



Licenciatura em Ciências da Nutrição

MEMÓRIA FINAL DE CURSO

Elaborado por Sofia Alexandra Duarte Miranda

Aluno n° 200992062

Orientadora interna: Professora Doutora Cátia Ramalhete

Orientadoras externas: Doutora Maria do Carmo Relvas e Professora Doutora Maria
Margarida Gonçalves

Barcarena

Fevereiro de 2014

Universidade Atlântica

Licenciatura em Ciências da Nutrição

MEMÓRIA FINAL DE CURSO

Elaborado por Sofia Alexandra Duarte Miranda

Aluno nº 200992062

Orientadora interna: Professora Doutora Cátia Ramalhete

Orientadoras externas: Doutora Maria do Carmo Relvas e Professora Doutora Maria
Margarida Gonçalves

Barcarena

Fevereiro de 2014

O autor é o único responsável pelas ideias expressas neste relatório.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus pais, pois sem eles nunca teria tido a oportunidade de realizar a Licenciatura de Ciências da Nutrição. Agradeço por toda a ajuda, incentivo, carinho e paciência, sendo a eles que dedico todo o meu percurso académico.

Faço um agradecimento especial à Professora Doutora Cátia Ramalhete, por toda a simpatia, todo o apoio prestado, pela disponibilidade, pela constante motivação e pela partilha de conhecimentos nesta fase crucial da vida académica.

Agradeço à Câmara Municipal da Amadora e a Faculdade de Ciência e Tecnologia pela possibilidade de realização de um estágio, onde não só obtive experiência profissional, como também pude desenvolver e adquirir novos conhecimentos.

Agradeço igualmente à Doutora Maria do Carmo Relvas pela ajuda, incentivo e boa disposição que sempre demonstrou, proporcionando a realização de um estágio com um balanço muito positivo.

Também não posso deixar de agradecer aos funcionários do Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural pelo bom acolhimento e simpatia.

Agradeço à Professora Doutora Maria Margarida Gonçalves pelo acompanhamento, pela ajuda prestada e pela transmissão de conhecimentos.

Agradeço à Dona Rita pela constante assistência e apoio laboratorial.

Agradeço ao Mestre João Jesus pela companhia e diversão em laboratório, pela ajuda e incentivo prestado.

Não posso também deixar de agradecer ao Professor Doutor Paulo Figueiredo, que me proporcionou a oportunidade de estagiar na Faculdade de Ciência e Tecnologia, por toda a sua sabedoria e disponibilidade.

À Doutora Vanda agradeço por toda a simpatia e humanismo que sempre demonstrou, e pela forma dedicada e incansável com que tratou dos estágios.

À família da UATLA, a minha segunda família: Diana Carriça, Rita Garcia e Fernanda Sanches, agradeço de coração por todos os momentos inesquecíveis que passámos, pela vossa verdadeira amizade e pelo vosso apoio constante ao longo deste percurso.

Agradeço por fim à Margarida, por estar sempre ao meu lado, nos bons e maus momentos, por me dar força para ultrapassar os obstáculos, através da sua amizade, companhia, e também paciência.

RESUMO

Esta Memória Final de Curso tem como objetivo relatar as atividades desenvolvidas no âmbito do Estágio Profissionalizante I e II, estando organizada cronologicamente, por locais e atividades de estágio. Inicialmente faz-se uma descrição das instituições onde decorreu o estágio, seguida da enumeração e breve explicação das atividades desenvolvidas.

O Estágio Profissionalizante I foi realizado na Câmara Municipal da Amadora, nomeadamente no Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família. As atividades desenvolvidas decorreram no âmbito de iniciativas de promoção de hábitos de alimentação saudável de que é exemplo o “Projeto de Intervenção Para uma Alimentação Saudável – PIPAS”. Deste modo, foram realizadas ações de sensibilização aos alunos do pré-escolar e aos alunos do 4º ano do ensino básico, dinamização das mascotes, realização do jogo da glória dos alimentos e monitorização de refeições nos refeitórios, assim como a auditoria de cantinas escolares.

Outra iniciativa, onde esteve inserido o Estágio Profissionalizante I, foi o “Projeto Cozinha Saudável e Escolhas em Conta – Encontro de Pais e Filhos”, tendo sido realizadas, para o efeito, duas sessões com o tema “A importância das cores numa alimentação variada” e “A tradição e a alimentação saudável”. De igual modo, também decorreram atividades no âmbito do “Projeto de Avaliação Antropométrica dos alunos do 1.º ciclo do município da Amadora”.

O Estágio Profissionalizante II foi realizado na Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa – Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa. As ações desenvolvidas inseriram-se no âmbito do projeto de investigação com o tema “Caraterização nutricional e funcional de 3 variedades portuguesas de figo de piteira”. Os dados obtidos foram utilizados para a realização do artigo científico final de Licenciatura.

Inicialmente foi realizada uma análise morfológica que consistiu na determinação do peso, comprimento e largura, e na determinação da proporção entre pele, polpa e sementes de cada variedade de figo de piteira. Posteriormente, realizou-se a sua

caraterização nutricional, através da determinação do teor de humidade, teor de cinzas, proteína bruta, gordura bruta, fibra bruta total e teor de fósforo total. Em seguida, efetuou-se o fracionamento das amostras de forma a proceder à caracterização funcional, que consistiu na determinação do teor de carotenoides, teor de betalaínas, teor de compostos fenólicos totais e na determinação da atividade antioxidante através do ensaio da capacidade de sequestração do radical DPPH e o ensaio FRAP. Por fim, fez-se uma análise qualitativa do perfil de compostos fenólicos de cada variedade através de HPLC-DAD.

Para além do referido, também foram realizadas atividades extracurriculares durante o período do Estágio Profissionalizante I e II, tais como as atividades desenvolvidas no CEIDSS, a iniciativa Encontro de Pais e Filhos da CMA, a colaboração na caraterização nutricional e funcional do cladódio de *Opuntia spp.*, a participação na Futurália, destacando-se também a participação em alguns eventos científicos.

ABSTRACT

This final course memoir aims to describe the activities carried out under I and II professionalizing internship, being chronologically organized by places and internship activities. Initially a description of the institutions where the internship took place is made followed by a list and brief explanation of the activities performed at each internship location.

The professionalizing internship I was carried out in Amadora Municipal Council, specifically in the Department of Education and Socio-cultural Development - Division of Family Support. The developed activities were performed in the context of initiatives to promote healthy eating habits such as Intervention Project for Healthy Diet (Projeto de Intervenção Para uma Alimentação Saudável – PIPAS). Thus, food education sessions to students from kindergarten and students from 4th grade of elementary school, dissemination of mascots, execution of the game “Jogo da Glória dos Alimentos”, monitoring of meals, as well as auditing school canteens were conducted.

The internship also focused in another initiative “Healthy and Inexpensive Food Choices Project - Meeting of Parents and Children”, where two meetings took place with the theme “Importance of color in a diversified diet” and “Tradition and a healthy diet”. Likewise, there were also activities under the “Anthropometric assessment project of students from the first cycle of elementary school from municipality of Amadora”.

The professionalizing internship II was held at Faculty of Science and Technology from New University of Lisbon - Department of Biomass Science and Technology. The activities were developed within the research project entitled “Nutritional and functional characterization of 3 Portuguese varieties of prickly pear fruits”. The data obtained were used for the development of the final scientific article of graduation degree.

Initially, a morphological analysis was carried out, where weight, length and width, and also, the ratio of skin, pulp and seeds of each variety of prickly pear fruits were determined. Afterwards it was performed the nutritional characterization, where moisture content, ash content, crude protein, crude fat, total crude fiber and total phosphorus content was determined. Then it was made a fractionation of samples in

order to evaluate the functional characterization, in which carotenoids content, betalains content and total phenolic compounds content determination was performed, whereas the antioxidant activity was analyzed by DPPH and FRAP methods. At last, HPLC-DAD analysis was carried out to determinate a profile of phenolic compounds of each variety of fruit studied.

In addition to that, extracurricular activities were also conducted during I and II professionalizing internship, such as the activities in CEIDSS, Meeting of Parents and Children initiative, collaboration into nutritional and functional characterization of cladodes from *Opuntia spp.*, participation in Futurália, and also the participation in some scientific events.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
ÍNDICE.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiv
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	2
Objetivos gerais.....	2
Objetivos específicos	2
Objetivos na Câmara Municipal da Amadora – Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família.....	2
Objetivos na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa – Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa	3
DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO	4
1. Câmara Municipal da Amadora – Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família.....	4
1.1. Local e duração	4
1.2. Caracterização do Município da Amadora	4
1.3. Caracterização do Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família	5

1.4. Projeto de Intervenção Para uma Alimentação Saudável - PIPAS.....	6
1.4.1. Atividades desenvolvidas.....	7
1.4.1.1. Ações de sensibilização aos alunos do pré-escolar.....	7
1.4.1.2. Dinamização das mascotes no horário de refeição.....	8
1.4.1.3. Auditoria das cantinas.....	9
1.4.1.4. Monitorização das refeições escolares nos refeitórios.....	9
1.4.1.5. Ação de sensibilização aos alunos do 4º ano do ensino básico.....	10
1.4.1.6. Jogo da Glória dos Alimentos.....	11
1.5. Projeto Cozinha Saudável e Escolhas em Conta – Encontro de Pais e Filhos.	12
1.5.1. Atividades desenvolvidas.....	13
1.5.1.1. A importância das cores numa alimentação variada (24 de Novembro).....	13
1.5.1.2. A tradição e a alimentação saudável (26 de Janeiro).....	13
1.6. Avaliação antropométrica dos alunos do 1.º ciclo do município da Amadora	14
1.6.1. Atividades desenvolvidas.....	14
2. Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa – Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa.....	16
2.1. Local e duração.....	16
2.2. Caracterização da Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.....	16
2.3. Caracterização do Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa.....	17

2.4. Figo de piteira (<i>Opuntia spp.</i>).....	17
2.5. Atividades desenvolvidas	19
2.5.1. Amostragem	19
2.5.2. Caraterização morfológica	20
2.5.3. Caraterização nutricional	21
2.5.3.1. Teor de humidade.....	21
2.5.3.2. Teor de cinzas	22
2.5.3.3. Teor de gordura bruta.....	23
2.5.3.4. Teor de proteína bruta	24
2.5.3.5. Teor de fibra bruta.....	25
2.5.3.6. Teor de fósforo total.....	26
2.5.4. Caraterização funcional.....	27
2.5.4.1. Preparação do sumo	28
2.5.4.2. Fracionamento.....	28
2.5.4.3. Teor de betalaínas (betacianinas e betaxantinas)	33
2.5.4.4. Teor de carotenoides	34
2.5.4.5. Teor de compostos fenólicos totais	35
2.5.4.6. Atividade antioxidante	37
2.5.4.6.1. Capacidade de sequestração do radical 1, 1-Difenil-2- picrilhidrazil (DPPH).....	38

2.5.4.6.2. Poder antioxidante de redução férrica (FRAP – <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	39
2.5.4.7. Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i> – HPLC)	40
OUTRAS ATIVIDADES.....	44
1. Centro de Estudos e Investigação em Dinâmicas Sociais e Saúde.....	44
2. Os Lanches da Manhã e Tarde: O que escolher	45
3. Caraterização nutricional e funcional do cladódio de <i>Opuntia spp.</i>.....	46
4. Eventos científicos.....	46
CONCLUSÃO.....	47
BIBLIOGRAFIA	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Localização geográfica do município da Amadora e as suas freguesias	5
Figura 2 - Logotipo do PIPAS: Mascotes.....	6
Figura 3 - Dinamização das mascotes na EB1/JI Santos Mattos.....	8
Figura 4 - Apresentação sobre erros alimentares na EB1/JI José Ruy.	11
Figura 5- Apresentação sobre as cores nos alimentos	13
Figura 6- Figueira-da-índia.....	18
Figura 7 - Três variedades utilizadas no projeto: figo verde (esquerda), figo laranja (meio) e figo roxo (direita).	19
Figura 8 – Representação da constituição externa e interna do figo de piteira.	21
Figura 9 - Extrator de <i>Soxhlet</i>	24
Figura 10 - Reta de calibração construída com medição de soluções-padrão de fósforo a 880 nm.	27
Figura 11 - Esquema do procedimento de extração com hexano e acetona.	29
Figura 12 - Esquema do procedimento de realização de extratos acetónicos.....	30
Figura 13 - Esquema da realização de extratos metanólicos.	30
Figura 14 - Esquema da metodologia de SPE1 (esquerda), SPE2 (meio) e SPE3 (direita).....	32
Figura 15 - Estrutura das betacianinas (esquerda) e betaxantinas (direita), bem como a unidade estrutural de ambos, o ácido betalâmico (meio).....	33
Figura 16 - Espectrofotómetro Novaspec II Rapid, Pharmacia Biotech.	35
Figura 17 - Estrutura química do fenol, a estrutura base dos compostos fenólicos.....	35
Figura 18 - Preparação do Reagente FRAP.	40
Figura 19 - Sistema de HPLC.	42

INDÍCE DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação científica de <i>Opuntia spp.</i>	18
Tabela 2 - Programa de eluentes utilizado na determinação do perfil de compostos fenólicos por em HPLC-DAD.	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AOAC - *Association Official of Analytical Chemists*

CEIDSS – Centro de Estudos e Investigação em Dinâmicas e Saúde

cm – Centímetro

CMA – Câmara Municipal da Amadora

DAD - *Diode Array Detector*

DCTB – Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa

DPPH – 1, 1-Difenil-2-picrilhidrazil

EB – Escola Básica

ERO – Espécies Reativas de Oxigénio

FAO – *Food and Agriculture Organization*

FCT/UNL – Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*

g – Grama

HACCP – *Hazard Analysis and Critical Control Points*

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

IMC – Índice de Massa Corporal

JI – Jardim de Infância

kg – Quilograma

L – Litro

M - Molar

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm – Milímetro

mmol – Milimol

MUN-SI – Municípios e Saúde Infantil

N – Normalidade

nm – Nanómetro

PALOP – Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa

PIPAS – Projeto de Intervenção para uma Alimentação Saudável

POPE – Projeto de Prevenção da Obesidade Pediátrica na Escola

rpm – Rotações por minuto

SPE – *Solid Phase Extraction*

TPTZ – 2, 4, 6-Tripiridilo-s-triazina

UBia – Unidade de Biotecnologia ambiental

UPOV - *International Union for the Protection of New Varieties of Plants*

UV/VIS – Espectroscopia Ultravioleta e Visível

v/v – Volume por volume

$\lambda_{\text{máx.}}$ – Comprimento de onda máximo de absorção

μL – Microlitro

μm – Micrómetro

μM – Micromolar

INTRODUÇÃO

O estágio profissionalizante é a fase da Licenciatura que permite pôr em prática todos os conhecimentos apreendidos e todas as capacidades desenvolvidas ao longo dos quatro anos de licenciatura.

No primeiro semestre surgiu a oportunidade de estagiar na Câmara Municipal da Amadora, nomeadamente no Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família, onde pude desenvolver e aprofundar os meus conhecimentos em Promoção e Educação para a Saúde e Nutrição Comunitária, em meio escolar.

