

## **INDICE DE ANEXOS**

|  |      |
|--|------|
| Anexo 1 – Identificação das três variedades de figo de piteira estudadas .....                 | a-1  |
| Anexo 2 – Metodologia detalhada .....  | a-2  |
| Anexo 3 - Caraterização nutricional do fruto inteiro, pele e polpa.....                        | a-4  |
| Anexo 4 – Coeficientes de correlação entre compostos funcionais e FRAP.....                    | a-5  |
| Anexo 5 - Cromatogramas do perfil de compostos fenólicos totais .....                          | a-6  |
| Anexo 6 – Espectros UV/Vis específicos do perfil de compostos fenólicos do figo verde<br>..... | a-11 |
| Anexo 7- Áreas cromatográficas totais do perfil de compostos fenólicos totais.....             | a-12 |

## Anexo 1 – Identificação das três variedades de figo de piteira estudadas



Figura A1 – Variedades utilizadas no projeto de investigação: figo verde (esquerda), figo laranja (meio) e figo roxo (direita).

## **Anexo 2 – Metodologia detalhada**

### **Teor de fibra bruta total**

As amostras foram levadas à ebulição com ácido sulfúrico (0,128 M) (Panreac, Espanha) e depois com hidróxido de potássio (0,223 M) (Labsolve<sup>®</sup>, Portugal). A solução foi filtrada, o resíduo foi seco durante 2 horas a 130 °C e posteriormente incinerado a 550 °C durante 3 horas. Determinou-se gravimetricamente o resíduo antes e após secagem, e após inceneração.

### **Teor de fósforo**

As amostras foram digeridas a 360 °C com ácido sulfúrico (95-97%) (Panreac, Espanha), juntamente com selénio negro (Merck, Portugal) e sulfato de potássio (90 %) (Panreac, Espanha). Foi adicionado 2,5 mL de amostra a 8 mL de uma solução redutora, constituída por ácido sulfúrico (5 N) (Panreac, Espanha), molibdato de amónio (40 g/L) (Honeywell Riedel-de Haën<sup>®</sup>, Alemanha), ácido ascórbico (Panreac, Espanha) e tartarato de potássio e antimónio (2,8 g/L, em 500 mL) (Merck, Portugal). Após 20 minutos mediu-se a absorvância a 880 nm contra um branco de água ultrapura.

### **Teor de betacianinas e betaxantinas**

As betacianinas foram detetadas a 535 nm e as betaxantinas a 480 nm 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; FD = Fator de diluição; MM = Massa molecular;  $\epsilon$  = Coeficiente de extinção molar. Para a determinação do teor de betacianinas foi utilizado  $\epsilon = 60000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$  e MM = 550 g/mol. Já na determinação do teor de betaxantinas utilizou-se  $\epsilon = 48000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$  e MM = 308 g/mol.

### **Teor de compostos fenólicos totais**

Foi adicionado 2,5 mL de reagente *Folin* (1:10 em água destilada, v/v) (Chem-Lab, Bélgica) a 0,5 mL de amostra e após 2 - 5 minutos adicionou-se 2 mL de carbonato de sódio (2 g/L) (Honeywell Riedel-de Haën<sup>®</sup>, Alemanha). As amostras foram incubadas

durante 5 minutos a 45 °C em banho-maria, e depois mais 10 minutos no escuro, sendo posteriormente medida a absorvância a 760 nm contra um branco de água destilada.

#### **Poder antioxidante de redução férrica (FRAP)**

Foi preparado inicialmente o reagente de FRAP através da adição de: *i*) tampão acetato (300 mM) (Panreac, Espanha) a pH: 3,6; *ii*) 2,4,6-tripiridil-s-triazina (10 mmol/L) (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, Alemanha) em HCl (40 mmol/L) (Chem-Lab, Bélgica); *iii*) cloreto de ferro (20 mmol/L) (Panreac, Espanha), numa proporção de 10:1:1.

#### **Perfil de compostos fenólicos por HPLC-DAD**

A fase móvel foi constituída por dois eluentes: eluente A – água e ácido fórmico (0,5% v/v) (Panreac, Espanha) e o eluente B - ácido fórmico, acetonitrilo (Panreac, Espanha) e água (5:400:595, v/v/v). Foi utilizado o seguinte gradiente de eluentes: 0-15 minutos desde 0 a 20% eluente B; 15-25 com 20% eluente B; 25-70 minutos desde 20 a 70% eluente B; 70-75 minutos com 70% eluente B; 75-85 minutos desde 70 a 100% eluente B; 85-100 minutos com 100% eluente B; 100-110 minutos com 100% eluente A. As amostras foram injetadas utilizando um volume de injeção de 20 µL e o fluxo da fase móvel foi de 0,7 mL/minuto.

