times 100$$

Equação 8 | Equação para a determinação da AOx através do método FRAP (mmol de equivalentes a FeSO₄•7H₂O por 100 g MF), em que m e b representam o declive e a ordenada na origem da reta de calibração, respetivamente, e “FD” o fator de diluição.

Método CFT – Determinação do Conteúdo de Fenólico Total

O conteúdo fenólico total (CFT) determinou-se segundo Swain & Hillis (1959), com modificações, baseando-se na reação colorimétrica promovida pelo reagente Folin-Ciocalteu, que apresenta uma cor amarela na sua forma oxidada. Ao reduzir-se na presença de compostos fenólicos, forma um complexo de cor azul (Sousa *et al.*, 2007). Adicionaram-se sequencialmente a tubos de ensaio: 2400 µL de água destilada, 75 µL de extrato (diluído com 175 µL de extrato metanólico [79,9% metanol, 20% água destilada e 0,1% ácido fórmico, v/v/v]) e 150 µL de reagente Folin-Ciocalteu (0,25 M). Após homogeneização e repouso de 3 min, adicionou-se 300 µL de carbonato de sódio (1 M), seguindo-se uma incubação de 2 h no escuro, à temperatura ambiente. A absorvância foi medida a 725 nm (Espectrofotômetro Jas.co V-530 UV/Vis, Japão). Foi preparada uma reta de calibração com ácido gálico (Panreac Química AS, Barcelona, Espanha) (0,004–0,600 mg/mL) que permitiu expressar resultados em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra fresca (mg EAG/100 g MF), com base nas seguintes equações (Equação 9) (Anexo I: Retas de calibração da atividade antioxidante por espectrofotometria dos métodos DPPH e FRAP e do método CFT).

$$CFT = \left(\frac{Abs_{725\text{ nm}} - b}{m} \right) \times \left(\frac{\text{volume extrato} + \text{massa amostra}}{\text{massa amostra}} \right) \times FD \times 100$$

Equação 9 | Equação para a determinação do CFT (mg EAG/100 g MF), em que m e b representam o declive e a ordenada na origem da reta de calibração, respetivamente, e “FD” o fator de diluição.

Perfil Fenólico por HPLC

O perfil fenólico foi determinado, segundo Barros *et al.* (2012), por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-HPLC), utilizando um sistema completo *Waters Alliance 2695* (Waters, Milford, MA, EUA), composto por bomba quaternária, termostato de coluna e *autosampler* refrigerado, acoplado a um detetor de arranjo de fotodíodos (PDA Waters 996) com resolução espectral de 1,2 nm. A separação efetuou-se numa coluna *C18 Aquasil®* (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA; 150 mm × 4,6 mm, tamanho de partícula 5 µm) mantida à temperatura ambiente. A fase móvel consistiu em dois solventes: Solvente A – mistura de acetonitrilo HPLC grade (Honeywell, ≥99,9%) e água ultrapura (18,2 MΩ·cm) na proporção 80:20 (v/v); Solvente B – água ultrapura acidificada com ácido fórmico 99% (Sigma-Aldrich) para pH 2,3.

A eluição decorreu em gradiente linear programado no *software Empower 3.0* (Waters): início com 88% A / 12% B (0 min), redução linear para 70% A / 30% B aos 30 min, e retorno às condições iniciais (88% A) aos 60 min, com fluxo constante de 1,0 mL/min controlado pela bomba do sistema. As amostras (20 µL) foram injetadas através do *autosampler* refrigerado a 4 °C. A deteção efetuou-se no PDA com aquisição nos comprimentos de onda de 280 nm (fenóis simples), 320 nm (ácidos hidroxicinâmicos) e 520 nm (antocianinas), utilizando varredura espectral completa entre 200 e 800 nm para identificação complementar. A quantificação baseou-se em curva padrão externa calibrada, com resultados expressos em mg por 100 g de amostra fresca (mg/100 g MF) para compostos maioritários (> 0,1% m/m) ou µg/g MF para minoritários (Anexo II: Retas de calibração do perfil fenólico e do ácido ascórbico por HPLC).

Ácido Ascórbico por HPLC

O ácido ascórbico foi quantificado segundo a metodologia descrita na norma EN 14130 (2003). Para extração dos ácido L(+) ascórbico e dihidro L(+) ascórbico foram pesadas 5 g de amostra, previamente triturada, para um balão volumétrico de 50 mL, adicionando-se 40 mL de ácido metafosfórico a 2% (m/v) até completar o volume do balão. A mistura foi cuidadosamente agitada e incubada em ambiente escuro por 15 min, a fim de estabilizar o ácido ascórbico e evitar a sua oxidação. Após esse período, a solução foi filtrada através de Acrodisc 0,45 µm e foram injetados 20 µL do filtrado no sistema de HPLC.

Para identificação e quantificação de ácido ascórbico utilizou-se um sistema de HPLC constituído por um módulo de separação *Alliance 2695* (Waters, Milford, USA) e um detetor *Waters 996 PhotodiodeArray Detector* (Waters 996, Waters, Milford, MA). A

eluição foi efetuada em regime isocrático, utilizando uma coluna *Spherisorb ODS2 C18* (Waters, Milford, USA; 250 mm x 4,6 mm, tamanho de partícula 5 µm), à temperatura ambiente e à velocidade de fluxo de 1,0 mL/min. A fase móvel foi constituída por uma solução de fosfato dibásico de potássio adicionada de brometo de trimetilamónia e a deteção da vitamina C foi efetuada a 296 nm. A quantificação foi baseada na técnica de padrão externo, a partir de uma curva padrão de área de pico *versus* concentração (Anexo II: Retas de calibração do perfil fenólico e do ácido ascórbico por HPLC).

Teor de Antocianinas Totais, TAT

O teor de antocianinas totais (TAT) foi determinado pelo método do pH diferencial descrito por Lee *et al.* (2005), com adaptações. Preparou-se um extrato aquoso através da homogeneização de 2 g de amostra com 10 mL de água destilada, seguida de agitação magnética durante 15 min à temperatura ambiente e centrifugação (3000 rpm/10 min/4 °C; Sorvall RC5C, rotor SS34, Sorvall Instruments), recolhendo-se o sobrenadante. Para análise, 0,5 mL deste extrato foram adicionados separadamente a dois tubos: um contendo 4,5 mL de tampão pH 1 (preparado com KCl 0,2 M e HCl 0,2 M na proporção 62,5:192,5 mL para 255 mL) e outro com 4,5 mL de tampão pH 4,5 (acetato de sódio 1 M, HCl 1 M e água destilada na proporção 80:48:72 mL para 200 mL). As misturas foram incubadas no escuro à temperatura ambiente durante 15 min. A absorvância foi medida a 510 nm (pico de absorção das antocianinas) e 700 nm (correção de turbidez) no espectrofotómetro (Espectrofotómetro Jas.co V-530 UV/VIS – Spectrophotometer). Os resultados médios foram expressos em mg de equivalentes de cianidina-3-glucósido por 100 g de amostra fresca (mg cid-3-glu/100g MF) e calculados através das seguintes expressões matemáticas (Equações 10).

$$FD = \frac{\text{massa amostra} + \text{volume solvente}}{\text{massa amostra}}$$

$$A = (Abs_{510pH1} - Abs_{700pH1}) - (Abs_{510pH4,5} - Abs_{700pH4,5})$$

$$TAT (mg/100g) = \frac{A \times MM \times FD \times 10^3}{\epsilon \times l} \times 100$$

Equações 10 | Conjunto de equações para a determinação de TAT (mg de equivalentes de cianidina-3-glucósido por 100 g MF), onde “FD” corresponde ao fator de diluição (FD ≈ 6); “A” o valor de absorvância total; “MM” a massa molecular da cianidina-3-glucósido (MM = 449,2 g/mol); “ε” o coeficiente de absorvância molar da cianidina-3-glucósido (ε = 26900 L/mol/cm) e “l” a largura da cuvette (1 cm).

Conteúdo Total de Taninos, TTC

O Conteúdo Total de Taninos (TTC) foi determinado segundo Liu *et al.* (2024). Para a análise, foram misturados 0,5 mL de extrato, 0,5 mL de água destilada e 50 mg de PVPP (polivinilpirrolidona). A mistura foi homogeneizada e deixada em repouso durante 15 min a 4 °C, seguida de centrifugação (8000 rpm/15 min/4 °C) e recolha do sobrenadante, sendo submetida ao teste de Folin-Ciocalteu (cf. Método CFT – Determinação do Conteúdo de Fenólico Total). A absorvância foi medida a 725 nm (Espectrofotômetro Jas.co V-530 UV/Vis, Japão) e o TTC foi obtido subtraindo-se o conteúdo de fenólicos totais (CFT) da quantidade de fenólicos não-taninos. Os resultados médios dos triplicados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra fresca (mg EAG/100 g MF).

3.2.3. Bioacessibilidade de fitoquímicos

A mimetização do trato gastrointestinal *in vitro* seguiu o protocolo INFOGEST 2.0 (Brodkorb *et al.*, 2019). Prepararam-se soluções de fluidos de digestão simulados (SSF, SGF, SIF 1,25×) a partir de soluções *stock* de sais (KCl, KH₂PO₄, NaHCO₃, NaCl, MgCl₂(H₂O)₆, (NH₄)₂CO₂, HCl, CaCl₂(H₂O)₂) e inibidor de protease (Pefabloc SC 1 mM). Soluções enzimáticas foram preparadas e refrigeradas (4°C): lisozima (100 U/mL), pepsina (2000 U/mL), pancreatina (100 U/mL) e sais biliares (10 mM) (Anexo III: Preparação das soluções *stock* e soluções enzimáticas do processo digestivo).

Procedimento sequencial:

- **Fase oral** – Misturou-se 5 g de amostra com 4 mL de SSF pré-aquecido, 0,025 mL de CaCl₂(H₂O)₂ (0,3 M), 0,75 mL de lisozima (100 U/mL) e 0,225 mL de H₂O. Incubou-se a 37 °C/2 min, sob agitação (volume final de 10 mL).
- **Fase gástrica** – Ao bolo oral adicionou-se 8 mL de SGF pré-aquecido, ajustando o pH para 3,0 com HCl (5 M), seguido de 0,005 mL de CaCl₂(H₂O)₂ (0,3 M), 0,667 mL de pepsina (2000 U/mL) e 0,928 mL de H₂O. Incubou-se a 37 °C/2 h, sob agitação (volume final de 20 mL).
- **Fase intestinal** – Ao quimo adicionou-se 8 mL de SIF pré-aquecido, ajustando o pH para 7,0 com NaOH (5 M), seguido de 3 mL de sais biliares (10 mM) e incubou-se a 37 °C/30 min. Adicionou-se 0,04 mL de CaCl₂(H₂O)₂ (0,3 M), 5 mL de pancreatina (100 U/mL) e 3,16 mL de H₂O e incubou-se a 37 °C/2 h, sob agitação (volume final de 40 mL). Após digestão completa (*t_F*), a reação enzimática foi interrompida com a adição de 2 mL de pefabloc SC (5 mM),

seguinte-se centrifugação (7000 rpm/20 min/4°C; Sorvall RC5C, rotor SS34, Sorvall Instruments) e filtração do sobrenadante.

Controlos experimentais:

- t_0 – Extratos iniciais, antes da digestão *in vitro*: Triplicados com 5 g de amostra + SSF/SIF/SGF (1:2:4 v/v);
- t_G – Extratos após simulação da digestão gástrica, em triplicado;
- t_F – Extratos finais, após digestão completa (após simulação das condições intestinais) em triplicado.

Após cada fase digestiva, os extratos (t_0 , t_G e t_F) foram quantificados quanto à composição bioativa, através da metodologia previamente descrita. Os valores médios resultantes do ensaio de bioacessibilidade foram calculados a partir da seguinte fórmula (Equação 11):

$$\text{Bioacessibilidade (\%)} = \frac{t_F}{t_0} \times 100$$

Equação 11 | Equação para a determinação da bioacessibilidade de fitoquímicos (%), onde “ t_F ” corresponde ao valor após digestão *in vitro* e “ t_0 ” ao valor antes digestão *in vitro*.

3.2.4. Contagens microbiológicas

Bolores e Leveduras

A contagem de Bolores e Leveduras (B&L) foi realizada segundo a norma ISO 21571-1:2008. Foi utilizado o meio de cultura DRBC agar (*Dichloran Rose-Bengal Chlorotetracycline Agar*; Biokar Diagnostics, Allone, França), para o qual se transferiu 0,1 g da suspensão mãe e de cada diluição preparada para o respetivo meio. Após incubação a 25 ± 1 °C durante 5 dias, em condições aeróbias, efetuou-se a contagem de B&L conforme a Equação 12.

$$N = \frac{\sum c}{m \times 1,1 \times d}$$

Equação 12 | Equação para a contagem de B&L e microrganismos a 30 °C (log UFC/g), onde “N” corresponde ao número de microrganismos; “ $\sum c$ ” ao somatório das colónias contabilizadas em duas placas inoculadas a partir de duas diluições sucessivas; “m” à massa de inóculo (g) e “d” à menor diluição das placas contabilizadas e utilizadas no somatório.

Microrganismos a 30 °C

A contagem total de microrganismos a 30 °C foi realizada segundo a norma ISO 4833-1:2013. Foram realizadas diluições decimais sucessivas em solução de Ringer (Biokar Diagnostics, Allone, França), que foram posteriormente incubadas em meio PCA (*Plate Count Agar*; Biokar Diagnostics, Allone, França) a 30 °C durante 72 h e contabilizadas com recurso à Equação 12.

3.2.5. Avaliação Reológica

Teste de Varrimento de Tensão (*Strain Sweep Test*)

A determinação da zona linear viscoelástica foi realizada com recurso a um reómetro *Thermo Scientific HAAKE MARS iQ Air* (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA), utilizando um sensor de pratos paralelos serrados (P20/Ti/SE) e com uma distância (*gap*) entre pratos de 1,7 mm (valor cuja força normal foi a mais baixa, não interferindo com a amostra). As amostras de doce (DH – hipocalórico e DT – tradicional) foram aplicadas entre os pratos e o ensaio conduzido à temperatura ambiente (20 °C) e frequência constante (1 Hz).

Teste de Varrimento de Frequência (*Frequency Sweep Test*)

Após definida a zona linear viscoelástica e, conseqüentemente, a tensão crítica (τ_c), efetuou-se o teste de varrimento de frequência, utilizando $\tau = 2$ Pa para o doce hipocalórico e $\tau = 8$ Pa para o doce tradicional e uma frequência entre 0,01 e 100 Hz.

3.2.6. Apreciação Sensorial

No procedimento da produção de doce foi realizado um teste apreciativo, com o objetivo de avaliar a aceitação ou preferência dos dois doces, hipocalórico ('id. DF1S') e tradicional ('id. DF2C'), tendo em conta as características organolépticas dos produtos percebidas pelos sentidos humanos (visão, tato, olfato e paladar). Para a avaliação das características organolépticas dos doces, recorreu-se a um painel não treinado constituído por 20 provadores. As provas foram realizadas na sala de provas de análise sensorial da UTI/INIAV, em cabines individuais com luz branca, à temperatura ambiente, de acordo com as recomendações da norma ISO 13299:2016. Os doces foram servidos em copos de vidro codificados com três dígitos de forma aleatória.

O teste sensorial apreciativo permitiu avaliar os atributos visuais e olfativos (cor, brilho, aroma e consistência) e atributos de degustação/gustativos (doçura, acidez, sabor e textura), com recurso a uma escala de 5 pontos, onde o valor 1 corresponde ao

mínimo de apreciação referente a “desgostei muito”, 2 a “desgostei”, 3 a “não gostei nem desgostei”, 4 a “gostei” e 5 a “gostei muito”. Foi ainda pedido aos provadores para anotarem, nas fichas de prova, as amostras mais e menos apreciadas (Anexo IV: Ficha de prova aplicada na apreciação sensorial dos doces de framboesa).

3.2.7. Análise Estatística

A análise estatística foi efetuada através do *software* Statistica™ v8.0 (2007) da StatSoft Inc. As variáveis quantitativas (amostras independentes) foram comparadas através da análise de variância (*one-way* ou *factorial ANOVA*) e as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as médias dos parâmetros avaliados entre amostras foram analisadas através do teste *Tukey's HSD*. Recorreu-se também à correlação de *Pearson* para avaliar a relação entre os parâmetros avaliados e o estatístico F no caso dos doces hipocalóricos de framboesa.

3.3. Descrição dos ensaios

3.3.1. Caracterização e Bioacessibilidade de fitoquímicos de genótipos de framboesa

A matéria-prima foi avaliada face ao seguinte protocolo:

- Parâmetros físico-químicos: cor instrumental CIELab, AT, pH, TSS, teor de humidade, proteína e minerais (cf. secção 3.2.1.);
- Composição bioativa: AOx (métodos DPPH e FRAP), conteúdo fenólico total (CFT), perfil fenólico, ácido ascórbico, teor de antocianinas (TAT) e conteúdo de taninos totais (TTC) (cf. secção 3.2.2.);
- Bioacessibilidade de fitoquímicos (cf. secção 3.2.3.).

O ensaio foi realizado com algumas modificações, uma vez que os valores de absorvância obtidos pelo método FRAP apresentavam-se muito elevados, segundo o procedimento original. Para o efeito, foram preparados 100 µL de extrato (previamente diluído com 100 µL de extrato metanólico) aos quais se adicionaram 1800 µL da solução *stock* de FRAP.



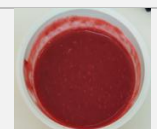
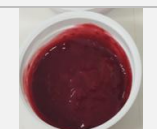

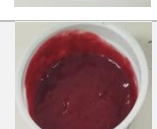
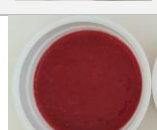
3.3.2. Produção de doce

Desenvolveu-se um doce hipocalórico de framboesa utilizando pectina de baixo metoxilo (LMP) (Sigma-Aldrich®, Pectin from citrus peel, Dinamarca) como agente estruturante, visando preservar compostos bioativos e reduzir significativamente o teor de açúcar *versus* formulação tradicional. Como matéria-prima foram utilizados os frutos

do genótipo 'id. A' pelo facto de ser já uma cultivar comercial com aceitação de mercado, em detrimento do 'id. B' que, embora promissor, se encontra ainda em fase de desenvolvimento no programa de melhoramento genético.