Já no segundo semestre abracei o desafio de estagiar na área da Investigação, na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, mais especificamente no Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa. O estágio decorreu essencialmente no âmbito do desenvolvimento do Projeto Final de Licenciatura com o tema “Caraterização nutricional e funcional de 3 variedades portuguesas de figo de piteira”.

Esta Memória Final de Curso tem como objetivo relatar as atividades desenvolvidas no âmbito do estágio profissionalizante I e II, estando organizado, cronologicamente, por locais e atividades no estágio. Inicialmente foi feita uma descrição das instituições onde estagiei e as atividades que desenvolvi em cada uma delas.

OBJETIVOS

Objetivos gerais

- Aplicação prática e consolidação dos conhecimentos teórico-práticos adquiridos nas várias unidades curriculares da Licenciatura em Ciências da Nutrição;
- Explorar e conhecer diversas áreas da Nutrição e Alimentação;
- Adquirir experiência profissional, visando o desenvolvimento de competências e autonomia necessária à futura integração no mercado de trabalho;
- Conhecer a estrutura organizacional das instituições onde o nutricionista desenvolve a sua atividade;
- Contatar diretamente com a população em geral, promovendo e consciencializando-a sobre a importância de estilos de vida saudáveis;
- Desenvolver atitudes profissionais, tendo em conta aspetos deontológicos e éticos;
- Desenvolver um trabalho de investigação, e apresentá-lo sob a forma de artigo científico.

Objetivos específicos

Objetivos na Câmara Municipal da Amadora – Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família

- Perceber qual o nível de conhecimento, relativamente à alimentação, de crianças do jardim-de-infância até ao 4º ano do 1º Ciclo;
- Verificar hábitos e preferências alimentares de crianças do pré-escolar e 1º Ciclo;
- Melhorar e promover hábitos alimentares saudáveis em crianças, através de formação, no formato de aula, e realização de atividades didáticas;

- Otimizar capacidades de comunicação, exposição de ideias e conceitos, especialmente à população infantil;
- Perceber de que forma os fatores socioeconómicos e culturais, específicos de uma dada comunidade, poderão influenciar o ambiente escolar e a alimentação das crianças;
- Verificar as condições de higiene e segurança alimentar, bem como monitorizar a implementação dos princípios da metodologia *Hazard analysis and critical control points* (HACCP) nos refeitórios escolares.

**Objetivos na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa
– Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa**

- Conhecer o funcionamento dos diversos laboratórios do Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa e aprender a utilizar os seus equipamentos;
- Consolidar conhecimentos laboratoriais, e igualmente, conhecer e desenvolver novas metodologias utilizadas na análise de matrizes alimentares;
- Contactar e apreender novos fundamentos sobre alimentos, nomeadamente o figo de piteira;
- Aprender e desenvolver métodos de extração e fracionamento eficientes, rentáveis e pouco dispendiosos para posterior caracterização funcional de amostras portuguesas de figo de piteira;
- Aplicar técnicas laboratoriais de forma a determinar a composição nutricional e funcional de figos de piteira;
- Realizar um projeto de investigação intitulado “Caraterização nutricional e funcional de 3 variedades portuguesas de figo de piteira” com o intuito de submetê-lo como Projeto Final de Licenciatura.

DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO

1. Câmara Municipal da Amadora – Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família

1.1. Local e duração

O estágio profissional na Câmara Municipal da Amadora (CMA) teve a duração de 3 meses, com início em novembro de 2012 e termino em janeiro de 2013. O estágio foi realizado às segundas, terças e quartas-feiras de cada semana, incluindo duas palestras realizadas ao sábado em escolas diferentes, perfazendo no total uma carga horária de 150 horas (Anexo 1).

1.2. Caracterização do Município da Amadora

Criado em 11 de Setembro de 1979, o Município da Amadora estende-se por uma área de 23,79Km², onde vivem 175136 habitantes, segundo os dados definitivos dos Censos de 2011 (DIG, 2012). Segundo o Instituto Nacional de Estatística (2009), a Amadora é o município com maior densidade populacional em Portugal, tendo 7183 habitantes por Km².

Este Município foi o primeiro a ser criado após o 25 de Abril de 1974, deixando de ser nessa data, uma freguesia do Concelho de Oeiras. A Amadora divide-se em 11 freguesias: Alfragide, Alfovelos, Brandoa, Buraca, Damaia, Falagueira, Venda Nova, Mina, Reboleira, São Brás e Venteira (CMA, 2012a) (Figura 1).

O contexto demográfico do concelho da Amadora traduz-se, nos últimos anos, na perda de população residente e no seu envelhecimento paulatino. Deste modo, 25% da população tem idade igual ou superior a 60 anos. Paralelamente verifica-se que a expressividade da população jovem na população total ronda os 15% (CLAS, 2011).

Em 2009, existiam 19799 imigrantes com estatuto legal, representando cerca de 12% do total da população, deixando a ressalva que estes números não contemplam o número de imigrantes ilegais. No município prevalecem os imigrantes africanos (55%), oriundos

dos Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa (PALOP) e também existe uma representação significativa da comunidade asiática (7%) (CLAS, 2011).

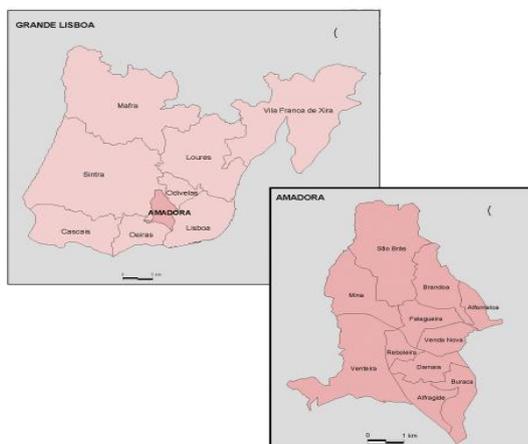


Figura 1 - Localização geográfica do município da Amadora e as suas freguesias (CLAS, 2011).

No que diz respeito ao parque habitacional, este caracteriza-se pela presença de bairros sociais e bairros degradados, que levantam questões de índole social, como a segurança e as condições de vida da população residente. É importante referir que 50% destes residentes tem idade inferior a 25 anos, pelo que se trata de uma população bastante jovem (CLAS, 2011).

O estágio profissionalizante na CMA teve lugar mais especificamente no Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família, estando a intervenção totalmente direcionada para os Jardins de Infância e escolas básicas do 1º ciclo.

1.3. Caracterização do Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural – Divisão de Apoio à Família

A Divisão de Intervenção Social da CMA encontra-se na dependência orgânica do Departamento de Educação e Desenvolvimento Sociocultural. A divisão de apoio à família, deste departamento, desenvolve o seu trabalho ao nível das escolas, atuando em vários campos, como a ação social, transportes, gestão de refeitórios, creches municipais e colaboração com programas e projetos de ação social (CMA, 2012b).

Na Amadora, as escolas do 1º, 2º e 3º Ciclos do Ensino Básico organizam-se em 12 agrupamentos distintos. A oferta educativa da rede pública do concelho é composta por 51 equipamentos escolares, do Pré-escolar ao Ensino Secundário, abrangendo um total de 19375 alunos. No ano letivo de 2010/2011, foram inscritos 6223 alunos de 1º ciclo, nas escolas da rede pública, distribuídos por 283 turmas (CLAS, 2011).

A CMA tem atualmente algumas iniciativas de promoção de hábitos de alimentação saudável das quais enumera-se o “Projeto de Prevenção da Obesidade Pediátrica na Escola- POPE”, o “Projeto de Intervenção Para uma Alimentação Saudável – PIPAS”, o “Encontros de Pais e Filhos” e o “Projeto de Avaliação Antropométrica dos Alunos do 1.º ciclo do Município da Amadora” (Amadora Educa, 2012).

1.4. Projeto de Intervenção Para uma Alimentação Saudável - PIPAS

O PIPAS defende o lema: “Comer Bem para Melhor Crescer” e reúne um conjunto de estratégias que pretendem motivar as crianças e encarregados de educação à adoção de hábitos de alimentação saudável (Figura 2). Destina-se a crianças do pré-escolar e 1º ciclo do Ensino Básico, sendo que a participação pressupõe a candidatura por parte dos agrupamentos de escolas, contando atualmente, com a participação de 9 destes. O PIPAS obteve uma menção honrosa na categoria de Prevenção de Saúde Pública no meio escolar (3.ºLugar) – Educação XXI (Amadora Educa, 2012).



Figura 2 - Logotipo do PIPAS: Mascotes.

Em termos operacionais, as ações que constituem este projeto assentam em 4 eixos de intervenção:

1.º Eixo – Gestão dos Refeitórios Escolares: O objetivo é prevenir comportamentos disruptivos durante as refeições através da criação de estratégias pedagógicas que visam a harmonização do ambiente durante a refeição.

2.º Eixo – Promoção de Hábitos de Alimentação Saudável: O objetivo é estimular as crianças a uma prática de alimentação saudável, e por outro lado alertar para riscos de uma alimentação desequilibrada.

3.º Eixo – Articulação com a Família: Tem como objetivo sensibilizar e fomentar os pais/encarregados de educação a hábitos alimentares saudáveis.

4.º Eixo – Articulação com a Comunidade: Tem como objetivo dar a conhecer à população em geral, os projetos realizados nas escolas e criar momentos de partilha entre os professores.

1.4.1. Atividades desenvolvidas

1.4.1.1. Ações de sensibilização aos alunos do pré-escolar

As ações de sensibilização tiveram como principal objetivo explicar o que é a roda dos alimentos e dar alguns exemplos de alimentos saudáveis e alimentos a evitar, bem como, estimular o consumo de sopa antes da refeição principal e incentivar ao consumo de pequeno-almoço todos os dias. Como a ação foi dirigida a crianças dos 3 aos 5 anos, foi tido em conta que as atividades não poderiam ser longas, nem muito complexas, e deveriam ser intercaladas com momentos lúdicos.

Para este efeito, elaborou-se um conjunto de atividades divididas em duas fases. A primeira fase foi constituída por uma parte teórica onde se falou de cada grupo da roda dos alimentos e se explicou a sua importância através da história “A Sr.ª Roda dos Alimentos”. Depois, numa segunda fase elaborou-se um conjunto de jogos de forma a estimular a atenção das crianças e incrementar os conceitos aprendidos na fase anterior. As atividades lúdicas desenvolvidas foram: “Quem é quem na roda dos alimentos?”,

“Faz cara feia aos maus alimentos”, “Vamos fazer uma sopa” e “Pequeno-Almoço de Campeão” (Anexo 2).

1.4.1.2. Dinamização das mascotes no horário de refeição

De modo a permitir uma melhor dinamização dos objetivos do projeto PIPAS, foram criadas três mascotes: o brócolo, a pera e a cenoura. Estas mascotes servem como um elo de ligação direto às crianças, permitindo assim, uma fomentação mais eficaz de hábitos alimentares saudáveis, que de outra forma seriam mais difíceis de ser seguidos.

Neste sentido, no decorrer do estágio, ocorreu a dinamização das mascotes durante o período do almoço, onde era verificado se as crianças comiam a refeição toda. Foram analisados principalmente os pontos mais críticos da refeição, nomeadamente a sopa e a fruta, pois estes são geralmente recusados pelas crianças. Caso as crianças comessem a refeição toda, estas eram premiadas com um autocolante do PIPAS (Figura 3).



Figura 3 - Dinamização das mascotes na EB1/JI Santos Mattos.

Existem placares na zona do refeitório, em algumas escolas, com as mascotes a praticarem diversas atividades, tais como lavar as mãos antes da refeição ou comer a sopa toda. Através do contato direto com as crianças, verificou-se uma associação clara entre práticas alimentares saudáveis e a presença das mascotes PIPAS, havendo uma grande adesão por parte das crianças, e vontade futura de ver as mascotes.

1.4.1.3. Auditoria das cantinas

A maioria dos refeitórios escolares da CMA são geridos pela Uniself[®], uma empresa de restauração coletiva fundada em 1981, com uma posição sedimentada na área da restauração escolar (Uniself, 2009).

Com o objetivo de melhorar a qualidade dos serviços prestados, foi proposto realizar avaliações higiênico-sanitárias nos refeitórios escolares através de uma *checklist* já pré-estabelecida pela CMA. A *checklist* era composta por 12 pontos críticos que avaliavam o cumprimento das várias etapas e princípios da metodologia *Hazard analysis and critical control points* (HACCP), bem como as Boas Práticas de Higiene pessoal, das instalações, de equipamento e utensílios e da higiene na produção (Anexo 3). Nas auditorias utilizou-se sempre touca e bata de forma a impedir contaminações.

Durante a realização das auditorias nunca foi verificada qualquer situação de falta de higiene e nenhuma inconformidade séria, verificando-se apenas na maioria dos casos, falta de documentação.

1.4.1.4. Monitorização das refeições escolares nos refeitórios

De modo a fazer a monitorização das refeições escolares, um dos pontos-chave passa pelas crianças almoçarem em pequenos grupos, o que permite um maior apoio às crianças por parte das auxiliares de ação educativa e funcionárias do refeitório. É de notar, que o primeiro grupo a tomar a sua refeição deverá ser constituído pelos alunos do jardim-de-infância, pois são aqueles que demoram mais tempo a comer e precisam de um maior acompanhamento.

Foi verificado que, em algumas escolas, esta ordem estava invertida ou então não se verificavam turnos definidos, o que levava a uma grande condensação de crianças no refeitório no mesmo período de tempo. Esta situação, consequentemente, levava a que as crianças que já estavam a almoçar fossem instruídas a comer depressa, para darem lugar os restantes colegas que ainda não tinham almoçado.

Para além disso, também foi observado que em algumas escolas não havia funcionários suficientes a dar apoio à sala de refeitório, pelo que muitas crianças omitiam a sopa e/ou a fruta e deixavam uma grande parte de comida no prato, resultando num grande desperdício de comida. Adicionalmente, assim como tinha sido reportado pelos professores e auxiliares, verificou-se, que em dias onde o peixe constava da ementa, o desperdício era maior do que o habitual.

Constatou-se que na maioria das escolas a sopa era muito deficitária em legumes, pelo que também carecia de sabor. A grande maioria dos pratos não tinha hortícolas e as porções eram pequenas para os alunos mais velhos. Em algumas escolas, enchia-se os copos com água até um quarto da sua capacidade.

1.4.1.5. Ação de sensibilização aos alunos do 4º ano do ensino básico

No que diz respeito aos alunos do 4º ano do Ensino Básico, o tema sugerido para as ações de formação foi os “Erros Alimentares”. Com este objetivo, reuniu-se um conjunto de alimentos, geralmente apreciados pelas crianças desta faixa etária, onde este conceito de “erro alimentar” é bastante patente. Após esta seleção, calculou-se, para uma quantidade específica de cada um destes alimentos, o valor energético, proteína, açúcares simples, gordura e sal, fazendo-se posteriormente o somatório de acordo com as diferentes opções que iríamos disponibilizar. Depois converteu-se, aproximadamente, o somatório de açúcar, em pacotes de açúcar, e o somatório de gordura, em colheres de sopa de óleo, pois tornar-se-ia complexo a compreensão das quantidades apenas em gramas (Anexo 4).

Para a realização desta formação utilizou-se o suporte digital *Power Point* (Anexo 5) e conjuntamente, usou-se açúcar, óleo e sal de forma a representar visualmente estas mesmas quantidades ingeridas, caso consumissem os alimentos acima mencionados.