### Anexo 3 - Caraterização nutricional do fruto inteiro, pele e polpa

Tabela A1 – Caraterização nutricional do fruto inteiro, pele e polpa de cada variedade. Resultados expressos em peso fresco.

|                     | <b>Amostra</b>       | <b>Humidade (%)</b>         | <b>Sólidos totais (%)</b>   | <b>Cinzas (%)</b>        |
|---------------------|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| <b>Figo Verde</b>   | <b>Fruto inteiro</b> | 85,73 ± 1,25 <sup>b,c</sup> | 14,27 ± 1,25 <sup>b,c</sup> | 0,97 ± 0,13 <sup>a</sup> |
|                     | <b>Pele</b>          | 79,30 ± 1,12 <sup>a</sup>   | 20,70 ± 1,12 <sup>a</sup>   | 3,72 ± 0,12 <sup>b</sup> |
|                     | <b>Polpa</b>         | 87,39 ± 0,75 <sup>c</sup>   | 12,61 ± 0,75 <sup>c</sup>   | 0,68 ± 0,09 <sup>a</sup> |
| <b>Figo Laranja</b> | <b>Fruto inteiro</b> | 87,20 ± 1,62 <sup>c</sup>   | 12,80 ± 1,62 <sup>c</sup>   | 0,92 ± 0,08 <sup>a</sup> |
|                     | <b>Pele</b>          | 82,37 ± 2,06 <sup>a,b</sup> | 17,63 ± 2,06 <sup>a,b</sup> | 3,27 ± 0,08 <sup>b</sup> |
|                     | <b>Polpa</b>         | 87,50 ± 0,08 <sup>c</sup>   | 12,50 ± 0,08 <sup>c</sup>   | 0,69 ± 0,03 <sup>a</sup> |
| <b>Figo Roxo</b>    | <b>Fruto inteiro</b> | 81,20 ± 3,77 <sup>a,b</sup> | 18,80 ± 3,77 <sup>a,b</sup> | 1,25 ± 0,31 <sup>a</sup> |
|                     | <b>Pele</b>          | 81,96 ± 0,25 <sup>a,b</sup> | 18,04 ± 0,25 <sup>a,b</sup> | 5,25 ± 1,41 <sup>c</sup> |
|                     | <b>Polpa</b>         | 90,40 ± 0,14 <sup>c</sup>   | 9,60 ± 0,14 <sup>c</sup>    | 0,76 ± 0,09 <sup>a</sup> |

Os dados representam a média ± desvio padrão de amostras em triplicado. Os resultados seguidos da mesma letra, dentro da mesma coluna, não apresentam diferenças estatisticamente significativas de acordo com o teste Tukey HSD para um nível de significância de 5%.

## Anexo 4 – Coeficientes de correlação entre compostos funcionais e FRAP

**Tabela A2 - Coeficientes de correlação<sup>a</sup> entre compostos funcionais e ensaio de atividade antioxidante FRAP analisados nas amostras de sumo.**

|                     | <b>CFT</b> | <b>Betacianinas</b> | <b>Betaxantinas</b> | <b>FRAP</b> |
|---------------------|------------|---------------------|---------------------|-------------|
| <b>CFT</b>          |            | 0,770               | 0,889*              | 0,832*      |
| <b>Betacianinas</b> |            |                     | 0,947**             | 0,933**     |
| <b>Betaxantinas</b> |            |                     |                     | 0,988**     |

<sup>a</sup> Coeficiente de correlação obtidos através de médias (n = 6).

\* Correlação significativa com nível de significância de  $p \leq 0,05$ .