Foram desenvolvidas duas formulações de doce de framboesa: uma versão tradicional (DT) e outra hipocalórica (DH), ambas preparadas em triplicado. A formulação DT seguiu a proporção convencional 1:1 (fruta:açúcar). Com vista a estabelecer a formulação do doce DH, foram previamente testadas 13 formulações tendo como base 100 g de framboesa com a variação das concentrações de açúcar (0 a 50 g) e de pectina de baixo metoxilo (LMP; 1 a 3 g), conforme detalhado na Tabela 5. A formulação final selecionada (100 g de fruto + 15 g de açúcar + 3 g de LMP) teve em conta o equilíbrio entre atributos sensoriais (cor, sabor/aroma, textura) e os parâmetros físico-químicos TSS, pH e a_w .

Tabela 5 | Ensaio preliminares de DH.

Ensaio preliminares	Açúcar (g)	LMP (g)	TSS (°Brix)	pH	a_w	Cor	Sabor/ Aroma	Textura (consistência)	
1. *	50	2,5	–	–	–	Escura	Muito doce	Muito espesso	
2. *	50	1	43,6	–	–	Escura	Muito doce	Muito espesso	
3.	25	2,5	33,5	3,08	0,990	++	± Doce	Espesso	
4.	25	1,5	36,7	3,03	0,928	++	± Doce	Espesso	
5.	20	2	31,0	3,02	0,941	++	± Doce	± Boa	
6.	20	1,5	24,9	3,01	0,954	++	± Doce	± Boa	
7.	20	1	36,0	2,98	0,924	++	± Doce	Pudim líquido	
8.	15	3	22,3	3,13	0,961	++	Equilibrado	Boa	
9.	15	2	30,6	3,13	0,947	++	Equilibrado	± Boa	
10.	10	3	16,8	3,08	0,970	++	± Ácida	Boa	

11.	10	2	23,4	3,04	0,948	++	± Ácida	Pudim Líquido	
12.	10	1	24,3	3,02	0,950	+	± Ácida	Muito líquido	
13.	0	1	10,4	3,01	0,963	+	Muito ácida	Muito líquido	

* Formulações rejeitadas por terem textura muito espessa.

Para a elaboração dos doces tradicionais (DT) e hipocalóricos (DH), os frutos inteiros foram triturados e misturados com açúcar e pectina LM (no caso do DH), sob agitação constante. Não foram adicionados iões de cálcio, considerando que o fruto apresenta elevado teor desse mineral ($89,71 \pm 52,44$ mg/100 g MF, cf. secção 4.1.2). As misturas de cada tipo de doce foram submetidas a tratamento térmico em placa de aquecimento (Agimatic-N, Barcelona, Espanha), previamente aquecida a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, até atingirem o ponto de estrada ($\approx 110\text{ }^{\circ}\text{C}$). Antes do enchimento, os frascos de vidro (250 mL) com tampa metálica foram esterilizados em autoclave ($121\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 min), visando garantir a conservação e segurança microbiológica do produto ao reduzir a carga microbiana inicial. O enchimento assético foi realizado em fluxo laminar, e os doces foram acondicionados ainda quentes nos respetivos frascos. Imediatamente após o enchimento, os frascos foram invertidos, permitindo a esterilização da tampa pelo calor do produto e a formação de vácuo no interior do frasco após o arrefecimento à temperatura ambiente (Figuras 9 e 10).

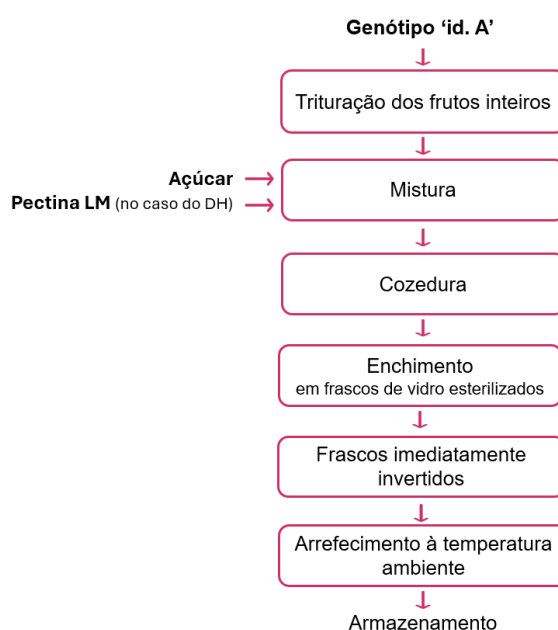


Figura 9 | Processo produtivo dos doces tradicional (DT) e hipocalórico (DH).

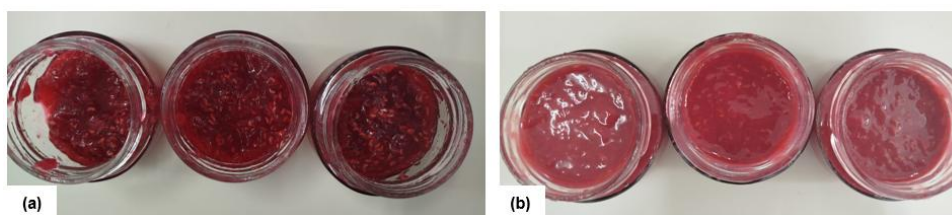


Figura 10 | Aspecto final dos doces: (a) Doce tradicional (DT); (b) Doce hipocalórico (DH).

Ambos os doces foram caracterizados imediatamente após a produção ($t=0$). O DT foi analisado exclusivamente no tempo inicial, servindo como referência para avaliar as modificações no DH, sendo ambos submetidos ao seguinte protocolo:

- Parâmetros físico-químicos: cor instrumental CIELab, a_w , AT, pH, TSS, teor de humidade, proteína e gordura (cf. secção 3.2.1.);
- Composição bioativa: AOx (métodos DPPH e FRAP), conteúdo fenólico total (CFT), perfil fenólico e teor de antocianinas (TAT) (cf. secção 3.2.2.);
- Bioacessibilidade de fitoquímicos (cf. secção 3.2.3.);
- Contagens microbiológicas: bolores e leveduras e microrganismos a 30 °C (cf. secção 3.2.4.);
- Avaliação reológica (cf. secção 3.2.5.);
- Apreciação sensorial (cf. secção 3.2.6.).

O doce hipocalórico (DH), sendo o foco principal deste estudo, foi submetido a dois regimes de conservação durante 30 dias: refrigeração (4 °C) e temperatura ambiente (25 °C), com reavaliação dos parâmetros físico-químicos (secção 3.2.1.), composição bioativa (secção 3.2.2.) e estabilidade microbiológica (secção 3.2.4.) ao fim do período de 15 ($t=15$) e 30 ($t=30$) dias de armazenamento.

4. Resultados e Discussão

Os resultados apresentados foram obtidos seguindo as metodologias descritas no ponto 3, tendo por base os objetivos e enquadramento deste trabalho (1 e 2).

4.1. Caracterização e Bioacessibilidade de fitoquímicos de genótipos de framboesa

4.1.1. Parâmetros físico-químicos

Parâmetros colorimétricos CIELab

A cor instrumental dos genótipos de framboesa foi avaliada a partir das coordenadas L*, a* e b* do sistema CIELab. Com base nesses dados, calcularam-se os índices de cor: croma (saturação), ângulo de Hue (tonalidade) e WI (brancura). Os resultados encontram-se resumidos na Tabela 6, juntamente com valores referenciados na literatura.

Tabela 6 | Cor instrumental CIELab dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.

Parâmetro	'id. A' ¹	'id. B' ¹	Literatura	
			Intervalo (Min-Máx)	Referência(s)
Croma	37,0 ^a ± 3,6	37,0 ^a ± 2,3	32,3 – 39,2	Mazur <i>et al.</i> (2014)
			40,95 – 50,56	Novo (2023)
Hue	22,2 ^a ± 1,9	24,1 ^b ± 1,1	24,3 – 27,5	Mazur <i>et al.</i> (2014)
			31,69 – 85,73	Novo (2023)
WI	30,0 ^b ± 3,0	26,0 ^a ± 1,1	–	–

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p < 0,05$).

O parâmetro **croma** é indicativo da intensidade da cor, em que valores mais altos refletem cores mais vivas. Os genótipos apresentaram valores significativamente idênticos ($p > 0,05$) ('id. A': 37,0 ± 3,6; 'id. B': 37,0 ± 2,3), indicando saturação de cor semelhante. Esses resultados situaram-se no intervalo descrito por Mazur *et al.* (2014), indicando frutos menos saturados que outras cultivares comerciais. Isso sugere que a intensidade da tonalidade vermelha característica da framboesa é comparável entre cultivares, o que é relevante para a atratividade visual do fruto *in natura*.

O parâmetro de **tonalidade (Hue)** revelou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os genótipos, com valores próximos de 20°, correspondendo à região do vermelho. Valores mais próximos de 0° indicam vermelho puro, associado à predominância de pigmentos como a cianidina, enquanto valores em torno de 90° sugerem tons alaranjados ou amarelados devido à inibição da síntese de antocianinas (Mazur *et al.*, 2014; Novo, 2023). O genótipo 'id. A' exibiu uma tonalidade vermelha mais intensa e vibrante (22,2 ± 1,9°) em relação ao 'id. B' (24,1 ± 1,1°), que apresentou um leve desvio

para tons vermelho alaranjados. Essa diferença ($\Delta \approx 2^\circ$) pode estar associada a variações no perfil de antocianinas, sendo que os valores de 'id. A' se situaram ligeiramente abaixo do limite mínimo reportado por Mazur *et al.* (2014), traduzindo maior predominância de pigmentos vermelhos do que a literatura refere.

O **índice de brancura (WI)** expressa a variação entre cores mais claras e mais escuras. O aumento de WI traduz o aclaramento e, inversamente, a diminuição de WI o escurecimento das amostras. O WI foi significativamente maior ($p < 0,05$) no genótipo 'id. A' ($30,0 \pm 3,0$) em relação ao 'id. B' ($26,0 \pm 1,1$), revelando maior luminosidade superficial e cor mais clara. Por outro lado, o menor WI observado em 'id. B' sugere maior escurecimento, associado ao aumento da concentração total de antocianinas que sofrem oxidação natural durante o armazenamento (Martins, 2015). A correlação entre WI e teor de antocianinas revelou relação negativa quase perfeita ($r = -0,99$), confirmando que o escurecimento observado em 'id. B' está fortemente relacionado à presença destes compostos, podendo indicar a necessidade de cuidados adicionais na conservação destes frutos.

As diferenças colorimétricas entre 'id. A' e 'id. B' refletem variações na qualidade visual e com possível reflexo no potencial bioativo, sendo relevantes na seleção de genótipos para consumo *in natura* ou processamento. O genótipo 'id. A' apresentou coloração vermelho vibrante e intenso, conferindo-lhe maior atratividade visual para o consumo *in natura*. Em contraste, o 'id. B' exibiu uma coloração ligeiramente mais escura e alaranjada, com predominância de antocianinas naturalmente oxidadas, sendo mais adequado para transformação industrial.

Parâmetros de AT, pH e TSS

Ao longo da maturação, a evolução açúcares-ácidos é inversa, o que reflete o estado de maturação da fruta e pode influenciar diretamente a sua sensação gustativa (Sousa *et al.*, 2007). Nos frutos vermelhos, o sabor ácido advém de alta acidez e baixos níveis de açúcar, enquanto o inverso resulta num sabor frequentemente descrito como inosso (Wang *et al.*, 2009). Dessa forma, a relação entre os teores de açúcar e de ácidos determina a qualidade sensorial dos frutos, sendo desejável o seu equilíbrio para obtenção de um sabor agradável (Sousa *et al.*, 2007; Vara, 2020).

Os resultados obtidos para os parâmetros de AT, pH e TSS dos genótipos encontram-se na Tabela 7, sendo comparados com intervalos reportados na literatura.

Tabela 7 | AT, pH e TSS dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.

Parâmetro	'id. A' ¹	'id. B' ¹	Literatura	
			Intervalo (Min-Máx)	Referências
Acidez titulável (% ácido cítrico)	2,38 ^b ± 0,02	2,19 ^a ± 0,11	1,67 – 2,32	De Ancos <i>et al.</i> (2000)
			1,76 – 2,23	Mazur <i>et al.</i> (2014)
			2,13 – 2,51	Papanov <i>et al.</i> (2019)
pH	2,8 ^b ± 0,04	2,7 ^a ± 0,05	2,88 – 3,87	De Ancos <i>et al.</i> (2000)
			2,73 – 3,00	Mazur <i>et al.</i> (2014)
			2,37 – 3,03	Papanov <i>et al.</i> (2019)
TSS (°Brix)	11,0 ^a ± 0,1	10,2 ^a ± 0,7	9,26 – 10,54	De Ancos <i>et al.</i> (2000)
			8,10 – 11,00	Mazur <i>et al.</i> (2014)
			10,87 – 13,60	Tosun <i>et al.</i> (2009)

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p < 0,05$).

Os resultados de **acidez titulável (AT)** e **pH** revelaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os genótipos, com 'id. A' apresentando menor acidez ($2,38 \pm 0,02\%$ AC) e maior pH ($2,8 \pm 0,04$), indicado ser um fruto menos ácido que o 'id. B' (AT = $2,19 \pm 0,11\%$ AC; pH = $2,7 \pm 0,05$). Apesar dessas diferenças estatísticas, estas provavelmente não seriam perceptíveis sensorialmente. Os valores obtidos situaram-se próximos dos intervalos referenciados na literatura, sugerindo que essa variação seja influenciada por condições de cultivo e estado de maturação dos frutos (Mazur *et al.*, 2014).

Por outro lado, os valores de **teores de sólidos solúveis (TSS)** não diferiram de maneira significativa ($p > 0,05$) entre os genótipos ('id. A': $11,0 \pm 0,1$ °Brix; 'id. B': $10,2 \pm 0,7$ °Brix), traduzindo uma doçura semelhante entre os frutos. Esses valores estão igualmente alinhados com os valores descritos na literatura para frutos maduros, que variam entre 8,10 e 13,60 °Brix. Isso evidencia que a acidez e a doçura podem variar independentemente da cultivar.

Teores de Humidade, Proteína Bruta e Minerais

Foram determinados os teores de humidade, proteína e minerais para ambos os genótipos de framboesa, sendo estes posteriormente comparados com valores reportados na literatura, conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 | Humidade, Proteína Bruta e Minerais dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.

Parâmetro	'id. A' ¹	'id. B' ¹	Literatura	
			Intervalo (Min-Máx)	Referências
Humidade (%)	82,1 ^a ± 6,9	88,2 ^a ± 4,5	79,2 – 88,1	Bobinaitè <i>et al.</i> (2012)
			82,02 – 85,31	De Ancos <i>et al.</i> (2000)
			85,1 – 89	Mazur <i>et al.</i> (2014)
Proteína Bruta (% m/m)	1,04 ^b ± 0,05	0,93 ^a ± 0,06	0,34 – 1,15	Akimov <i>et al.</i> (2021)
			0,7 – 1,6	Zhang <i>et al.</i> (2019)
Minerais (mg/100 g)			4	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			0,05 – 4,30	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
			141 – 223	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			230,14 – 392,09	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
			13 – 40	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			21,14 – 33,69	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
			15 – 39	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			17,21 – 27,61	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
			18 – 54	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			480,35 – 1219,51	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
Na	3,36 ^a ± 0,49	3,50 ^a ± 1,26	0,3 – 2,1	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			0,83 – 2,44	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
K	843,49 ^a ± 491,37	1200,17 ^a ± 42,47	0,05 – 0,2	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			0,13 – 0,31	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
Ca	89,71 ^a ± 52,44	112,50 ^a ± 4,12	0,2 – 0,7	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			1,05 – 2,04	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
Mg	147,67 ^a ± 85,56	196,16 ^a ± 8,02	0,3 – 1,8	Zhang <i>et al.</i> (2019)
			0,14 – 0,37	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
P	212,20 ^a ± 122,26	276,39 ^a ± 8,92		
S	66,68 ^a ± 29,01	89,87 ^a ± 2,12		
Fe	2,87 ^a ± 1,55	3,90 ^a ± 0,10		
Cu	0,85 ^a ± 0,64	1,56 ^a ± 1,39		
Zn	1,39 ^a ± 0,71	1,57 ^a ± 0,29		
Mn	2,74 ^a ± 1,61	3,00 ^a ± 0,09		

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste Tukey (p<0,05).

Ambos os genótipos apresentaram **teores de humidade** estatisticamente semelhantes, embora ligeiramente superiores em 'id. B' (88,2 ± 4,5%) face a 'id. A' (82,1 ± 6,9%). Os elevados teores de humidade evidenciados são típicos de frutos frescos, refletindo a sua perecibilidade e dependência de fatores como condições de cultivo e estado de maturação (Ain *et al.*, 2022; De Ancos *et al.*, 2000). Esses valores estão de acordo com os intervalos reportados na literatura, que variam entre 79,2% e 89%.

Os teores de **proteína bruta** foram de 1,04 ± 0,05% para 'id. A' e 0,93 ± 0,06% para 'id. B'. Verificou-se que a composição proteica foi significativamente diferente (p<0,05) entre os genótipos, com 'id. A' apresentando teor ligeiramente superior, sugerindo influência genética sobre o conteúdo proteico dos frutos. Ainda assim, ambos os valores se situaram dentro dos intervalos descritos por Akimov *et al.* (2021) e Zhang *et al.* (2019) para a espécie *R. idaeus*.

A **análise mineral** não revelou diferenças significativas ($p>0,05$) na composição macro e micromineral entre genótipos. Contudo, o 'id. B' apresentou teores consistentemente superiores para todos os minerais analisados, destacando-se como fonte nutricional mais rica, possivelmente devido a características genéticas associadas ao programa de melhoramento. O potássio (K) foi o macroelemento predominante, com valores 42% superiores em 'id. B' ($1200,17 \pm 42,47$ mg/100 g) relativamente a 'id. A' ($843,49 \pm 491,37$ mg/100 g). Os teores de sódio (Na), fósforo (P) e zinco (Zn) situaram-se dentro das faixas esperadas, embora os valores de P apresentem discrepância. Os demais minerais (K, Ca, Mg, S, Fe, Cu e Mn) excederam os valores de referência, possivelmente devido à perda de exsudados durante o descongelamento dos frutos, o que poderá ter concentrado estes minerais.

4.1.2. Composição bioativa

Foi determinada a composição bioativa (AOx, CFT, TAT, TTC e ácido ascórbico) de ambos os genótipos, cujos valores se encontram apresentados na Tabela 9, juntamente com valores previamente publicados na literatura.

Tabela 9 | Composição bioativa dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.