Inicialmente fez-se algumas perguntas sobre erros alimentares, e paralelamente, sobre alimentação saudável, de forma a perceber o nível de conhecimento das crianças, mas também para criar um maior dinamismo e sentimento de partilha de ideias. Depois

explicou-se que ia-se fingir que estávamos num dia imaginário, e que sendo assim, poderíamos comer tudo o que quiséssemos.

O corpo humano era representado por uma jarra, e ao longo da formação foi-se colocando uma quantidade de açúcar, gordura e sal correspondente aos alimentos selecionados pelas crianças. No final fez-se um balanço de tudo o que tinha sido ingerido naquele dia (Figura 4).



Figura 4 - Apresentação sobre erros alimentares na EB1/JI José Ruy.

Após esta demonstração, foi dada informação sobre as quantidades recomendadas de cada nutriente, anteriormente mencionado. Depois abordou-se a roda dos alimentos e alguns conselhos, de forma a incutir hábitos saudáveis. É importante salientar que ao longo da atividade eram apresentadas opções e alternativas saudáveis aos alimentos denominados de erros alimentares.

1.4.1.6. Jogo da Glória dos Alimentos

Em todas as escolas, onde decorreu a ação de formação ao 4º ano de escolaridade, foi realizado também, o jogo da glória dos alimentos, como forma não só, de testar, os conhecimentos previamente expostos, mas também, de incrementar esses mesmos conceitos. O jogo é constituído por 49 peças, sendo que algumas equivalem a ações específicas. Algumas estão marcadas com a roda dos alimentos, e por passagem nestas é feita uma questão relativa à roda dos alimentos. Já outras correspondem a um comportamento alimentar correto, ou a um comportamento alimentar incorreto, estando

envolvido em ambas, algum tipo de atividade física. À equipa vencedora foi dado um jogo, e os restantes participantes recebiam uma pulseira, ambos com as mascotes PIPAS.

1.5. Projeto Cozinha Saudável e Escolhas em Conta – Encontro de Pais e Filhos

Este projeto tem por objetivo privilegiar a intervenção junto da família, num contexto de partilha, prática e discussão ativa de temáticas relativas à alimentação. Pretende-se sensibilizar a população de que a prática de uma alimentação saudável é mais económica. As ações de sensibilização realizadas compreenderam uma metodologia teórico-prática, sendo que os intervenientes foram divididos em dois grupos específicos: pais/encarregados e filhos.

Na parte teórica dirigida aos pais foram desenvolvidos temas relacionados com a alimentação saudável e, na parte prática, foram confeccionadas receitas simples, económicas e saudáveis. A parte teórica dirigida às crianças foi realizada em formato digital de *Power Point*, e como neste grupo eram esperadas crianças com um grande leque de idades, foram feitos *slides* com o mínimo de palavras possíveis, recorrendo ao auxílio de imagens ilustrativas, já que uma parte do público-alvo ainda não saberia ler (crianças dos 3 aos 5 anos de idade). No que diz respeito à parte prática, pretendeu-se desenvolver comportamentos de autonomia, exemplificando confeção de refeições simples e saudáveis.

As atividades do grupo dos pais foram desenvolvidas pela Nutricionista Dr.^a Maria Paes Vasconcelos, enquanto as ações do grupo das crianças foram organizadas por mim e pela minha colega de estágio Ana Margarida Costa.

No projeto Encontro de Pais e Filhos foram realizadas 2 ações, entre elas “ A importância das Cores numa Alimentação Variada”, “A tradição e a Alimentação Saudável”, estando também agendado “ Os Lanches da Manhã e Tarde: O que escolher”.

1.5.1. Atividades desenvolvidas

1.5.1.1. A importância das cores numa alimentação variada (24 de Novembro)

Enquadrando a temática desta ação com as limitações do público-alvo, realizou-se uma apresentação baseada na associação entre alimentos de determinada cor e um benefício para a saúde (Anexo 6). Por exemplo os alimentos brancos (leite, iogurte) são ricos em cálcio e por isso fazem os dentes e ossos ficarem fortes. Inicialmente perguntou-se quais os alimentos que as crianças se lembravam de determinada cor, de forma a estimular o seu raciocínio, mas também para haver um maior dinamismo da apresentação (Figura 5).

Na parte prática colocámos toucas e vestimos aventais às crianças. Pedimos-lhes que escolhessem alguns alimentos que tínhamos à disposição de forma a elaborarem uma salada equilibrada e colorida, tendo como base aquilo que tinham aprendido na parte teórica.



Figura 5- Apresentação sobre as cores nos alimentos

1.5.1.2. A tradição e a alimentação saudável (26 de Janeiro)

Nesta ação o enquadramento da temática não foi tão extenso, apenas foram apresentados alguns dos ingredientes que fazem parte de receitas tradicionais. Deste modo, procedeu-se à escolha de ingredientes saudáveis de alguns pratos tradicionais, como por exemplo, a couve portuguesa que integra o cozido à portuguesa, fazendo o contraste com alimentos não-saudáveis, que deveriam ser evitados e substituídos por outras alternativas que dávamos.

A parte prática consistiu inicialmente na prova de hortícolas com os olhos vendados, para que as crianças pudessem dizer se gostavam, e adivinhar qual era o alimento. Esta parte foi muito interessante, porque com os olhos vendados, as crianças aceitavam alguns alimentos que geralmente eram recusados. Depois cada criança escolhia vários hortofrutícolas que poderiam integrar um prato tradicional saudável.

1.6. Avaliação antropométrica dos alunos do 1.º ciclo do município da Amadora

Alguns dados relativos à situação escolar da Amadora, revelam que perto de 38% dos alunos tem excesso de peso ou é obeso. Dos que tomam o pequeno-almoço em casa (95%), 12,6% admitem não consumir qualquer lacticínio e 12,3% não comem pão nem cereais. Do total da amostra de alunos, mais de metade assume que os refrigerantes são a sua bebida habitual e passam entre 2 a 3 horas por dia frente ao televisor. Preocupante ainda é o facto de 68% destas crianças não praticar atividade física regular (Hospital Fernando Fonseca, 2011).

Com a avaliação antropométrica pretende-se avaliar o peso e a altura para cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC). Após a análise de dados será selecionado um aluno (a frequentar o 1º ano) por estabelecimento de educação, com maior índice de IMC para usufruir de um programa de combate à obesidade. O acompanhamento consiste numa entrevista de avaliação motivacional com os pais/encarregados de educação e celebração de um contrato comportamental, no qual são negociados os lanches. A refeição escolar será de dieta e nas aulas de Atividade Física, o(a) professor (a) poderá adequar as aulas ao aluno em questão, de forma pedagógica, sem que isso represente um estigma (Amadora Educa, 2012).

1.6.1. Atividades desenvolvidas

As medidas antropométricas utilizadas na avaliação foram o peso (kg) e a estatura (cm). As medições decorreram sempre da parte da manhã, antes do período do lanche da manhã, de forma a poder haver uma padronização de procedimentos e técnicas, bem como uma recolha de dados precisa e válida (Rito, Breda e Carmo, 2010).

Para determinar o peso utilizou-se balanças mecânicas (Seca[®] 769, Portugal) calibradas a 0,1 kg. Inicialmente colocou-se a balança numa superfície plana, e posteriormente calibrou-se. Depois pedia-se às crianças que retirassem os sapatos, casacos grossos e adornos. Enquanto eram feitas as avaliações, era explicado à criança o procedimento, e pedia-se que afastassem os pés, relaxassem, e mantivessem os braços ao lado do corpo. As medições nem sempre foram feitas com tecidos leves devido ao fato de ocorrer em ambiente escolar e estar frio. Houve alguns casos excepcionais em que algumas crianças recusaram tirar os sapatos devido a falta de higiene associada a condições precárias.

De forma a determinar a estatura utilizou-se um estadiómetro vertical (Seca[®] 216, Portugal) colocado numa superfície plana, geralmente apoiado à parede. À semelhança da determinação do peso, também se explicou o procedimento. Pediu-se que colocassem os pés encostados e de acordo com as marcas do estadiómetro. Depois com a mão, encostava-se os joelhos e as omoplatas das crianças ao estadiómetro. Depois segurava-se no queixo, de forma a obter o plano de *Frankfort* durante a medição (Rito, Breda, e Carmo, 2010). A estatura foi medida em centímetros e a leitura feita até ao milímetro mais próximo (0,1 cm). Como limitações deve-se referir que apenas foi efetuado uma medição, devido ao fato de ser necessário determinar o peso e estatura de várias turmas, desde o 1º ano até ao 4º ano do Ensino Básico, antes do período do lanche da manhã. Outro aspeto negativo a apontar, foi o fato de algumas meninas terem tranças que não podiam ser retiradas, influenciando assim a posterior medição.

Nunca foi feito nenhum tipo de caracterização que incluísse palavras como “magreza” ou “excesso de peso”, pois as crianças podiam não compreender de forma correta estes conceitos. Também é importante referir que algumas crianças pediam para não dizer o seu peso em voz alta, e havia mesmo crianças, que apesar do consentimento dado pelos pais, recusavam fazer a avaliação.

2. Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa – Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa

2.1. Local e duração

O estágio profissionalizante II foi realizado no Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa (DCTB) da Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT/UNL), sediada na freguesia de Monte da Caparica, pertencente ao concelho de Almada e distrito de Setúbal. O estágio decorreu durante 4 meses e 3 semanas, no período compreendido entre 25 de fevereiro a 9 de julho de 2013, regularmente às segundas, terças, quartas e sextas-feiras de cada semana, perfazendo a carga horária de 300 horas (Anexo 7).

2.2. Caracterização da Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Criada em 1977, a Faculdade de Ciência e Tecnologia é uma das nove unidades orgânicas da Universidade Nova de Lisboa, situada no Monte de Caparica (FCT, 2013a).

Esta unidade possui um *campus* universitário de 30 ha, com as mais diversas infraestruturas, entre as quais, biblioteca, residências de estudantes, campos desportivos, creche, posto de enfermagem, livraria, agência bancária, agência de viagens, loja de conveniência, cantina, vários restaurantes e cafés (FCT, 2013a).

A FCT/UNL é atualmente uma das escolas portuguesas públicas mais prestigiadas no ensino de engenharia e ciências. Desde a sua criação que a FCT/UNL dá prioridade à promoção da investigação nas suas áreas de atividade, e atualmente acolhe 16 centros de investigação reconhecidos pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia e 2 polos de centros de investigação, bem como assegura a produção científica de um elevado número de publicações em revistas internacionais de grande impacto, o que lhe confere o reconhecimento das instituições congéneres (FCT, 2013a).

Também a sua qualidade académica tem-lhe proporcionado uma crescente afirmação junto das entidades empregadoras, conduzido deste modo, a uma inserção bem-sucedida dos seus diplomados no mercado de trabalho (FCT, 2013a).

A FCT/UNL mantém ligações estreitas com diversas universidades portuguesas e estrangeiras, no âmbito do ensino e da colaboração em projetos de investigação. Está estruturada em 14 setores departamentais que, conjuntamente com os centros de investigação prestam serviços a entidades públicas e privadas, nas suas áreas de especialidade (FCT, 2013a).

2.3. Caracterização do Departamento de Ciências e Tecnologia de Biomassa

O DCTB é o mais recente departamento da FCT. Este tem como missão desenvolver atividades de ensino e investigação nas áreas da bioenergia e da tecnologia e segurança alimentar, promovendo a sustentabilidade ambiental, económica e social como área transversal às anteriores (FCT, 2013b).

Este departamento funciona em estreita colaboração com a Unidade de Biotecnologia Ambiental (UBiA), um centro de investigação financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia do Ministério da Educação e Ciência (FCT, 2013b).

O estágio profissionalizante realizado neste departamento decorreu maioritariamente num âmbito laboratorial, tendo como principal objetivo a elaboração da dissertação do Projeto Final de Licenciatura intitulado “Caraterização nutricional e funcional de três variedades portuguesas de figo de piteira”.

2.4. Figo de piteira (*Opuntia spp.*)

O figo de piteira é um fruto proveniente de *Opuntia spp.*, uma planta denominada de piteira ou figueira-da-Índia, caracterizada pela presença de caules achatados designados de cladódios, que substituem as folhas na sua função fotossintética, apresentando também geralmente flores num pequeno espetro de cores não necessariamente correspondentes à cor do fruto (Figura 6). Na grande maioria das espécies, quer o fruto, quer o cladódio são cobertos de espinhos (Nobel, 2002).



Figura 6- Figueira-da-índia. Adaptado de Botanical – Online (2013).

Esta planta xerófila da família *Cactaceae* (Tabela 1) é originária da América tropical e subtropical, encontrando-se atualmente distribuída por uma grande variedade de condições agroclimáticas, na forma selvagem ou cultivada, destacando-se cada vez mais o seu crescimento com fins comerciais (Kiesling, 2013).

Tabela 1 - Classificação científica de *Opuntia spp.* Adaptado de USDA - PLANTS (2013).

Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Caryophyllales
Família	Cactaceae
Género	Opuntia

Este fruto é particularmente interessante, não só pela sua composição nutricional (Sarbojeet, 2012), mas também pela presença de compostos com atividade antioxidante (Kuti, 2000; Siriwardhana, Shahidi e Jeon, 2006).

Apesar de já ter sido feita alguma investigação relativamente a este fruto, sabe-se que o género *Opuntia* exibe uma grande variabilidade e diversidade entre espécies nas várias partes do mundo (FAO-ICARDA Cactusnet, 2013). Esta variabilidade por sua vez está relacionada com diferentes características nutricionais e funcionais dos frutos (Wit *et*

al., 2010), sendo possível demonstrar uma relação entre estas características e a origem geográfica, o modo de cultivo e as condições edáficas e climáticas (Nobel, 2002).

Em Portugal, apesar de existirem diversas espécies de *Opuntia* subespontâneas (Carvalho e Mansinho, 1988), somente nos últimos anos, é que a produção de piteira à escala industrial adquiriu destaque. Neste sentido, torna-se necessário o estudo das suas propriedades, não só de forma a sustentar um futuro investimento nesta colheita, mas também de forma a promover a utilização do figo de piteira na alimentação, medicina, cosmética e indústria farmacêutica.

2.5. Atividades desenvolvidas

De forma a elaborar o projeto de investigação com o tema “Caraterização nutricional e funcional de três variedades portuguesas de figo de piteira” realizou-se um conjunto de técnicas analíticas descritas em seguida.

2.5.1. Amostragem

Realizou-se a colheita de três variedades de figo de piteira, autóctones da região de Tavira (Portugal), fornecidos pela empresa Elsa Martins Turismo Rural Unipessoal. Recolheu-se vinte a trinta figos de cada variedade, sendo transportados para o laboratório em câmaras refrigeradas (5 °C). Neste projeto utilizou-se uma classificação de acordo com a cor da polpa, distinguindo-se assim as três variedades como: figo verde, figo laranja e figo roxo (Figura 6).



Figura 7 - Três variedades utilizadas no projeto: figo verde (esquerda), figo laranja (meio) e figo roxo (direita).