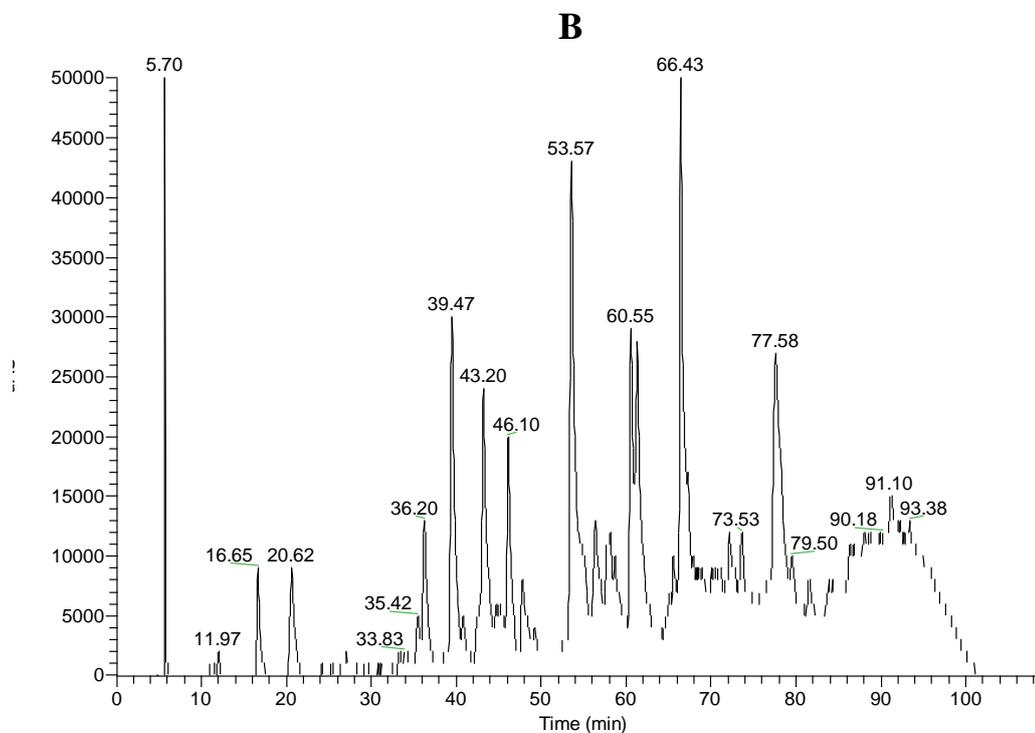
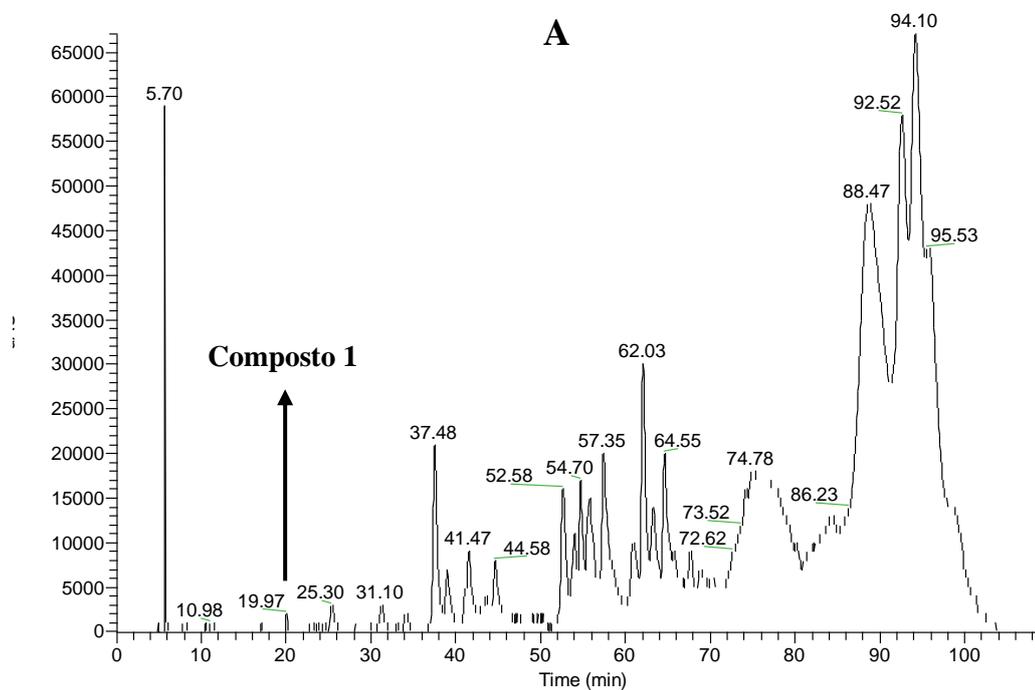
\*\* Correlação significativa com nível de significância de  $p \leq 0,01$ .