Parâmetro	'id. A' ¹	'id. B' ¹	Literatura	
			Intervalo ^(Min-Máx)	Referência(s)
DPPH (μ mol ET/100 g MF)	2498,6 ^b \pm 9,2	2458,7 ^a \pm 19,4	890 – 2150	Çekiç & Özgen (2010)
FRAP (mmol Sulfato Ferro heptahidratado/100 g MF)	20,7 ^a \pm 1,8	22,8 ^a \pm 1,8	8,13 – 12,43	Tosun <i>et al.</i> (2009)
			1,12 – 1,98	Çekiç & Özgen (2010)
CFT (mg EAG/100 g MF)	81,9 ^a \pm 2,3	82,5 ^a \pm 4,6	278,6 – 503,9	Bobinaitè <i>et al.</i> (2012)
			37 – 429	Bravo (1998)
			113,73 – 177,60	De Ancos <i>et al.</i> (2000)
			183,1 – 297,7	Mazur <i>et al.</i> (2014)
			114,5 – 203,1	Tosun <i>et al.</i> (2009)
Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/100 g MF)	20,5 ^a \pm 1,2	29,2 ^b \pm 0,2	148,6 – 347,9	Çekiç & Özgen (2010)
			29,2 – 130,6	Bobinaitè <i>et al.</i> (2012)
			31,13 – 116,27	De Ancos <i>et al.</i> (2000)
Taninos (mg EAG/100 g MF)	46,2 ^a \pm 4,3	60,2 ^b \pm 0,3	17,7 – 50,3	Mazur <i>et al.</i> (2014)
			120	Diaconeasa <i>et al.</i> (2015)
Ácido Ascórbico (mg/100 g MF)	23,4 ^a \pm 0,9	21,2 ^a \pm 2,0	16,4 – 24,4	Bobinaitè <i>et al.</i> (2012)
			17,4 – 46,9	Mazur <i>et al.</i> (2014)
			13,4 – 23,7	Zhang <i>et al.</i> (2019)

¹Resultados expressados como média \pm desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p<0,05$).

Os compostos antioxidantes desempenham efeitos benéficos na saúde humana, sendo capazes de inibir ou retardar reações de oxidação indesejáveis, prevenindo *stress* oxidativo das células e, por sua vez, doenças crônicas e neurodegenerativas (Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Scalbert *et al.*, 2005; Tosun *et al.*, 2009). Porém, nenhum método utilizado para medir a capacidade antioxidante (AOx) descreve na totalidade as reações que ocorrem naturalmente. Nesse sentido, foram utilizados dois métodos complementares de avaliação da atividade antioxidante: o DPPH, que neutraliza o radical livre estável de azoto DPPH (*2,2-difenil-1-picrilhidrazil*), alterando a cor de roxo para amarelo quanto reduzido na presença de compostos antioxidantes (Alves *et al.*, 2010), e o FRAP, que reduz iões de ferro na presença de compostos antioxidantes na amostra (Rumpf *et al.*, 2023).

A capacidade antioxidante (AOx) avaliada pelo método **DPPH** revelou diferenças estatísticas, sendo maior no 'id. A' ($2498,6 \pm 9,2 \mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$) face ao 'id. B' ($2458,7 \pm 19,4 \mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$). Ambos os valores excederam o intervalo descrito por Çekiç & Özgen (2010), indicando uma capacidade de neutralização de radicais livres superior à média. Em contrapartida, pelo método **FRAP**, a AOx dos genótipos não evidenciou significância estatística ($20,7 \pm 1,8$ vs. $22,8 \pm 1,8 \text{ mmol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100 \text{ g}$, respetivamente para 'id. A' e 'id. B'). Esses resultados superaram os intervalos descritos por Tosun *et al.* (2009) e por Çekiç & Özgen (2010), sugerindo elevado poder redutor dos frutos *R. idaeus* analisados. As variações observadas entre os métodos de avaliação da AOx podem ser atribuídas a fatores genéticos inerentes à cultivar e/ou à influência de fatores ambientais, como o estado de maturação, condições de cultivo, de armazenamento e de processamento (Rao & Snyder, 2010).

Os **compostos fenólicos totais (CFT)** não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre genótipos ($1,9 \pm 2,3 \text{ mg EAG}/100 \text{ g}$ para 'id. A' e $82,5 \pm 4,6 \text{ mg EAG}/100 \text{ g}$ para 'id. B'), encontrando-se apenas no limite inferior do intervalo descrito por Bravo (1998), apesar da ampla gama de valores reportados na literatura. Em contraste, o 'id. B' evidenciou um acréscimo significativo ($p < 0,05$) no **teor de antocianinas (TAT)** (ca 30%) e no **teor de taninos (TTC)** (ca 20%) comparativamente ao 'id. A'. Verificou-se ainda que o teor de antocianinas ($20,5 \pm 1,2 \text{ mg cianidina-3-glucósido}/100 \text{ g}$ para 'id. A' e $29,2 \pm 0,2 \text{ mg cianidina-3-glucósido}/100 \text{ g}$ para 'id. B') se encontraram alinhados com os valores descritos por Mazur *et al.* (2014), enquanto os resultados obtidos para o **TTC** ($46,2 \pm 4,3 \text{ mg EAG}/100 \text{ g}$ para 'id. A' e $60,2 \pm 0,3 \text{ mg EAG}/100 \text{ g}$ para 'id. B') situaram-se muito abaixo dos reportados por Diaconeasa *et al.* (2015). Essas diferenças sugerem que os compostos fenólicos diferem com a cultivar, condições ambientais e estado de maturação dos frutos.

Diversos estudos apontam os compostos fenólicos como os principais responsáveis pela atividade antioxidante dos hortofrutícolas (Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Tosun *et al.*, 2009), reportando uma correlação positiva entre CFT e AOx. No entanto, os resultados do presente estudo não permitiram estabelecer uma relação estatisticamente significativa entre esses parâmetros. Foram obtidos coeficientes de correlação de *Pearson* (*r*) de -0,48 ($p > 0,05$) para o método DPPH e de 0,67 ($p > 0,05$) para o método FRAP. A ausência de significância estatística para ambas as correlações, indica que não foi possível confirmar uma associação linear robusta entre o CFT e a AOx medida por qualquer um dos métodos. Conclui-se, portanto, que outros compostos bioativos possam ter tido uma contribuição relativamente mais importante para a AOx nestas amostras específicas, ou que a relação não seja do tipo linear simples, sendo necessários mais estudos para elucidar os mecanismos predominantes.

Por outro lado, os **teores de ácido ascórbico** foram estatisticamente semelhantes entre os genótipos, embora ligeiramente superiores em 'id. A' ($23,4 \pm 0,9$ mg/100 g) face ao 'id. B' ($21,2 \pm 2,0$ mg/100 g), situando-se dentro dos intervalos reportados na literatura (entre 13,4 e 46,9 mg/100 g).

Para além dos polifenóis, outros compostos bioativos podem contribuir para a AOx das amostras, como o ácido ascórbico, que pode representar cerca de 20% da AOx total e cujas framboesas são muito ricas (Bobinaitè *et al.*, 2012; Rao & Snyder, 2010). Assim, foi ainda analisada a relação entre ácido ascórbico e AOx das amostras, tendo-se obtido uma forte e significativa correlação positiva ($r = 0,84$, $p < 0,05$) pelo método DPPH, evidenciando o papel relevante da vitamina C na neutralização de radicais livres. Em contraste, pelo método FRAP, observou-se uma correlação negativa ($r = -0,75$, $p > 0,05$), embora sem significância estatística. Isso sugere que o ácido ascórbico se correlaciona inversamente com os compostos que este método deteta, nomeadamente compostos fenólicos.

Perfil fenólico

A análise do **perfil fenólico** dos genótipos de *R. idaeus* (Tabela 10) revela 14 compostos comuns, classificados entre flavonoides e não flavonoides (ácidos fenólicos). Entre os flavonoides, foram identificados o grupo flavonóis (catequina, rutina, quercetina-3-glucósido e quercetina) e uma flavanona (naringenina). Nos ácidos fenólicos, destacaram-se os ácidos hidroxicinâmicos (vanílico, siríngico, clorogénico, cafeico, *p*-cumárico e ferúlico) e os ácidos hidroxibenzóicos (*p*-hidroxibenzóico, gálico e elágico).

Tabela 10 | Perfil fenólico dos frutos 'id. A' e 'id. B' vs. valores referenciados na literatura.

Perfil Fenólico (mg/100 g MF)		'id. A' ¹	'id. B' ¹	Literatura	
				Intervalo (Min-Máx)	Referência(s)
FLAVONOIDES	Catequina	0,6 ^b ± 0,1	0,2 ^a	1,1 2,4	Correia (2016) Rao & Snyder (2010)
	Rutina	1,7 ^a ± 0,1	1,9 ^a ± 0,5	0,73 – 0,86	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
	Quercetina-3-glucósido	0,5 ^b	0,4 ^a	0,2 0,42 – 2,02	Correia (2016) Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
	Quercetina	0,4 ^a ± 0,1	0,4 ^a	1,1 4,7	Rao & Snyder (2010) Correia (2016)
	Naringenina	0,05 ^a	0,04 ^a	0,55 – 5,75 0,02 – 0,06	Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022) Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
ÁCIDOS FENÓLICOS	Ácido vanílico	2,7 ^b ± 0,5	1,2 ^a ± 0,1	1,04 – 1,85 1,04	Correia (2016) Rao & Snyder (2010)
	Ácido siríngico	2,0 ^b ± 0,3	0,7 ^a ± 0,1	1,77 2,90 – 8,85	Correia (2016) Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
	Ácido clorogénico	0,4 ^b ± 0,1	0,2 ^a ± 0,1	0,85 0,12 – 0,65	Correia (2016) Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
	Ácido cafeico	0,3 ^a ± 0,1	0,3 ^a ± 0,1	0,89 – 1,03 0,23 – 1,45	Correia (2016) Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
	Ácido <i>p</i> -cumárico	0,2 ^a	0,1 ^a	0,89 1,39 – 3,50 0,25 – 1,90	Rao & Snyder (2010) Correia (2016) Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)
	Ácido ferúlico	0,6 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,1	0,8 0,85 – 3,15 0,85	Rao & Snyder (2010) Correia (2016) Rao & Snyder (2010)
	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	0,8 ^b ± 0,1	0,4 ^a ± 0,1	1,83 – 11,01 1,82	Correia (2016) Rao & Snyder (2010)
	Ácido gálico	29,4 ^b ± 3,6	13,4 ^a ± 0,3	21,5 – 26,1 21,5	Correia (2016) Rao & Snyder (2010)
	Ácido elágico	5,9 ^a ± 2,0	4,2 ^a ± 0,8	4,08 – 16,47 4,06 – 20,85	Correia (2016) Fotirić Akšić <i>et al.</i> (2022)

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p < 0,05$).

Em ambos os genótipos foram quantificados 14 compostos entre os quais ácidos fenólicos (9) e flavonoides (5), no entanto estes diferiram significativamente ($p < 0,05$). De modo geral, o genótipo 'id. A' apresentou teores mais elevados na maioria dos compostos fenólicos detetados, especialmente nos flavonoides (catequina e quercetina-3-glucósido) e nos ácidos fenólicos (vanílico, siríngico, clorogénico, *p*-hidroxibenzóico, gálico e elágico).

Entre os fenólicos detetados em ambos os genótipos, predominaram o ácido gálico e o ácido elágico. Estudos indicam que o ácido gálico representa 78% dos ácidos fenólicos (Rao & Snyder, 2010) e o ácido elágico constitui 77 – 88% dos compostos fenólicos totais em frutos *Rubus* (Bobinaitė *et al.*, 2012). Nos genótipos estudados, o

ácido gálico correspondeu a aproximadamente 70% dos ácidos fenólicos em 'id. A' e 63% em 'id. B', enquanto o ácido elágico constituiu 13% e 17% dos compostos fenólicos totais, respetivamente para 'id. A' e 'id. B', valores dentro dos intervalos reportados por Correia (2016) e por Fotirić Akšić *et al.* (2022).

Adicionalmente, foram observados elevados teores de rutina, variando entre $1,7 \pm 0,1$ mg/100 g ('id. A') e $1,9 \pm 0,5$ mg/100 g ('id. B'), ultrapassando o intervalo reportado por Fotirić Akšić *et al.* (2022). Os restantes polifenóis apresentam concentrações próximas ou dentro dos intervalos descritos na literatura.

4.1.3. Bioacessibilidade de fitoquímicos

A Tabela 11 apresenta os resultados do ensaio de bioacessibilidade de fitoquímicos por meio de digestão *in vitro* dos genótipos de framboesa. Os dados evidenciam as diferentes condições de digestão simuladas: t_0 (antes da digestão), t_G (após digestão gástrica) e t_F (após digestão completa).

Tabela 11 | CFT, TAT e AOx dos frutos 'id. A' e 'id. B' resultantes do ensaio de bioacessibilidade.

Parâmetro		Antes da digestão (t_0) ¹	Após digestão gástrica (t_G) ¹	Após digestão completa (t_F) ¹	Bioacessibilidade (%)
DPPH ($\mu\text{mol ET}/100$ g MF)	'id. A'	1731,4 ^{bc} \pm 57,2	289,5 ^{ab} \pm 169,5	2060,6 ^c \pm 335,8	119,0
	'id. B'	1418,5 ^{abc} \pm 36,7	182,9 ^a \pm 258,3	1075,0 ^{abc} \pm 1359,2	75,8
FRAP (mmol Sulfato Ferro heptahidratado/100 g MF)	'id. A'	28,7 ^a \pm 1,9	11,1 ^b \pm 0,5	27,0 ^a \pm 1,9	94,1
	'id. B'	27,5 ^a \pm 1,3	11,0 ^a \pm 1,0	26,1 ^a \pm 3,1	94,9
CFT (mg EAG/100 g MF)	'id. A'	49,6 ^a \pm 6,6	38,2 ^a \pm 3,7	89,7 ^b \pm 14,9	180,8
	'id. B'	48,0 ^a \pm 3,5	34,5 ^a \pm 2,1	93,9 ^b \pm 4,9	195,6
Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/100 g MF)	'id. A'	7,3 ^b \pm 0,3	1,0 ^a \pm 0,4	0,5 ^a \pm 0,3	6,8
	'id. B'	6,4 ^b	0,4 ^a \pm 0,1	0,6 ^a \pm 0,3	9,4

¹Resultados expressados como média \pm desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p < 0,05$).

A AOx dos genótipos de framboesa 'id. A' e 'id. B', avaliada pelos métodos espectrofotométricos **DPPH** e **FRAP**, registou uma diminuição após digestão gástrica (t_G), com posterior recuperação após digestão completa (t_F). Estudos apontam que a menor biodisponibilidade de compostos antioxidantes pode estar relacionada com o elevado teor de fibra presente na framboesa que, durante o processo digestivo, aprisiona os polifenóis na matriz e limita a ação das enzimas digestivas, permitindo que apenas uma pequena fração de polifenóis (5 – 10%) fique disponível para absorção no intestino delgado. A maioria dos compostos fenólicos (90 – 95%) é metabolizada, pela microbiota do cólon do intestino grosso, em metabolitos mais simples e facilmente absorvidos pelo

organismo, conferindo efeitos benéficos na saúde do hospedeiro (Barba *et al.*, 2017; Guergoletto *et al.*, 2016; Palafox-Carlos *et al.*, 2011). Conforme os resultados obtidos observou-se que a AOx pelo método DPPH apresenta maior bioacessibilidade em 'id. A' (119% vs. 75,8%), contudo pelo método FRAP, denota-se o inverso (94,1% para 'id. A' e 94,9% para 'id. B'). Estas conclusões reforçam a importância de considerar a quantidade potencialmente biodisponível num alimento, em vez dos valores declarados nas tabelas nutricionais (Barba *et al.*, 2017; Palafox-Carlos *et al.*, 2011).

A bioacessibilidade dos **CFT** seguiu tendências semelhantes que a AOx, onde o aumento estatisticamente significativo após digestão completa (t_F), sugere que o ambiente alcalino do intestino e a ação de sais biliares e pancreatina tenham favorecido a libertação e possível absorção de polifenóis da matriz, especialmente no genótipo 'id. B', refletindo uma bioacessibilidade de 180,8% para 'id. A' e de 195,6% para 'id. B'.

Em contraste, a redução significativa ($p < 0,05$) do **TAT** após digestão gástrica (t_G), evidenciou a elevada sensibilidade das antocianinas às variações de pH (7,0 para 3,0), bem como, à ação das enzimas digestivas (lisozima e pepsina), podendo ter promovido a degradação e/ou conversão destes compostos instáveis em estruturas com baixa capacidade de absorção (p.ex. catiões flavílio e carbinol). Em concordância com a literatura (Ali Redha *et al.*, 2024), as antocianinas refletiram baixa bioacessibilidade, contudo os genótipos 'id. A' e 'id. B' apresentam valores superiores (6,8% para 'id. A' e 9,4% para 'id. B') face aos 1 – 2% da literatura, o que sugere um potencial bioativo diferenciado entre cultivares.

4.2. Produção de doce

4.2.1. Parâmetros físico-químicos

Parâmetros colorimétricos

No dia de produção (t_0), foi avaliada a cor instrumental de ambos os doces hipocalórico (DH) e tradicional (DT), elaborados a partir do genótipo 'id. A'. A estabilidade do DH foi ainda monitorizada ao fim de 15 (t_{15}) e 30 (t_{30}) dias de armazenamento sob duas condições: refrigeração (4 °C) e temperatura ambiente (25 °C). As variações dos parâmetros colorimétricos encontram-se resumidas na Tabela **12**.

Tabela 12 | Cor instrumental CIELab dos doces.

Parâmetro	t0		DH t15		DH t30	
	DH ¹	DT ¹	4 °C ¹	25 °C ¹	4 °C ¹	25 °C ¹
Croma	4,3 ^a ± 2,4	6,9 ^a ± 1,6	9,4 ^a ± 0,8	5,6 ^a ± 1,7	20,0 ^b ± 3,8	6,7 ^a ± 2,2
Hue	97,5 ^{ab} ± 29,7	78,1 ^{ab} ± 28,0	223,0 ^{ab} ± 188,9	134,3 ^{ab} ± 107,3	36,9 ^a ± 25,3	294,0 ^b ± 30,7
WI	95,0 ^d ± 1,8	83,0 ^{ab} ± 6,7	84,9 ^{abc} ± 0,6	93,1 ^{cd} ± 1,0	78,9 ^a ± 3,1	88,7 ^{bcd} ± 3,5
DTC	–	–	1,88	15,06	13,11	16,61

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p < 0,05$).