Após receção no laboratório selecionaram-se os frutos que apresentavam a pele intacta e a polpa consistente, eliminando-se os que apresentavam danos associados ao transporte

ou um grau excessivo de maturação. Os figos selecionados foram lavados em água corrente e removeu-se manualmente os espinhos. De seguida os frutos foram armazenados a -18 °C, até se proceder à sua análise.

2.5.2. Caracterização morfológica

Na análise morfológica determinou-se a massa (g), comprimento (cm), largura (cm) e proporção entre pele/polpa e sementes (%) de cada fruto estudado.

A taxonomia e origem botânica das variedades estudadas são desconhecidas, e neste sentido torna-se relevante a determinação das suas características individuais para a identificação da espécie do género *Opuntia* em estudo (Wit *et al.*, 2006).

A determinação da taxonomia e origem botânica é dificultada devido a diversos fatores entre eles, a elevada variação de fenótipos de acordo com as condições ecológicas, a poliploidia, e a existência de numerosos híbridos (Anaya-Pérez, 2001). Por outro lado, o figo de piteira apresenta uma grande variabilidade relativamente às suas características, variando no formato, tamanho, cor e número de sementes (Wit *et al.*, 2010).

Neste sentido foram desenvolvidos pela *International Union for the Protection of New Varieties of Plants* (UPOV) e pela *Cactusnet*, alguns descritores referentes à planta, cladódio, flor e fruto de forma a efetuar a distinção entre espécies (UPOV, 2006).

De forma a assegurar a condição de representatividade utilizou-se 6 frutos heterogéneos de cada espécie. A massa foi medida através de uma balança de precisão digital (Kern & Sohn FKB, Alemanha). Para a medição dos valores do comprimento e largura, cortou-se os frutos ao meio. O comprimento e largura foram medidos com o auxílio de uma régua (cm).

Para a determinação da proporção entre pele/polpa/sementes (Figura 8) pesou-se inicialmente o fruto inteiro. A pele foi retirada manualmente com os frutos ainda congelados, com o auxílio de uma faca e posteriormente pesada. As sementes foram separadas da polpa por centrifugação (5 minutos a 50 rpm) (Hettich EBA 20, Alemanha) e por filtração a vácuo através de um funil de *Büchner* (110 mm de diâmetro). Por fim as sementes foram lavadas em água abundante, através de um

passador de rede metálico, de forma a retirar a polpa mais agarrada. As sementes foram secas à temperatura ambiente durante um dia e foram posteriormente pesadas.

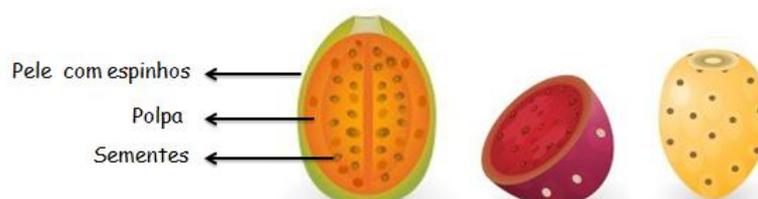


Figura 8 – Representação da constituição externa e interna do figo de piteira.

2.5.3. Caraterização nutricional

Atualmente, apesar de alguma investigação, ainda existe pouca informação sobre as espécies de figo de piteira autóctones de Portugal. Consequentemente torna-se necessário determinar os seus constituintes, de forma a identificar o seu valor nutritivo e elaborar uma rotulagem nutricional.

Visto não ser possível caraterizar todos os frutos em bruto, é necessário proceder à preparação de amostras representativas. Neste contexto, a polpa, a pele e o fruto inteiro, da mesma variedade, foram moídos e misturados individualmente, antes de serem submetidos às diferentes análises.

Para a caraterização nutricional analisou-se vários parâmetros, nomeadamente o teor de humidade, o teor de cinzas, a proteína bruta, a gordura bruta, a fibra bruta e o teor de fósforo total.

2.5.3.1. Teor de humidade

Um dos procedimentos mais importantes, efetuado a um alimento, é a determinação do teor de humidade. O resultado desta análise é fundamental não só para a rotulagem, mas também no delineamento de vários processos e operações da indústria alimentar (Nielsen, 2010).

A determinação de humidade (%) foi efetuada de acordo com o método 934.01 descrito pela *Association Official of Analytical Chemists* (AOAC) (AOAC, 1990) com ténues

modificações. Evaporou-se três replicados de 10 g de amostra numa estufa de convecção (Memmert U50, Alemanha) à temperatura fixa de 90 °C até obter um peso constante. As amostras foram arrefecidas num exsiccador e, posteriormente, pesadas numa balança analítica (Mettler Toledo AB204, Portugal).

É importante referir que por vezes, com este método é difícil obter resultados precisos e corretos, já que é necessário que ocorra a separação de toda a humidade da amostra, sem que haja decomposição de nenhum dos constituintes que libertam água, tal como a decomposição de hidratos de carbono ou a oxidação de ácidos gordos insaturados. Como a perda de humidade ocorre em função da temperatura e tempo, é necessário haver um compromisso entre estes dois parâmetros (Nielsen, 2010).

Comparativamente à utilização de um método de evaporação com estufa de vácuo, este método com estufa de convecção apresenta uma maior variação de temperatura e é um processo mais lento (Nielsen, 2010).

Através da determinação do teor de humidade por evaporação, é possível, posteriormente, obter o teor de sólidos totais, que representa a quantidade de material restante após a evaporação de água. Neste sentido o teor de sólidos totais pode ser obtido através da equação (Nielsen, 2010):

$$\text{Sólidos Totais (\%)} = \frac{M_{\text{seca}}}{M_{\text{inicial}}} \times 100$$

2.5.3.2. Teor de cinzas

O termo “cinzas” refere-se ao resíduo inorgânico que permanece após a incineração ou completa oxidação da matéria orgânica do alimento. Este método baseia-se no princípio que os minerais não são destruídos pelo calor e são menos voláteis que outros componentes dos alimentos. A determinação das cinzas torna-se relevante, visto que esta representa o conteúdo mineral total do alimento (Nielsen, 2010).

O teor de cinzas (%) foi determinado de acordo com o método 942.05 descrito pela AOAC (1990), um método de cinza seca. Para a sua determinação pesou-se 2 g de cada amostra em triplicado, já previamente seca. As amostras foram colocadas numa mufla

(Heraeus AK 175, Alemanha) a 560 °C durante 2 horas. Posteriormente as amostras foram arrefecidas num exsiccador e pesadas numa balança analítica.

Na determinação de cinza seca, a água e compostos voláteis são vaporizados, os compostos orgânicos carbonizados e a maioria dos minerais convertidos em óxidos, sulfatos, fosfatos, cloretos e silicatos. Este método é vantajoso, já que não requer a adição de reagentes, nem a realização de um branco, sendo também necessária pouca supervisão. Porém, requer equipamento caro e é mais lento de que os outros métodos de determinação de cinzas (Nielsen, 2010).

2.5.3.3. Teor de gordura bruta

Por definição, os lípidos são solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água. Neste sentido, a solubilidade é uma propriedade analítica que fundamenta a separação de lípidos, proteínas, água e hidratos de carbono nos alimentos (Nielsen, 2010).

O teor de gordura bruta foi determinado através do método de *Soxhlet*, em concordância com o método 7.056 proposto pela AOAC (1990). Este é um método de extração intermitente que utiliza um sistema de refluxo com solvente a quente. Neste processo não há contacto prolongado a altas temperaturas, entre a amostra e o solvente, o que constitui uma vantagem, pois não ocorre a decomposição da gordura, mas por outro lado, pode levar a uma possível saturação do solvente (Nielsen, 2010).

De forma a efetuar este procedimento foi necessário secar previamente a amostra porque o solvente não consegue penetrar facilmente nos tecidos húmidos devido à natureza hidrofóbica ou hidrocópica do solvente. A secagem a elevadas temperaturas também representa um problema, já que alguns lípidos podem ligar-se a proteínas e hidratos de carbono, sendo posteriormente esta ligação difícil de quebrar pelo solvente da extração (Nielsen, 2010).

Neste procedimento o solvente de extração escolhido foi o éter de petróleo (40-60 °C) (Chem-Lab NV, Bélgica). Colocou-se 4 g de amostra, previamente seca, no extrator de *Soxhlet* (Figura 9), juntamente com o solvente durante 7 horas de extração. Em seguida,

o solvente foi eliminado por evaporação num Rotavapor[®] (Büchi R-200, Suíça) a 50 °C. Por fim determinou-se a gordura bruta, gravimetricamente, numa balança analítica.



Figura 9 - Extrator de Soxhlet.

2.5.3.4. Teor de proteína bruta

A determinação do teor de proteína bruta foi efetuada através do método *Kjeldahl*, de acordo com a metodologia 47.021-47.023 descrita pela AOAC (1990). Este é um método indireto, pois determina a quantidade de azoto orgânico total. Sabe-se que a percentagem de azoto é bastante semelhante entre diferentes proteínas, sendo cerca de 16%. Neste sentido, para obter o valor de proteína bruta através do teor de azoto, a *Food and Agriculture Organization* (FAO) recomenda a utilização do fator de conversão de 6,25, sempre que não se disponha de outro reconhecidamente mais adequado (FAO, 2003; Nielsen, 2010).

Este método incluiu 4 passos sucessivos:

1. Digestão – Inicialmente colocou-se 2 g de amostra em triplicado num digestor (Velp Scientifica DK 6, EUA) a 360 °C juntamente com 10 mL de ácido sulfúrico (95-97%) (Panreac, Espanha) e uma mistura catalisadora, constituída por selénio negro (Merck, Portugal) e sulfato de potássio (90,0%; Panreac, Portugal), até o soluto ficar translúcido (Watts e Halliwell, 1996). Neste passo (I), o azoto orgânico total foi convertido em sulfato de amónio não volátil, e os restantes compostos orgânicos foram convertidos em dióxido de carbono e água.



2. Neutralização - A amostra digerida foi filtrada e aferida com água destilada num balão volumétrico de 100 mL. Depois retirou-se 20 mL de cada amostra, ao qual se adicionou 3 gotas de fenolftaleína (1%) (Panreac, Espanha) e água destilada, de forma a perfazer o volume de 100 mL. Em seguida adicionou-se hidróxido de sódio (6 N) (Merck, Portugal) em excesso até ocorrer o ponto de viragem, observando-se a mudança de cor do soluto para a cor rosa. Neste passo (II), o sulfato de amónio, após adição de hidróxido de sódio, foi convertido em amoníaco gasoso.



3. Destilação – Posteriormente a amostra foi colocada num aparelho de destilação por arrastamento de vapor (Foss Tecator Kjeltex™ 1002, Dinamarca) juntamente com ácido bórico (20 g/L) (Fisher Scientific, EUA). Neste passo (III), o amoníaco foi destilado para um volume conhecido de ácido bórico, formando borato de amónio.



4. Titulação – O destilado foi titulado com ácido sulfúrico (0,020 N) até ocorrer o ponto de viragem. Neste passo (IV), o borato de amónio, após adição de ácido sulfúrico, foi convertido em sulfato de amónio e ácido bórico. A concentração de ácido (H^+) necessário para alcançar o ponto de viragem é equivalente à concentração de azoto orgânico total no alimento (Nielsen, 2010).



2.5.3.5. Teor de fibra bruta

A fibra bruta define-se como o resíduo de um alimento que é insolúvel após ebulição sucessiva com ácidos e bases diluídas. Foi seguido a método de *Weende* proposto por Gruber *et al.* (2011). Este é um método de análise aproximada que se baseia no facto de os hidratos de carbono totais poderem ser separados em duas categorias: fibra bruta e extrativos livres de azoto. Esta última categoria é representada em grande parte por glúcidos, à exceção da celulose e polissacáridos contaminantes (Pearson, 1976).

Levou-se à ebulição 10 g de amostra em duplicado com ácido sulfúrico (0,128 M) e depois com hidróxido de potássio (0,223 M) (Labsolve®, Portugal). A solução foi

filtrada a vácuo num cadinho de *Goosh* tarado e posteriormente seca numa estufa de convecção durante 2 horas a 130 °C. Em seguida, as amostras foram arrefecidas num exsiccador e pesadas numa balança analítica. Posteriormente, colocou-se os mesmos cadinhos de *Goosh* numa mufla a 550 °C durante 3 horas. De seguida as amostras foram arrefecidas e novamente pesadas.

2.5.3.6. Teor de fósforo total

O fósforo é um macromineral que desempenha um papel metabólico fundamental, tal como funções fisiológicas importantes. A existência de um grau adequado de fósforo na alimentação é essencial para a saúde e neste sentido torna-se necessário conhecer e controlar o seu teor nos alimentos (Mahan e Escott-Stump, 2010).

Para determinar o teor de fósforo total foi realizado inicialmente a digestão a quente de 2 g de amostra com ácido sulfúrico de acordo com Watts e Halliwell (1996), previamente descrita no subcapítulo 2.1.3.4. Este procedimento é necessário ocorrer previamente à determinação colorimétrica do teor de fósforo total, para que haja a degradação oxidativa da matéria orgânica e para que o fósforo presente no alimento se converta em fosfatos (APHA, AWWA e WEF, 2012).

O teor de fosfatos foi determinado por espectrometria de absorção molecular (Shimadzu UV-120-11, Japão) de acordo com Watanabe e Olsen (1965). Para o efeito, preparou-se o agente redutor, adicionando 250 mL de ácido sulfúrico (5N), 75 mL de molibdato de amónio (40 g/L) (Honeywell Riedel-de Haën[®], Alemanha), 2,6 g de ácido ascórbico (99,7%) (Panreac, Espanha), 25 mL de tartarato de potássio e antimónio (2,8 g/L em 500 mL) (Merck, Portugal), perfazendo com água ultrapura num balão volumétrico de 100 mL. De seguida, o agente redutor foi adicionado às amostras digeridas. Neste procedimento, os fosfatos da amostra digerida reagem com molibdato de amónio e o tartarato de potássio e antimónio, em meio ácido, formando o ácido molibdofosfórico. Este é posteriormente reduzido pelo ácido ascórbico, formando-se um complexo de coloração azul. A coloração azul é proporcional à quantidade de fosfatos existentes (APHA, AWWA e WEF, 2012). Após 20 minutos mediu-se a absorvância num espectrofotómetro UV/VIS (Shimadzu UV-120-11, Japão) a 880 nm contra um branco,

constituído por água ultrapura. O teor de fósforo total foi determinado utilizando uma reta de calibração construída com soluções-padrão de fósforo (99,5%) (Honeywell Riedel-de Haën[®], Alemanha) (0- 25 mg/100 mL) (Figura 10).

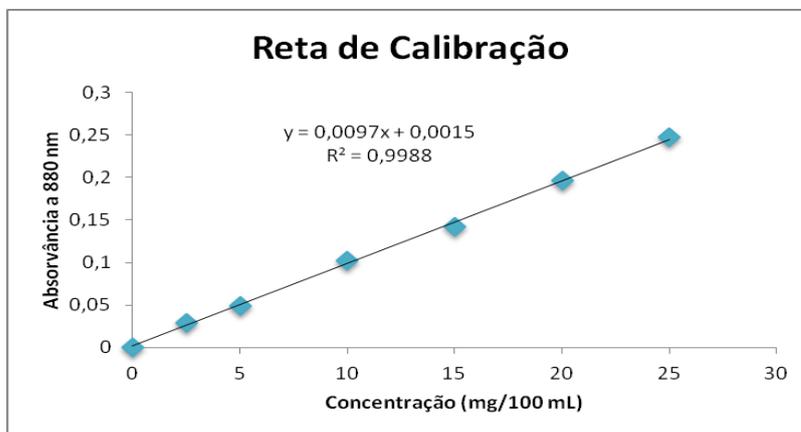


Figura 10 - Reta de calibração construída com medição de soluções-padrão de fósforo a 880 nm.