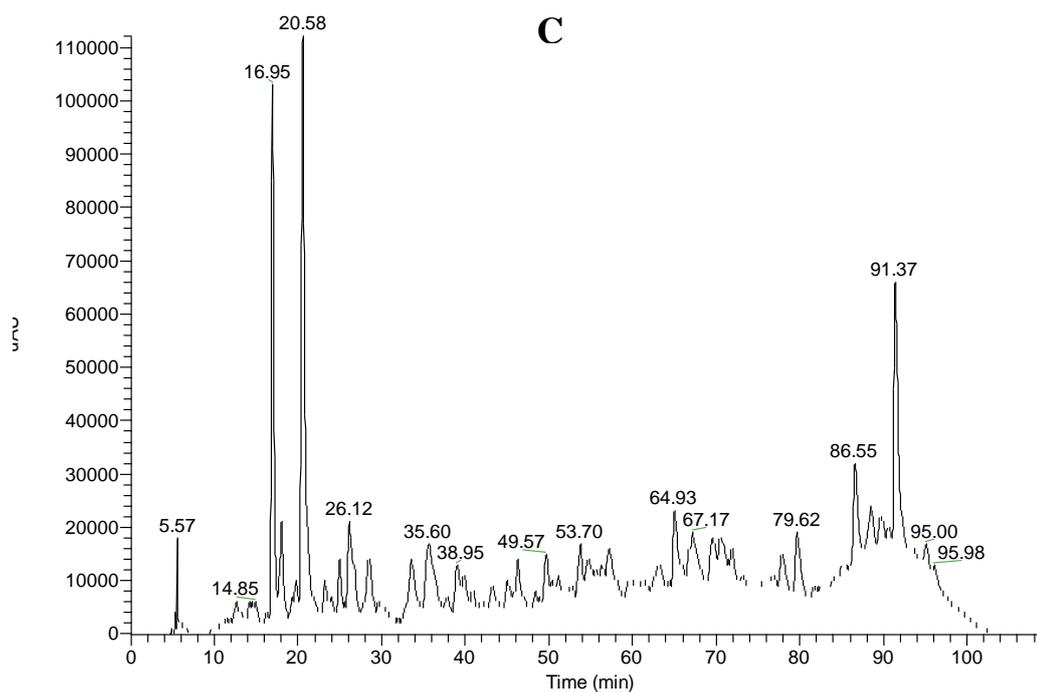
**Tabela A3 - Coeficientes de correlação<sup>a</sup> entre compostos funcionais e ensaio de atividade antioxidante FRAP analisados nas amostras de extratos metanólicos.**

|                     | <b>CFT</b> | <b>Betacianinas</b> | <b>Betaxantinas</b> | <b>FRAP</b> |
|---------------------|------------|---------------------|---------------------|-------------|
| <b>CFT</b>          |            | 0,735               | 0,226               | 0,455       |
| <b>Betacianinas</b> |            |                     | 0,810               | -0,110      |
| <b>Betaxantinas</b> |            |                     |                     | -0,623      |

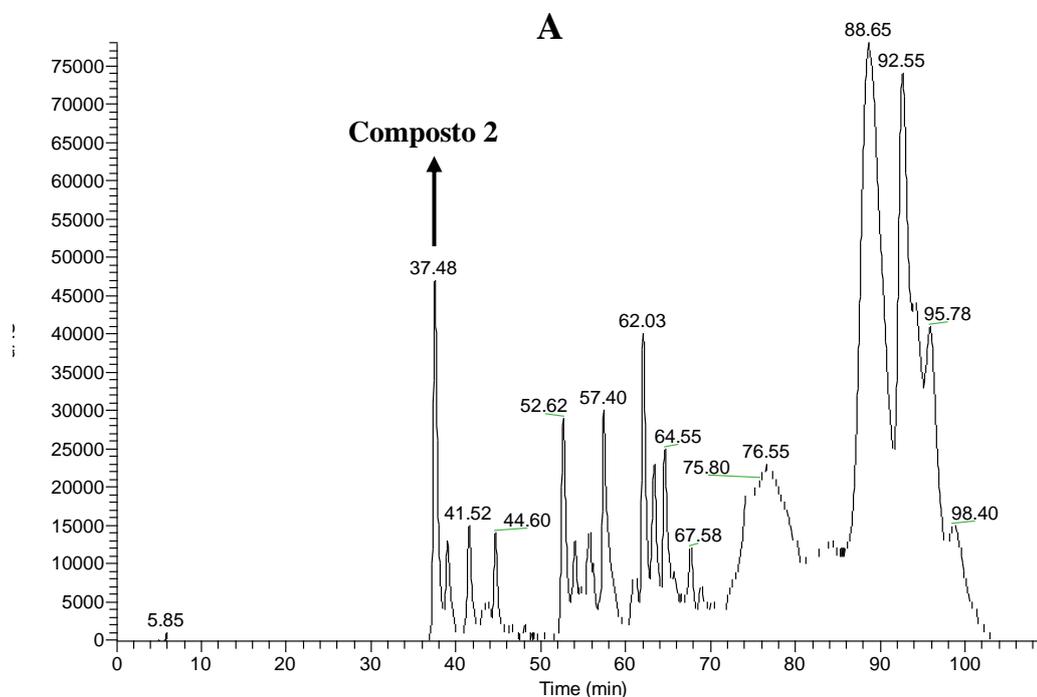
<sup>a</sup> Coeficiente de correlação obtidos através de médias (n = 6).