Em t0, ambas as formulações evidenciaram coloração vermelha, com o DT a exibir um **croma** ligeiramente superior ($6,9 \pm 1,6$) a DH ($4,3 \pm 2,4$), embora sem significância estatística, indicando que a redução do teor de açúcar do DH não comprometeu a intensidade e vivacidade da cor vermelha.

Relativamente à estabilidade do DH, a evolução deste parâmetro foi semelhante ($p > 0,05$) para todas as amostras, com exceção do produto armazenado a 4°C após 30 dias, que evidenciou valores de croma significativamente superiores ($p < 0,05$). Essa diferença sugere que a refrigeração possa ter preservado a vivacidade e intensidade da cor, refletindo uma cor mais viva e brilhante.

O parâmetro de **tonalidade (Hue)** evidenciou resultados idênticos ($p > 0,05$) entre as formulações em t0, embora ligeiramente mais altos para DH (DH: $97,5 \pm 29,7^\circ$; DT: $78,1 \pm 28,0^\circ$), o que indica maior inibição da síntese de antocianinas e resulta em tonalidades mais alaranjadas em comparação ao DT.

Relativamente à estabilidade do DH, observou-se um acréscimo acentuado deste parâmetro em t15, sendo este mais evidente na amostra sob refrigeração (4°C: $223,0 \pm 188,9^\circ$; 25 °C: $134,3 \pm 107,3^\circ$), embora sem significância estatística. Contudo, em t30, verificaram-se alterações significativas ($p < 0,05$): DH a 4°C exibiu valores inferiores aos do DH em t0 ($36,9 \pm 25,3^\circ$) sugerindo instabilidade da cor ao longo do tempo e predominância de pigmentos vermelhos (p.ex. cianidina), conferindo tonalidade mais avermelhada ao produto; e DH a 25°C verificou-se um acréscimo significativo ($p < 0,05$) do Hue, aproximando-se de 270° , o que evidencia um produto com tonalidade azulada, associada à degradação de antocianinas (Mazur *et al.*, 2014; Novo, 2023).

O **índice de brancura (WI)** nas formulações em t0 diferiu significativamente ($p < 0,05$), tendo a amostra DT evidenciado maiores níveis de escurecimento e, subsequente, maior concentração de antocianinas naturalmente oxidadas (Martins, 2015). Contrariamente, o DH evidenciou ser uma amostra mais clara e brilhante (DH: $95,0 \pm 1,8$; DT: $83,0 \pm 6,7$), sendo um atributo positivo para consumidores que associem

cor mais clara a produtos mais “naturais. A correlação positiva entre WI e teor de antocianinas ($r=0,76$), sugere que a pectina LM do DH tenha limitado a degradação térmica das antocianinas durante o processo de confecção do doce, assim como, a sua redução de açúcar tenha minimizado reações de escurecimento – comuns em formulações tradicionais (Ribeiro de Castro, 2013).

Relativamente à estabilidade do DH, observou-se uma tendência de redução do índice de brancura ao longo do tempo, mais evidente na amostra a 4 °C em t30 ($78,9 \pm 3,1$), sugerindo o escurecimento por oxidação ou degradação de polifenóis (Martins, 2015).

A **diferença total da cor (DTC)** avalia numericamente o grau de alteração da cor face a uma referência (neste caso, DH em t0), quanto maior DTC, maior é a alteração da cor (Allegretti *et al.*, 2009). Através dos resultados obtidos, é possível verificar que, ao longo do tempo de conservação, os valores de DTC aumentaram para todas as amostras. Em t15, o produto sob refrigeração evidenciou uma diferença visual classificada como distinta (1,88; cf. Tabela 4). As restantes amostras exibiram maiores valores de DTC, refletindo diferenças visuais na cor muito diferentes da amostra em t0, sendo classificadas como diferenças muito grandes (>12).

A correlação entre os parâmetros colorimétricos (croma, Hue, WI e DTC) permitiu interpretar o sentido da variação de cor manifestada pelas amostras ao longo do tempo de armazenamento. O parâmetro DTC correlacionou-se significativamente ($p<0,05$) apenas com o WI ($r=0,59$), salientando o escurecimento como a principal alteração da cor das amostras durante o período de conservação testado.

Foi ainda observado que os fatores tempo e temperatura de armazenamento dos doces hipocalóricos de framboesa tiveram um impacto significativo ($p<0,05$) nos parâmetros colorimétricos croma ($F=22,15$ e $F=25,94$, respetivamente) e índice WI ($F=38,83$ e $F=23,89$, respetivamente). Por outras palavras, a estabilidade da cor dos doces DH foi influenciada pelo tempo e pela temperatura durante o período de conservação, o que deve ser considerado para garantir a qualidade e atratividade visual do produto durante o seu período de vida útil.

Parâmetros físico-químicos

Em t0, as formulações de doce foram submetidas à análise dos parâmetros de a_w , AT, pH e TSS. A estabilidade do DH foi ainda monitorizada ao fim de 15 (t15) e 30 (t30) dias de armazenamento sob duas condições: refrigeração (4 °C) e temperatura ambiente (25 °C). Os resultados encontram-se resumidos na Tabela 13.

Tabela 13 | a_w , AT, pH e TSS dos doces.

Parâmetro	t0		DH t15		DH t30	
	DH ¹	DT ¹	4 °C ¹	25 °C ¹	4 °C ¹	25 °C ¹
a_w	0,94 ^a	0,83 ^b	0,94 ^a	0,94 ^a	0,93 ^a	0,93 ^a
Acidez titulável (g AC/100 g MF)	1,86 ^a ± 0,09	1,62 ^a ± 0,09	1,46 ^a ± 0,04	1,40 ^a ± 0,08	2,12 ^a ± 0,41	2,13 ^a ± 0,80
pH	3,06 ^c ± 0,06	2,90 ^{ab} ± 0,10	2,86 ^a ± 0,02	3,01 ^{bc} ± 0,01	2,85 ^a ± 0,03	2,87 ^{ab} ± 0,03
TSS (°Brix)	26,8 ^a ± 0,3	64,8 ^b ± 0,9	26,3 ^a ± 0,9	26,6 ^a	28,0 ^a ± 0,8	27,2 ^a ± 0,5

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste Tukey (p<0,05).

Em t0, ambas as formulações evidenciaram valores de **atividade da água (a_w)** estatisticamente diferentes (p<0,05), com valores superiores para DH (0,94 vs. 0,83), o que se correlaciona inversamente com os valores de **teores de sólidos solúveis (TSS)**, com o DH a apresentar uma redução do teor de açúcar de cerca de 58% face ao DT (DH: 26,8 ± 0,3 °Brix; DT: 64,8 ± 0,9 °Brix). Essas diferenças estatísticas podem ser atribuídas à menor concentração de açúcares do DH, que se reflete numa menor pressão osmótica e, conseqüentemente, maior quantidade de água livre disponível para reações microbianas e químicas. Por esse motivo, pode ser necessária a aplicação de barreiras de conservação adicionais (como acidificação, refrigeração ou adição de conservantes) em produtos com elevados valores de a_w (Ribeiro de Castro, 2013).

Por outro lado, o aumento da **acidez titulável (AT)**, correlacionada inversamente com a diminuição do pH das amostras (r=-0,30), reforça que quanto maior a AT, menor o pH, e vice-versa. Contudo, essa correlação sem significância estatística, indica que existem outros fatores que interferem na relação AT e pH, como subprodutos metabólicos microbianos ou reações químicas (como degradação de açúcares, pectina e ácidos orgânicos). Observou-se que, entre as formulações em t0, embora os valores de AT não apresentassem diferenças estatisticamente significativas (DH: 1,86 ± 0,09 g AC/100 g; DT: 1,62 ± 0,09 g AC/100 g), o pH foi significativamente mais baixo (p<0,05) no DT (DH: 3,06 ± 0,06; DT: 2,90 ± 0,10). Essa diferença de acidificação sugere que, para a mesma acidez total, o DT apresentou um perfil mais ácido, no entanto essas diferenças não seriam perceptíveis sensorialmente.

Relativamente à estabilidade do DH, verificou-se que, durante o período de 30 dias de conservação, o valor elevado de a_w manteve-se estatisticamente constante ($p>0,05$) (ca 0,94), assim como, os valores de **TSS** (ca 27 °Brix) e de **AT** (ca 2 g AC/100 g). Por outro lado, o **pH** diferiu significativamente ($p<0,05$), exibindo uma tendência cada vez mais ácida ao longo do período de armazenamento – fator importante na estabilidade microbiológica do produto. Na literatura, o $pH<4,0$ traduz um produto microbiologicamente estável, contudo bolores e leveduras podem tolerar condições de pH mais ácidos do que a maioria dos microrganismos, sendo necessário considerar outros fatores (Prisacaru *et al.*, 2025).

Foi ainda observado que, durante o período de conservação do produto DH, o fator tempo teve impacto significativamente maior ($p<0,05$) em todos os parâmetros físico-químicos a_w ($F=4,3$), AT ($F=5,27$), pH ($F=38,7$) e TSS ($F=6,91$) do que o fator temperatura que, apenas, influenciou significativamente ($p<0,05$) o pH ($F=9,1$).

Como esperado, o produto DT segue o perfil clássico de uma formulação tradicional de doce, com acidez moderada e elevada doçura, atingindo valores de aproximadamente 65 °Brix. Em contrapartida, o DH aproximou-se de doces com baixo teor de açúcar (<40 °Brix) (Laborde e Pagano, 2022; Shinwari e Rao, 2018). O DH destaca-se como uma alternativa hipocalórica promissora, com redução do teor de açúcar de cerca de 58%, apesar da combinação entre alta acidez e baixa doçura poder comprometer a sua aceitação sensorial (Sousa *et al.*, 2007; Vara, 2020; Wang *et al.*, 2009), especialmente entre indivíduos com sensibilidade gástrica.

Teores de Humidade, Proteína Bruta e Gordura

Os parâmetros de teores de humidade, teor de proteína e gordura dos doces de framboesa determinados em t_0 encontram-se apresentados na Tabela 14, juntamente com valores de referência para formulações de doce tradicional.

Tabela 14 | Humidade, proteína e gordura dos doces em t_0 vs. valores referenciados na literatura.

Parâmetro	t_0		Literatura	
	DH ¹	DT ¹	Valor	Referência
Humidade (%)	69,3 ^b ± 1,6	33,0 ^a ± 0,8	38,7	INSA (2024)
Proteína Bruta (% m/m)	1,26 ^b ± 0,07	0,75 ^a ± 0,08	0,4	INSA (2024)
Gordura (% m/m)	0,57 ^b ± 0,03	0,26 ^a ± 0,10	0,0	INSA (2024)

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p<0,05$).

Os valores obtidos para humidade, proteína bruta e gordura mostraram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações em t0, com todos os parâmetros sendo superiores em DH.

O elevado **teor de humidade** no DH ($69,3 \pm 1,6\%$) comparativamente ao DT ($33,0 \pm 0,8\%$), indica maior presença de água no produto, correlacionando-se com o elevado valor de a_w ($r=0,99$) e o baixo teor calórico ($r=-0,99$), sugerindo um produto mais diluído. Essa característica implica maior perecibilidade do DH, uma vez que a elevada a_w favorece o crescimento microbiano e reações químicas, exigindo cuidados adicionais de conservação. Contudo, o DH apresentou teores significativamente superiores ($p < 0,05$) de **proteína e gordura**, com $1,26 \pm 0,07\%$ e $0,57 \pm 0,03\%$, respetivamente, em relação ao DT ($0,75 \pm 0,08\%$ e $0,26 \pm 0,10\%$). Tal resultado sugere que as interações entre açúcar, proteína e gordura possam ter favorecido a sua concentração no produto.

A literatura (INSA, 2024) reporta, para doces de framboesa, valores de humidade semelhantes aos de DT, embora DT seja um produto mais seco. Adicionalmente, na literatura encontrada verificaram-se níveis ligeiramente inferiores de proteína bruta e ausência de gordura. Contudo, essas variações não são significativas, sendo possivelmente atribuídas ao genótipo e às diferenças no processamento dos doces.

4.2.2. Composição bioativa

Parâmetros de AOx, CFT e TAT

A Tabela 15 apresenta os resultados da composição bioativa (AOx, CFT e TAT) de ambas as formulações em t0, bem como, da estabilidade do DH após 15 (t15) e 30 (t30) dias de conservação sob condições de refrigeração ($4\text{ }^\circ\text{C}$) e temperatura ambiente ($25\text{ }^\circ\text{C}$).

Tabela 15 | Composição bioativa dos doces.

Parâmetro	t0		DH t15		DH t30	
	DH ¹	DT ¹	4 °C ¹	25 °C ¹	4 °C ¹	25 °C ¹
DPPH ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g MF}$)	$2786,3^a \pm 165,9$	$2829,8^a \pm 39,8$	$2833,7^a \pm 43,3$	$2941,3^a \pm 86,6$	$2804,2^a \pm 45,2$	$2859,3^a \pm 84,4$
FRAP (mmol Sulfato Ferro heptahidratado/100 g MF)	$27,6^a \pm 6,3$	$22,6^{ab} \pm 0,2$	$17,2^b \pm 4,9$	$14,8^b \pm 2,4$	$29,3^a \pm 2,5$	$29,8^a \pm 0,4$
CFT (mg EAG/100 g MF)	$82,1^a \pm 13,7$	$71,6^{ab} \pm 5,6$	$61,5^b \pm 7,0$	$60,4^b \pm 1,9$	$71,7^a \pm 1,6$	$72,7^a \pm 2,3$
Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/100 g MF)	$9,1^a \pm 0,5$	$6,7^b \pm 0,3$	$10,0^a \pm 0,7$	$6,7^b \pm 0,2$	$9,5^a \pm 1,2$	$3,8^c \pm 0,2$

¹Resultados expressados como média \pm desvio padrão e, em expoente, a letra do teste Tukey ($p < 0,05$).

A AOX das formulações de doce em t0, avaliada pelos métodos **DPPH** e **FRAP**, revelo valores estatisticamente semelhantes. Isso sugere que ambas as formulações possuíram, estatisticamente, igual capacidade de neutralização de radicais livres e de poder redutor. No entanto, o comportamento diferente (valores ligeiramente maiores de DPPH e valores menores de FRAP para DT) indica perfis distintos de compostos bioativos. Durante o período de conservação do DH, os valores de AOX avaliados pelo método DPPH não registaram variações significativas adicionais ($p>0,05$), sugerindo ausência de influência do tempo e da temperatura de armazenamento na capacidade antioxidante, possivelmente devido ao efeito protetor da pectina. Em contraste, aos 15 dias pelo método FRAP, registou-se uma redução significativa ($p<0,05$) da AOX de cerca de 38% sob refrigeração e 46% à temperatura ambiente, com posterior recuperação ao fim de 30 dias de armazenamento. Esses resultados evidenciam diferenças na sensibilidade dos métodos e sugerem instabilidade dos compostos bioativos, com ocorrência de reações de degradação/conversão (t15) e posterior libertação de polifenóis da matriz (t30).

Os valores de **CFT** revelaram-se estatisticamente semelhantes entre as duas formulações de doce em t0, tendo o DH um teor superior ao do DT (DH: $82,1 \pm 13,7$ mg EAG/100 g; DT: $71,6 \pm 5,6$ mg EAG/100 g). Em contrapartida, os **teores de antocianinas** dos doces em t0 mostraram alterações significativas ($p<0,05$), com valores mais elevados no DH (DH: $9,1 \pm 0,5$ mg cianidina-3-glucósido/100 g; DT: $6,7 \pm 0,3$ mg cianidina-3-glucósido/100 g). Isso reflete maior afinidade do DH na preservação de compostos fenólicos (como as antocianinas), possivelmente favorecida pela menor interferência de açúcares e pelo efeito protetor da pectina LMP nos polifenóis, durante a confecção do produto, minimizando a sua degradação térmica. Tal como verificado pelo método FRAP, houve uma queda significativa ($p<0,05$) dos compostos fenólicos (incluindo antocianinas) aos 15 dias, seguidos de recuperação em t30. Verificou-se ainda que, durante o período de conservação analisado, os valores de TAT a 4 °C mantiveram-se estatisticamente estáveis, contrariamente aos resultados obtidos, no mesmo período, a 25 °C. Isso sugere o efeito negativo de temperaturas elevadas durante o armazenamento, promovendo a degradação e instabilidade das antocianinas (compostos termossensíveis) (Almeida, 2012). Tal é corroborado pelo impacto significativo ($p<0,05$) do fator temperatura no TAT dos doces hipocalóricos ao longo do período de armazenamento ($F=99,22$).

Observou-se ainda que o fator tempo influenciou de forma mais significativa ($p<0,05$) a conservação dos doces hipocalóricos do que a temperatura, afetando de

forma mais expressiva a AOX pelo método espectrofotométrico FRAP (F=16,75), o CFT (F=9,26) e o TAT (F=22,27).

Perfil fenólico

A análise do **perfil fenólico** das amostras de doce de framboesa DH e DT (Tabela 16) revela 14 compostos comuns, classificados entre flavonoides e não flavonoides (ácidos fenólicos). Entre os flavonoides, foram identificados o grupo flavonóis (catequina, rutina, quercetina-3-glucósido e quercetina) e uma flavanona (naringenina). Nos ácidos fenólicos, destacaram-se os ácidos hidroxicinâmicos (vanílico, siríngico, clorogénico, cafeico, *p*-cumárico e ferúlico) e os ácidos hidroxibenzóicos (*p*-hidroxibenzóico, gálico e elágico).

Tabela 16 | Perfil fenólico dos doces.