2.5.4. Caraterização funcional

Hoje em dia assiste-se cada vez mais ao aumento da procura de produtos naturais e alimentos saudáveis, que para além do seu valor nutritivo, contenham compostos bioativos que promovam benefícios para a saúde e/ou reduzam o risco de doenças crónicas (European Comisson, 2010; Stintzing e Carle, 2001).

Já foi claramente demonstrado que o aumento do consumo de hortofrutícolas reduz o risco de doenças relacionadas com a idade. Pensa-se que este mecanismo protetor ocorra devido à presença de fitoquímicos que exibem atividade antioxidante. Uma vez que estas doenças estão relacionadas, ou são agravadas, pelo *stress* oxidativo, torna-se necessário considerar os alimentos ricos em compostos antioxidantes na alimentação, de forma a obter resultados positivos, a longo prazo, na saúde (Trichopoulou e Vasilopoulou, 2000; Prior e Cao, 2000).

De forma a realizar a caraterização funcional foi necessário inicialmente proceder à preparação de sumo e também realizar o fracionamento das amostras, testando-se para o efeito, vários procedimentos de extração, nomeadamente, a preparação de extratos metanólicos, a preparação de extratos acetónicos, a realização de uma metodologia de extração com hexano e acetona e uma metodologia de extração em fase sólida.

Deste modo concentrou-se os compostos bioativos de interesse tais como as betalaínas, carotenoides e compostos fenólicos, e também se reduziu possíveis interferentes às técnicas analíticas a utilizar, como por exemplo os açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos.

2.5.4.1. Preparação do sumo

Inicialmente foi necessário preparar sumo a partir da polpa de figo piteira. Este passo é importante pois a polpa é muito densa, e neste sentido, não poderia ser utilizada nas técnicas colorimétricas utilizadas na caracterização funcional, onde é aplicada geralmente uma amostra fluída e límpida de forma a efetuar uma correta medição dos componentes presentes no figo de piteira.

A preparação do sumo foi realizada de acordo com Gurrieri *et al.* (2000), por centrifugação (Sigma 4K15C, EUA) durante 5 minutos a 200 rpm. O sobrenadante foi recolhido e filtrado a vácuo (110mm de diâmetro). As amostras de sumo foram posteriormente conservadas congeladas (-18 °C) até serem analisadas.

2.5.4.2. Fracionamento

Não existe um procedimento pré-estabelecido para a separação dos compostos com atividade antioxidante presentes no figo de piteira. Após extensa revisão da literatura foram selecionados alguns procedimentos de forma a serem testados, com o intuito de otimizar o processo de fracionamento, mas também escolher o método mais preciso, reproduzível, simples, rápido e barato (que utilize menos solventes e equipamento caro). As metodologias testadas estão descritas em seguida.

Procedimento de extração com hexano e acetona – Este procedimento foi realizado de acordo com o método proposto por Kuti (2004), sofrendo algumas alterações (Figura 11). Em suma, 10 g de amostra foram extraídas duas vezes com acetona (99,5%) (J. T. Baker[®], EUA) (Extracto I e II). O resíduo obtido foi submetido a mais duas extrações, primeiramente com uma mistura de acetona e hexano (95%) (J. T. Baker[®], EUA) (1:1, v/v) (Extrato III), e posteriormente apenas com hexano (Extrato IV). Após estas sucessivas extrações, adicionou-se uma pequena quantidade de água destilada,

ocorrendo a formação de duas fases coloridas, posteriormente separadas: fase polar e fase apolar (Figura A8.1, A8.2 e A8.3 – Anexo 8). Na fase polar estão presentes compostos aquosos, tal como as betalaínas e compostos fenólicos. Já na fase apolar espera-se encontrar compostos com reduzida solubilidade em água, tal como os carotenoides. Ambas as fases foram evaporadas separadamente. A fase polar foi redissolvida em água e a fase apolar em metanol (95%) (Labsolve[®], Portugal).

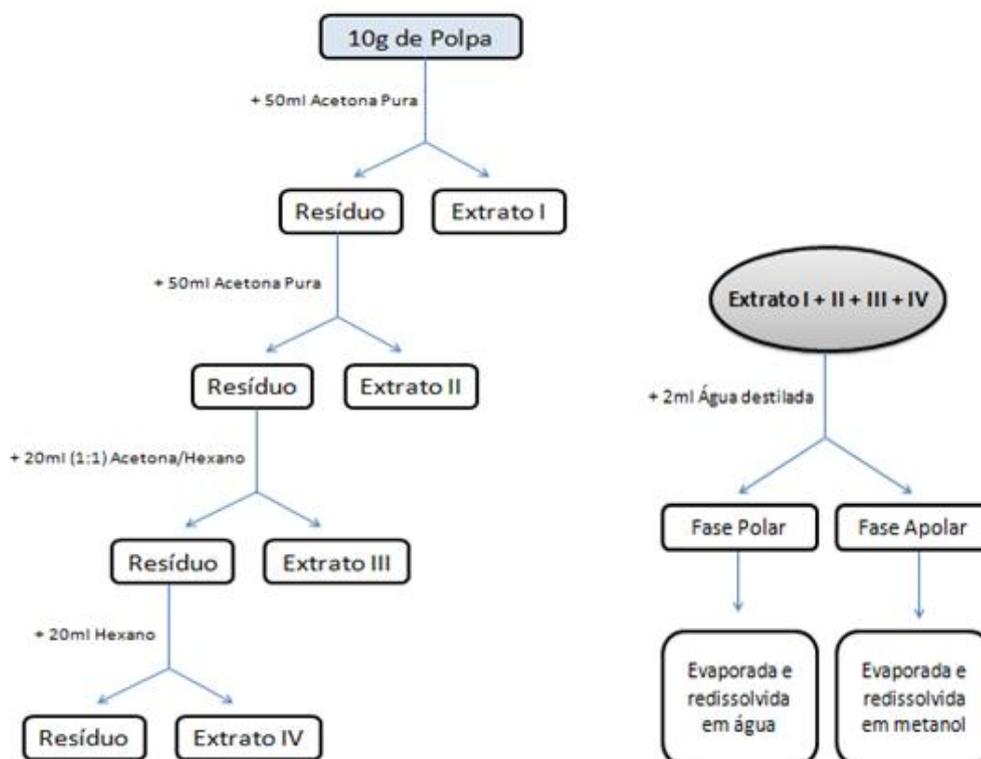


Figura 11 - Esquema do procedimento de extração com hexano e acetona.

Extratos acetónicos – Realizaram-se extratos acetónicos de acordo com o descrito por Osorio-Esquivel *et al.* (2010), com algumas modificações (Figura 12). Em suma, 10 g de amostra foram extraídos duas vezes com acetona (Extrato I e II). Em seguida, juntaram-se ambos os extratos num *Erlenmeyer* que foi posteriormente refrigerado a 5 °C durante 24 horas, ocorrendo neste período a formação de duas fases coloridas: fase aquosa e fase orgânica (extrato acetónico) (Figura A9.1, A9.2 e A9.3 – Anexo 9). À semelhança do procedimento anterior, ambas as fases foram evaporadas e redissolvidas, sendo que a fase aquosa foi redissolvida em água, e a fase orgânica foi redissolvida numa mistura de acetona e água (1:1, v/v).

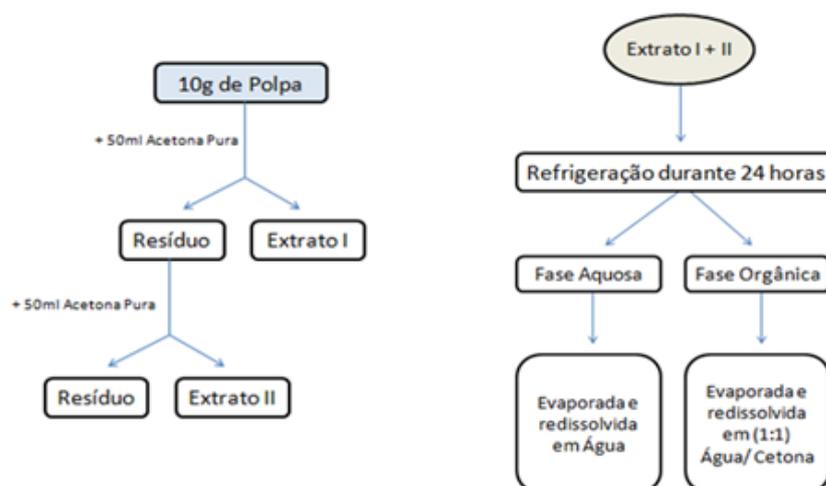


Figura 12 - Esquema do procedimento de realização de extratos acetônicos.

Extratos metanólicos – Os extratos foram obtidos de acordo com Butera *et al.* (2002), com ligeiras modificações. Inicialmente adicionou-se 4 mL de metanol a 4 g de amostra de polpa. Esta mistura foi depois colocada no vórtex (Heidolph Reax Top, Alemanha) de forma a misturar ambos os compostos. Em seguida centrifugou-se (5 minutos a 50 rpm) e filtrou-se a vácuo (110 mm de diâmetro). Os extratos foram conservados a -18 °C até serem analisados (Figura 13).

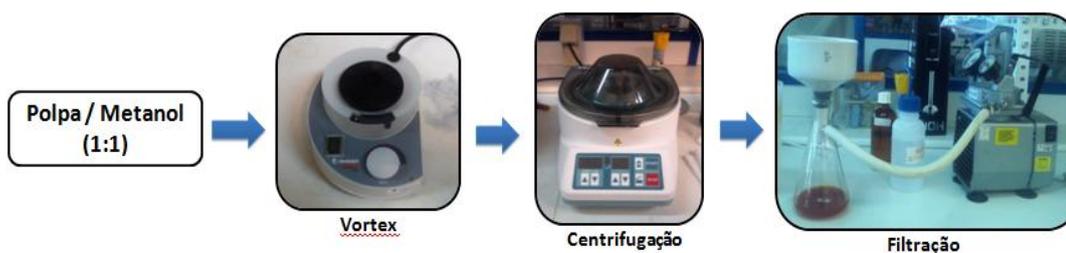


Figura 13 - Esquema da realização de extratos metanólicos.

Extração em fase sólida (Solid Phase Extraction – SPE) – A extração em fase sólida é uma técnica muito popular usada, atualmente, no tratamento rápido e seletivo de amostras. O princípio de SPE baseia-se na partição entre um líquido (matriz ou solvente com analitos) e uma fase sólida (adsorvente) contida numa coluna ou disco. Esta técnica de tratamento de amostras permite a concentração e purificação de substâncias de uma

solução, através da sua adsorção num adsorvente sólido, e a remoção de interferentes após extração (Hennion,1999; Żwir-Ferenc e Biziuk, 2006). A eficiência da separação depende das diferentes afinidades relativas para as duas fases, baseadas na adsorção, no tamanho ou na carga do composto. Este método utiliza o mesmo tipo de fases estacionárias que são utilizadas em colunas de cromatografia líquida, sendo por isso útil para a preparação de amostras para análise cromatográfica (Hennion,1999).

Neste procedimento utilizou-se uma coluna empacotada com sílica ligada a grupos octadecil (C18) (Thermo Scientific HyperSepTM C18, USA), utilizada geralmente em condições de separação de fase reversa. A separação de fase reversa envolve uma matriz polar (normalmente aquosa), ou moderadamente polar, e uma fase estacionária não polar, retendo compostos orgânicos hidrofóbicos (Żwir-Ferenc e Biziuk, 2006).

Foi seguido o procedimento de acordo com Vulić *et al.* (2012). Este procedimento de purificação de extratos foi utilizado de forma a remover ácidos orgânicos, açúcares residuais, aminoácidos e proteínas (Rigo, Vianello e Clementi, 2000).

Para todas as amostras efetuou-se inicialmente um pré-condicionamento da coluna, eluindo 5 mL de metanol e em seguida 10 mL de água acidificada (H₂SO₄) (0.005 M). Em seguida acidificou-se a amostra de sumo, através da adição de algumas gotas (3 a 4 gotas) de H₂SO₄ (0.05 M) de forma a ajustar ao pH de 2. Porém de acordo com os eluentes utilizados realizou-se três metodologias distintas descritas em seguida (Figura 14):

- **SPE1** – Metodologia utilizada para as amostras de sumo do figo verde e laranja. Inicialmente adicionou-se 5 g de sumo acidificado (Fração 1.1), e depois fez-se a eluição com 10 mL de H₂SO₄ 0.005M (Fração 1.2), 5 mL de metanol (Fração 1.3) e 5 mL de acetato de etilo (99,98 %) (Fisher Scientific, EUA) (Fração 1.4).
- **SPE2** – Metodologia utilizada também para amostras de sumo do figo verde e laranja. À semelhança do procedimento anterior, adicionou-se 3 g e 2,5 g de sumo acidificado do figo verde e figo laranja, respetivamente (Fração 2.1), eluindo em seguida com 5 mL de H₂SO₄ 0.005M (Fração 2.2), seguido de 5 mL de uma mistura de ácido fórmico (99,8 %) (Panreac, Espanha) /acetoneitrilo (ACN) (99,8

%) (J. T. Baker[®], EUA) / água ultrapura (H₂O) (5:400:595, v/v/v), designado por Eluente B (Fração 2.3), e por fim 5 mL de metanol (Fração 2.4).

- **SPE3** – Metodologia utilizada apenas para amostras de sumo do figo roxo. Em conformidade com as outras metodologias aplicadas, adicionou-se 1 g de amostra de sumo acidificado (Fração 3.1) e fez-se posteriormente a eluição com 5 mL de H₂SO₄ 0.005M (Fração 3.2), 5 mL de água destilada (Fração 3.3), 5 mL de água destilada/metanol (1:1) (Fração 3.4), 5 mL de metanol (Fração 3.5) e por fim, com 5 mL de acetato de etilo (Fração 3.6).