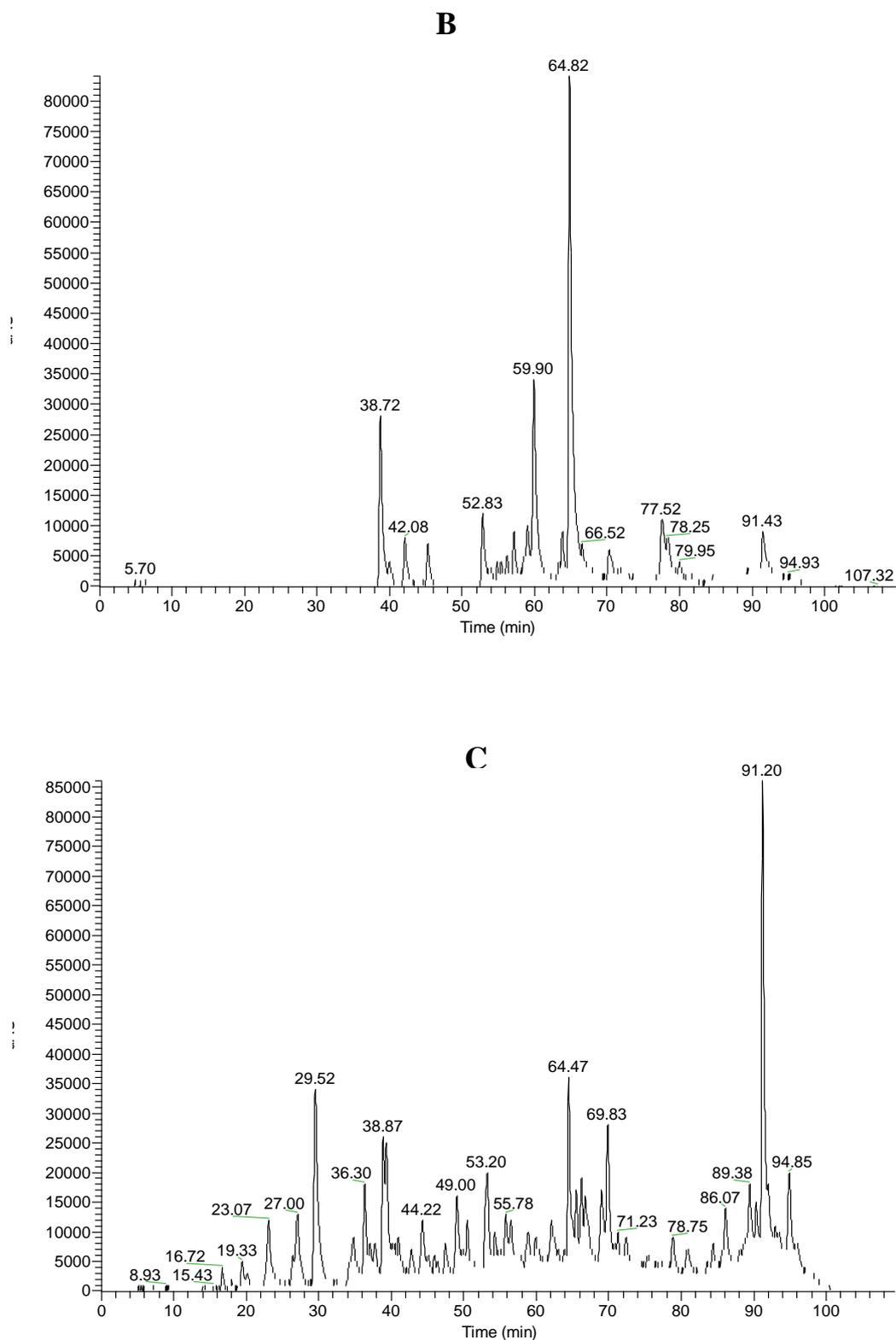
## Anexo 5 - Cromatogramas do perfil de compostos fenólicos totais