Perfil Fenólico (mg/100 g MF)		t0		DH t15		DH t30	
		DH ¹	DT ¹	4 °C ¹	25 °C ¹	4 °C ¹	25 °C ¹
FLAVONOIDES	Catequina	0,2 ^a ± 0,1	0,1 ^a ± 0,1	0,1 ^a ± 0,1	0,4 ^a ± 0,2	0,2 ^a ± 0,1	0,2 ^a
	Rutina	0,8 ^a	0,9 ^a ± 0,1	0,8 ^a ± 0,1	0,8 ^a ± 0,1	0,8 ^a	0,8 ^a
	Quercetina-3-glucósido	0,3 ^a	0,3 ^a	0,4 ^a	0,3 ^a	0,3 ^a	0,4 ^a
	Quercetina	Nq ^a	Nq ^a	Nq ^a	Nq ^a	Nq ^a	Nq ^a
	Naringenina	Nq ^a	0,1 ^b	Nq ^a	Nq ^a	Nq ^a	Nq ^a
ÁCIDOS FENÓLICOS	Ácido vanílico	0,3 ^a	0,3 ^a ± 0,3	0,2 ^a ± 0,1	0,6 ^a ± 0,7	0,5 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,4
	Ácido siríngico	0,5 ^a ± 0,3	0,4 ^a ± 0,3	0,6 ^a ± 0,6	0,2 ^a ± 0,1	0,4 ^a ± 0,1	0,2 ^a ± 0,1
	Ácido clorogénico	0,1 ^a ± 0,1	0,1 ^{ab}	0,1 ^a	0,1 ^{ab}	Nq ^b	0,1 ^{ab}
	Ácido cafeico	0,1 ^a	0,2 ^a	0,2 ^a	0,2 ^a ± 0,1	0,2 ^a	0,1 ^a
	Ácido <i>p</i> -cumárico	0,1 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a
	Ácido ferúlico	0,2 ^a ± 0,2	0,1 ^a ± 0,1	0,1 ^a ± 0,1	0,1 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a
	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	0,2 ^a ± 0,1	Nq ^b	0,2 ^{ab} ± 0,1	1,5 ^c ± 0,7	1,1 ^{bc} ± 0,4	0,4 ^{ab} ± 0,2
	Ácido gálico	2,1 ^a ± 0,5	5,3 ^{ab} ± 3,1	2,5 ^a ± 0,6	8,6 ^b ± 2,4	4,4 ^{ab} ± 0,8	4,5 ^{ab} ± 0,7
Ácido elágico	0,9 ^c ± 0,2	3,7 ^{ac} ± 1,2	6,6 ^{ab} ± 1,6	7,8 ^b ± 0,3	5,6 ^{ab} ± 0,7	6,0 ^{ab} ± 1,5	

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste Tukey (p<0,05).

Nq – Não quantificado (abaixo do limite de quantificação)

Em ambas as formulações de doce foram identificados 14 compostos comuns, entre os quais ácidos fenólicos (9) e flavonoides (5), com poucas exceções face à matéria-prima.

As formulações em t₀ revelaram ausência de diferenças estatisticamente significativas no perfil fenólico, à exceção do flavonoide naringenina e do ácido fenólico *p*-hidroxibenzóico, que se encontraram abaixo do limite de quantificação (nq) para DH e DT, respetivamente. Entre os compostos fenólicos mais abundantes em t₀, destacaram-se o ácido gálico (DH: 2,1 ± 0,5 mg/100 g; DT: 5,3 ± 3,1 mg/100 g) e o ácido elágico (DH: 0,9 ± 0,2 mg/100 g; DT: 3,7 ± 1,2 mg/100 g) – predominantes em frutos de *Rubus* (Bobinaitè *et al.*, 2012; Rao & Snyder, 2010). Verificou-se ainda que o flavonoide quercetina foi detetado em ambos os doces, embora o seu teor estivesse abaixo do limite de quantificação.

Relativamente à estabilidade do DH, durante o seu período de conservação, de modo geral, a sua composição fenólica não apresentou alterações significativas, indicando boa estabilidade da maioria dos compostos fenólicos presentes na formulação hipocalórica, especialmente dos flavonoides e dos ácidos fenólicos hidroxicinâmicos. Contudo, difere significativamente ($p < 0,05$) no ácido clorogénico e nos ácidos hidroxibenzóicos, sugerindo que o armazenamento pode potencializar o aumento de determinados polifenóis (como os ácidos *p*-hidroxibenzóico, gálico e elágico), embora também possa acelerar a degradação de outros mais sensíveis (como o ácido clorogénico). Afirmção essa corroborada pela influência significativamente maior ($p < 0,05$) do fator tempo sobre o perfil fenólico em comparação com a temperatura ($F = 116,93$ para tempo e $F = 23,89$ para temperatura).

4.2.3. Bioacessibilidade de fitoquímicos

A Tabela 17 apresenta os resultados do ensaio de bioacessibilidade de fitoquímicos por meio de digestão *in vitro* dos doces de framboesa. Os dados evidenciam as diferentes condições de digestão simuladas: t₀ (antes da digestão), t_G (após digestão gástrica) e t_F (após digestão completa).

Tabela 17 | CFT, TAT e AOx dos doces resultantes do ensaio de bioacessibilidade.

Parâmetro		Antes da digestão (t_0) ¹	Após digestão gástrica (t_G) ¹	Após digestão completa (t_F) ¹	Bioacessibilidade (%)
DPPH ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g MF}$)	DH	3067,6 ^{ab} \pm 206,7	1792,0 ^{ab} \pm 36,6	5991,0 ^c \pm 334,2	195,3
	DT	1523,5 ^a \pm 60,7	2345,3 ^{abc} \pm 89,8	4361,7 ^d \pm 1187,7	286,3
FRAP (mmol Sulfato Ferro heptahidratado/100 g MF)	DH	19,8 ^a \pm 3,1	27,4 ^a \pm 6,7	32,1 ^a \pm 3,4	162,1
	DT	13,3 ^a \pm 1,7	22,0 ^a \pm 9,8	30,1 ^a \pm 14,8	226,3
CFT (mg EAG/100 g MF)	DH	76,5 ^a \pm 9,6	90,5 ^a \pm 9,0	164,6 ^c \pm 40,5	215,2
	DT	29,8 ^b \pm 1,5	55,3 ^{ab} \pm 11,0	98,8 ^a \pm 7,2	331,5
Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/100 g MF)	DH	5,8 ^{ab} \pm 0,4	12,1 ^{de} \pm 0,7	1,0 ^c \pm 0,2	17,2
	DT	5,0 ^a \pm 0,3	10,8 ^d \pm 0,5	2,1 ^c \pm 0,6	42,0

¹Resultados expressados como média \pm desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p < 0,05$).

A AOx, avaliada pelos métodos espectralfotométricos **DPPH** e **FRAP**, registou um aumento ao longo da digestão *in vitro*, com diferenças estatísticas ($p < 0,05$) observadas pelo método DPPH. Os compostos fenólicos são apontados como os principais responsáveis pela atividade antioxidante dos hortofrutícolas (Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Tosun *et al.*, 2009), pelo que foi estudada a relação entre CFT e AOx, tendo-se obtido correlações significativamente positivas ($p < 0,05$) entre CFT e AOx ($r = 0,74$ para DPPH e $r = 0,55$ para FRAP). Desta forma, concluiu-se que a AOx das amostras se deve principalmente à composição fenólica, independentemente da formulação dos doces.

Verificou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) dos **CFT** ao longo do processo digestivo, sobretudo após digestão completa (t_F), em ambas as formulações. O DH apresentou um maior teor final de compostos fenólicos ($164,6 \pm 40,5$ mg EAG/100 g) comparativamente à DT ($98,8 \pm 7,2$ mg EAG/100 g), refletindo a sua maior concentração inicial de compostos fenólicos, com significância estatística. No entanto, a bioacessibilidade dos CFT foi superior no DT (331,5%) que no DH (215,2%), sugerindo que a libertação dos compostos fenólicos ao longo do trato gastrointestinal foi mais eficiente no DT. Esse resultado indica que a diferente composição nutricional da matriz alimentar (p.ex. no teor de açúcar, fibra, proteína e gordura) tenha influenciado a bioacessibilidade dos polifenóis e que, no caso do DH, a adição de pectina possa ter protegido a extração ou absorção dos polifenóis.

Quanto ao **TAT**, houve degradação significativa ($p < 0,05$) no final do processo digestivo, atribuída à instabilidade destes flavonoides a diferentes condições de pH (meio ácido no estômago e meio alcalino no intestino). Após digestão completa (t_F), observou-se uma perda total de antocianinas superior no DH face à DT. Embora o DH

apresentasse um teor inicial mais elevado de antocianinas, a fração que se tornou bioacessível foi significativamente menor (17,2%) do que a verificada no DT (42%). Para que os flavonoides sejam absorvidos no intestino, é necessário que os açúcares ligados à sua estrutura sejam removidos pela ação de enzimas digestivas (Palafox-Carlos *et al.*, 2011). Contudo, apesar do DH conter menor teor de açúcar, os resultados indicam que a LMP possa ter proporcionado uma proteção mais eficaz às antocianinas, aprisionando-as de forma mais eficiente ao longo do trato gastrointestinal do que a matriz do DT.

Embora ambos os doces tenham sido submetidos às mesmas condições de digestão simulada, os resultados evidenciaram diferenças significativas ($p < 0,05$) na bioacessibilidade de compostos bioativos e AOX, o que possivelmente se relaciona com as diferenças das formulações. O doce DH destacou-se pela maior quantidade de compostos fenólicos, refletindo um perfil mais bioativo. Contudo, o produto DT demonstrou maior eficiência na libertação e possível absorção de polifenóis durante a digestão *in vitro*.

4.2.4. Contagens microbiológicas

As contagens médias de cada grupo microbiológico avaliado (microrganismos a 30 °C e B&L) para as amostras de doce de framboesa em t0 encontram-se resumidas na Tabela 18, assim como, da estabilidade do DH após 15 (t15) e 30 (t30) dias de conservação sob condições de refrigeração (4 °C) e temperatura ambiente (25 °C).

Tabela 18 | Contagem microbiológica dos doces, sob diferentes condições de armazenamento.

Parâmetro	t0		DH t15		DH t30	
	DH ¹	DT ¹	4 °C ¹	25 °C ¹	4 °C ¹	25 °C ¹
Microrganismos a 30 °C (log UFC/g)	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	3,0 ^b ± 0,3	3,3 ^b ± 0,3
Bolores e Leveduras (log UFC/g)	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^b	1,6 ^b ± 1,1

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste *Tukey* ($p < 0,05$).

Para as amostras de doce de framboesa em t0, as contagens das populações de microrganismos a 30 °C e de B&L exibiram valores de 1,0 log UFC/g. Estatisticamente, não foram detetadas diferenças significativas, revelando que a redução de açúcar na formulação de DH não comprometeu a estabilidade e segurança do produto, assim como, indica que o calor aplicado na confeção do doce e o tratamento térmico de esterilização dos frascos foram eficazes, apesar dos elevados valores de a_w anteriormente referidos. O INSA estabeleceu valores guia para as contagens de

diversos grupos microbiológicos, consoante o género alimentício (INSA, 2017). No caso dos doces (Grupo 1), as contagens microbianas não devem exceder 2 – 4 log UFC/g para microrganismos a 30 °C e leveduras e 1 – 2 log UFC/g para bolores, contudo os valores obtidos para t0 situaram-se no nível satisfatório dos valores deste guia (≤ 1 log UFC/g para microrganismos a 30 °C e leveduras e ≤ 1 log UFC/g para bolores), indicando boa qualidade microbiológica destes produtos.

Relativamente à estabilidade do DH, não foram registadas variações significativas ($p > 0,05$) após o período de conservação de 15 dias, apesar das diferentes condições de temperatura de armazenamento. Por outro lado, no período subsequente (t30), observaram-se diferenças estatísticas, com um crescimento relevante em ambos os parâmetros avaliados. Embora a temperatura refrigerada tenha mantido estável as contagens de B&L (1,0 log UFC/g), em contrapartida denotou-se um acréscimo significativo ($p < 0,05$) nas contagens de microrganismos a 30 °C ($3,0 \pm 0,3$ log UFC/g). Por outro lado, sob temperatura ambiente, registaram-se alterações significativas tanto nas contagens de microrganismos a 30 °C ($3,3 \pm 0,3$ log UFC/g) como nas contagens de B&L ($1,6 \pm 1,1$ log UFC/g). Esses resultados em t30 demonstraram que a refrigeração permitiu retardar o crescimento microbiológico a longo prazo, contrariamente à temperatura ambiente, que acelerou a degradação do produto. Tal é corroborado pelo facto de apenas a variável tempo ter tido impacto significativo ($p < 0,05$) no parâmetro de contagem de microrganismos a 30 °C ($F=376,61$). Independentemente da condição de temperatura aplicada, as contagens microbianas dos parâmetros analisados não excederam os valores descritos pelo INSA (2017).

Apesar de se poder garantir estabilidade microbiológica dos doces DT em t0 e DH durante 30 dias sob diferentes condições de temperatura, recomendar-se-ia a aplicação de medidas preventivas, como métodos alternativos de conservação do doce (p.ex. HPP) ou uso de conservantes (p.ex. ácidos orgânicos). No presente estudo, não foram aplicados outros aditivos, para além da pectina na formulação do DH, pois pretendia elaborar-se uma formulação o mais natural possível.

4.2.5. Avaliação reológica

As formulações de doce em t0 foram submetidas a uma avaliação do seu comportamento viscoelástico. Após a realização dos testes de varrimento de tensão de cada amostra, foram determinadas as respetivas zonas de viscoelasticidade linear e a tensão crítica. Na Figura 11 podem observar-se os testes de varrimento de frequência efetuados a cada amostra de doce de framboesa.

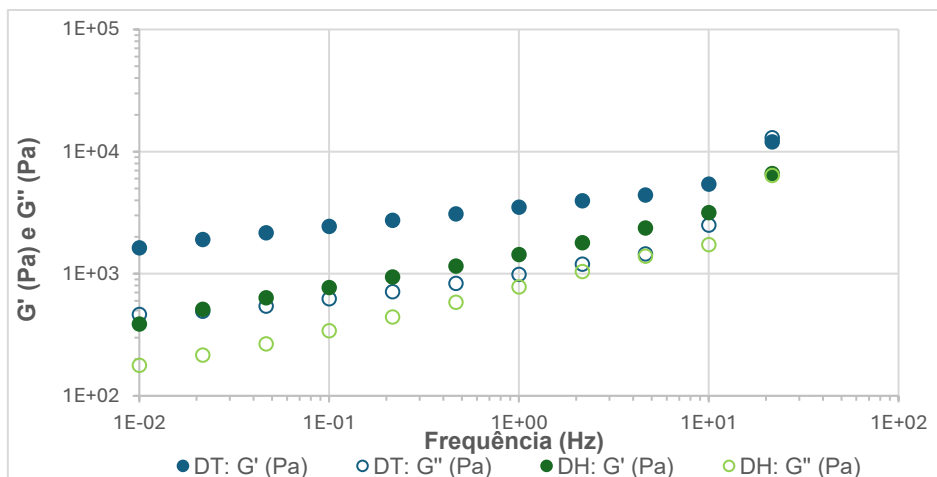


Figura 11 | Espectros mecânicos dos doces em t0, com G' e G'' (Pa) em função de f (Hz).

Observando os espectros mecânicos obtidos, verificou-se que o valor de G' é superior ao de G'' para ambas as amostras de doce, indicando um comportamento reológico predominantemente elástico. No entanto, a diferença entre G' e G'' não ultrapassa uma década em nenhuma das amostras, o que indica que estas não apresentaram estrutura de um gel estruturado. Porém, a amostra DT exibiu valores de G' e G'' mais elevados, bem como, um maior afastamento entre os módulos, sugerindo um maior grau de estruturação, resultando numa estrutura mais firme e resistente em comparação com o DH. Além disso, a maior inclinação da curva de G'' do DH em função da frequência (curva verde-claro) evidenciou uma maior dependência da taxa de deformação à frequência, indicando que a amostra DH possui um comportamento mais viscoso e uma estrutura menos firme e resistente.

Na Tabela 19 encontram-se os valores do módulo *Plateau* das amostras estudadas, que correspondem ao valor de G' obtido para o mínimo valor de $\tan \delta$, e os valores do módulo elástico, G', obtidos na frequência de 1 Hz, permitindo comparar o grau de estruturação interna das amostras (Raymundo *et al.*, 1999).

Tabela 19 | Módulo *Plateau* e de G' a 1 Hz, obtidos dos espectros mecânicos dos doces em t0.

Parâmetro	t0	
	DH ¹	DT ¹
Módulo <i>Plateau</i> (Pa)	636,6 ^a ± 120,2	2169,3 ^b ± 498,3
G' a 1 Hz	1435,7 ^a ± 242,5	3505,7 ^b ± 806,8

¹Resultados expressados como média ± desvio padrão e, em expoente, a letra do teste Tukey (p<0,05).

Os valores do módulo *Plateau* (G_N^0) e de G' a 1 Hz das amostras de doce estão em concordância com os resultados anteriores. A análise estatística confirma que a amostra

DT apresentou valores significativamente superiores ($p < 0,05$) para ambos os parâmetros, indicando maior grau de estruturação interna e uma rede com maior densidade de entrelaçamentos. Essa diferença resulta num maior afastamento entre os módulos viscoso e elástico, refletindo uma estrutura mais rígida e maior estabilidade comparativamente à amostra DH.

4.2.6. Apreciação sensorial

Com o intuito de avaliar a preferência das duas formulações de framboesa em t_0 foi realizada uma prova sensorial. Ao produto DH foi dado o nome de código DF1S e ao produto DT, DF2C. A avaliação foi realizada por um painel de provadores que classificou os doces com base em atributos externos visuais e olfativos (cor, brilho, aroma e consistência) e atributos gustativos (doçura, acidez, sabor e textura), segundo uma escala de 5 pontos (cf. secção 3.2.7.) (Figura 12).

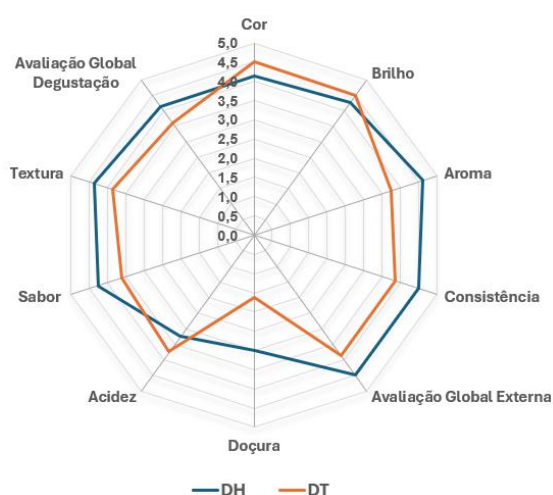


Figura 12 | Classificações médias atribuídas durante a apreciação sensorial dos doces em t_0 .