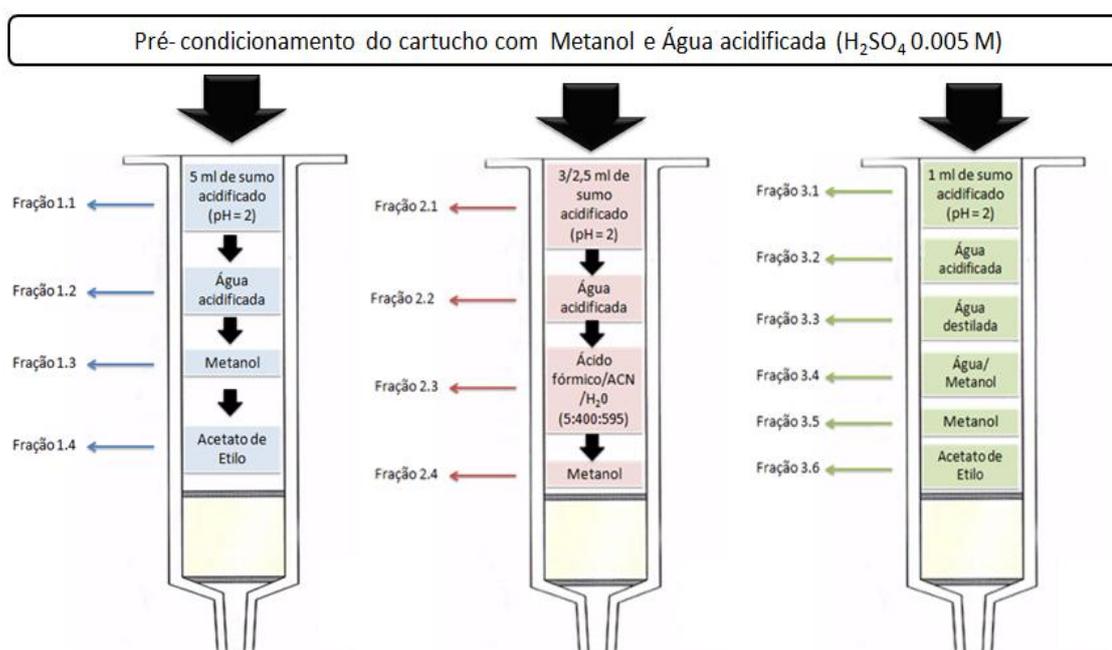


Figura 14 - Esquema da metodologia de SPE1 (esquerda), SPE2 (meio) e SPE3 (direita).

Todas as frações correspondentes a cada eluente, de cada amostra de sumo, foram recolhidas isoladamente em *vials*, sendo posteriormente conservadas a -18 °C até serem analisadas.

Os extratos obtidos através das várias técnicas de fracionamento foram utilizados para a realização da caracterização funcional das três variedades de figo de piteira, onde se determinou o teor de betalaínas, o teor de carotenoides totais, o teor de compostos fenólicos totais e também se analisou a atividade antioxidante através do ensaio de

capacidade de sequestração do radical 1, 1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e através do ensaio de poder antioxidante de redução férrica (FRAP).

2.5.4.3. Teor de betalaínas (betacianinas e betaxantinas)

As betalaínas são uma classe de pigmentos naturais hidrossolúveis encontrados nos vacúolos das plantas da ordem *Caryophyllales*, da qual pertence o género *Opuntia*. As betalaínas estão divididas em dois grupos: as betacianinas, que conferem a cor vermelho-roxo, e as betaxantinas, que conferem a cor amarelo-laranja. Estes pigmentos são compostos azotados derivados do ácido betalâmico (Figura 15) (Clement e Mabry, 1996).

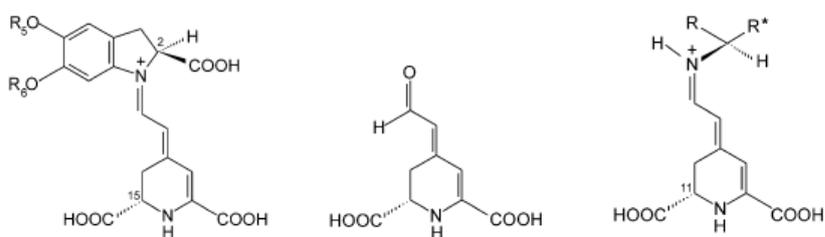


Figura 15 - Estrutura das betacianinas (esquerda) e betaxantinas (direita), bem como a unidade estrutural de ambos, o ácido betalâmico (meio) (Stintzing e Carle, 2001).

O primeiro isolamento de betalaínas foi realizado na beterraba da espécie *Beta Vulgaris*, tendo atualmente uma ampla utilização como corante em inúmeros produtos alimentares. A sua cor é mantida numa gama de pH entre 3 a 7, sendo por isso um corante ideal para produtos pouco ácidos (Sobkowska, Czapski e Kaczmarek, 1991).

As betalaínas são conhecidas por apresentarem uma elevada atividade antioxidante (Escribano *et al.*, 1998; Cai, Sun e Corke, 2003; Kanner, Harel e Granit, 2001), atuando por inibição da peroxidação lipídica e decomposição *in vitro* do grupo heme e ainda apresentam atividade anticancerígena *in vivo* (Tesoriere *et al.*, 2004; Tesoriere *et al.*, 2005; Siriwardhana, Shahidi e Jeon, 2006).

Também já foram identificadas e quantificadas betalaínas no figo de piteira (Stintzing e Carle, 2001). A extração e utilização dos pigmentos deste fruto poderá constituir uma vantagem em relação à utilização dos pigmentos extraídos da beterraba, uma vez que

têm menor risco de contaminação microbiológica, não têm nitratos, não possuem um sabor desagradável, e para além disso, poderão contribuir para a melhoria do produto final, uma vez que o figo de piteira tem, adicionalmente, propriedades nutricionais e funcionais interessantes (Castellar *et al.*, 2003).

O teor de betacianinas e betaxantinas foi determinado espectrofotometricamente (Pharmacia Novaspec II Rapid, Alemanha), de acordo com a metodologia proposta por Sumaya-Martínez *et al.* (2011). Sumariamente, mediu-se a absorvância de 3 mL de amostra ao comprimento de onda de 535 nm para a deteção de betacianinas, e 480 nm para a deteção de betaxantinas. A determinação de betacianinas e betaxantinas foi realizada de acordo com a equação:

$$\text{Teor de Betacianinas ou Betaxantinas (mg/100mL)} = \frac{A \times FD \times MM \times 100}{\epsilon \times l}$$

onde: A= Absorvância a 535/480 nm; FD= Fator de diluição; MM= Massa molecular; ϵ = Coeficiente de extinção molar. Para a determinação do teor de betacianinas foi utilizado um coeficiente de extinção de 60000 L.mol⁻¹ cm⁻¹ e a massa molar de 550 g/mol. Já na determinação do teor de betaxantinas utilizou-se um coeficiente de extinção de 48000 L.mol⁻¹cm⁻¹ e a massa molar de 308 g/mol. Os resultados de betacianinas e betaxantinas foram expressos em mg equivalente de betanina e indicaxantina, respetivamente, por 100 g sumo em peso fresco.

2.5.4.4. Teor de carotenoides

Os carotenoides são pigmentos naturais lipossolúveis encontrados nas membranas dos cloroplastos e cromoplastos das plantas, mas também em organismos fotossintéticos. Este pigmento apresenta uma coloração que vai do amarelo ao vermelho, porém, por vezes a sua cor é mascarada pelas clorofilas, que são mais abundantes nas plantas. Estruturalmente, estes pigmentos são tetrapenoides que se podem dividir em duas classes: os carotenos e as xantofilas (Bartley e Scolnik, 1995).

No reino animal, os carotenoides não podem ser obtidos por síntese endógena e em particular, os carotenoides com atividade de provitamina A (β -caroteno) são fundamentais para a saúde humana, tornando-se por isso necessário obtê-los através da

alimentação. Alguns estudos demonstram que a ingestão de alimentos ricos em carotenoides, tais como os hortofrutícolas, pode ter um efeito protetor contra doenças crónicas. A utilização deste pigmento como corante, pela indústria alimentar, também é bastante relevante (Diplock *et al.*, 1998).

O teor de carotenoides foi determinado através de um método desenvolvido por Biehler *et al.* (2010). As amostras foram medidas espectrofotometricamente (Figura 16) a uma absorvância de 450 nm. Posteriormente o teor de carotenoides totais foi calculado utilizando o coeficiente de extinção molar de $135310 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ e a massa molar de β -caroteno de 537 g/mol. Os resultados foram expressos em mg equivalente de β -caroteno /100 g sumo em peso fresco.



Figura 16 - Espectrofotómetro Novaspec II Rapid, Pharmacia Biotech.

2.5.4.5. Teor de compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos podem ser definidos como uma ampla classe de compostos químicos que possui pelo menos um anel aromático ligado a um, ou mais grupos hidroxilo, e ligados a derivados funcionais (Figura 17). Estes compostos estão presentes numa grande variedade de hortofrutícolas, podendo encontrar-se na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas (Croft, 1998).

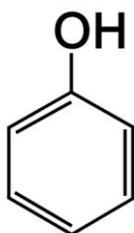


Figura 17 - Estrutura química do fenol, a estrutura base dos compostos fenólicos.

De acordo com a solubilidade, pode-se distinguir alguns compostos tais como os ácidos fenólicos, flavonoides e quinonas que são hidrossolúveis, e as proantocianidinas, ligninas e ácidos hidroxicinâmicos que possuem uma solubilidade reduzida em água, sendo por isso solúveis em solventes orgânicos (Risipail, Morris e Webb, 2005). Estas diferenças são relevantes para a separação e quantificação dos diferentes compostos fenólicos encontrados nas matrizes alimentares (Antolovich, Prenzler e Ryan, 2000).

Os compostos fenólicos demonstram possuir atividade antioxidante, sequestrando radicais livres e inibindo a peroxidação lipídica (Cook e Samman, 1996; Hollman, Hertog e Katan, 1996). Estas propriedades fazem com que os alimentos ricos em polifenóis demonstrem ter múltiplos efeitos benéficos na saúde humana, atuando na proteção de doenças degenerativas (Hertog, *et al.*, 1993, Jacob *et al.*, 2008). Verifica-se igualmente que estes compostos contribuem para a qualidade sensorial dos frutos (Fernandez de Simon *et al.*, 1992).

No que diz respeito ao figo de piteira, Kuti (2000) refere que a sua atividade antioxidante é atribuída, na sua maioria, a flavonoides, nomeadamente à quercitina, kaempferol e isoramnetina.

Para a determinação do teor de compostos fenólicos totais foi utilizado um método espectrofotométrico UV/VIS baseado numa reação colorimétrica de oxidação/redução proposto por Fernández-López *et al.* (2010). Para o efeito, utilizou-se o reagente de *Folin-Ciocalteu*, de coloração amarela, composto por ácido fosfotúngstico e ácido fosfomolibdico. Este reagente ao ser adicionado à amostra é reduzido (oxidando os compostos fenólicos desta amostra) e adquire uma coloração azul, por formação de um complexo (cromóforo) composto por uma mistura de óxidos de tungsténio e molibdénio. A intensidade da cor azul é diretamente proporcional à concentração linear de compostos fenólicos da amostra, porém, para que ocorra a máxima absorção deste complexo azul, é necessário que toda a reação ocorra em meio alcalino.

Em suma, num tubo de ensaio adicionou-se 0,5 mL de amostra e posteriormente 2,5 mL de reagente *Folin* (Chem-Lab NV, Bélgica) com o fator de diluição 1:10. Homogeneizou-se a solução e deixou-se em repouso durante cinco minutos. Após este

período a reação foi neutralizada através da adição de 2 mL de solução de carbonato de sódio (2g/L) (Honeywell Riedel-de Haën[®], Alemanha). Seguidamente, a solução foi incubada durante 5 minutos a 45 °C em banho-maria. Após este período de tempo, a amostra foi incubada no escuro durante mais 10 minutos. Por fim mediu-se a absorvância das amostras a 760 nm. Utilizou-se soluções-padrão de ácido gálico (0-100 mg/L) (Sigma-Aldrich[®], Alemanha) para a construção de uma reta de calibração, sendo os resultados expressos em mg equivalente de ácido gálico por 100 g sumo em peso fresco.

É importante salientar que neste método existem algumas substâncias consideradas interferentes que podem dar resultados incorretos, entre elas destacam-se os açúcares, as aminas aromáticas, o enxofre, o dióxido de carbono, o ácido ascórbico, bem como, os ácidos orgânicos. Neste sentido a correção para estas substâncias interferentes deve ser realizada (Schofield, Mbugua e Pell, 2001; Pelozo, Cardoso e Melo, 2008).

2.5.4.6. Atividade antioxidante

Existe uma evidência crescente que as espécies reativas de oxigénio (ERO) e o dano oxidativo estão envolvidos em várias doenças inflamatórias e degenerativas. A produção excessiva de ERO causa um desequilíbrio, levando ao dano oxidativo de macromoléculas como os lípidos, as proteínas e o ácido desoxirribonucleico (ADN). Para tal, existe um conjunto de antioxidantes endógenos que podem neutralizar a formação excessiva ou inadequada destes mesmos compostos reativos. Alguns alimentos, como os hortofrutícolas, possuem fitoquímicos com propriedades antioxidantes, que ao serem ingeridos, irão complementar a resposta neutralizadora contra os ERO (Prior e Cao, 2000; Sun *et al.*, 2002).

A cooperação entre os diferentes antioxidantes leva a uma maior proteção dos ERO, em oposição à ação de um só composto. Portanto, a avaliação da atividade antioxidante total pode dar uma informação mais relevante, do que a análise de um composto isolado (Ghiselli *et al.*, 2000).

Deste modo, foram utilizadas duas metodologias diferentes de determinação da atividade antioxidante, nomeadamente o ensaio da capacidade de sequestração do

radical 1, 1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e o ensaio do poder antioxidante de redução férrica (*Ferric Reducing Antioxidant Power* - FRAP).

2.5.4.6.1. Capacidade de sequestração do radical 1, 1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

Este ensaio baseia-se na medição da capacidade dos antioxidantes da amostra sequestrarem o radical DPPH. Neste ensaio colorimétrico os antioxidantes atuam maioritariamente por transferência de eletrões e marginalmente por transferência de átomos de hidrogénio, neutralizando o radical DPPH, o que leva por sua vez à perda da sua cor púrpura característica, adquirindo uma coloração amarela. A atividade antioxidante da amostra é inversamente proporcional à quantidade de DPPH na forma inicial (Prior, Wu e Schaich, 2005).

O ensaio de DPPH foi realizado através de um método espectrofotométrico UV/VIS descrito por Piga *et al.* (2003). Num tubo de ensaio juntou-se 50 µg de amostra a 2,5 mL de solução DPPH (100 µM) (Sigma-Aldrich® Fluka, Alemanha). Em paralelo foi realizado o mesmo procedimento para um branco constituído por metanol. Incubou-se as amostras e o branco no escuro à temperatura ambiente durante 30 minutos. Após este período mediu-se a absorvância a 515 nm num espectrofotómetro. Utilizou-se soluções-padrão de ácido gálico (0-40 mg/L) para a construção de uma reta de calibração, sendo os resultados expressos em mg equivalente de ácido gálico por 100 g sumo em peso fresco.

Este ensaio apresenta como vantagens, o facto de ser simples, rápido e não precisar de nenhum equipamento especial. No entanto, a interpretação pode ser dificultada quando a amostra tem constituintes com espectros que se sobrepõem ao do DPPH (515 nm), como por exemplo, os carotenoides. A cor do DPPH pode ser perdida devido a reações radicalares, reações de oxidação/redução, bem como através de reações independentes, em que moléculas pequenas têm melhor acesso ao sítio ativo da radical, demonstrando uma aparente maior atividade antioxidante (Prior, Wu e Schaich, 2005; Alam, Bristi e Rafiquzaman, 2013).