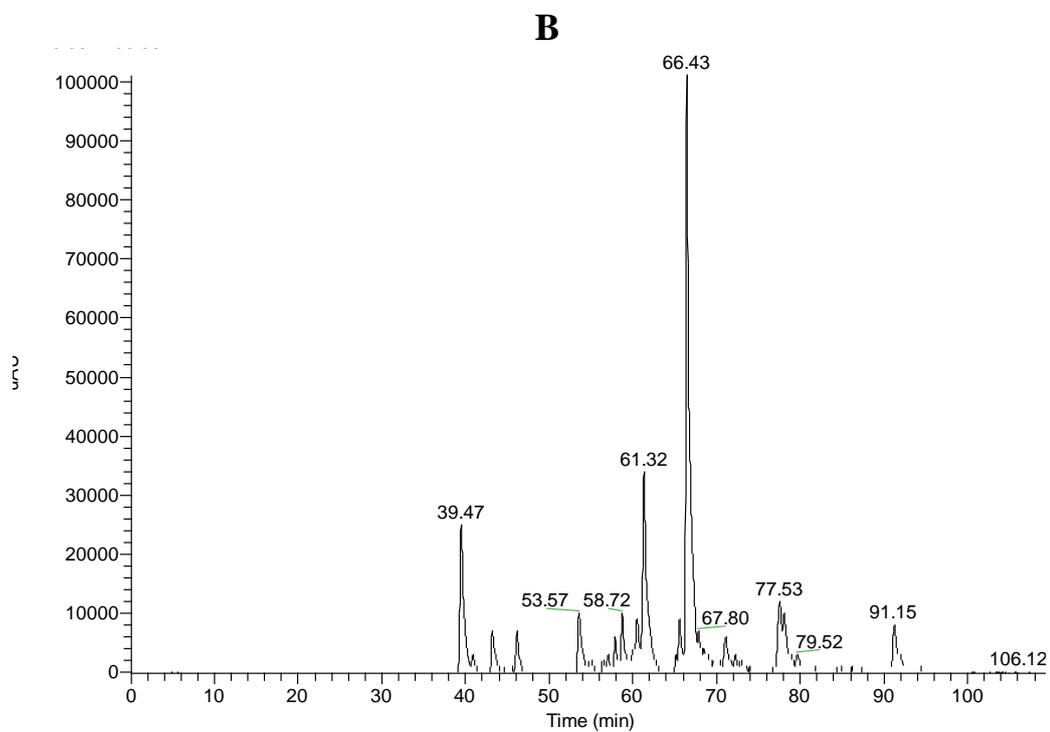
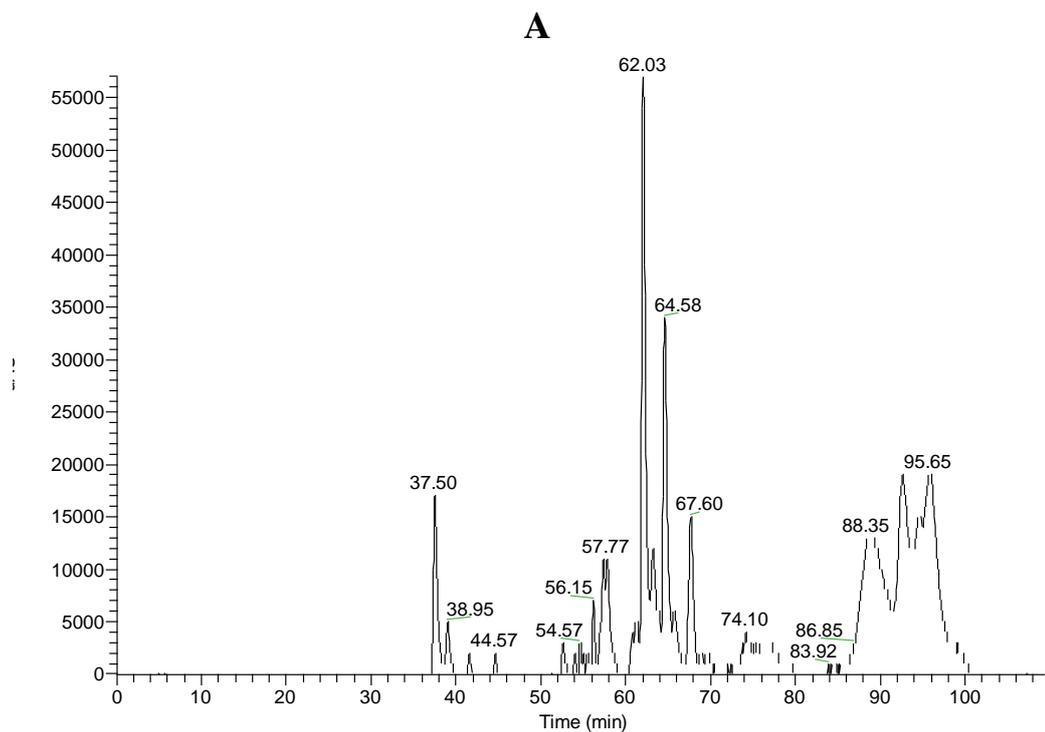
**Figura A2 – Cromatogramas ao comprimento de onda de 280 nm do perfil de compostos fenólicos totais do figo verde (a), figo laranja (b) e figo roxo (c).**