A apreciação sensorial dos doces de framboesa revelou diferenças significativas nos atributos externos e gustativos avaliados. No que toca à análise visual e olfativa (avaliação externa), os atributos **Cor** e **Brilho** apresentaram níveis de aceitação aproximadamente semelhantes entre os produtos, contudo, o DT exibiu maior atratividade visual, devido ao elevado teor de açúcar, do que DH. Por outro lado, o DH destacou-se nos atributos **Aroma** e **Consistência**, sendo 1,2 vezes mais apreciado que o DT, evidenciado pelo aroma mais intenso de framboesa e maior percepção da estrutura de doce conferida pela LMP. Como resultado, o DH foi 1,2 vezes mais apreciado na avaliação global externa que o DT. Em relação à avaliação gustativa, o DH sobressaiu nos atributos **Doçura**, **Sabor** e **Textura**, sendo, respetivamente, 1,9, 1,2 e 1,1 vezes

mais apreciado do que o DT. Por outro lado, o atributo **Acidez** foi 1,2 vezes mais apreciado no DT do que no DH. Os elevados teores de açúcar do DT resultaram em classificações negativas (1,6 pontos), o que pode ter comprometido a sua aceitação global (externa e gustativa), apresentando uma avaliação global de degustação de 3,6 pontos face aos 4,1 pontos do DH (1,4 vezes mais apreciado que o DT).

Globalmente, e tendo em conta os parâmetros analisados, o DH obteve uma melhor relação entre as apreciações tanto a nível externo como gustativo do produto. Esses resultados traduzem-se igualmente na intenção de compra, 87,5% dos provadores “Compraria” o produto DH e apenas 62,5% indicam a mesma intenção para o DT.

Os comentários recolhidos na ficha de prova dos dois doces de framboesa indicam que a presença de sementes não comprometeu negativamente a textura dos produtos. O doce DH, com reduzido teor de açúcar e pectina LMP, destacou-se como uma alternativa mais saudável sem comprometer a aceitação sensorial e a potencial intenção de compra no mercado.

4.3. Comparação do genótipo ‘id. A’ com o doce hipocalórico de framboesa

Com base nos resultados anteriormente apresentados, o doce hipocalórico (DH), formulado com 2,5% de pectina de baixo metoxilo e 12,7% de açúcar, revelou-se uma alternativa alimentar promissora, capaz de preservar e extrair uma fração significativa de compostos bioativos naturalmente presentes na framboesa, nomeadamente polifenóis, destacando-se pela elevada atividade antioxidante.

O seu perfil bioativo, aliado ao reduzido teor de açúcar, posicionam-o como um produto de valor acrescentado, capaz de proporcionar benefícios fisiológicos semelhantes aos do consumo de framboesa *in natura*, contribuindo para a promoção de hábitos alimentares mais saudáveis e contribuindo para a sustentabilidade da cadeia de valor através do aproveitamento de excedentes e da valorização de frutos fora do padrão estético. Este produto reúne qualidade sensorial, valor nutricional e funcional, além de benefícios ambientais, afirmando-se como uma opção saudável e funcional.

5. Conclusões

Esta dissertação teve como objetivo avaliar o potencial de valorização da framboesa vermelha (*Rubus idaeus* L.), através da caracterização de um novo genótipo resultante de um programa de melhoramento genético ('id. B'), comparando-o com uma cultivar comercial, tomada como referência ('id. A'). Além disso, visou o desenvolvimento de um doce hipocalórico funcional, com ênfase na conservação da bioatividade e bioacessibilidade dos fitoquímicos relevantes.

1. Caracterização e Bioacessibilidade de fitoquímicos de genótipos de framboesa

Os resultados demonstraram diferenças entre os genótipos:

- O genótipo 'id. A' exibiu coloração vermelha mais intensa e melhor adequação para consumo *in natura*, enquanto o 'id. B' revelou tonalidade ligeiramente mais escura e alaranjada, com maior potencial para transformação industrial;
- Ambos os genótipos apresentaram elevados teores de compostos bioativos e forte capacidade antioxidante;
- Nos ensaios de bioacessibilidade, verificou-se que os compostos fenólicos totais exibiram valores elevados (média superior a 180%), traduzindo que a digestão gastrointestinal favoreceu a libertação e potencial absorção destes compostos. Em contraste com as antocianinas, com níveis reduzidos de bioacessibilidade (6 – 9%) fortemente influenciadas pelas condições simuladas gastrointestinais.

2. Produção de doce

O doce hipocalórico funcional, formulado com 2,5% de pectina de baixo metoxilo e 12,7% de açúcar, apresentou:

- Perfil nutricional saudável e “clean label” (redução do teor de açúcar e elevada capacidade antioxidante);
- Boa aceitação sensorial (87,5% de intenção de compra), com textura e sabor agradáveis.

Em síntese, o presente estudo comprova o potencial da framboesa não apenas como fruto de elevado valor nutricional e funcional, mas também como matéria-prima para o desenvolvimento de produtos funcionais e sustentáveis, numa perspetiva de inovação e economia circular.

6. Divulgação

Do presente trabalho, os resultados foram divulgados através da apresentação de comunicações em painel em dois eventos científicos:

- Parreira, R.; Pena, I.; Pereira, N.; Abreu, M.; Moldão-Martins, M.; Ramos, A. C. (2025). *Development of a functional low-calorie jam from non-market Raspberries*. In Livro de Resumos VIII Simpósio “Produção e Transformação de Alimentos em Ambiente Sustentável”. p. 71.
- Parreira, R.; Pereira, N.; Abreu, M.; Moldão-Martins, M.; Luz, F.; Oliveira, P. B.; Ramos, A. C. (2025). *Comparação físico-química e bioativa de genótipos de framboesa: potencial nutracêutico de uma seleção avançada*. In Livro de Resumos VII Colóquio “Nacional de Produção de Pequenos Frutos”. p. 62.

7. Perspetivas futuras

Em continuidade desta dissertação, propõe-se o aprofundamento dos seguintes tópicos:

- **Continuação da análise da bioatividade dos genótipos de framboesa.**
- **Testes com outras formulações industriais.**
Propõe-se, independentemente da riqueza mineral de cálcio das framboesas, explorar a incorporação de fontes de cálcio em formulações de sistemas com LMP, visando melhorar a estrutura do gel, potenciar a retenção de compostos bioativos e reduzir o teor de pectina. Ressalve-se que, no presente trabalho, optou-se por uma formulação mais natural e caseira, sem adição de iões de cálcio (cujas framboesas já são naturalmente ricas) ou outros aditivos.
- **Estudo de novos processos de conservação de doce.**
O estudo da estabilidade microbiológica do doce hipocalórico de framboesa, constatou que, embora estável nos primeiros 15 dias, houve aumento significativo de contagens microbiológicas após 30 dias, especialmente a 25 °C, ainda que dentro de níveis seguros. Considera-se relevante explorar métodos alternativos de conservação (p.ex. HPP) ou uso de conservantes naturais (p.ex. ácidos orgânicos) para prolongar o tempo de prateleira do produto sem comprometer a sua qualidade sensorial e nutricional.

Referências Bibliográficas

- AgroGarante. (2022). Análise Sensorial – Subsetor Framboesa. *Agrogarante*. https://www.agrogarante.pt/fotos/noticias/analise_setorial_framboesa_2128412100622b75b47a62d.pdf (Acedido a 20 de janeiro de 2025).
- Ain, H. B. U., Tufail, T., Javed, M., Tufail, T., Arshad, M. U., Hussain, M., Gull Khan, S., Bashir, S., Al Jbawi, E., & Abdulaali Saewan, S. (2022). Phytochemical profile and pro-healthy properties of berries. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 1714–1720. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2096062>
- Aires, F. D. D. C. (2023). *Contribuição para a avaliação de diferentes génotipos de framboesa (Rubus idaeus L.)* [Tese de mestrado, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora]. Repositório da Universidade de Évora. <http://hdl.handle.net/10174/35237>
- Akbar, E., Yaakob, Z., Kamarudin, S. K., & Salimon, J. (2009). Characteristic and Composition of *Jatropha curcas* Oil Seed from Malaysia and its Potential as Biodiesel Feedstock. *European Journal of Scientific Research*, 29(3), 396–403. <http://www.eurojournals.com/ejsr.htm>
- Akimov, M. Y., Koltsov, V. A., Zhbanova, E. V., & Akimova, O. M. (2021). Nutritional value of promising raspberry varieties. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 640(2). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/2/022078>
- Ali Redha, A., Kodikara, C., & Cozzolino, D. (2024). Does Encapsulation Improve the Bioavailability of Polyphenols in Humans? A Concise Review Based on In Vivo Human Studies. *Nutrients*, 16(21), 1–3. <https://doi.org/10.3390/nu16213625>
- Allegretti, O., Travan, L. & Cividini, R. (2009). Drying techniques to obtain white beech. In Ž. Gorišek (Ed.), *Proceedings of the COST E53 Meeting: Quality control for wood and wood products*, Bled, Slovenia (pp 7–13). <https://hdl.handle.net/20.500.14243/81818>
- Almeida, L. H. (2012). *Qualidade de Morango e Framboesa. Efeito de diferentes práticas culturais, datas de colheita e estabilidade durante conservação sob congelação* [Tese de mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa]. Repositório da Universidade de Lisboa. <http://hdl.handle.net/10400.5/5343>
- Alves, C. Q., David, J. M., David, J. P., Bahia, M. V. & Aguiar, R. M. (2010). Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Química Nova*, 33(10), 2202–2210. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>
- AOAC International. (1920). *AOAC Official Method 920.123. Acidity (Titratable) of fruit products*. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*.
- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73, 239–244. www.elsevier.com/locate/foodchem
- Associação dos Jovens Agricultores de Portugal. (2018). Pensar Global, pela Competitividade, Ambiente e Clima: Manual Competitividade e Mercados para Culturas Emergentes - A Cultura da Framboesa. In *Pensar Global, pela*

- Baenas, N., Nuñez-Gómez, V., Navarro-González, I., Sánchez-Martínez, L., García-Alonso, J., Periago, M. J., & González-Barrio, R. (2020). Raspberry dietary fibre: Chemical properties, functional evaluation and prebiotic in vitro effect. *LWT - Food Science and Technology*, 134, Article 110140. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110140>
- Barba, F. J., Mariutti, L. R. B., Bragagnolo, N., Mercadante, A. Z., Barbosa-Cánovas, G. V., & Orlien, V. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends in Food Science and Technology*, 67, 195–200. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.006>
- Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. F. R. & Santos-Buelga, C. (2012). Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal. *Food Chem. Toxicol.*, 50(5), 1576–1582. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.004>
- Godinho, C. B. G. N. (2021). *Estudo do comportamento reológico de produtos de limpeza e desinfecção* [Tese de mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa]. Repositório da Universidade NOVA de Lisboa. https://run.unl.pt/bitstream/10362/135198/1/Godinho_2021.pdf
- Blanco-Pérez, F., Steigerwald, H., Schülke, S., Vieths, S., Toda, M., & Scheurer, S. (2021). The Dietary Fiber Pectin: Health Benefits and Potential for the Treatment of Allergies by Modulation of Gut Microbiota. *Current Allergy and Asthma Reports*, 21(10). <https://doi.org/10.1007/s11882-021-01020-z>
- Bobinaitė, R., Viškelis, P., & Venskutonis, P. R. (2012). Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Food Chemistry*, 132(3), 1495–1501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.137>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–319. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Çekiç, Ç., & Özgen, M. (2010). Comparison of antioxidant capacity and phytochemical properties of wild and cultivated red raspberries (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Food*

Composition and Analysis, 23(6), 540–544.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.07.002>

- Chan, S. Y., Choo, W. S., Young, D. J., & Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*, 161, 118–139. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.12.033>
- Cheng, B., Feng, H., Li, C., Jia, F., & Zhang, X. (2025). The mutual effect of dietary fiber and polyphenol on gut microbiota: Implications for the metabolic and microbial modulation and associated health benefits. *Carbohydrate Polymers*, 358. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123541>
- Ciurzyńska, A., Szerszeń, J., & Lenart, A. (2016). Pectin - a functional component of diet. *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*, 3(9), 20–21. <http://ijrsset.org/pdfs/v3-i9/3.pdf>
- Confederação dos Agricultores de Portugal. (2024). *Alimental: Anuário do Sector Agroalimentar de Portugal 2024* (1ª Edição). https://www.cap.pt/storage/app/media/2024/Alimental/Alimental%20anuario%20potugal%20interactivo_compressed.pdf
- Correia, M. M. M. B. da C. (2016). *Caracterização química e avaliação da actividade biológica da framboesa (Rubus Idaeus L.): Contribuição para o desenvolvimento de uma alegação de saúde* [Tese de doutoramento, Faculdade Farmácia, Universidade de Lisboa]. Repositório da Universidade de Lisboa. https://repositorio.ulisboa.pt/bitstream/10451/23033/1/ulsd072503_td_Maria_Correia.pdf
- De Ancos, B., Gonzalez, E. M., & Cano, M. P. (2000). Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4565–4570. <https://doi.org/10.1021/jf0001684>
- De Cindio, B., Gabriele, D., & Lupi, F. R. (2015). Pectin: Properties Determination and Uses. *Encyclopedia of Food and Health*, 294–295. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00531-6>
- Devries, J., Camire, M. E., Cho, S., & Craig, S. A. S. (2001). The Definition of Dietary Fiber. *Cereal Foods World*, 46(3), 112–129.
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255–256. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>
- Di Santo, M. C., D' Antoni, C. L., Domínguez Rubio, A. P., Alaimo, A., & Pérez, O. E. (2021). Chitosan-tripolyphosphate nanoparticles designed to encapsulate polyphenolic compounds for biomedical and pharmaceutical applications – A review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 142, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111970>
- Diaconeasa, Z., Iuhas, C. I., Ayvaz, H., Rugină, D., Stanilă, A., Dulf, F., Bunea, A., Socaci, S. A., Socaciu, C., & Pinteau, A. (2019). Phytochemical characterization of commercial processed blueberry, blackberry, blackcurrant, cranberry, and raspberry

- and their antioxidant activity. *Antioxidants*, 8(11).
<https://doi.org/10.3390/antiox8110540>
- Diaconeasa, Z., Ranga, F., Rugină, D., Leopold, L., Pop, O., Vodnar, D., Cuibus, L., & Socaciu, C. (2015). Phenolic Content and Their Antioxidant Activity in Various Berries Cultivated in Romania. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, 72(1).
<https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:11127>
- European Committee for Standardization. (2003). *EN 14130:2003. Determination of vitamin C by HPLC*.
- FAOSTAT. (2024). *Crops and livestock products*.
<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Acedido a 20 de janeiro de 2025).
- Ferreira, M. D. & Spricigo, P. C. (2017). Colorimetria: Princípios e aplicações na agricultura. *Instrumentação Pós-colheita em frutas e hortaliças*, Embrapa Instrumentação, São Carlos, 209–220.
- Fotirić Akšić, M., Nešović, M., Ćirić, I., Tešić, Ž., Pezo, L., Tosti, T., Gašić, U., Dojčinović, B., Lončar, B., & Meland, M. (2022). Chemical Fruit Profiles of Different Raspberry Cultivars Grown in Specific Norwegian Agroclimatic Conditions. *Horticulturae*, 8(9).
<https://doi.org/10.3390/horticulturae8090765>
- Fu, K., Wang, H., Pan, T., Cai, Z., Yang, Z., Liu, D., & Wang, W. (2024). Gel-forming polysaccharides of traditional gel-like foods: Sources, structure, gelling mechanism, and advanced applications. *Food Research International*, 198, 1–2.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115329>
- GPP. (2022). *Framboesa: Ficha de Produto Estratégica*.
https://www.gpp.pt/images/globalagrimar/estrategias/Framboesa_FichProdEstrat.pdf (Acedido a 20 de janeiro de 2025).
- GPP. (2024). *Produtos agrícolas e alimentares – Framboesa*.
<https://www.gpp.pt/index.php/produtos/produtos>. (Acedido a 22 de janeiro de 2025).
- Guergoletto, K. B., Costabile, A., Flores, G., Garcia, S., & Gibson, G. R. (2016). In vitro fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. *Food Chemistry*, 196, 251–252. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.048>
- Han, W., Meng, Y., Hu, C., Dong, G., Qu, Y., Deng, H., & Guo, Y. (2017). Mathematical model of Ca²⁺ concentration, pH, pectin concentration and soluble solids (sucrose) on the gelation of low methoxyl pectin. *Food Hydrocolloids*, 66, 37–48.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.011>
- INSA. (2017). *Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração*.
https://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/01/Valores_Guia_Qualid_Microb_Alím.pdf (Acedido a 2 de setembro de 2025).