2.5.4.6.2. Poder antioxidante de redução férrica (FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Este ensaio mede a capacidade dos antioxidantes, de uma determinada amostra, reduzirem o ião férrico. O ensaio FRAP é baseado na redução de um complexo de 2,4,6-tripiridilo-s-triazina (TPTZ) com o ião férrico (Fe^{3+}), a um complexo de cor azul, com o ião ferroso (Fe^{2+}). Esta reação tem de ocorrer a um pH baixo (3,6) de forma a manter a solubilidade do ferro. Esta redução pode ser observada através da medição da absorvância num espectrofotómetro ao comprimento de onda de 593 nm (Prior, Wu e Schaich, 2005; Alam, Bristi e Rafiquzzaman, 2013).

O ensaio FRAP foi realizado de acordo com descrito por Benzie e Strain (1999). Preparou-se previamente o reagente de FRAP (Figura 18) através da adição de: *i*) tampão acetato a pH: 3,6 (300 mM) (3,1 g acetato de sódio trihidratado, 16 mL ácido acético glacial e água destilada); *ii*) TPTZ (Sigma- Aldrich[®], Alemanha) (10 mmol/L em 40 mmol/L HCl (Panreac, Espanha)); *iii*) cloreto de ferro (20 mmol/L) (Panreac, Espanha). Os componentes *i*, *ii* e *iii* foram misturados num frasco opaco de plástico numa proporção de 10:1:1. Num tubo de ensaio adicionou-se 100 µg de amostra a 3 mL de reagente FRAP. Incubou-se durante 15 minutos a 37 °C em banho-maria. Após este período, mediu-se a absorvância das amostras a um comprimento de onda de 593 nm. Construiu-se uma reta de calibração utilizando soluções-padrão de sulfato ferroso (Panreac, Espanha) (FeSO_4) numa gama de concentrações de 0-1 mM. Os resultados foram expressos em mmol equivalente de sulfato ferroso por 100 g sumo em peso fresco.



Figura 18 - Preparação do Reagente FRAP.

O ensaio FRAP, em comparação com outros ensaios de atividade antioxidante, é simples, rápido, barato, robusto e não requer equipamento especializado. Contudo, não deteta antioxidantes que atuam através da transferência de átomos de hidrogénio, em particular, tióis e proteínas, provocando uma subestimação de compostos antioxidantes. Os antioxidantes podem em alguns casos, atuar por múltiplos mecanismos dependendo do sistema de reação e podem para além disso, responder de diferente forma a um radical ou a outros antioxidantes (Prior, Wu e Schaich, 2005). O facto de a reação ocorrer a um pH baixo faz com que haja uma diminuição do potencial de ionização que comanda a transferência de eletrões e aumenta o potencial redox, causando uma mudança no mecanismo de reação dominante. Isto faz com que por vezes os resultados através do ensaio FRAP não sejam comparáveis a outros ensaios de atividade antioxidante (Prior, Wu e Schaich, 2005; Alam, Bristi e Rafiqzaman, 2013).

2.5.4.7. Cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography – HPLC*)

A cromatografia é um termo geral aplicado a uma grande variedade de técnicas de separação, que se baseiam na distribuição dos diferentes componentes de uma amostra, entre uma fase móvel e uma fase estacionária. Cada componente da amostra é diferencialmente retido na fase estacionária devido a forças físicas e químicas (adsorção à superfície, solubilidade relativa e carga) que atuam entre o soluto e as duas fases. A diferença na magnitude dessas forças determinará a separação individual dos componentes (Meyer 2010; Nielsen 2010).

Os métodos cromatográficos podem ser classificados de acordo com a natureza da fase estacionária e móvel, nomeadamente, os seus estados físicos e os mecanismos de divisão. A fase móvel pode ser um gás, um líquido ou um fluido supercrítico, enquanto a fase estacionária pode ser um líquido, mas mais usualmente, é um sólido. De acordo com os mecanismos de separação distingue-se a adsorção, a partição, a exclusão molecular e a permuta iónica. Em função da polaridade das duas fases, a cromatografia pode classificar-se em fase normal, quando a fase estacionária é polar e a fase móvel é apolar, ou então classificar-se em fase reversa, quando a fase estacionária é apolar e a fase móvel é polar (Nielsen 2010).

A cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) é uma otimização da cromatografia líquida em coluna, caracterizada pela utilização de colunas em aço inox estreitas (2-5 mm diâmetro), empacotadas com partículas de tamanho muito pequeno (3-10 μm) que constituem a fase estacionária, e uma fase móvel, que circula a alta pressão ao longo da coluna com um fluxo controlado. A alta pressão permite análises mais rápidas, enquanto o uso de fases estacionárias constituídas por micropartículas, permite uma elevada eficiência na separação (Meyer, 2010; Skoog, 2007).

Em geral, a técnica de HPLC é um processo dinâmico, onde as moléculas dos analitos interagem com diferente afinidade relativamente ao material poroso da fase estacionária. A cromatografia de fase reversa é o modo de HPLC mais utilizado, pois é adequado para a análise de analitos polares (solúveis em água), de polaridade média e ainda alguns analitos apolares. A eluição pode ser do tipo isocrático, quando a composição da fase móvel não varia no decurso da análise cromatográfica, ou então de gradiente quando a composição dos eluentes é variável. A técnica de HPLC, apesar de ser frequentemente utilizada de forma analítica, também pode ser utilizada como técnica preparativa (Meyer, 2010).

Na análise de alimentos, é geralmente aplicado em pequenas moléculas e iões tais como açúcares, vitaminas e aminoácidos, sendo também utilizado na separação e purificação de macromoléculas, como proteínas e polissacáridos (Meyer 2010; Nielsen 2010).

Um sistema de HPLC (Figura 19) é constituído por uma bomba, um sistema de injeção, uma coluna de separação, um detetor e um registrador (Nielsen 2010).



Figura 19 - Sistema de HPLC.

O detetor de vetor de díodos (*Diode Array Detector - DAD*) é um tipo de detetor constituído por um conjunto de díodos que permite a absorção de luz no espectro UV/VIS (190 – 700 nm). Cada díodo mede um diferente comprimento de onda, produzindo-se simultaneamente uma gama de múltiplos comprimentos de onda, que após serem processados originam um espectro da eluição dos analitos da amostra. Desta forma, existe a informação adicional do espectro de absorção de cada um dos analitos, que contribui para a sua identificação, juntamente com o tempo de retenção. Este detetor também é útil para monitorizar dois compostos com diferentes espectros que co-eluem, ou para determinar a pureza de um pico, ou quantificar um pico quando existem interferências (Skoog, 2007).

Foi realizado a determinação do perfil de compostos fenólicos de cada variedade figo de piteira por HPLC-DAD. Para o efeito procedeu-se à realização de extratos de acetato de etilo de acordo com Butera *et al.* (2002). Inicialmente adicionou-se 2 mL de acetato de etilo a 4 g de polpa de figo de piteira. Em seguida, a mistura foi centrifugada (5 minutos a 50 rpm), recolhendo-se o sobrenadante para um balão volumétrico de 100 mL. Ao resíduo resultante adicionou-se mais 2 mL de acetato de etilo, sendo realizado o mesmo procedimento tal como referido anteriormente, totalizando 3 extrações com acetato de etilo. Os sobrenadantes recolhidos foram evaporados à secura a 50 °C e redissolvidos em 1,5 mL de uma mistura de ácido fórmico/ACN/H₂O (5:400:595, v/v/v). Os extratos foram filtrados, utilizando um filtro de 0,22 µm, de forma a remover partículas que

pudessem interagir com a coluna cromatográfica, danificar ou até mesmo alterar os próprios resultados.

Utilizou-se um sistema de HPLC Finningan™ SpetraSystem™ (Thermo Fisher Scientific, EUA) constituído por um desgaseificador (SCM1000), uma bomba binária de gradiente (P2000), um amostrador automático (AS1000), um controlador UV (SM4000) e um detetor de díodos (UV6000LP). Foi utilizada uma coluna de fase reversa C18 (3µm, 250 x 4,6 mm *i.d.*) (Interchim Kromasil® Interchrom, França). Recorreu-se ao *software Xcallibur* para a análise dos cromatogramas.

Foi utilizada uma metodologia de acordo com Bravo *et al.* (2006). A fase móvel foi constituída por dois eluentes: eluente A – água e ácido fórmico 0,5% (v/v) e o eluente B - ácido fórmico, acetonitrilo e água (5:400:595, v/v/v), tendo sido utilizado o programa de eluentes descrito na Tabela 2. As amostras foram injetadas utilizando um volume de injeção de 20 µL e o fluxo da fase móvel foi de 0,7 mL/minuto.

Tabela 2 - Programa de eluentes utilizado na determinação do perfil de compostos fenólicos por em HPLC-DAD.

Tempo de análise (minutos)	Eluente B (%)
0 - 15	0 - 20
15 - 25	20
25 - 70	20 - 70
70 - 75	70
75 - 85	70 - 100
85 - 100	100
100 - 101	0
101 - 110	0

Efetuuou-se a aquisição entre 200 nm e 600 nm de forma a cobrir os comprimentos de onda máximos de absorção dos principais grupos de compostos fenólicos, utilizando comprimentos de onda seletivos para deteção específica de ácidos hidroxibenzóicos e flavanóis ($\lambda_{\text{máx.}} = 280 \text{ nm}$), ácidos hidroxicinâmicos ($\lambda_{\text{máx.}} = 320 \text{ nm}$) e flavonóis ($\lambda_{\text{máx.}} = 360 \text{ nm}$).

OUTRAS ATIVIDADES

Para além do referido, também foram realizadas atividades extracurriculares durante o período do Estágio Profissionalizante I e II, descritas por ordem cronológica em seguida.

1. Centro de Estudos e Investigação em Dinâmicas Sociais e Saúde

Esta atividade foi realizada durante o mês de Outubro de 2012 no Centro de Estudos e Investigação em Dinâmicas Sociais e Saúde (CEIDSS) da Universidade Atlântica, perfazendo a carga horária total de 18 horas.

As atividades foram desenvolvidas no âmbito de um dos projetos coordenados pelo CEIDSS, o Programa de Promoção de Saúde Infantil (MUN-SI). Um dos aspetos contemplados neste programa é a realização de meses temáticos nas escolas, sendo que cada mês corresponde a um alimento.

No mês em que decorreu a atividade extracurricular, o alimento escolhido foi a castanha. Neste sentido, foi proposto a realização de um artigo para ser colocado no *site* do MUN-SI sobre a castanha, destinado a um leitor generalista, sem conhecimentos profundos sobre nutrição.

O artigo realizado (Anexo 10) foi dividido com um formato lógico, em que a primeira parte contemplava a origem do castanheiro, o papel da castanha na história portuguesa e a importância socioeconómica da castanha na atualidade. A segunda parte continha uma caracterização nutricional da castanha, em que era referido a relação dos nutrientes com possíveis benefícios para a saúde, apresentado a castanha como uma boa valia para uma alimentação saudável. Numa terceira e última parte verificou-se as diferenças das diversas formas de consumir a castanha e qual a sua utilização.

2. Os Lanches da Manhã e Tarde: O que escolher

Esta ação de sensibilização decorreu no âmbito do “Projeto Cozinha Saudável e Escolhas em Conta” da CMA (descrito anteriormente no subcapítulo 1.5.) no dia 23 de Fevereiro de 2013 na escola JI da Brandoa.

Esta atividade, à semelhança das ações anteriores decorridas no âmbito deste projeto, compreendeu uma metodologia teórico-prática em que foram divididos os pais/encarregados e filhos em dois grupos. As atividades desenvolvidas foram apenas realizadas ao grupo das crianças, estando dirigidas para um leque de idades compreendida dos 3 aos 9 anos de idade.

A parte teórica foi realizada com uma apresentação em formato digital de *Power Point* (Anexo 11). Inicialmente colocou-se um conjunto de imagens de alimentos aleatórios colados na parede, que são geralmente consumidos no lanche da manhã e da tarde. Depois pediu-se aos intervenientes que organizassem as imagens em dois grupos distintos: alimentos saudáveis e não saudáveis, questionado o motivo da escolha da criança. Esta primeira parte teve como objetivo perceber o nível de conhecimentos destas crianças, mas também estimular a sua interação.

Depois demonstrou-se a diferença entre os diferentes tipos de sumos e refrigerantes, enchendo um copo com a quantidade de açúcar que tinha a bebida em questão. Posteriormente mostrou-se como era feito um *croissant* e quais os ingredientes utilizados na sua confeção. Para o efeito juntou-se numa tigela todos os seus ingredientes, de forma a evidenciar a grande quantidade de manteiga que é utilizada na confeção deste produto. Por fim explicou-se quais os grupos de alimentos que deveriam constituir os lanches, dando várias opções dentro de cada grupo de alimentos.

Na parte prática pediu-se às crianças que preparassem um lanche para si e para os seus pais/encarregados, com vários alimentos expostos numa mesa, tal como pão e cereais, hortofrutícolas, leite e derivados, frutos secos, compotas, entre muitos mais.

3. Caracterização nutricional e funcional do cladódio de *Opuntia spp.*

A atividade decorreu no âmbito de colaboração no estágio da minha colega Ana Margarida Costa realizado na FCT/UNL durante o mês de Julho de 2013, onde foi proposto a realização da caracterização nutricional e funcional do cladódio de *Opuntia spp.*

A caracterização nutricional foi realizada através da determinação do teor de humidade, teor de cinzas, proteína bruta, gordura bruta e teor de pectina. A caracterização funcional foi efetuada através da determinação do teor de compostos fenólicos totais, sendo que a atividade antioxidante foi analisada através do ensaio FRAP e o ensaio DPPH.

4. Eventos científicos

- **I Simpósio sobre Nutrição e Alimentação dos 0 aos 18 anos**

Este evento realizou-se no dia 1 de Março de 2013 no Edifício Egas Moniz da Faculdade de Medicina de Lisboa, tendo como temas principais a estratégia na promoção de uma alimentação saudável, métodos de avaliação do estado nutricional infantil e técnicas de culinária saudável em idade pediátrica.

- **Congresso “ Influências Nutricionais na Prevenção das Doenças Cardiovasculares”**

Este evento decorreu no dia 21 de Março de 2013 no auditório da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, onde foi abordado essencialmente o papel da alimentação na prevenção de doenças cardiovasculares.

- **Seminário “Comportamento Alimentar: da Biologia à Patologia”**

Este evento pertence ao Ciclo de Seminários Nutrição Hospitalar, promovido pela Ordem dos Nutricionistas, e decorreu no dia 20 de Setembro de 2013 no Edifício Egas Moniz da Faculdade de Medicina de Lisboa, onde foi abordado os determinantes do comportamento alimentar, intervenção cirúrgica na obesidade e doenças do comportamento alimentar.

CONCLUSÃO

Esta foi uma etapa fundamental e indispensável para a minha formação e desenvolvimento profissional, contribuindo em muito para o meu enriquecimento profissional.

O Estágio é como um elo entre o mundo académico e o mundo profissional, revelando-se até ao momento, uma experiência maravilhosa, em que foi possível articular a teoria com a prática. Concluída esta etapa, posso afirmar que cumpri os objetivos propostos inicialmente.