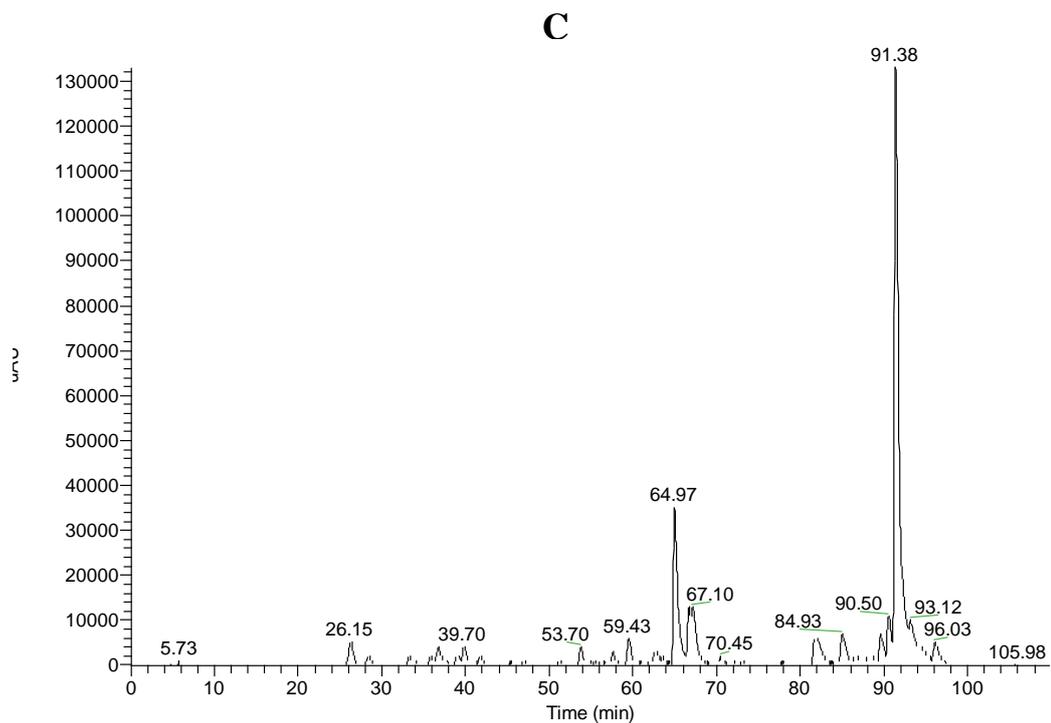




**Figura A3 – Cromatogramas ao comprimento de onda de 320 nm do perfil de compostos fenólicos totais do figo verde (A), figo laranja (B) e figo roxo (C).**

Caraterização nutricional e funcional de três variedades portuguesas de figo de piteira – Licenciatura em Ciências da Nutrição





**Figura A4 – Cromatogramas ao comprimento de onda de 360 nm do perfil de compostos fenólicos totais do figo verde (A), figo laranja (B) e figo roxo (C).**

## Anexo 6 – Espectros UV/Vis específicos do perfil de compostos fenólicos do figo verde

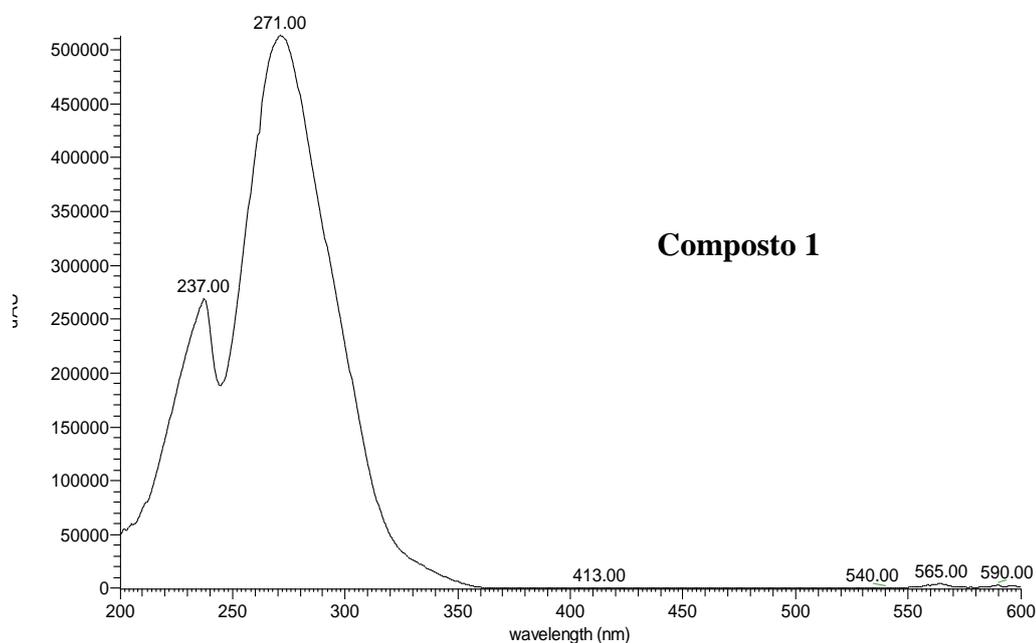


Figura A5 – Espectro UV/Vis de um composto identificado como ácido hidroxibenzoico.