- INSA. (2023). *Disponível nova versão da Tabela de Composição de Alimentos*. <https://www.insa.min-saude.pt/disponivel-nova-versao-da-tabela-de-composicao-de-alimentos/> (Acedido a 5 de janeiro de 2024).
- Instituto Português da Qualidade. (1994). *NP 875:1994. Alimentos para animais. Determinação do teor de humidade*.
- Instituto Português da Qualidade. (1977). *NP 1421:1977. Géneros alimentícios derivados de frutos e de produtos hortícolas. Determinação da acidez*.
- International Organization for Standardization (2008). *ISO 21527-1:2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds – Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95*.
- International Organization for Standardization. (2013). *ISO 4833-1:2013. Microbiology of the food chain. Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique*.
- International Organization for Standardization. (2016). *ISO 13299:2016 – Sensory analysis. Methodology – General guidance for establishing a sensory profile*.
- Isreb, M., Chalkia, M., Gough, T., Forbes, R. T., & Timmins, P. (2022). A Combined Rheological and Thermomechanical Analysis Approach for the Assessment of Pharmaceutical Polymer Blends. *Polymers*, 14(17). <https://doi.org/10.3390/polym14173527>
- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556–565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.013>
- Jardim Botânico da UTAD. *Rubus idaeus L.* https://jb.utad.pt/especie/Rubus_idaeus (Acedido a 19 de janeiro de 2025).
- Joyner, H. S. (2019) *Rheology of Semisolid Foods*. 1ª Edição. Estados Unidos da América: Springer - Cham. <https://pt.scribd.com/document/785564158/Rheology-of-Semisolid-Foods-Helen-S-Joyner-Z-Library>
- Kastner, H., Einhorn-Stoll, U., & Senge, B. (2012). Structure formation in sugar containing pectin gels - Influence of Ca²⁺ on the gelation of low-methoxylated pectin at acidic pH. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 42–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.09.001>
- Kula, M., Majdan, M., Glód, D., & Krauze-Baranowska, M. (2016). Phenolic composition of fruits from different cultivars of red and black raspberries grown in Poland. *Journal of Food Composition and Analysis*, 52, 74–75. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.08.003>
- Laborde, M. B., & Pagano, A. M. (2022). Analysis and numerical simulation of the sterilization of low-calorie grape jam. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220200584>
- Lafarga, T., Aguiló-Aguayo, I., Bobo, G., Chung, A. V., & Tiwari, B. K. (2018). Effect of storage on total phenolics, antioxidant capacity, and physicochemical properties of

- blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) jam. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(7). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13666>
- Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E., Barnes, K. W., Eisele, T., Giusti, M. M., Haché, J., Hofsommer, H., Koswig, S., Krueger, D. A., Kupina, S., Martin, S. K., Martinsen, B. K., Miller, T. C., Paquette, F., Ryabkova, A., Skrede, G., Trenn, U., & Wightman, J. D. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88(5).
- Leitão, I., Sales, J., Martins, L. L., & Mourato, M. P. (2021). Response to stress induced by different potentially toxic elements (As, Cd, Cu and Na) in rapeseed leaves. *Plant Physiology Reports*, 26(3), 478–490. <https://doi.org/10.1007/s40502-021-00601-4>
- Liu, Z., Wu, H., Holland, B., Barrow, C. J., & Suleria, H. A. R. (2024). An Optimization of the Extraction of Phenolic Compounds from Grape Marc: A Comparison between Conventional and Ultrasound-Assisted Methods. *Chemosensors*, 12(9), 177. <https://doi.org/10.3390/chemosensors12090177>
- Mahmutović, L., Sezer, A., Bilajac, E., Hromić-Jahjefendić, A., Uversky, V. N., & Glamočlija, U. (2024). Polyphenol stability and bioavailability in cell culture medium: Challenges, limitations and future directions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 279. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135232>
- Martins, A. M. B. (2015). *Efeito do atraso do arrefecimento na qualidade de frutos de morango e framboesa* [Tese de mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve]. Repositório Científico da Universidade do Algarve. <https://sapientia.ualg.pt/entities/publication/1a0491ea-ff1e-4e1c-84dc-3a067c7200cb>
- Mazur, S. P., Nes, A., Wold, A. B., Remberg, S. F., & Aaby, K. (2014). Quality and chemical composition of ten red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes during three harvest seasons. *Food Chemistry*, 160, 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.174>
- Mercado-Mercado, G., de la Rosa, L. A., & Alvarez-Parrilla, E. (2020). Effect of pectin on the interactions among phenolic compounds determined by antioxidant capacity. *Journal of Molecular Structure*, 1199, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.126967>
- Mullen, W., McGinn, J., Lean, M. E. J., MacLean, M. R., Gardner, P., Duthie, G. G., Yokota, T., & Crozier, A. (2002). Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5191–5196. <https://doi.org/10.1021/jf020140n>
- Nevara, G. A., Muhammad, S. K. S., Zawawi, N., Mustapha, N. A., & Karim, R. (2021). Dietary fiber: Fractionation, Characterization and Potential Sources from Defatted Oilseeds. *Foods*, 10(4), 1–4. <https://doi.org/10.3390/foods10040754>

- Norziah, M. H., Kong, S. S., Karim, A. A., & Seow, C. C. (2001). Pectin-sucrose-Ca²⁺ interactions: effects on rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 15, 491–498. www.elsevier.com/locate/foodhyd
- Novo, H. I. (2023). *Estudo de algumas características em melhoramento de framboesa: resistência à ferrugem tardia, precocidade e cor do fruto* [Tese de mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa]. Repositório da Universidade de Lisboa. <http://hdl.handle.net/10400.5/30977>
- Oliveira, P. B. (2021). *Manual de Boas Práticas de Fruticultura - Framboesa* (7.º fascículo, n.º 215). Revista *Frutas, Legumes e Flores*, em parceria com INIAV, I.P. (Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade) e COTR. https://www.iniaiv.pt/images/publicacoes/livros-manuais/FLF_215_manual_de_fruticultura_framboesa.pdf
- Oliveira, P. B., Valdivieso, T., Esteves, A., Mota, M., & Fonseca, L. (2007). *A Planta de Framboesa - Morfologia e Fisiologia* (Folhas de Divulgação AGRO 556, n.º 1). In *Projecto PO AGRO DE&D n.º 556 – Diversificação da produção frutícola com novas espécies e tecnologias que assegurem a qualidade agro-alimentar*. INIAV. <https://iniaiv.pt/divulgacao/publicacoes-bd/a-planta-de-framboesa-morfologia-e-fisiologia>
- Ötles, S., & Ozgoz, S. (2014). Health effects of dietary fiber. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, 13(2), 191–202. www.food.actapol.net/
- Our World in Data. (2023). *Global Food Data Explorer: Production of raspberries, 2023*. https://ourworldindata.org/explorers/global-food?tab=table&time=2023&country=OWID_WRL~PRT&Food=Raspberries&Metric=Production&Per+capita=false (Acedido a 22 de janeiro de 2025).
- Ozyurt, V. H., & Ötles, S. (2016). Effect of food processing on the physicochemical properties of dietary fibre. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 15(3), 233–235. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2016.3.23>
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2011). The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *Journal of Food Science*, 76(1), 6–8. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x>
- Papanov, S. I., Petkova, E. G., Ivanov, I. G., Ivanova, S. D., & Popov, D. I. (2019). Analysis of the changes in the main characteristics and antioxidant properties in raspberries of “Rubin” variety depending on the altitude. *Bulgarian Chemical Communications*, 51(3), 428–432. <https://doi.org/10.34049/bcc.51.3.5033>
- Prisacaru, A. E., Ghinea, C., Albu, E., & Pădureț, S. (2025). Storage Impact on the Physicochemical and Microbiological Stability of Apricot, Cherry, Raspberry, and Strawberry Jams. *Foods*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/foods14101695>
- Rao, A. V., & Snyder, D. M. (2010). Raspberries and Human Health: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3871–3873. <https://doi.org/10.1021/jf903484g>

- Raymundo, A., Franco, J. M., Partal, P., Sousa, I. e Gallegos, C. (1999) Effect of the lupin protein/surfactant ratio on linear viscoelastic properties of oil-in-water emulsions, *Journal of Surfactants and Detergents*, 2(4), pp. 545–551. <https://doi.org/10.1007/s11743-999-0104-5>
- Ribeiro de Castro, F. D. (2013). *Desenvolvimento de uma Metodologia para a Segurança Alimentar e Preservação das Propriedades Funcionais na Desidratação da Maçã Golden Delicious* [Tese de mestrado, Escola de Engenharia, Universidade do Minho]. <https://doi.org/https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/35370/1/Filipa%20Daniela%20Ribeiro%20de%20Castro.pdf#:~:text=O%20conte%C3%BAdo%20de%20%C3%A1gua%20residual%20das%20frutas,t%C3%A9cnica%20de%20secagem%20que%20seja%20eficazmente%20aplic%C3%A1vel>
- Rumpf, J., Burger, R., & Schulze, M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470>
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287–306. <https://doi.org/10.1080/1040869059096>
- Shahidi, F., & Pan, Y. (2021). Influence of food matrix and food processing on the chemical interaction and bioaccessibility of dietary phytochemicals: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(4), 6421–6445. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1901650>
- Sharma, V., Devkota, L., Kishore, N., & Dhital, S. (2025). Understanding the interplay between dietary fiber, polyphenols, and digestive enzymes. *Food Hydrocolloids*, 166. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111310>
- Shinwari, K. J., & Rao, P. S. (2018). Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 75, 181–193. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.002>
- Shinwari, K. J., & Rao, P. S. (2020). Rheological and physico-chemical properties of a reduced-sugar sapodilla (*Manilkara zapota* L.) jam processed under high-hydrostatic pressure. *Journal of Food Process Engineering*, 43(6). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13388>
- Sousa, M. B., Curado, T., Negrão e Vasconcellos, & Trigo, M. J. (2007). *Framboesa - Qualidade pós-colheita* (Folhas de Divulgação AGRO nº 556, n.º 6). In *Projecto PO AGRO DE&D nº556 – Diversificação da produção frutícola com novas espécies e tecnologias que assegurem a qualidade agro-alimentar*. Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal. https://www.inia.pt/images/publicacoes/livros-manuais/framboesa_qualidade_pos_colheita.pdf
- Sousa, C. M. D. M. et al. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, 30(2), 351–355. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>

- StatSoft. (2007). Inc. STATISTICA (Data Analysis Software System), Version 8.0.
- Swain, T., & Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1), 63–68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Thermo Fisher Scientific. (2024). *Application Leaflet: Rheology in a nutshell - Part 2*. https://www.elementis.com/fileadmin/user_upload/ELEMENTIS_RHEOLATE_ROTATIONAL_LEAFLET.pdf (Acedido a 14 de junho de 2025).
- Tomas, M. (2022). Effect of dietary fiber addition on the content and in vitro bioaccessibility of antioxidants in red raspberry puree. *Food Chemistry*, 375, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131897>
- Tosun, M., Ercisli, S., Karlidag, H., & Sengul, M. (2009). Characterization of Red Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Genotypes for Their Physicochemical Properties. *Journal of Food Science*, 74(7), 575–576. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01297.x>
- Troller, J. A., & Christian, J. H. B. (1978). *Water activity and food*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-700650-5.X5001-X>
- União Europeia. (2001). *Diretiva 2001/113/CE do Conselho, de 20 de dezembro de 2001, relativa aos doces e geleias de frutos, citrinadas e creme de castanha destinados à alimentação humana*. Jornal Oficial das Comunidades Europeias.
- União Europeia. (2012). *Regulamento (UE) n.º 432/2012 da Comissão, de 16 de maio de 2012, que estabelece uma lista de alegações de saúde permitidas relativas a alimentos que não referem a redução de um risco de doença ou o desenvolvimento e a saúde das crianças*. Jornal Oficial da União Europeia.
- Vara, A. L. C. (2020). *Framboesa vermelha (Rubus idaeus L.): composição química e nutricional e propriedades bioativas* [Tese de mestrado, Instituto Politécnico de Bragança]. Repositório da Biblioteca Digital do Instituto Politécnico de Bragança. https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/23270/1/Vara_Ana%20Lu%C3%ADsa.pdf
- Wang, S. Y., Chen, C. T., & Wang, C. Y. (2009). The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries. *Food Chemistry*, 112(3), 676–677. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.032>
- Weber, C. A., Perkins-Veazie, P., Moore, P. P., & Howard, L. (2008). Variability of antioxidant content in raspberry germplasm. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 777, 493–498. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.777.75>
- Yang, X., Yuan, K., Descallar, F. B. A., Li, A., Yang, X., & Yang, H. (2022). Gelation behaviors of some special plant-sourced pectins: A review inspired by examples

from traditional gel foods in China. *Trends in Food Science and Technology*, 126, 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.012>

Yang, Z., Zhang, Y., Jin, G., Lei, D., & Liu, Y. (2024). Insights into the impact of modification methods on the structural characteristics and health functions of pectin: A comprehensive review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 261, 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129851>

Zerbinati, N., Capillo, M. C., Sommatìs, S., Maccario, C., Alonci, G., Rauso, R., Galadari, H., Guida, S., & Mocchi, R. (2022). Rheological Investigation as Tool to Assess Physicochemical Stability of a Hyaluronic Acid Dermal Filler Cross-Linked with Polyethylene Glycol Diglycidyl Ether and Containing Calcium Hydroxyapatite, Glycine and L-Proline. *Gels*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/gels8050264>

Zhang, X., Ahuja, J. K. C., & Burton-Freeman, B. M. (2019). Characterization of the nutrient profile of processed red raspberries for use in nutrition labeling and promoting healthy food choices. *Nutrition and Healthy Aging*, 5(3), 225–236. <https://doi.org/10.3233/NHA-190072>

Anexos

Anexo I: Retas de calibração da atividade antioxidante por espectrofotometria dos métodos DPPH e FRAP e do método CFT.

Nas figuras seguintes (Figuras 13 a 20) encontram-se as retas de calibração utilizadas para a determinação da atividade antioxidante por espectrofotometria dos métodos DPPH e FRAP e do método CFT para os genótipos de framboesa ('id. A' e 'id. B') e para os doces de framboesa (DH e DT).

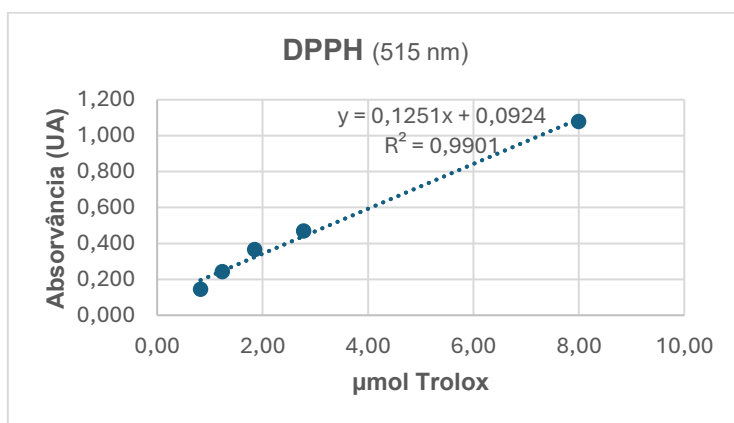


Figura 13 | Reta de calibração da AOx pelo método DPPH para a caracterização de 'id. A' e 'id. B'.

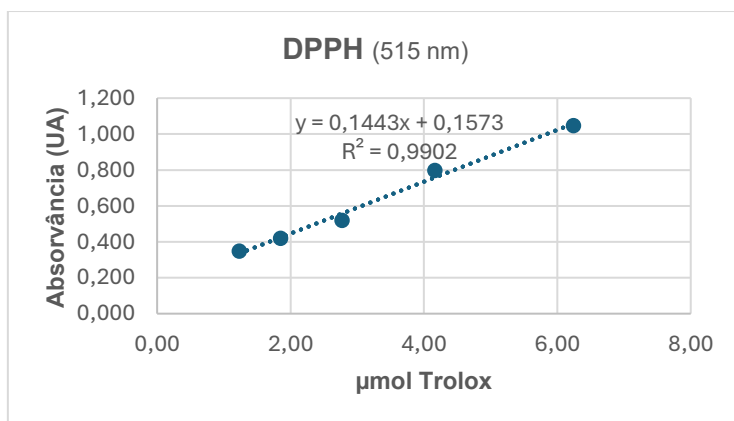


Figura 14 | Reta de calibração da AOx pelo método DPPH para o ensaio de bioacessibilidade dos frutos 'id. A' e 'id. B'.

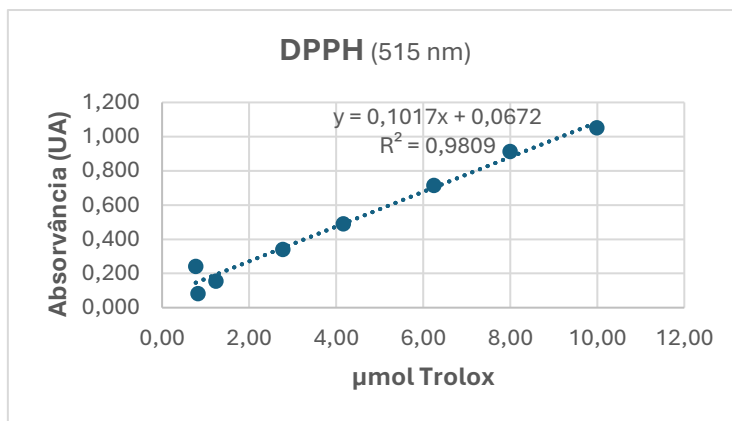


Figura 15 | Reta de calibração da AOX pelo método DPPH para a caracterização dos doces de framboesa em t₀.

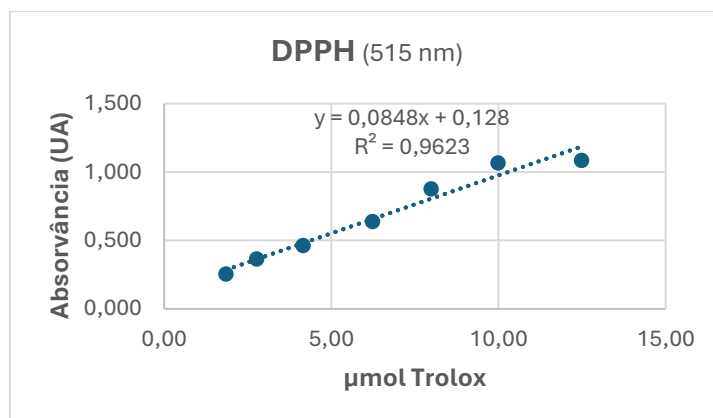


Figura 16 | Reta de calibração da AOX pelo método DPPH para o ensaio de bioacessibilidade dos doces de framboesa em t₀.

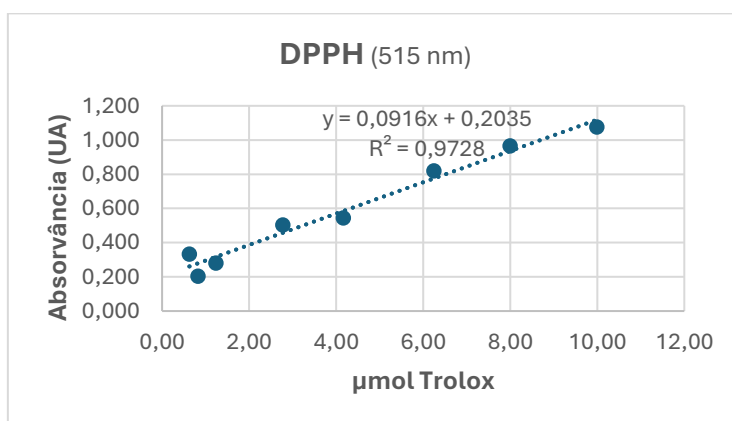


Figura 17 | Reta de calibração da AOX pelo método DPPH para a caracterização do DH em t₁₅ sob diferentes condições de temperatura.

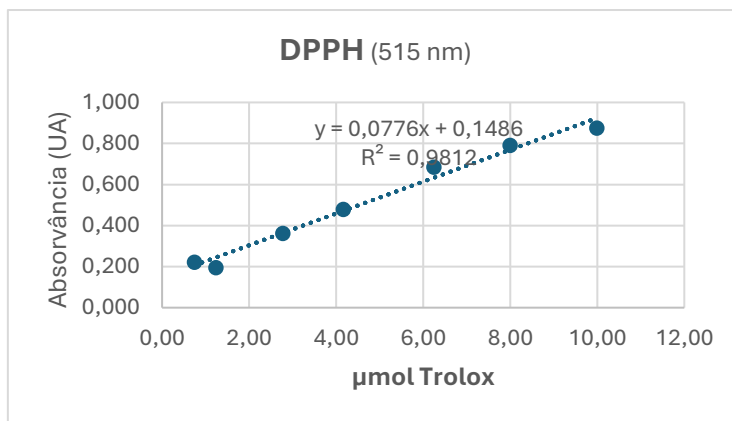


Figura 18 | Retas de calibração da AOX pelo método DPPH para a caracterização do DH em t30 sob diferentes condições de temperatura.