O estágio do 1º semestre na CMA teve um balanço muito positivo, apesar das minhas expectativas não serem muito elevadas ao início. Agora afirmo, sem sombra de dúvida, que me sinto privilegiada de ter podido estagiar neste local. Fica assim patente que não há nada como a prática para conhecer verdadeiramente as várias realidades que nos cercam. Foi motivante e também enriquecedor a nível pessoal, a interação com crianças, principalmente o contacto com crianças de realidades diferenciadas. Trabalhar diretamente com este público-alvo permitiu-me desenvolver e otimizar capacidades discursivas e argumentativas.

Já o estágio do 2º semestre na FCT/UNL decorreu no âmbito da área da Investigação, o que por si só constituiu um desafio. A aplicação de conhecimentos de outras áreas paralelas à Nutrição, tal como a Química, Bioquímica e Tecnologia Alimentar, permitiram-me desenvolver e aprofundar alguns conhecimentos. A realização de técnicas laboratoriais foi muito gratificante, e se não fosse o estágio na FCT/UNL muito dificilmente teria oportunidade de os ter. Este estágio acabou por me apresentar novos horizontes e permitiu-me perceber que nenhuma área científica pode atuar isoladamente, porque no meio científico todas as disciplinas estão interligadas e precisam de atuar em conjunto de forma a permitir o avanço da ciência.

Ao fim de quatro anos curriculares, é com orgulho que dou por concluído esta última etapa da Licenciatura em Ciências da Nutrição, estando plenamente confiante em ingressar na vida profissional ativa.

BIBLIOGRAFIA

Alam, M. N., Bristi, N. J. e Rafiquzzaman, M. (2013). “Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity”, *Saudi Pharm J*, **21**, 2, pp.143-52.

Amadora Educa. (2012). *Projetos de Alimentação Saudável*. Disponível *on-line*: <http://educa.cm-amadora.pt/index.php/projectos/alimentacao-saudavel/orquestras-geracao-4>. Último acesso em 06-02-2013.

Anaya- Pérez, M. A. (2001). History of the use of *Opuntia* as forage in Mexico. **In** Mondragón-Jacobo, C. e Pérez-Gonzalez, S. (Eds.) *Cactus (Opuntia spp.) as forage* (169). Roma: FAO Plant Production and Protect Paper.

Antolovich, M., Prenzler, K. R. e Ryan, D. (2000). “Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits”, *Analyst*, **125**, pp. 989-1009.

AOAC. (1990). **In** Helrich, K. (Ed.). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15ª ed. Arlington: AOAC.

APHA, AWWA e WEF. (2012). **In** Rice, E. W., Baird, R. B., Eaton, A. D. e Clesceri, L. S. (Eds.). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22ª ed. Washington: Centennial Edition.

Bartley, G. E. e Scolnik, P. A. (1995). “Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction, and Human Health”, *Plant Cell*, **7**, 1027-38.

Benzie, F. F. e Strain, J. J. (1999). “Ferric Reducing/ Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration”, *Meth. Enzymol*, **299**, pp. 15-23.

Biehler, E., Mayer, F., Hoffmann, L., Krause, E. e Bohn, T. (2010). “Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables”, *J Food Sci*, **75**, 1, pp. 55-61.

Botanical-online. (2013). *Opuntia ficus-indica (L) Miller*. Disponível *on-line*: <http://www.botanical-online.com/fotosopuntiaficusindica.htm>. Último acesso em 15-02-2014.

Bravo, M. N., Silva, S., Coelho, A.V., Vilas Boas, L. e Bronze, M. R. (2006). “Analysis of phenolic compounds in Muscatel wines produced in Portugal”, *Anal. Chim. Acta*, **563**, 1-2, pp. 84-92.

Butera, D., Tesoriere, L., di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, M. A., Kohen, R. e Livrea, M. A. (2002). “Antioxidant activities of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin”, *J. Agric. Food Chem*, **50**, pp. 6895-901.

Cai, Y., Sun, M. e Corke, H. (2003). “Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae”, *J. Agric. Food. Chem*, **51**, 8, pp. 2288-94.

Carvalho, M. e Mansinho, M. (1988). “Figueiras da Índia”, *Sulco*, **71**, pp. 4-5.

Castellar, R., Obón, J. M., Alacid, M. e Fernández-López, J. A. (2003). “Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits”, *J. Agric. Food Chem*, **51**, pp. 2772–6.

CLAS. (2011). *Diagnóstico Social 2011*. Amadora: Núcleo Executivo do Conselho Local de Ação Social.

Clement, J. S. e Mabry, T. J. (1996). “Pigment evolution in the *Caryophyllales*: a systematic overview”, *Bot. Acta*, **109**, pp. 360-7.

CMA. (2012a). *Conhecer a Amadora*. Disponível *on-line* em: http://www.cm-amadora.pt/PageGen.aspx?WMCM_PaginaId=28302&WMCM_RootMenuId=27525&WMCM_MenuId=31117. Último acesso em 06-02-2013.

CMA. (2012b). *Projetos – Divisão de Intervenção Social*. Disponível *on-line* em: http://www.cm-amadora.pt/PageGen.aspx?WMCM_PaginaId=29229. Último acesso em 06-02-2013.

Cook, N. C., e Samman, S. (1996). “Flavonoids - chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources”, *J Nutr Biochem*, **7**, 66-76.

Croft, K. D. (1998). “The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids”, *Ann NY Acad Sci*, **854**, pp.435-42.

DIG. (2012). *Censos 2011 – Síntese dos Resultados Definitivos*. Relatório preparado para a Câmara Municipal da Amadora. Amadora: Divisão de Informação Geográfica.

Diplock, A. T., Charleux, J. L., Crozier-Willi, G., Kok, F. J., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., Stahl, W., Vina-Ribes, J. (1998). “Functional food science and defense against reactive oxidative species”, *Br J Nutr*, **80**, 1, pp. 77-112.

Escribano, J., Pedreño, M. A., García-Carmona, F. e Muñoz, R. (1998). “Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris L.* roots”, *Phytochem. Anal.*, **9**, pp. 124-7.

European Commission. (2010). *Functional Foods*. Luxemburgo: Publications Office of the European Union.

FAO. (2003). “Food energy - methods of analysis and conversion factors”, *FAO Food Nutr Pap*, **77**.

FAO-ICARDA Cactusnet (2013). *Why Cacti are important?* Disponível *on-line* em: http://www.cactusnet.org/cacti_importance. Último acesso em 15-11-2013.

FCT (2013a). *Faculdade*. Disponível *on-line* em: <http://www.fct.unl.pt/faculdade>. Último acesso em 15-11-2013.

FCT (2013b). *Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa*. Disponível *on-line* em: <http://www.dctb.fct.unl.pt/departamento-de-ciencias-e-tecnologia-da-biomassa>. Último acesso em 15-11-2013.

Fernandez de Simon, B., Perez-Illarbe, J., Hernandez, T., Gomez-Cordoves, C. e Estrella, I. (1992). “Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices”, *J. Agric. Food Chem*, **40**, 9, pp. 1531-5.

Fernández-López, J. A., Almela, L., Obón, J. M. e Castellar, R. (2010). “Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits”, *Plant Foods Hum Nutr*, **65**, pp. 253-9.

Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F. e Scaccini, C. (2000). “Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data”, *Free Radic Biol Med*, **29**, 11, pp. 1106-14.

Gruber, A., Pop, I. M., Păsărin, B. e Albu, A. (2011). “Nutritional evaluation of raw materials entering the structure to mixed fodder for the specie *Poecilia reticulata* (Guppy)”, *J Anim Sci Biotechnol.*, **44**, 1, pp. 51-4.

Gurrieri, S., Miceli, L., Lanza C. M., Tomaselli, F., Bonomo, R. P. e Rizzarelli, E. (2000). “Chemical characterization of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) and perspectives for the storage of its juice”, *J. Agric. Food Chem*, **48**, pp. 5424-31.

Hennion, M. C. (1999). “Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography” *J. Chromatogr. A*, **856**, pp. 3-54.

Hertog, M. G., Feskens, E. J., Hollman, P. C., Katan, M. B., e Kromhout, D. (1993). “Dietary antioxidants, flavonoids and the risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study”, *Lancet*, **42**, pp. 1007-11.

Hollman, P. C., Hertog, M. G. e Katan, M. B. (1996). “Analysis and health benefits of flavonoids”. *Food Chem.*, **57**, pp. 43–6.

Hospital Prof. Doutor Fernando Fonseca, EPE. (2011). *HFF e escolas da Amadora previnem obesidade infantil*. Disponível *on-line*: http://www.hff.min-saude.pt/index.php/noticias/hff-e-escolas-da-amadora-previnem-obesidade-infantil_116_78.
Último acesso em: 06-02-2013.

INE. (2009). *Anuários Estatísticos Regionais – Informação estatística à escala regional e municipal*. Lisboa: Instituto Nacional de Estatística.

Jacob, J. K., Hakimuddin, F., Paliyath, G. e Fisher, H. (2008). “Antioxidant and antiproliferative activity of polyphenols in novel high-polyphenol grape lines”. *Food Res. Intern.*, **41**, pp. 419–28.

Kanner, J., Harel, S., Granit, R. (2001). “Betalains: a new class of dietary cationized antioxidants”, *J. Agric. Food Chem*, **49**, 11, pp. 5178-85.

Kiesling, R. (2013). “Historia and Prehistoria de la tuna o cactus, *Opuntia ficus-indica*: Presente y Futuro”, *Cactusnet*, **13**, pp. 13-8.

Kuti, J. O. (2000). “Antioxidant activity of *Opuntia cactus* pear”, *HortScience*, **35**, 3, pp. 433.

Kuti, J. O. (2004). “Antioxidant compounds from four *Opuntia cactus* pear fruit varieties”, *Food Chem*, **85**, pp. 527-33.

Mahan, L. e Escott-Stump, S. (2010). *Krause- Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. (12ª Ed.). Londres: Elsevier.

Meyer, V. R. (2010). *Practical High Performance Liquid Chromatography*. (5ª Ed.). Nova Iorque: John Wiley & Sons.

Nielsen, S. S. (2010). *Food Analysis* (4ª ed.). Nova Iorque: Springer.

Nobel, P. S. (2002). *Cacti: Biology and Uses*. (1ª ed.). Berkeley-Los Angeles-Londres: Cambridge Univ. Press.

Osorio-Esquivel, O., Ortiz-Moreno, A., Álvarez, V. B., Dorantes-Álvarez, L. e Giusti, M. M. (2010). “Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits”, *Food Res Int*, **44**, pp. 2160–8.

Pearson, D. (1976). *Chemical Analysis of Foods*. (7ª Ed.). Edinburgo, Reino Unido: Longman Group Ltd.

Pelozo, M. I., Cardoso, M. L. e Mello, J. C. (2008). “Spectrophotometric determination of tannins and caffeine in preparations from *Paullinia cupana var. sorbilis*”, *Braz. Arch. Biol. Technol*, **51**, pp. 447-51.

Piga, A., Del Caro, A., Pinna, I. e Agabbio, M. (2003). “Changes in ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in minimally processed cactus pear fruits”, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, **36**, pp. 257-62.

Prior, R. L. e Cao, G. (2000). “Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications”, *HortScience*, **35**, 4, 588-92.

Prior, R. L., Wu, X e Schaich K. (2005). “Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements”, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, pp. 4290-302.

Rigo, A., Vianello, F. e Clementi, G. (2000). “Contribution of proanthocyanidins to the peroxy radical scavenging capacity of some italian red wines”. *J. Agric. Food. Chem*, **48**, pp: 1996-2002.

Rispail, N., Morris, P. e Webb, K. J. (2005). Phenolic compounds: extraction and analysis. *In* Márquez, A. J. (Ed.) *Lotus japonicus Handbook* (pp. 349-354). Holanda: Springer.

Rito, A., Breda, J. e Carmo, I. (2010). *Guia de Avaliação do Estado Nutricional Infantil e Juvenil*. Lisboa: INSA, IP.

Sarbojeet, J. (2012). “Nutraceutical and functional properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) and its utilization for food applications”, *JERS*, **3**, 2, pp.60-6.

Schofield, P., Mbugua, D. M. e Pell, A. N. (2001). “Analysis of condensed tannins: A review”, *Anim. Feed Sci. Tech*, **91**, pp. 21-40.

Siriwardhana, N., Shahidi, F. e Jeon, Y. J. (2006). “Potential antioxidative effects of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica*) extract on radical scavenging and DNA damage reduction in human peripheral lymphocytes”, *J. Food Lipids*, **13**, pp.445-58.

Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R. (2007). *Principles of Instrumental Analysis* (6^a ed.). Nova Iorque: Cengage Learning, Inc.

Sobkowska, E., Czapski, J. e Kaczmarek, R. (1991). “Red table beet pigment as food colorant”, *Int Food Ingredients*, **3**, pp. 24-8.

Stintzing, F. C. e Carle, A. (2001). “Phytochemical and nutritional significance of cactus pear”, *Eur Food Res Technol*, **212**, pp. 396-407.

Sumaya-Martínez, M. T., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillán, E., García-Paredes, J.D., Cariño-Cortés, R., Cruz-Cansino, N., Valadez-Veja, C., Martinez-Cardenas, L. e Alanís-García, E. (2011). “Betain, acid ascorbic, phenolic contents and antioxidant properties of purple, red, yellow and white cactus pears”, *Int. J. Mol. Sci*, **12**, pp. 6452-68.

Sun, J., Chu Y. F., Wu, X. e Liu, R. H. (2002). “Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits”, *J. Agric. Food Chem*, **50**, 23, pp. 6910-16.

Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M. e Livrea, M. A. (2005). “Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to *ex vivo* induced oxidative hemolysis in humans”, *J. Agric. Food. Chem*, **53**, pp. 1266-70.

Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A. M., Allegra, M. e Livrea, M. A. (2004). “Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy human: A comparative study with vitamin C”, *Am. J. Clin. Nutr*, **80**, pp. 391-5.

Trichopoulou, A. e Vasilopoulou, E. (2000). “Mediterranean diet and longevity”, *Br. J. Nutr.*, **84**, pp. 205-9.

Uniself. (2009). *História*. Disponível *on-line*: <http://www.uniself.pt/quem-somos-historia.php>. Último acesso em: 06-02-2013.

UPOV. (2006). *Chumbero, nopal tunero, tuna y xoconostles*. Genebra: Unión internacional para la protección de las obtenciones vegetales.

USDA-PLANTS. (2013). *Opuntia Mill. Pricklypear*. Disponível *on-line* em: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=opunt>. Último acesso em 15-11-2013.

Vulić, J., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Tumbas, V., Djilas, S., Četojević-Simin, D. e Čanadanović, V. (2012). “Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts”, *J. Funct Foods*, **4**, 3, pp: 670-8.

Watanabe, F. S. e Olsen, S. R. (1965). “Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO₃ extracts from soil”, *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **29**, 6, pp. 677 - 8.

Watts, S. e Halliwell, L. (1996). *Essential environmental Science: Methods and techniques*. Londres: Routledge.

Wit, M., Nel, P., Osthoff, G. e Labuschagne M. T. (2010). “The effect of variety and location on cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit quality”, *Plant Foods Hum Nutr.* **65**, pp.136-45.

Żwir-Ferenc, A. e Biziuk, M. (2006). “Solid phase extraction technique – Trends, opportunities and applications”, *Polish J. of Environ. Stud.*, **15**, 5, pp. 677-90.