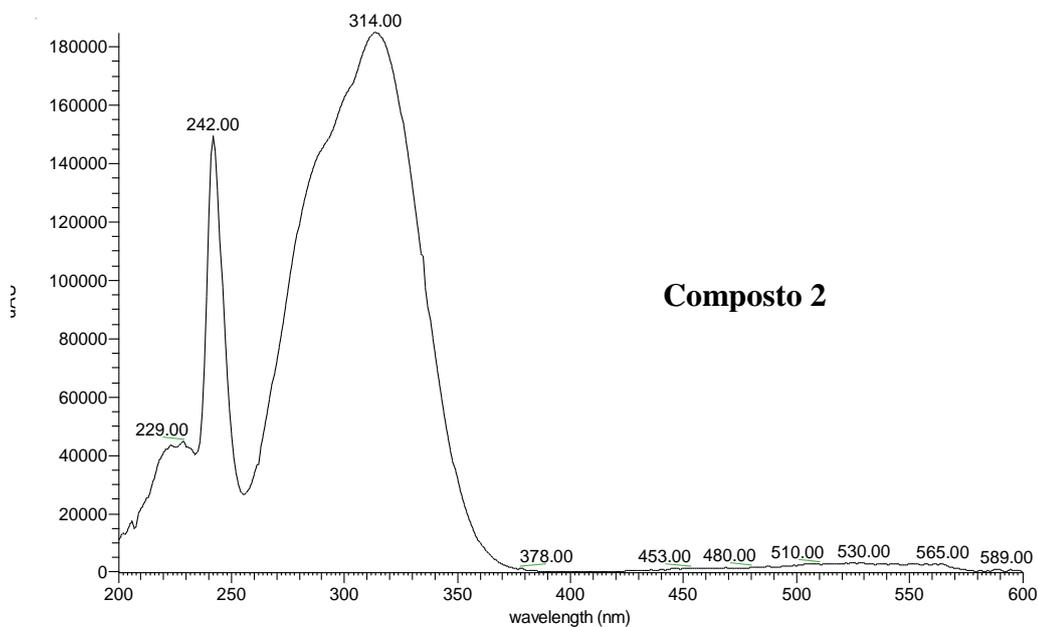


Figura A6 – Espectro UV-Vis de um composto identificado como ácido hidroxicinâmico.

## Anexo 7- Áreas cromatográficas totais do perfil de compostos fenólicos totais

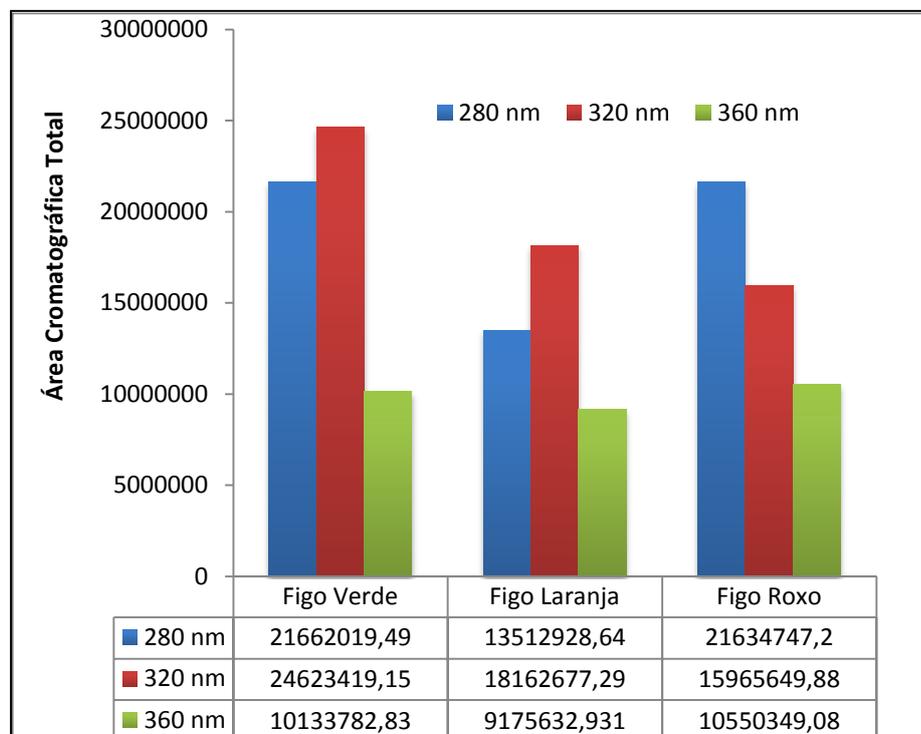


Figura A7 – Somatório das áreas dos picos cromatográficos a 280, 320 e 360 nm de cada variedade de figo de piteira.