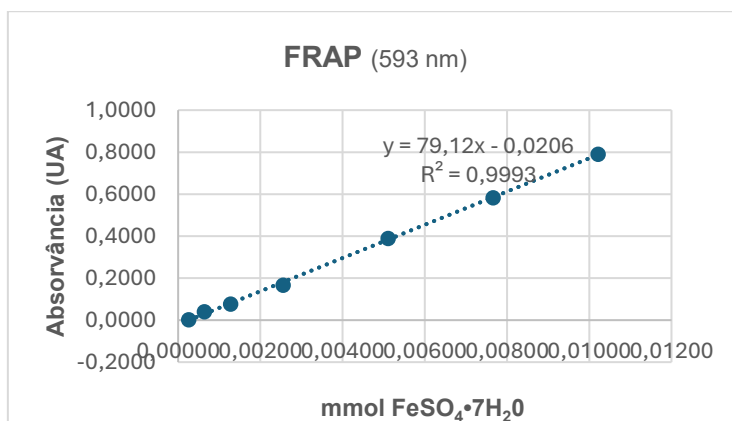


Figura 19 | Retas de calibração da AOX pelo método FRAP.

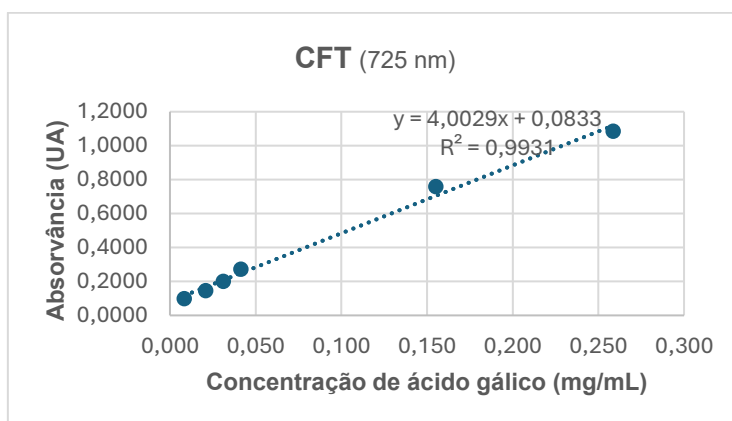


Figura 20 | Retas de calibração de CFT.

Anexo II: Retas de calibração do perfil fenólico e do ácido ascórbico por HPLC

Nas figuras 21 e 25 encontram-se representadas as retas de calibração para a determinação do perfil fenólico dos genótipos e dos doces de framboesa e a reta de calibração para a determinação do ácido ascórbico dos genótipos de framboesa por cromatografia líquida de alta eficiência, pelo método HPLC.

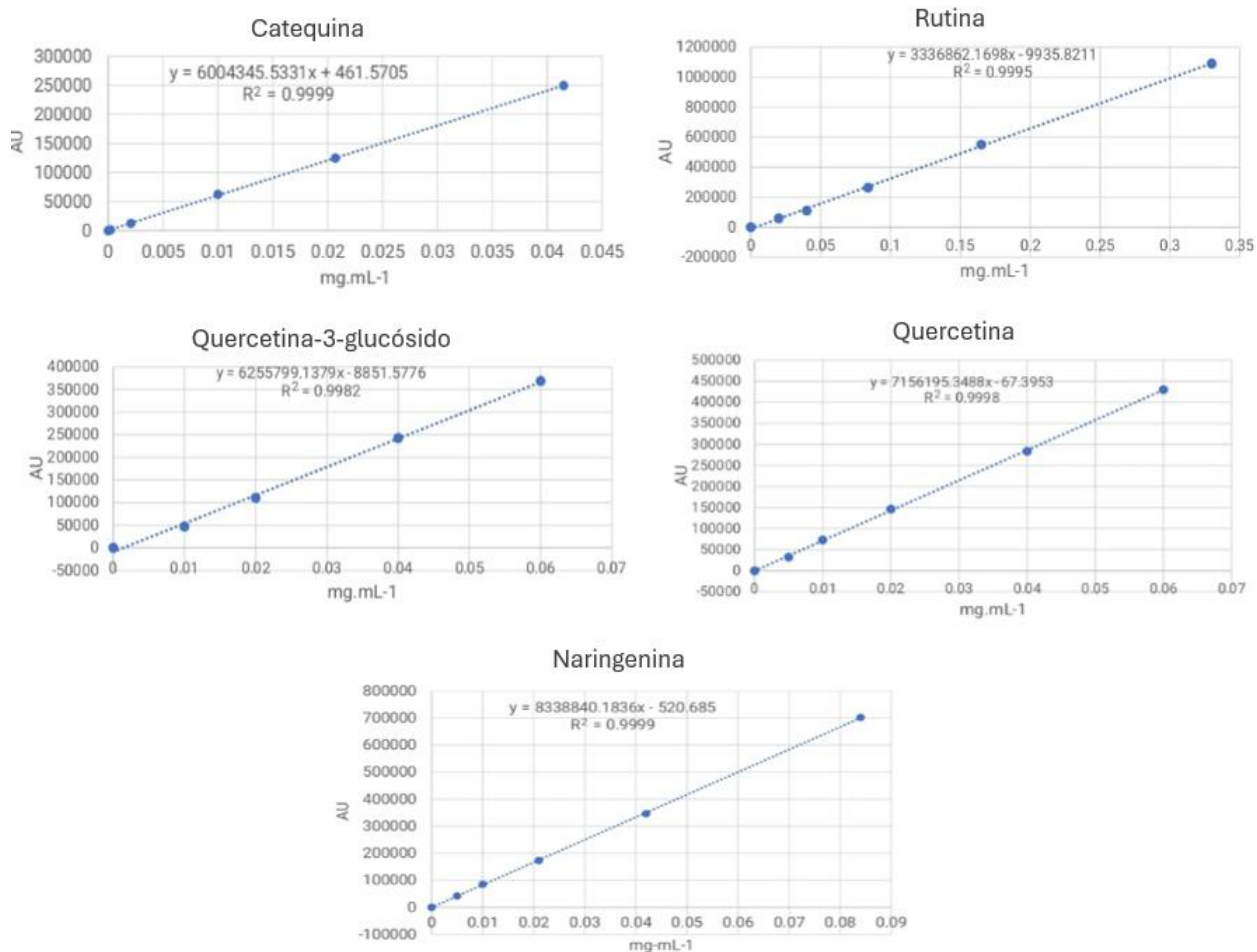


Figura 21 | Retas de calibração do perfil fenólico para os flavonoides (catequina, rutina, quercetina-3-glucósido, quercetina e naringenina) detetados por HPLC.

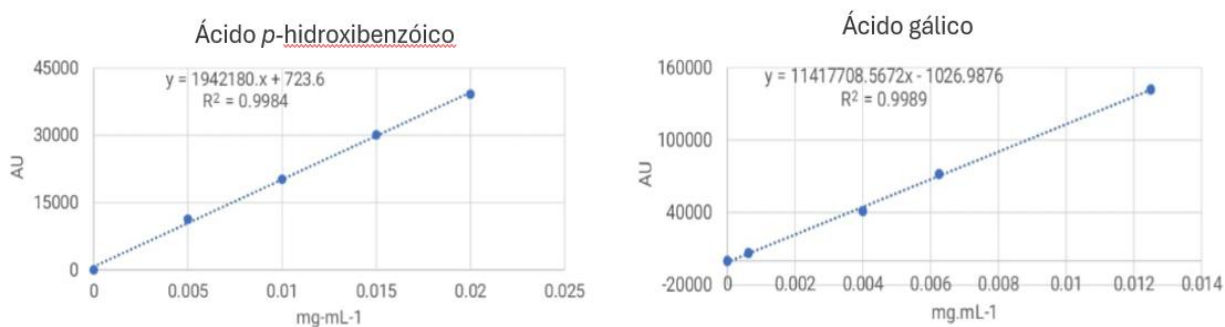


Figura 22 | Retas de calibração do perfil fenólico para os ácidos fenólicos hidroxibenzoicos (ácidos *p*-hidroxibenzoico e gálico) detetados por HPLC.

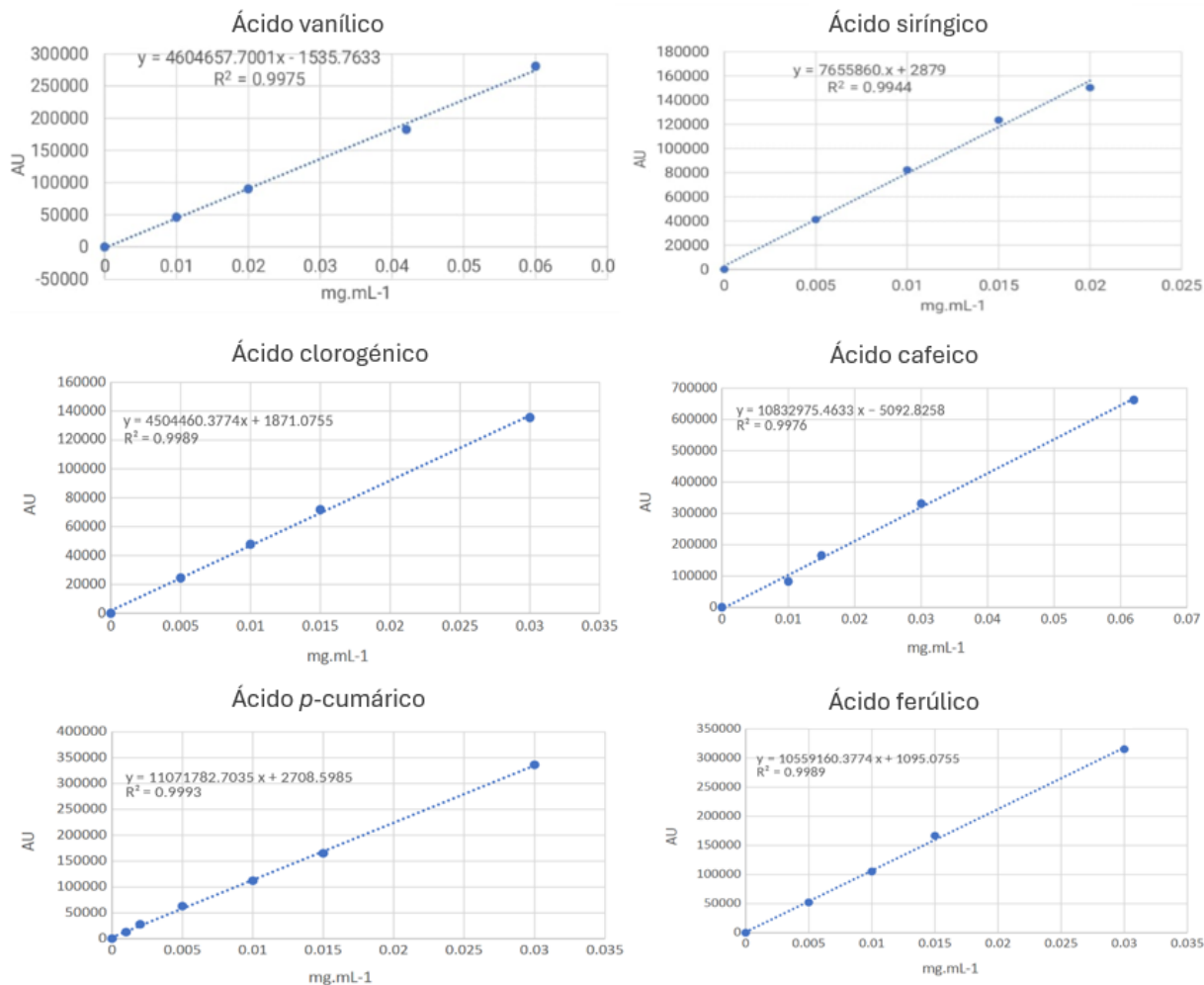


Figura 23 | Retas de calibração do perfil fenólico para os ácidos fenólicos hidroxicinâmicos (ácidos vanílico, siríngico, clorogénico, cafeico, *p*-cumárico e ferúlico) detetados por HPLC.

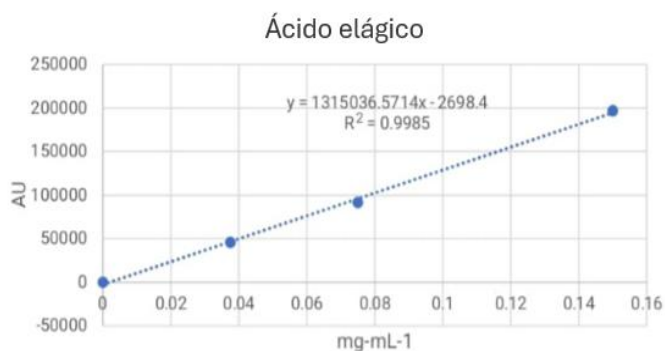


Figura 24 | Retas de calibração do perfil fenólico para os taninos (ácido elágico) detetados por HPLC.

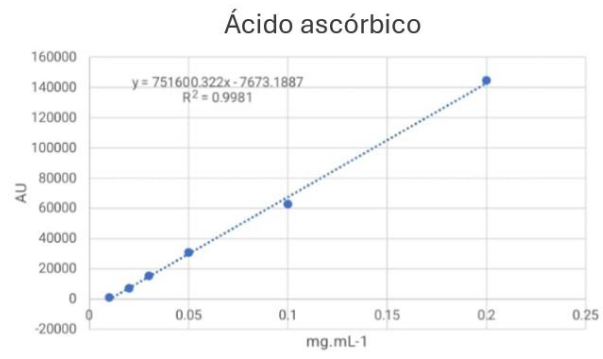


Figura 25 | Reta de calibração do ácido ascórbico determinado por HPLC.

Anexo III: Preparação das soluções *stock* e soluções enzimáticas do processo digestivo

As soluções de fluidos de digestão simulados utilizadas para cada fase oral (SSF, pH 7), gástrica (SGF, pH 3) e intestinal (SIF, pH 7), em concentração *stock* de 1,25x, foram preparadas a partir de soluções-mãe de eletrólitos, sendo completadas com água destilada (Tabela 20).

Tabela 20 | Volumes das soluções-mãe de eletrólitos utilizados para preparação dos reagentes SSF, SGF e SIF (1,25x). Adaptado de Brodkorb et al. (2019).

Soluções-mãe de eletrólitos	Concentração <i>stock</i>	SSF (pH 7)	SGF (pH 3)	SIF (pH 7)
		Volume <i>stock</i> para preparar 0,8 L (1,25x)	Volume <i>stock</i> para preparar 1,6 L (1,25x)	Volume <i>stock</i> para preparar 1,6 L (1,25x)
	(M)	(mL)	(mL)	(mL)
KCl	0,5	30,2	27,6	27,2
KH ₂ PO ₄	0,5	7,4	3,6	3,2
NaHCO ₃	1	13,6	50	170
NaCl	2	–	47,2	38,4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0,15	1,0	1,6	2,8
(NH ₄) ₂ CO ₃	0,5	0,12	2,0	4,4
HCl	1	0,18	5,2	2,8
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0,3	0,025	0,005	0,04

As soluções enzimáticas foram preparadas com as seguintes concentrações finais: lisozima (100 U/mL), pepsina (2000 U/mL), pancreatina (100 U/mL), sais biliares (10 mM), conforme indicado na Tabela 21, sendo dissolvidas em água destilada.

Tabela 21 | Quantidades necessárias das soluções enzimáticas utilizadas nas diversas fases do processo digestivo. Adaptado de Brodkorb et al. (2019).

Soluções enzimáticas	Quantidade (g)	Balão volumétrico (mL)
Lisozima (100 U/mL)	0,0005	200
Pepsina (2000 U/mL)	0,0748	20
Sais biliares (10 mM)	0,4086	100
Pancreatina (100 U/mL)	2,7027	150

Anexo IV: Ficha de prova aplicada na apreciação sensorial dos doces de framboesa

Prova de avaliação de doces de framboesa

Caro provador,

Hoje, dia 29/04/2025, realiza-se a seguinte prova de apreciação sensorial, inserida no âmbito de uma dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. Solicitamos que não partilhe as suas opiniões com outros provadores até que todos tenham concluído e submetido a sua avaliação, a fim de garantir a imparcialidade dos resultados.

Durante a sessão, irá provar duas amostras de doce de framboesa.

* Obrigatório

Apreciação Sensorial de Doces de Framboesa

Receberá duas amostras identificadas com os códigos **DF1S** e **DF2C**. Verifique o código da amostra no topo da folha de prova e, de seguida, avalie cada atributo sensorial utilizando a escala fornecida.

Avaliação da Amostra DF1S

1. Avaliação Externa (análise visual e olfativa) *

Assinale apenas uma opção por linha.

Atributo	1 Desgostei extremamente	2 Desgostei	3 Indiferente	4 Gostei	5 Gostei extremamente
Cor					
Brilho					
Aroma					
Consistência					
Avaliação global					

2. Degustação *

Assinale apenas uma opção por linha.

Atributo	1 Desgostei extremamente	2 Desgostei	3 Indiferente	4 Gostei	5 Gostei extremamente
Doçura					
Acidez					
Sabor					
Textura					
Avaliação global					

Avaliação da Amostra DF2C

3. Avaliação Externa (análise visual e olfativa) *

Assinale apenas uma opção por linha.

Atributo	1 Desgostei extremamente	2 Desgostei	3 Indiferente	4 Gostei	5 Gostei extremamente
Cor					
Brilho					
Aroma					
Consistência					
Avaliação global					

4. Degustação *

Assinale apenas uma opção por linha.

Atributo	1 Desgostei extremamente	2 Desgostei	3 Indiferente	4 Gostei	5 Gostei extremamente
Doçura					
Acidez					
Sabor					
Textura					
Avaliação global					

Apreciação Sensorial de Doces de framboesa

5. Apreciação Global Comparativa *

Indique a sua preferência entre as duas amostras provadas e classifique-as conforme o seu gosto. Assinale apenas uma opção por linha.

Amostra	Gostei menos	Gostei mais/menos	Gostei	Gostei mais
DF1S				
DF2C				

6. Observações: Atendendo à sua classificação (gostei mais/gostei menos) na pergunta anterior, justifique brevemente a sua escolha.

7. Intenção de compra *

Assinale apenas uma opção por linha.

Amostra	Compraria	Não compraria
DF1S		
DF2C		

Agradecemos a sua participação!